

UNIVERSIDAD DE ALMERÍA
FACULTAD DE CIENCIAS EXPERIMENTALES
Máster en Biotecnología Industrial y Agroalimentaria



TRABAJO FIN DE MÁSTER

**Evaluación de la toxicidad de diferentes fitofortificantes sobre
organismos de control biológico**

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:

**Lucha integrada: Evaluación y caracterización de nuevas aplicaciones
de insectos y control de plagas**

ALUMNO:

Andrés Ruiz Arcos

TUTORES:

Francisco Javier Alarcón López

Carolina Martínez Gaitán

Almería, Septiembre 2015

RESUMEN

Se ha realizado un estudio de evaluación de la toxicidad de diferentes fitofortificantes sobre los organismos de control biológico *Amblyseius swirskii*, *Aphidius colemani*, *Nesidiocoris tenuis* y *Orius laevigatus*.

El presente estudio se divide en dos tandas de experimentos en los que se evalúa la toxicidad de varios fitofortificantes sobre estos organismos de control biológico (OCB) especies de enemigos naturales. En la primera de ensayos se han realizado ensayos en laboratorio en los que se evaluaron los efectos secundarios de los fitofortificantes Agribest, Agritrap Foliar, Botrybel, Milagrum plus, Aminolom Protector/Brotolom total y Biozulfre sobre los OCBs considerados. La segunda tanda de ensayos se realizó en condiciones de semicampo en invernadero bajo plástico perteneciente a la corporación TECNOVA. En este caso se construyeron jaulas en el interior del invernadero para evaluar los efectos secundarios de los productos fitofortificantes sobre la fauna auxiliar.

En general, los resultados mostraron que los fitofortificantes estudiados son inocuos sobre la fauna auxiliar tanto en las condiciones de laboratorio como en semicampo, con la excepción del himenóptero parasitoide *Aphidius colemani*, que mostró una mayor sensibilidad a todos los productos evaluados. Es preciso destacar que el producto Agritrap Foliar ejerce ciertos efectos secundarios en las poblaciones de *A. colemani* que se vieron reducidas a lo a las 72 horas y 14 días de aplicación del producto en los ensayos de laboratorio y en semicampo, respectivamente. Este producto podría considerarse como moderadamente perjudicial para el organismo de control biológico *A. colemani*.

ÍNDICE

1. Antecedentes y justificación.....	4
2. Objetivos.....	7
3. Revisión bibliográfica.....	8
3.1 Sistema de producción de hortalizas en invernadero.....	8
3.2 Control biológico en cultivos hortícolas.....	11
3.3 Importancia del uso de insectos depredadores y parasitoides en la horticultura intensiva.....	13
3.4 Importancia del estudio de los efectos producidos por distintos fitofortificantes sobre la fauna auxiliar.....	17
4. Material y métodos.....	18
4.1. Datos climáticos.....	18
4.2. Fitofortificantes ensayados.....	20
4.3. Evaluación de los productos fitofortificantes mediante ensayos de laboratorio.....	21
4.4. Evaluación de los productos fitofortificantes con ensayos en semicampo.....	23
4.5. Evaluación de los efectos secundarios de fitofortificantes.....	26
4.6. Análisis estadístico de los datos.....	27
5. Resultados.....	28
5.1. Efectos secundarios de los fitofortificantes.....	28
5.2. Evaluación en <i>Nesidiocoris tenuis</i>	28
5.3. Evaluación en <i>Amblyseius swirskii</i>	31
5.4. Evaluación en <i>Aphidius colemani</i>	34
5.5. Evaluación en <i>Orius laevigatus</i>	37
5.6. Evaluación global de los productos fitofortificantes.....	40
6. Discusión.....	42
7. Conclusiones.....	49
8. Bibliografía.....	50

1. ANTECEDENTES Y JUSTIFICACIÓN

En la actualidad, la problemática de plagas y enfermedades en cultivos bajo plástico en el sureste español es de una gran magnitud. Esto es debido a diversas causas, entre las que destacan unas condiciones climáticas en el entorno de los cultivos que favorecen una proliferación de las plagas y enfermedades muy rápida, un ciclo de cultivo en invernadero diferente al de los cultivos al aire libre, lo que da lugar a ser los únicos hospedantes disponibles, una mayor densidad de plantas, que tiene como consecuencia una mayor severidad de plagas y enfermedades y un tipo de estructura de los invernaderos que muchas veces no impiden o reducen las infestaciones, dando lugar a una gran incidencia y diversidad de plagas y enfermedades que han de ser necesariamente controladas (Cabello et al., 1996) .

Las plagas que afectan a las producciones hortícolas son principalmente la mosca blanca (*Bemisia tabaci*) (Hemíptera: Aleyroidae), pulgón (*Aphis gossypii*) (Homóptera: Aphidae), araña roja (*Tetranychus urticae*) y los trips (*Frankliniella occidentalis*) (Thysanoptera: Thripidae) (Cabello et al., 1990). Estos generan de forma directa o indirecta numerosos daños a los cultivos. Los principales daños directos producidos por estos artrópodos suelen ser la depredación de hojas y tallos tiernos de las plantas así como la generación de deformidades en los frutos, haciendo que estos pierdan parte parcial o total de su valor comercial. Sin embargo, uno de los principales problemas derivados de las plagas previamente mencionadas es que pueden actuar como vectores de enfermedades víricas, de las cuales no existen en la actualidad medios curativos para controlarlas sin afectar, a su vez, al cultivo afectado. En España se pueden citar unos siete virus como los causantes de los mayores daños: el virus del mosaico del tomate (ToMV), el virus de la cuchara (TYLCV), el virus del bronceado del tomate (TSWV), el virus del mosaico del pepino (CMV), el virus Y de la patata (PVY), el virus del mosaico del tabaco (TMV) y el virus del moteado suave del pimiento (PMMV) (RAIF, 2015). Además, existen otras muchas enfermedades de origen fúngico que causan graves pérdidas en los cultivos bajo plástico dadas las condiciones de humedad y temperatura presentes en el invernadero (Martínez-Carrasco et al., 2011). Algunas de estas enfermedades son causadas por *Botrytis* (*Botrytis cinerea*), mildiú (*Pseudoperonospora cubensis*), oídio (*Sphaerotheca fuliginea*), *pythium spp.* y *phytophthora spp.* Las enfermedades generadas por estos microorganismos pueden ocasionar pérdidas por podredumbres de frutos y órganos aéreos o incluso afectar al sistema radicular, llegando a causar la muerte de la planta (García et al., 2000).

Así pues, durante años se han utilizado tratamientos químicos con el fin de paliar la incidencia de plagas y enfermedades en cultivos bajo plástico para poder aumentar los

rendimientos de las cosechas. Como consecuencia de la utilización masiva de fertilizantes y productos fitosanitarios se han producido otros problemas secundarios, haciendo que la utilización continuada de productos químicos para la agricultura intensiva bajo plástico de lugar a una acumulación de sustancias potencialmente contaminantes, lo que origina una incidencia sobre el entorno, los cultivos y finalmente, la salud humana (Miras et al., 2009). Este hecho, sumado a una mayor exigencia de los mercados y consumidores para obtener productos libres de residuos ha dado lugar a la creación de normas y leyes en España y la Unión Europea que favorecen la utilización de otros métodos de control de plagas más respetuosos con el medio ambiente (Jolly et al., 1991).

De este modo, en España, a través del Real Decreto 1311/2012, del 14 de septiembre, se establece un marco de actuación con la finalidad de favorecer un uso sostenible de los productos fitosanitarios. Este R.D. introduce la necesidad de la Gestión Integrada de Plagas, término que fue definido por Stern en 1959. Con este R.D se pretende establecer medidas para la conservación del medio ambiente. Así, empresas y agricultores del sector de la hortofruticultura, empresas auxiliares y de base biotecnológica y la Administración Pública han fomentado en los últimos años planes de Control Integrado de Plagas (CIP) con la intención de disminuir a lo largo del tiempo la utilización de productos químicos en la agricultura utilizando para ello Organismos de Control Biológico (OCBs) utilizados en control biológico (CB). Los primeros pueden definirse como “organismos cuya acción controla naturalmente poblaciones de insectos plaga, malezas o enfermedades” (Nicholls, 2008; van der Blom et al., 2010), mientras que Control Biológico es descrito como la *“utilización de uno o más OCBs para reducir la densidad de una planta o animal que causa daño al hombre o sus cultivos”* (De Bach, 1964).

Bajo las condiciones que se han dado durante los últimos años, tras la Ley 43/2002 de 20 de noviembre de Sanidad Vegetal en el capítulo IV de su Título III se ha permitido la comercialización y uso de otros productos alternativos a los fitosanitarios presentes en el mercado, estos se presumen en muchas ocasiones de ser productos libres de residuos al ser de origen natural. Entre estos medios de defensa fitosanitaria alternativos como puedan ser feromonas, OCBs y trampas, otros productos que han destacado por su novedad son los definidos como productos fortificantes o fitofortificantes (López et al., 2008). Los fitofortificantes son productos de reciente introducción en los cultivos, y debido a la inexistencia de datos sobre los mismos, y al gran interés empresarial y de carácter científico que presentan, han sido estudiados en este trabajo.

Los fitofortificantes en general, tienen una formulación basada en productos naturales cuyo origen es variado, dado que estos pueden ser extractos de algas, extractos de otras

plantas, aminoácidos, micronutrientes o microorganismos que son empleados para fortalecer la resistencia de los cultivos, fomentando así que las plantas cultivadas tengan crecimientos más rápidos y equilibrados así como potenciar en estas una mejor defensa frente a plagas y enfermedades y que tengan una mayor productividad. Los fitofortificantes a su vez, pueden ser aplicados tanto en la zona radicular como en las hojas, siendo presentados como abonos foliares.

En la actualidad, debido a la reciente introducción al mercado de estos productos, se ha generado una falta de datos previos en referencia a productos fitofortificantes que demuestren su inocuidad frente a la fauna auxiliar y otros productos utilizados conjuntamente en cultivos hortícolas, por lo que se ha visto la necesidad por parte de agricultores y empresas de obtener la mayor información posible acerca de sus efectos sobre los organismos de control biológico utilizados, dados los problemas que pueden derivar si determinados productos afectaran negativamente a la fauna auxiliar, como pudiera ser una mayor incidencia de plagas y enfermedades u otros problemas derivados a la utilización de productos incompatibles. En este trabajo se ha realizado un estudio sobre la incidencia en la utilización de algunos de los fitofortificantes más utilizados en la actualidad en horticultura sobre los enemigos naturales más comunes empleados en control biológico para así verificar su inocuidad.

Los fortificantes estudiados para evaluar el efecto que provocan sobre los enemigos naturales han sido los siguientes: Agribest (Biorizon), Agritrap foliar (Koppert), Botrybel (Probelte), Milagrum plus (Grupo Agrotecnología), Aminolom protector-Protolom Total (Grupo Alfredo Iñesta), y Biozufre (Servalesa). Como sustancia control positivo se incluye Abamectina que es un insecticida y acaricida.

El ensayo ha sido realizado en cultivos de tomate, pepino, calabacín y pimiento, y las especies de enemigos naturales utilizadas en producción integrada para dichos cultivos son: *Nesidiocoris tenuis* para *Tuta absoluta*, *Bemisia tabaci* y ácaros fitopatógenos; *Amblyseius swirskii* depredador de larvas jóvenes de varias especies de trips, y huevos y larvas de mosca blanca (tanto *Trialeurodes vaporariorum* como *Bemisia tabaci*); *Aphidius colemani*, enemigo natural parasitoide de pulgones diversos; y *Orius laevigatus*, especie depredadora de trips.

2. OBJETIVOS

EL principal objetivo de este Trabajo de Fin de Máster es evaluar los efectos secundarios de varios productos fitofortificantes contra el enemigo natural depredador *Nesidiocoris tenuis* de uso en tomate; sobre *Amblyseius swirskii* de uso en pepino; sobre el enemigo natural *Aphidius colemani* de uso en calabacín, y sobre *Orius laevigatus* de uso en pimiento, con el propósito de establecer una clasificación de dichos productos según su toxicidad sobre dichas especies de fauna auxiliar en cultivos hortofrutícolas del sureste español.

Este objetivo se desglosa en dos objetivos específicos:

1. Evaluación de los diferentes fitofortificantes en ensayos de laboratorio.
2. Evaluación de los distintos fitofortificantes en ensayos de semicampo.

3. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.

3.1. SISTEMA DE PRODUCCIÓN DE HORTALIZAS EN INVERNADERO.

3.1.1. Descripción del sistema de producción.

En el sureste español, y más concretamente en la provincia de Almería, la superficie total de cultivo de hortalizas en la campaña 2014/2015 ha sido de 56.868 ha, siendo la superficie de cultivo bajo invernadero de 44.722 ha útiles. La superficie de invernadero se sitúa en 29.496 ha, creciendo ésta en el último año un 7,4% con respecto a la campaña 2013/2014. La producción anual total de la campaña 2014/2015 ha sido de 3.518.037 tms, viéndose un aumento general de las producciones en la última campaña, a excepción de un descenso de la producción de tomate y, en menor medida de pimiento. El cultivo de tomate en la temporada 2014/2015 ha ocupado una superficie de 10.200 ha, 8.750 ha para el cultivo de pimiento, 5.100 ha para el cultivo de pepino, 7.900 ha para el cultivo de calabacín, 2.100 ha de cultivo de berenjena, 1.050 ha de cultivo de judía verde, 7.900 ha de lechuga, 8.500 ha de cultivo de sandía, y 2.100 ha de cultivo de melón. En la campaña actual se exportaron más de 1.945.470 tn de hortalizas y frutas frescas, con un valor exportado que asciende hasta los 1.771 millones de euros (MAGRAMA, 2015).

3.1.2. Descripción de los cultivos evaluados de tomate, pimiento, pepino y calabacín.

El tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) es una planta perteneciente a la familia de las solanáceas, su origen se encuentra en la región de los Andes y posteriormente fue llevada a México, donde comenzó el proceso de domesticación de la especie (Figura 1). Durante el siglo XIX se cultivan diferentes variedades en Europa, comenzando así los procesos de mejoramiento sistemático a partir de los principios fundamentales de la genética mendeliana. En la actualidad, en los planes de perfeccionamiento se introducen producción, precocidad y tamaño del fruto, siendo la resistencia a enfermedades otro de los objetivos prioritarios de los investigadores (Vergani et al., 2002). Se trata de una planta herbácea anual o perenne y de porte arbustivo que se cultiva como anual, la cual puede desarrollarse de forma rastrera, semierecta o erecta, vellosa e inerme y con portes superiores a 1,5 m de altura. Posee hojas compuestas imparipinnadas, de 15 a 45 cm de longitud. Se cultiva por el consumo de sus



Figura 1. Plantas de tomate utilizadas en el ensayo. Fuente: Tecnova.

frutos. Posee un sistema radicular amplio que se desarrolla entre los 50-60 cm de profundidad, con una raíz principal desde la que parten gran cantidad de ramificaciones. Posee un tallo anguloso y recubierto de vellosidad visible. Las hojas son compuestas e imparipinnadas y su floración se produce en forma de racimos dispuestos en diferentes pisos, con inflorescencias donde suele haber entre 3 y 10 flores.

El pimiento (*Capsicum annuum*) es una de las solanáceas más cultivada del mundo y, en especial, en las zonas con clima mediterráneo, siendo sus frutos muy estimados en los países hispanoamericanos. El género *Capsicum* tiene alrededor de 30 especies, siendo 20 de ellas cultivadas y el resto plantas silvestres. Tiene su origen en Centroamérica, en el área andina central con los países de Bolivia, Perú y Ecuador desde donde se extendió más al norte, en México, donde se cultivó. Una vez domesticado se introdujo en Europa y Asia a partir del siglo XVI.



Figura 2. Plantas de pimiento utilizadas en el ensayo. Fuente: Tecnova.

Su interés comercial inicialmente fue como sustituto de la pimienta negra en alimentación. El pimiento se cultiva como anual pudiendo cultivarse en ciclos de dos años si se dan condiciones adecuadas. En cultivo protegido es entutorada debido al peso de sus tallos y frutos, llegando a una altura de más de 2 m dependiendo de las condiciones predominantes (Figura 2). La raíz de la planta se forma, en principio, a los 20 días de la germinación y está formada por una raíz principal, pivotante y delgada con abundantes raicillas, rodeada por una gran cantidad de raíces secundarias adventicias, siendo la raíz adulta fuerte y vigorosa, con predominancia de la raíz principal pivotante, pudiendo llegar a más de un metro de profundidad. El tallo es de crecimiento determinado, erecto, frágil y de epidermis brillante y estriado, con un grosor de 1,5 cm. De consistencia tierna, lignificándose en su madurez. Las ramificaciones parten del tallo principal, dividiéndose en 2-3 brazos, bifurcándose de forma dicotómica. De las yemas de las axilas de las hojas del tallo principal nacen nuevas brotaciones secundarias que pueden emitir nuevos tallos, hojas y flores. Las hojas nacen de forma alternada en el tallo, con pecíolo largo, lobuladas, enteras y lisas con un ápice muy pronunciado o acuminado, insertas en los nudos del tallo. El haz es glabro, liso, suave al tacto. El nervio principal llega hasta el final del limbo. Las flores son completas, con pedúnculo, pétalos, sépalos, estambres y pistilo, desarrollándose a partir de botones florales o ápices terminales, son regulares y monoicas por poseer los dos sexos en la misma flor. El fruto es una baya hueca no jugosa en forma de cápsula, de piel lisa y de coloración verde al principio y

amarillos o rojos al madurar. El pedúnculo del fruto mide entre 4-5 cm de largo y cerca de 1-1,5 cm de grosor. Sus semillas son amarillentas, de forma lenticular u oval y de tamaño y forma variable (Reche et al., 2010).

El pepino es una planta perteneciente a la familia de las cucurbitáceas cuyo nombre científico es *Cucumis sativus* L., perteneciente a la familia de las cucurbitáceas, la cual comprende más de 700 especies y 90 géneros. Inicialmente se cultivaban variedades monoicas, con flores masculinas y femeninas en una misma planta, sin embargo, desde hace más de 40 años se comercializan plantas ginoicas con flores femeninas exclusivamente, productoras de frutos partenocárpicos. Se trata de plantas trepadoras anuales y se cultiva por sus frutos carnosos y comestibles. Posee un



Figura 3. Plantas de pepino utilizadas en el ensayo. Fuente: Tecnova.

sistema radial muy potente, el cual puede alcanzar de más de 1 m si las condiciones del suelo lo permiten. Los tallos son anuales y herbáceos, con crecimiento indeterminado y muy ramificado, son de color verde y sección cuadrangular o cilíndrica. Tanto los tallos principales como los secundarios son ásperos al tacto. La planta puede comportarse como rastrera o trepadora si se entutora (Figura 3). Las hojas son pecioladas, grandes, opuestas a los zarcillos, simples, alternas, recubiertas de vellosidad de tacto áspero. Su fruto es un pepónide de forma cilíndrica y alargada, de sección circular y peso y tamaño variable, color verde oscuro o amarillento en su madurez (Reche et al., 2011).

El calabacín, al igual que el pepino, es una planta perteneciente a la familia de las cucurbitáceas, cuyo nombre científico es *Cucurbita pepo*, con flores regulares, fruto en baya, de tamaño grande con un pericarpo fuerte y resistente, procedente de un ovario ínfero y sincárpico (Figura 4). La especie *Cucurbita pepo* comprende dos variedades botánicas, la variedad “condensa” u “oblonga” y la variedad “ovifera”, siendo la primera a la que pertenecen los calabacines. Se trata de una planta anual y de crecimiento indeterminado. Presenta una raíz principal de la que salen otras secundarias. Su sistema radicular en cultivos protegidos suele ser superficial, no superando 25 a 30 cm en terrenos enarenados. El tallo presenta atrofia de brotaciones



Figura 4. Plantas de calabacín utilizadas en el ensayo. Fuente: Tecnova.

secundarias, con crecimiento en forma sinuosa, no erecto, alcanzando desarrollo de hasta un metro de longitud. De tacto áspero, cilíndrico y superficie pelosa, grueso y consistente, con entrenudos de donde parten hojas, flores frutos y numerosos zarcillos que nacen junto al pedúnculo del fruto. Sus flores son grandes, solitarias, vistosas, axilares, de color amarillo, acampanadas y con un largo pedúnculo. Pueden ser masculinas o femeninas, coexistiendo ambos sexos en una misma planta monoica. La polinización es entomófila o cruzada (Reche et al., 2000).

3.3. CONTROL BIOLÓGICO EN CULTIVOS HORTÍCOLAS.

La favorable climatología de las zonas mediterráneas del sur de Europa, junto con la situación geográfica de España y la proximidad a los mercados europeos han sido dos de los factores fundamentales en el desarrollo de los cultivos bajo invernadero. Bajo estas condiciones, el sector de la agricultura intensiva ha impulsado el desarrollo económico de Almería desde la década de los setenta. De este modo, la producción hortícola bajo invernadero ocupa en la provincia 29.496 ha, representando la mitad de superficie invernada de España y consolidándose como el principal exponente de la agricultura intensiva (Ferraro et al., 2008), teniendo su producción un perfil principalmente exportador y situándose en el 22% de PIB de la provincia almeriense y el 4% del PIB del país. (MAGRAMA, 2015). Las cifras alcanzadas han sido resultado de la confianza invertida en el sector almeriense por parte de los mercados nacionales y europeos, no sin antes haber tenido situaciones difíciles, como la surgida en 2006 por el uso de Isofenfos-Metil, pesticida no autorizado encontrado en partidas de pimiento procedente de Almería y que causó la pérdida de la confianza de los mercados internacionales con los productos nacionales, de tal manera que la cuota de mercado del pimiento español en el mercado alemán pasó de tener un 43% en 2006 a un 30% en 2007 tras la crisis producida por el uso de pesticidas ilegales. Esta situación significó el punto de partida de la llegada del control biológico a la provincia de Almería, aunque su llegada se hiciera más adelante debido a cuestiones técnicas (Losilla, 2007).

Hasta esta fecha y con la justificación de abastecer los mercados se realizó un uso intensivo de productos químicos para soportar la producción agrícola presente en la provincia con la finalidad de abastecer a los mercados extranjeros (García, 2011). Bajo estas condiciones, todos los invernaderos arrastraron un historial de tratamientos químicos a lo largo de años de cultivo, siendo un gran obstáculo técnico la implementación del control biológico a causa del efecto tóxico de plaguicidas de diferentes orígenes sobre la fauna auxiliar, dado que podrían seguir presentes tanto en el suelo como en las estructuras del invernadero debido a las diferentes persistencias de los contaminantes y problemas derivados del uso de plaguicidas en

los cultivos vecinos, que afectaban a la implementación del control biológico (van der Blom, 2009). Además, otro problema técnico derivaba de la idea de que el desarrollo del control biológico para los invernaderos existentes implica mucho más que solamente el seleccionar enemigos naturales y soltarlos, haciendo necesaria una profunda revisión de todo el sistema de cultivo, incluyendo la estructura del invernadero y el manejo del cultivo, para facilitar la actuación y la reproducción de la fauna auxiliar que se ha de emplear y respetar (van der Blom, 2009). En 1991, la Delegación Provincial de la Consejería de Agricultura y Pesca, desarrolló junto con algunas cooperativas, empresas del sector y agricultores interesados, la experimentación y puesta a punto del CB como medida de actuación del IMP. El objetivo fundamental era el control racional y eficaz de las plagas y enfermedades, reduciendo la cantidad de residuos en los productos (Badii *et al.*, 2006). De este modo, en la campaña 2005-2006 se aplicó control biológico en 150 ha de pimiento en Almería, de las que un 70% obtuvieron resultados satisfactorios, en la siguiente campaña se aumentaron en 650 ha, obteniendo resultados positivos, dado que se evitó utilizar el uso de insecticidas químicos de amplio espectro. Dadas las condiciones de los cultivos de la provincia almeriense, que empiezan a plantarse en verano, existe una enorme presión de plagas y temperaturas extremas dentro del invernadero, que pueden llegar a alcanzar hasta 60 °C, además de la cercanía y solape de diferentes cultivos y ciclos. Debido a estas condiciones, se puede decir que es a partir del año 2007 cuando la experiencia en manejo de los cultivos y los productos necesarios dieron lugar al inicio de los éxitos en control biológico, siendo el pimiento el cultivo donde más éxito ha tenido. El protagonista de este éxito fue un ácaro depredador llamado *Amblyseius swirskii* (van der Blom *et al.*, 2010). Este ácaro se empezó a producir a gran escala en 2006-2007, y su empleo en el cultivo de pimiento demostró una gran capacidad de control de dos de las principales plagas de este cultivo: el trips y la mosca blanca, los cuales eran difíciles de controlar mediante otros OCBs (Losilla *et al.*, 2010).

Tras los primeros éxitos obtenidos en control biológico, el siguiente paso fue implantar estos productos en la agricultura almeriense. De este modo, en 2008, de las 32.000 ha útiles de cultivo bajo invernadero, 18.000 estaban sometidas a las técnicas de control biológico o lucha integrada (van der Blom *et al.*, 2010). A esta mejora y perfeccionamiento de los cultivos hortícolas almerienses se le conoce como la “Revolución verde almeriense” cuya campaña 2007-2008, marcó un antes y un después en el incremento de la superficie cultivada bajo este sistema, que sigue en aumento hoy en día y, que convirtió a la provincia en un referente a nivel mediterráneo y mundial en la aplicación exitosa de las estrategias de CB de plagas (van der Blom *et al.*, 2010).

A pesar de que la introducción del control biológico en horticultura en España se produjo durante la última década, este ya era ampliamente utilizado en fruticultura, más concretamente en cítricos, donde su empleo se hacía desde hacía más de ochenta años (van der Blom, 2002), de este modo, es a principio de los años 20 cuando en España se obtienen los primeros éxitos en control biológico con la introducción del coccinélido *Novius cardinalis* como remedio contra una nueva plaga existente en aquel entonces, la cochinilla acanalada *Icerya purchasi* (García Marí et al., 1994). En la actualidad, se han instaurado en el campo almeriense empresas nacionales y extranjeras con el fin de crear biofábricas de enemigos naturales para satisfacer la demanda del sector hortícola en la región (van der Blom et al., 2010). Además, la aplicación de un sistema de control biológico es a día de hoy un pilar fundamental en la calidad final de los frutos para su comercialización (Vila et al., 2014), teniendo en el cultivo de pimiento su mayor exponente, dado que el 95% de estos cultivos tienen implantado el control biológico como herramienta para el control de plagas mediante la utilización de ácaros fitoseidos y heterópteros antocóridos del género *Orius* (van der Blom et al., 2010).

3.4. IMPORTANCIA DEL USO DE INSECTOS DEPREDAADORES Y PARASITOIDES EN LA HORTICULTURA INTENSIVA.

En el cultivo de pimiento bajo invernadero una de las plagas más importante es la causada por el trips (*Frankliniella occidentalis*) (Figura 5), con un alto nivel de resistencia acumulado frente a tratamientos químicos. Debido a ello, se realizaron dinámicas de tratamientos frecuentes con bajos resultados de control. Otra de las principales plagas en este cultivo que causa numerosas pérdidas es la mosca blanca (*Bemisia tabaci*) y la oruga *Spodoptera exigua*. En la actualidad, el problema de trips en pimiento se ha solucionado realizando sueltas del enemigo natural *Orius laevigatus*. Además, el control de mosca blanca ha llegado a tener éxito gracias al ácaro depredador *Amblyseius swirskii*, el cual devora los huevos de la mosca blanca. A día de hoy, la mayoría de plagas en pimiento pueden ser controladas implementando planes de control biológico mediante la utilización de enemigos naturales, sin embargo, tal es el caso de otras plagas que aún no han llegado a solventarse mediante el uso de insectos depredadores, como es el caso de *Spodoptera exigua*, que en la actualidad es controlada mediante la utilización de un Virus de Poliedrosis Nuclear (van der Blom et al., 2010).



Figura 5. Detalle a la lupa binocular de un adulto de *F. occidentalis*. Fuente: Tecnova

En el cultivo de tomate actualmente no se producen grandes pérdidas por plagas como puedan ser las causadas por el virus de la cuchara (TYLCV), el cual es transmitido por la mosca blanca. Se han desarrollado programas de control biológico de suelta de enemigos naturales los cuales controlan algunas plagas de insectos, sin embargo, existen otras plagas a día de hoy, como es el caso del “*vasates*” (*Aculops lycopersici*) (van der Blom et al., 2010), ácaro de muy pequeño tamaño proveniente de Australia. Se trata de una plaga secundaria que afecta a cultivos hortícolas y de la cual aún no existen enemigos naturales disponibles en el mercado por lo que se está investigando en busca de nuevos depredadores de esta plaga, como por ejemplo la evaluación de la eficacia del ácaro depredador *Amblyseius andersoni* (Banderas et al., 2012). Además, la aparición de la polilla del tomate (*Tuta absoluta*), la cual es propensa a desarrollar resistencia a plaguicidas, volviéndose una plaga persistente, hace que el control biológico sea una alternativa cada vez más obligada. Por el momento, para esta plaga existen enemigos naturales como los míridos (*Nesidiocoris tenuis*) como buenos depredadores de *T. absoluta* además de la utilización conjunta de *Bacillus thuringiensis* para el control de dicha plaga mientras alternativamente se sigue experimentando con otros enemigos naturales para su control (van der Blom et al., 2010).

En cuanto a las cucurbitáceas como el calabacín y el pepino cultivados en invernadero, estos tienen ciclos cortos entre 3 y 4 meses, por lo que el control biológico es más limitado en estos cultivos, esto hace que las especies utilizadas tengan que actuar rápidamente y ser económicas. En la actualidad se trata casi exclusivamente con ácaros depredadores o himenópteros parasitoides, siendo *Amblyseius swirskii* la base para el control de mosca blanca (*Bemisia tabaci*) y trips, (van der Blom et al., 2010) Estas son causantes en las pérdidas de rendimiento debido a la extracción de nutrientes de la planta y a la negrilla formada sobre la melaza acumulada en las superficies de la planta (Byrne et al., 1990). El trips de las flores (*Frankiniella occidentalis*) afecta especialmente a las variedades de pepino de fruto largo tipo holandés, dado que se trata de un fruto alargado con una piel bastante fina, produciendo en ellos cicatrices y malformaciones (Castañé et al., 2009). Además se han observado problemas con el pulgón (*Aphis gossypii*), el cual ha tenido mayor incidencia durante los últimos años. En la actualidad, el control de esta plaga se realiza mediante la suelta de *Aphidius colemani* y otras avispas parasitoides, las cuales pueden implantarse en los cultivos utilizando plantas reservorio o “banker” infestadas con pulgón del cereal (*Sitobion avenae*). En pepino, además de en otros cultivos, se ha observado el rejuvenecimiento de las plantas y un alargamiento de su ciclo de producción por la reducción en el uso de tratamientos químicos en el control de

plagas, por lo que el control biológico en pepino aumentará significativamente en el futuro (van der Blom et al., 2010).

En el cultivo de la berenjena solo se ha llegado al 42% del total de 1.500 ha de berenjena en Almería a pesar de la influencia que ejercen las plagas sobre los cultivos de esta hortaliza. Las plagas mayoritarias son la mosca blanca (*Bemisia tabaci*) y trips (*Franklinella occidentalis*), que son controladas con el ácaro depredador *Amblyseius swirskii*, la avispa parásita *Eretmocerus mundus* y el chinche depredador *Nesidiocoris tenuis*, siendo el resto de plagas secundarias controladas por sueltas de diferentes enemigos naturales por focos con la utilización conjunta de productos fitosanitarios compatibles. En general, no se han visto mermadas las producciones de la berenjena a causa de estas plagas (van der Blom et al., 2010). En general, algunas de las especies de insectos depredadores más importantes en la actualidad en control biológico son *Amblyseius swirskii*, *Aphidius colemani*, *Orius laevigatus* y *Nesidiocoris tenuis*; los cuales han sido utilizados para evaluar el efecto de los fitofortificantes sobre las poblaciones de estos enemigos naturales en este estudio. Algunas de sus características principales están detalladas a continuación.

Nesidiocoris tenuis

Aparece con alta frecuencia y abundancia en los cultivos protegidos del litoral mediterráneo e Islas Canarias. Su abundancia y alta eficacia hace que se utilice en control biológico. Su ciclo biológico comprende 5 estadios ninfales, estado adulto y estado de huevo (Figura 6). Los estadios ninfales se diferencian por el tamaño, que aumenta con el desarrollo, y por la aparición de esbozos alares en los dos últimos estadios. Los adultos son los únicos que tienen capacidad de vuelo. Adultos y ninfas pueden desplazarse sobre la superficie de las hojas con gran movilidad, lo cual les confiere gran capacidad de búsqueda de presas. *N. tenuis* puede alimentarse a lo largo de todas sus fases de desarrollo. Tras detectar a una presa, clava su estilete para posteriormente succionar sus jugos internos. Este mírido puede alimentarse de ninfas de mosca blanca, *Tuta absoluta*, trips, pulgones, larvas de minador, huevos y larvas jóvenes de orugas y arañas rojas. Puede desarrollarse en cultivos como tomate, pimiento, berenjena, cucurbitáceas, judía, etc.,.



Figura 6. Detalle de ejemplar adulto de *Nesidiocoris tenuis*. Fuente: Tecnova

Amblyseius swirskii

Es una especie adaptada a las condiciones climáticas propias de los países de la cuenca mediterránea, es decir, a condiciones cálidas y relativamente húmedas, por lo que podemos encontrarlo en numerosos cultivos de las regiones del este Mediterráneo (Figura 7). El desarrollo de *A. swirskii* pasa por los siguientes estados: huevo, larva, protoninfa, deutoninfa y adulto. El desarrollo desde huevo hasta adulto puede llevar tan sólo cinco o seis días cuando la temperatura es de 26 °C. Si existe suficiente comida, *A. swirskii* realiza una puesta de dos huevos por hembra y día. Los adultos son casi transparentes cuando se alimentan de larvas de trips, adquiriendo coloración ligeramente amarilla o rosada cuando se nutren de polen o de ácaros tetraníquidos. Su movilidad es limitada, ya que no pueden volar, desplazándose en las plantaciones a través de las hojas que están en contacto con las hojas de la planta vecina. Este ácaro se comporta como un eficaz depredador de las larvas jóvenes de varias especies de trips, y los huevos y larvas de mosca blanca. Los cultivos principales en los que *Amblyseius swirskii* puede desarrollar su actividad con eficacia son berenjena, pepino y pimiento.



Figura 7. Ejemplar de *Amblyseius swirskii* en hoja de planta de pepino. Fuente: Tecnova

Aphidius colemani

Aphidius colemani es un himenóptero endoparásito, de la familia Aphidiidae que desarrolla su ciclo larvario en el interior del cuerpo de su huésped, del cual saldrá después un parásito nuevo (Figura 8). Los estados que constituyen el ciclo de vida de *A. colemani* son huevo, 4 estadios larvarios, pupa y adulto. La duración del desarrollo de *A. colemani* es de aproximadamente 14 días. La hembra coloca el huevo en el interior del pulgón, de esta manera, dentro del mismo se desarrollan los 4 estadios larvarios. En el estadio de pupa el pulgón se hincha formando la característica momia de la que eclosiona la avispa parásita. El adulto de *A. colemani* vive de 2 a 3 semanas como máximo.



Figura 8. Ejemplar de *Aphidius colemani* sobre hoja de calabacín. Fuente: Tecnova.

Orius laevigatus

Se distribuye por todos los países circun-mediterráneos, las Islas Británicas, Canarias, Madeira y Azores. En España está ampliamente presente, siendo una de las especies más frecuentes y abundantes depredadores de trips. El ciclo de vida de *O. laevigatus* pasa por los estados de huevo, cinco estadíos ninfales y adulto. La duración del desarrollo total alimentando las larvas con adultos de *Frankliniella occidentalis* es de 15 días a 26 °C. *O. laevigatus* presenta una gran movilidad y en estado adulto puede volar, de modo que se mueve fácilmente de un lugar a otro y así puede localizar nuevas presas. Tanto los adultos como las larvas y ninfas, actúan sobre larvas y adultos de trips. Es bastante polífago ya que puede alimentarse también de pulgones, huevos de lepidópteros, larvas de aleuródidos y ácaros. En ausencia de estas presas puede consumir polen (figura 10 del anexo). Los adultos y ninfas de *Orius laevigatus* pueden observarse en el interior de las flores a simple vista, especialmente en aquellas ricas en polen, así mismo pueden aparecer en el brote terminal de la planta donde las hojas jóvenes están juntas.

3.5. IMPORTANCIA DEL ESTUDIO DE LOS EFECTOS PRODUCIDOS POR DISTINTOS FITOFORTIFICANTES SOBRE LA FAUNA AUXILIAR.

En la actualidad, se han ido desarrollando numerosos trabajos sobre la compatibilidad de productos plaguicidas y fertilizantes y la fauna auxiliar, esto es debido a que los tratamientos que una planta recibe a lo largo de su ciclo de vida suelen ser abonados, fertilizantes, fitosanitarios, fungicidas. Esta interacción es denominada generalmente como efectos secundarios. Los fertilizantes están integrados en el ciclo de las plantas. Asimismo, las empresas de fitosanitarios (generalmente multinacionales) realizan sus propios ensayos de biocompatibilidad con los nuevos productos que sacan al mercado, aportando de este modo algo de información sobre la interacción de ambos sistemas, sin embargo, los fitofortificantes son productos de reciente introducción a los cultivos, y debido a la inexistencia de estudios previos, esta labor se hace necesaria realizar para ver la interacción de los productos fitofortificantes o fortificantes sobre la fauna auxiliar para garantizar la compatibilidad de muchos de ellos considerados como inocuos. De este modo, Los efectos perjudiciales de los productos fitosanitarios sobre enemigos naturales, como regla general, evalúan solamente los efectos directos debidos, a su vez, a la toxicidad directa. Para ello se emplea una metodología de ensayos, puesta a punto en los últimos 30 años, por la Organización Internacional de Lucha Biológica, Sección Paleártica Occidental (IOBC/wprs).

En general, los fortificantes son de origen natural, su composición está basada en extractos de algas, feromonas utilizadas como atrayentes de insectos, compuestos que vigorizan las plantas o fortalecen sus resistencias, extractos de otros vegetales, aminoácidos, micronutrientes y otras procedencias de origen orgánico, sin embargo, los efectos secundarios de algunos formulados pueden no tener su origen en los principios activos, sino en los aditivos que puedan ser disolventes, coadyuvantes, etc (Bielza, 2007). De este modo, se hacen necesarios estudios sobre sus efectos secundarios de la misma forma que sucede con otros productos de origen químico.

5. MATERIAL Y MÉTODOS

4.1. DATOS CLIMÁTICOS

Los parámetros climáticos de temperatura y humedad relativa del aire dentro del invernadero fueron monitorizados durante el ensayo de forma continua, mediante un psicotransmisor marca Nutricontrol que contenía dos sondas de temperatura: una sonda para realizar las medidas de temperatura seca, y la otra sonda para realizar las medidas de temperatura húmeda. El psicotransmisor realizó la toma de datos cada minuto, obteniendo valores promedios cada 5 min. En la Figura 9 se detalla el registro de datos ambientales durante el intervalo de tiempo en el que se realizaron los ensayos.

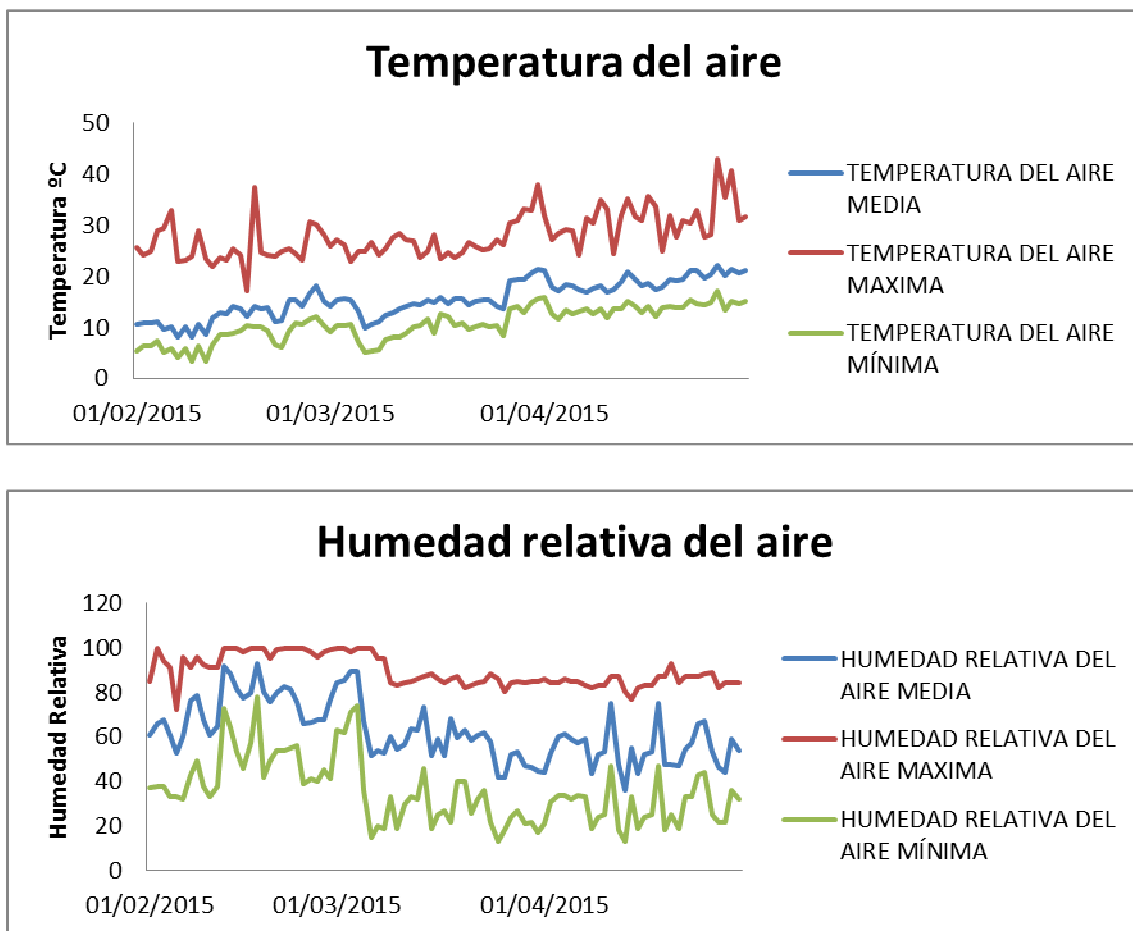


Figura 9. Variación de la temperatura y humedad máxima, media y mínima del aire durante los días de realización de los ensayos.

4.2. FITOFORTIFICANTES ENSAYADOS

Los fitofortificantes evaluados en el presente estudio se describen a continuación. Adicionalmente se incluyó un acaridita-insecticidad como control positivo.

Agribest: Está compuesto por extractos e inertes (alginato y alcoholes) cuya actuación física adhiere y elimina pequeños insectos perjudiciales para los cultivos, favoreciendo asimismo la limpieza y desarrollo de la superficie foliar de la planta. Actúa como trampa física, contiene gelificantes que limpian la superficie foliar y no contiene residuos fitosanitarios. La dosis aplicada fue de 2 3 L de producto por 1000 L de agua.

Botrybel: Es un producto orgánico obtenido mediante fermentación sumergida de un sustrato vegetal por *Bacillus velezensis* cepa AH2, aislada de suelos de la península ibérica (cepa autóctona), depositada en la colección Española de Cultivos tipo (CECT-7221) en concepto de patente, el cual contiene esporas de esta bacteria en una concentración mayor de 10^8 unidades formadoras de colonias por mililitro de formulado (UFC/mL). La dosis aplicada fue de 15 mL/L.

Milagrum plus: Este producto está formulado con un 60% de fosfoglicéridos y extractos vegetales fermentados Favorece que los cultivos desarrollen resistencia frente a los efectos adversos relacionados con ataques de mildiu. Asimismo mitiga los efectos de la necrosis celular del limbo foliar causada por la diseminación de las hifas de los hongos en las células vegetales. Por otra parte fortalece la pared celular con una capa nutri protectora así como activa el sistema de defensa de la planta y aumenta el vigor de la planta debido al efecto de las proteínas residuales modificadas y de los metabolitos energizantes. Se administró mediante aplicación foliar con una concentración de 2,5-3 mL/L.

Agritrap foliar: Su composición es una suspensión concentrada a base de alginato al 100% p/v. Es un producto con un mecanismo de acción puramente físico, basándose en la propiedad de algunos polisacáridos naturales de atrapar pequeños insectos como áfidos, aleuródidos, psilla, cochinillas, etc. sobre plantas suelo y otras estructuras, reduciendo el número de los mismos. Tiene una elevada eficacia y un efecto muy rápido sobre la plaga. Es compatible con las estrategias de control biológico de plagas, así como con el uso de polinizadores. La dosis recomendable para su aplicación foliar es de mL/L de agua (0,3%).

Aminolom protector: Su composición se basa en un extracto vegetal con polisacáridos y ácidos orgánicos 40% (p/p) y aminoácidos libres 2% (p/p). Es un producto que contiene unos principios activos procedentes de extractos vegetales, entre ellos polisacáridos, ácidos

orgánicos y vitaminas con capacidad de activar los sistemas de defensa de la planta. Asimismo contiene aminoácidos que estimulan el metabolismo vegetal y mejora la absorción del producto. Se diluyó el producto a la dosis de 150 mL/100 L, junto con Brotolom Total a la dosis de 250 mL/ 100L.

Brotolom Total/Aminolom protector: La composición es una mezcla de extractos vegetales solubilizados en agua 100% (p/p), para la aplicación en todo tipo de cultivos. Es un producto indicado para la prevención de enfermedades asociadas a hongos y bacterias en diversos cultivos. En hortícolas previene diversas enfermedades fúngicas, como mildiu, botritis, alternaria, etc., pero es especialmente importante su acción preventiva de las bacteriosis. Se diluyó al 0,15% mezclado con el producto Aminolom protector en las mismas concentraciones.

Biozufre (Servalesa): Se compone de un 40% de peróxido de azufre. El pequeño tamaño de la molécula de azufre es la causante de la sistemía del producto. Con la sistemía del producto se puede aplicar vía fertirrigación o foliar consiguiendo una mayor persistencia del producto y mayor intervalo de acción de éste. Es eficaz para contrarrestar los daños que puede provocar el oidio en diferentes cultivos como hortícolas. Además, los vapores que desprende el azufre ayuda en la lucha contra los ácaros, siendo el Biozufre un producto selectivo respetuoso con la fauna auxiliar. La dosis utilizada fue de 2,5 mL/L vía foliar.

Abamectina (control positivo): Pertenece al grupo químico de las avermectinas, su origen es natural, producido por el microorganismo *Streptomyces avermitilis*. Es utilizado en agricultura como acaricida-insecticida y su actividad es traslaminar. La molécula de Abamectina actúa sobre el sistema nervioso de las plagas a través de dos vías. Por contacto contra las plagas en el exterior de la hoja y por ingestión contra las plagas que se alimentan de la savia como es el caso de los ácaros y minadores de la hoja. La Abamectina dentro del cuerpo del ácaro o insecto estimula la liberación de ácido gamma-amino butírico (GABA) represor de señales nerviosas, que provoca la parálisis muscular del insecto dos horas después de la aplicación, por lo que el insecto no se alimenta, y no se reproduce evitando así el daño al cultivo.

4.3. EVALUACIÓN DE LOS PRODUCTOS FITOFORTIFICANTES MEDIANTE ENSAYOS DE LABORATORIO.

Se realizaron dos tipos de ensayos:

- Experimento 1: Este tipo de ensayo fue realizado en el laboratorio. Éstos no fueron realizados por el autor del presente trabajo, pero los datos obtenidos han sido analizados en el presente estudio, y está justificada su inclusión en el contexto del mismo.

- Experimento 2: Los ensayos se han desarrollado en jaulas experimentales colocadas dentro de un invernadero. Estos ensayos si han sido llevados a cabo por el autor del presente trabajo.

Los ensayos en jaulas experimentales fueron realizados en el Centro Experimental del Centro Tecnológico Tecnova, en el Paraje Cerro Gordo, en el término municipal de Viator, con la ayuda del personal técnico del centro. Para ello, se

utilizaron frascos de recogida de muestra con 20 mL de una disolución de agar al 2% solidificada con el propósito de mantener la humedad en los mismos durante todo el ensayo (Figura 10). Para el tratamiento foliar se utilizó un pulverizador con el que aplicar los distintos fitofortificantes sobre discos de hoja (Figura 11), y para el manejo de los enemigos naturales un aspirador entomológico. Se recogieron



Figura 10. Frascos de recogida de muestra con una disolución de agar al 2%. Fuente: Tecnova.

50 hojas del invernadero, y seguidamente, de cada hoja se extrajeron discos de hoja de 17 cm² con un sacabocados. Para cada producto ensayado se utilizaron 12 discos (Figura 12), correspondiendo a 3 repeticiones y 4 muestras por repetición. Este procedimiento permite obtener un número suficiente de datos con los



Figura 11. Hojas cortadas en forma de disco. Fuente: Tecnova.

que hacer el análisis estadístico. Además, se utilizaron 12 discos para la sustancia de

referencia positiva (abamectina), y otros 12 para el tratamiento control negativo con agua.

Una vez recortados los discos de las hojas con la medida del frasco de recogida, éstos fueron pulverizados con los distintos productos fitofortificantes y con abamectina para el control positivo o con agua para el control negativo, todos ellos sobre un papel de filtro (Figura 12). A continuación los discos de hoja se colocaron en los frascos de recogida de muestra en los que previamente se habían dispensado y permitido solidificar a 20 mL de



Figura 12. Pulverizador y detalle de los discos de hoja tratados. Fuente: Tecnova.

agar al 2%. En todos los casos los discos de hoja, previamente tratados, se colocaron en los frascos con el envés hacia arriba.

Una vez preparadas las muestras para el ensayo, a las hojas de cultivo de tomate se añadieron huevos de *Ephestia kuehniella* (alimento del enemigo natural *Nesidiocoris tenuis*), seguidamente se introdujeron 5 adultos de *Nesidiocoris tenuis* en cada envase mediante la utilización de un aspirador entomológico y se evaluó la mortalidad del enemigo natural a las 24, 48 y 72 horas de su suelta en la muestra.

Para las hojas de cultivo de pepino, una vez preparadas las muestras se suministraron individuos de *Carpoglyphus lactis* que sirvieron como alimento específico del depredador *Amblyseius swirskii* del cual se introdujeron posteriormente 4 individuos adultos en cada envase mediante un aspirador entomológico, y se evaluó la mortalidad del enemigo natural a las 24, 48 y 72 horas. La lupa binocular para la identificación del estado de estos auxiliares fue necesaria ya que no se veía a simple vista por el tamaño del enemigo natural.

Para el cultivo de calabacín se introdujeron tiras de papel con miel como fuente de alimento para el enemigo natural de interés, seguidamente se introdujeron 4 individuos de *Aphidius colemani* mediante un aspirador entomológico en cada envase, y se evaluó la mortalidad del enemigo natural a las 24, 48 y 72 horas.

Para el cultivo de pimiento se introdujeron 5 individuos de *Orius laevigatus* en cada envase, en el mismo sustrato donde se presentó el insecto, el cual ya tenía alimento, a continuación se evaluó la mortalidad del enemigo natural a las 24, 48 y 72 horas del inicio del experimento.

4.4. EVALUACIÓN DE LOS PRODUCTOS FITOFORTIFICANTES CON ENSAYOS EN SEMICAMPO.

Se realizó un ensayo en semicampo para evaluar los efectos secundarios producidos por los fitofortificantes previamente evaluados en laboratorio sobre los enemigos naturales *Nesidiocoris tenuis*, *Orius laevigatus*, *Aphidius colemani* y *Amblyseius swirskii* soltados en cultivos de tomate, pimiento, calabacín y pepino, respectivamente. El ensayo fue llevado a cabo en un invernadero de tipo multitúnel de 4.896 m² de superficie total, en tres de sus seis sectores de riego, de 810 m² de superficie cada uno (Figura 13). La estructura de este invernadero es de tubos de acero galvanizado y alambre, con cerramientos laterales y cenitales de cubierta plástica flexible, con una altura en la cumbrera de 4 m, en el canalón de 2,5 m y una altura del emparrillado de 2,5 m (Figura 14). Dicho invernadero dispuso de

pantalla de sombreo interior, sistema de humidificación y de sistemas de ventilación lateral y cenital pasiva mediante ventanas, con sistema de apertura y cierre automatizada. Para la realización de este ensayo se construyeron 24 jaulones fijos desechables utilizando como material de cerramiento film plástico transparente de 100 galgas de espesor, con una superficie de 24 m² por jaulón (3 m de profundidad, 8 m de anchura y 2,5 m de altura) (Figura 15).

Las plántulas de pepino y de calabacín fueron trasplantadas con 20 días de edad desde su germinación en semillero. Las plántulas de tomate y de pimiento fueron trasplantadas con 30 días de edad desde su germinación en semillero. Durante todo el ensayo, los cultivos evaluados recibieron una solución nutritiva estándar mediante episodios de riegos aplicados a través de la instalación de riego por goteo, aportando una solución nutritiva cuya composición se detalla en la Tabla 1.

Una vez trasplantado el cultivo en los sacos de perlita (del día 10 del 03 de 2015), se mantuvo en el invernadero durante un periodo de tiempo de 20 días para favorecer su desarrollo vegetativo y la formación de al menos seis hojas verdaderas expandidas por planta. Transcurrido este periodo de tiempo, se realizaron las sueltas de insectos por jaula y repetición, realizando 3 repeticiones para cada tipo de fitofortificante evaluado. En total se fabricaron 24 jaulas por tipo de cultivo y organismo de CB estudiados, evaluándose las 6 materias activas más el tratamiento control con agua y un tratamiento de referencia con abamectina que es un insecticida-acaricida.



Figura 13. Finca e invernadero donde se realizaron los ensayos en condiciones de semicampo. Fuente: Tecnova



Figura 14. Vista exterior del invernadero donde se realizaron los ensayos en condiciones de semicampo. Fuente: Tecnova



Figura 15. Distribución de las distintas jaulas realizada durante el ensayo en semicampo. Fuente: Tecnova.

Tabla 1. Composición química de la solución utilizada para el riego.

Parámetro	NO ₃ ⁻	NH ₄ ⁺	Ca ⁺⁺	Mg ⁺⁺	H ₂ PO ₄ ⁻
(m mol L ⁻¹)	10	0,6	6	3,5	2

Las sueltas se realizaron siguiendo las recomendaciones de las empresas suministradoras: Agrobío, Koppert y BGreen. Así, se soltaron en cultivo de tomate 2 individuos adultos de *Nesidiocoris tenuis* por planta, realizando sueltas de 16 individuos por jaula. Además se suministraron huevos de *Ephestia kuehniella* (alimento del *Nesidiocoris tenuis*) mientras aparecían las plagas alimento de este enemigo natural. Para el cultivo de pimiento se soltaron 5 adultos de *Orius laevigatus* por planta, soltando un total de 40 individuos por jaula. Para el cultivo de calabacín se realizaron sueltas de 7 momias o individuos recién emergidos de *Aphidius colemani* por planta, soltando 56 por jaula. Para el cultivo de pepino se realizaron sueltas de aproximadamente 50 individuos de *Amblyseius swirskii* por planta, realizándose sueltas de 400 individuos por jaula. Posteriormente se hicieron comprobaciones para verificar el establecimiento de los enemigos naturales en los cultivos por si hubiera que hacer nuevas sueltas en ellos.

El diseño quedó establecido por jaulas independientes. Se realizaron tres repeticiones para cada uno de los fitofortificantes generando así datos que permitieran extraer conclusiones válidas para su aplicación en semicampo. Constó de 6 tratamientos y dos controles (un positivo y un negativo) entre los tratamientos, según se detalla en la Figura 16.

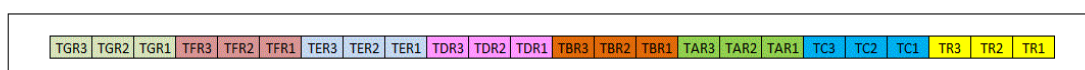


Figura 16. Distribución tratamientos experimentales en las jaulas de los ensayos en semicampo.

Los tratamientos con los fitofortificantes evaluados se realizaron con ayuda del personal técnico de Tecnova una vez establecidos los enemigos naturales en el cultivo utilizando la dosis recomendada por el fabricante. Se realizaron las aplicaciones con equipo de pulverización manual, evitando efectos de deriva química. Las materias activas estudiadas fueron las siguientes: Agribest, Agritrap, Botrybel, Milagrum Plus, Aminolom Protector-Protolom Total aplicados de forma combinada y Biozufre, utilizando agua pulverizada en las jaulas de control negativo y abamectina en la jaula de control positivo.

Los muestreos se realizaron siempre a la misma hora con el fin de evitar errores a la hora de conocer su establecimiento en el cultivo. Estos se realizaron sobre las 8 plantas de

cada jaula muestreando 1 hoja de nivel bajo, 1 hoja de nivel medio y 3 hojas de nivel alto de cada planta, a su vez, en el cultivo de pimiento se realizaron conteos en las flores de la planta dado que pueden observarse en el interior de las flores a simple vista, especialmente en aquellas ricas en polen, puesto que lo consumen en ausencia de presas. Los muestreos se realizaron en los días 3, 7, 14 y 21 después del tratamiento con los productos evaluados para el depredador *N. tenuis*. Para *A. colemani* y *O. laevigatus* se realizaron los muestreos durante los días 3, 7 y 14 después de la aplicación de los productos, finalmente para *A. swirskii* los muestreos se realizaron durante los días 3 y 7 siguientes a la aplicación de los fitofortificantes. A continuación se anotaron los conteos de adultos y ninfas de *Nesidiocoris tenuis* e individuos adultos de *Orius laevigatus*, *Aphidius colemani* y *Amblyseius swirskii*.

4.5. EVALUACIÓN DE LOS EFECTOS SECUNDARIOS DE FITOFORTIFICANTES

La estimación de la mortalidad producida se realizó con el mismo método para todos los insectos auxiliares estudiados y se llevó a cabo mediante las siguientes ecuaciones matemáticas:

$$M = \left(\frac{P_0 - P}{P_0} \right) \times 100$$

Donde;

M: Mortalidad tratada, expresada en tanto por ciento.

*P*₀: Población inicial previa al tratamiento con el producto fitofortificante

P: Población posterior a la aplicación del producto fitofortificante.

$$M_f = \left(\frac{M - M_c}{100 - M_c} \right) \times 100$$

Donde;

M_f: Porcentaje de mortalidad corregida.

M: Mortalidad tratada en la placa problema.

M_c: Mortalidad tratada en la placa control.

Fuente:

Con los datos de mortalidad corregida, los productos fitofortificantes evaluados en el presente trabajo se clasificarán en según su toxicidad sobre la fauna auxiliar de acuerdo a los criterios establecidos por la Organización Internacional de Lucha Biológica e Integrada (OILB) según se especifica en el siguiente diagrama.

Categorías	Mortalidad/reducción de actividad	
	Laboratorio	Semicampo
N. Inocuo o ligeramente perjudicial	<30%	<50%
M. Moderadamente perjudicial	30-79%	51-75%
T. Perjudicial	>80%	>75%

4.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS DATOS.

Los resultados de los porcentajes de mortalidad corregida de los OCBs dentro de cada tipo de escenario se analizaron mediante ANOVA de una vía; seguidos ambos de un test de mínimas diferencias significativas a un nivel de confianza del 95%. Para la realización del análisis estadístico se normalizaron los datos basados en porcentajes mediante el método de transformación angular ($\arcseno x^{1/2}$), y transformando a su vez los datos con valores negativos en valor 0 para normalizarlos. Para el análisis de los datos caracterizados se utilizó el paquete estadístico *Statgraphics XVI. 5.1.* (Statgraphics Corp. CA. EE.UU).

5. RESULTADOS

5.1. EVALUACIÓN EN *Nesidiocoris tenuis*.

Las evaluaciones de la población total de *N. tenuis* fue efectuada *in situ* no precisando de lupa binocular.

A continuación se muestra la evolución de la población de *N.tenuis* para los diferentes tratamientos en condiciones de laboratorio y semicampo. Es interesante observar las tablas adjuntadas en el anexo ya que aparecen las tablas con todos los resultados obtenidos en el estudio.

5.1.1. Ensayo de laboratorio

En la Figura 17 se representa la evolución de la mortalidad corregida de *Nesidiocoris tenuis* para los distintos tratamientos en condiciones de laboratorio. Se puede observar una leve reducción de las poblaciones de insectos con todos los tratamientos empleados, con un mínimo en la reducción para el fitofortificante Agribest (10%), y un valor máximo para los productos Milagram Plus y Abamectina (17%) a las 72 horas de la aplicación de los productos. No obstante, los efectos de los fortificantes han sido leves, por lo que todos los fitofortificantes utilizados se pueden considerar como inocuos (según la OILB).

En la Tabla 2 se recogen los resultados del análisis estadístico de los datos de este ensayo.

5.1.2. Ensayos en semicampo

En la Figura 18 se consideran los resultados obtenidos para la población total (ninfas y adultos conjuntamente) de *Nesidiocoris tenuis* en condiciones de semicampo. Se puede observar una ausencia de efectos nocivos de los fitofortificantes de forma general sobre las poblaciones de este OCBs a los 21 días de la aplicación de los productos. Se observa que todos los fitofortificantes reducen su mortandad en el día 21 respecto al día 3, dándose un aumento de todas las poblaciones, considerándose todos como inocuos (según la OILB).

En la Tabla 3 se recogen los resultados del análisis estadístico de los datos de este ensayo.

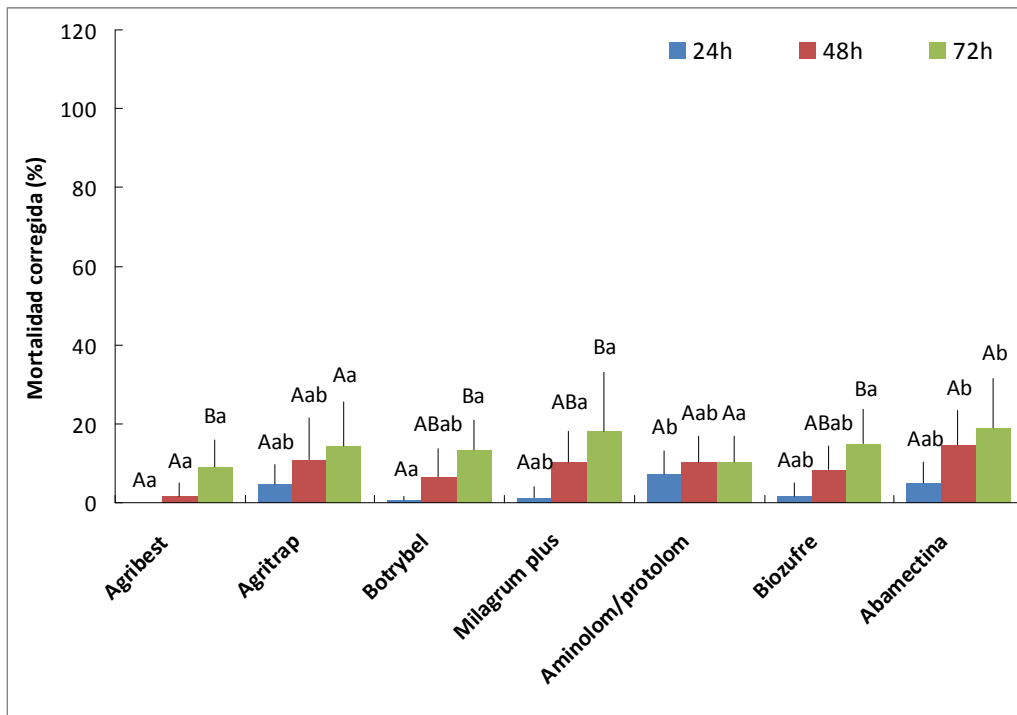


Figura 17. Evolución de la mortalidad corregida (%) de *Nesidiocoris tenuis* en condiciones de laboratorio en distintos momentos después de la aplicación los productos fitofortificantes. Los valores con diferentes superíndices indican diferencias significativas ($P < 0,05$) a lo largo del tiempo para un mismo fortificante (mayúsculas) o entre distintos fitofortificantes para un mismo tiempo (minúsculas).

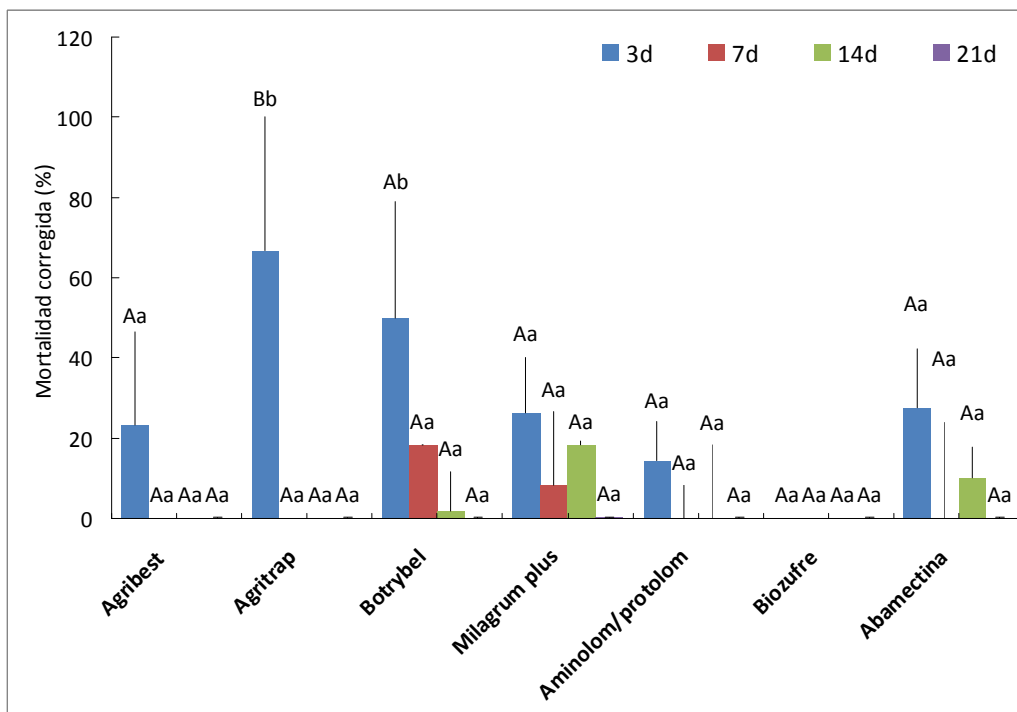


Figura 18. Evolución de la mortalidad corregida (%) de *Nesidiocoris tenuis* en condiciones de laboratorio en distintos momentos después de la aplicación los productos fitofortificantes. Los valores con diferentes superíndices indican diferencias significativas ($P < 0,05$) a lo largo del tiempo para un mismo fortificante (mayúsculas) o entre distintos fitofortificantes para un mismo tiempo (minúsculas).

Tabla 2. Mortalidad corregida de *Nesidiocoris tenuis* obtenida en los ensayos de laboratorio para cada producto fitofortificante a distintos tiempos después de la aplicación del mismo.

Tiempo	Agribest	Agritrap	Botrybel	Milagrum Plus	Aminolom/Protolom	Biozufre	Abamectina	P
24h	0	4,7± 8,6	0,5 ± 1,8	1,4 ± 4,8	7,1 ± 10,5	1,7 ± 5,8	5,0 ± 9,0	0,1388
48h	1,71 ± 5,8	11 ± 18	6,5 ± 12,5	10,1 ± 13,7	10,4 ± 11,0	8,3 ± 10,3	14,7 ± 15,0	0,3029
72h	9,2 ± 11,4	14,3 ± 19,4	13,5 ± 12,9	18,2 ± 25,9	10,4 ± 11,0	15 ± 15,1	19,2 ± 21,1	0,8634
P	0,0600	0,4623	0,0670	0,0810	0,2938	0,0635	0,023	

Tabla 3. Mortalidad corregida de *Nesidiocoris tenuis* obtenida en los ensayos en semicampo para cada producto fitofortificante a distintos tiempos después de la aplicación del mismo.

Tiempo	Agribest	Agritrap	Botrybel	Milagrum Plus	Aminolom/Protolom	Biozufre	Abamectina	P
3d	23,3 ± 40,4	66,7 ± 57,7	50,0 ± 50,0	26,4 ± 23,8	14,4 ± 71,2	0	27,5 ± 25,4	0,1081
7d	0	0	18,3 ± 0,0	8,3 ± 31,8	0	0	0	0,6258
14d	0	0	1,8 ± 17,3	18,5 ± 1,6	0	0	10,0 ± 13,3	0,5477
21d	0	0	0	0	0	0	0	0,4588
P			0,2022	0,6206	0,7903	0,9826	0,8533	

Los valores muestran la media ± d.e (n=3). Los valores con diferentes superíndices indican diferencias significativas (P<0,05) a lo largo del tiempo para un mismo fortificante (mayúsculas) o entre distintos fitofortificantes para un mismo tiempo (minúsculas).

5.2. EVALUACIÓN EN *Amblyseius swirskii*.

A continuación se muestra la evolución de la población de *Amblyseius swirskii* para los diferentes tratamientos en condiciones de laboratorio y semicampo. Las evaluaciones de adultos de *Amblyseius swirskii* efectuadas en laboratorio precisaron de la utilización de una lupa binocular, ya que por el tamaño de los individuos no podía ser observado a simple vista. Por el contrario en el ensayo de semicampo se observaron *in situ* sin la ayuda de una lupa binocular, pues podían diferenciarse fácilmente a simple vista en el envés de las hojas de pepino.

5.2.1. Ensayo de laboratorio.

En la Figura 19 se representa la evolución de la mortalidad corregida de *Amblyseius swirskii* para los distintos tratamientos. Se puede apreciar que todos los fitofortificantes utilizados produjeron una reducción de las poblaciones a las 24, 48 y 72 horas después de la aplicación de los productos. Aun así, ninguno de los productos se considera nocivo para dichas poblaciones, dado que no se producen índices de mortalidad elevada a las 72 horas de su aplicación, siendo el mayor porcentaje el obtenido por el fitofortificante Agritrap con un 13% de mortalidad(según la OILB).

En la Tabla 4 se recogen los resultados del análisis estadístico de los datos de este ensayo.

5.2.2. Ensayo en semicampo.

La Figura 20 muestra que todos los fitofortificantes utilizados a excepción de Agritrap produjeron una reducción de las poblaciones a los 3 días después de la aplicación de los productos, reduciéndose la mortalidad a los 7 días de la aplicación de los productos. Aun así, ninguno de los productos se considera nocivo para dichas poblaciones, dado que no se producen índices de mortalidad elevada a los 7 días de su aplicación, correspondiendo el mayor porcentaje el obtenido para el fitofortificante Botrybel con una mortalidad cercana al 13%. Aun así, todos los fitofortificantes pueden considerarse inócuos (según la OILB).

En la Tabla 5 se recogen los resultados del análisis estadístico de los datos de este ensayo.

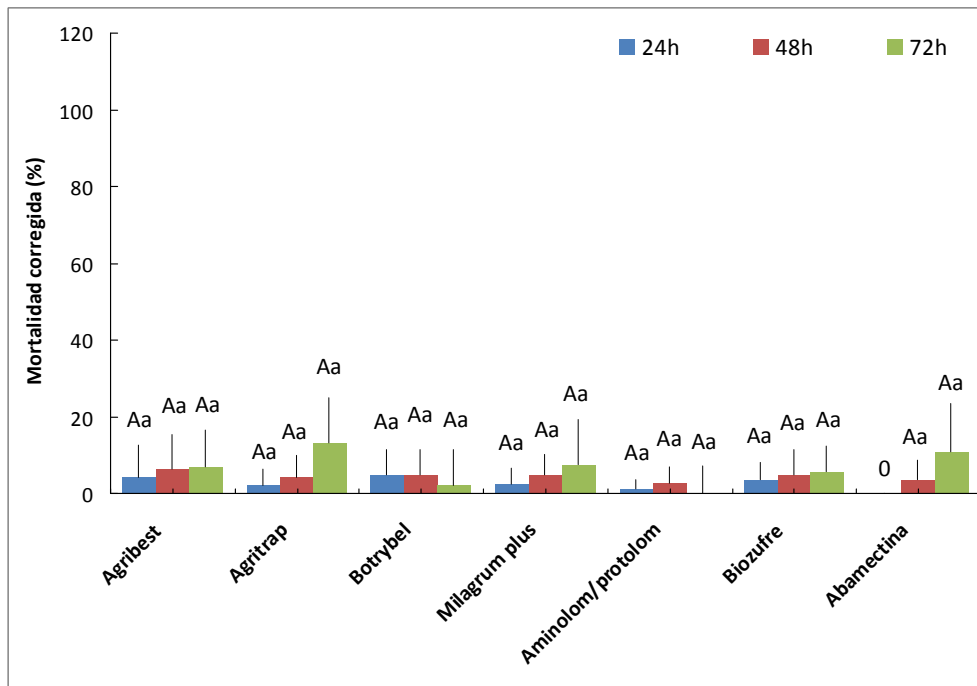


Figura 19. Evolución de la mortalidad corregida (%) de *Amblyseius swirskii* en condiciones de laboratorio en distintos momentos después de la aplicación los productos fitofortificantes. Los valores con diferentes superíndices indican diferencias significativas ($P < 0,05$) a lo largo del tiempo para un mismo fortificante (mayúsculas) o entre distintos fitofortificantes para un mismo tiempo (minúsculas).

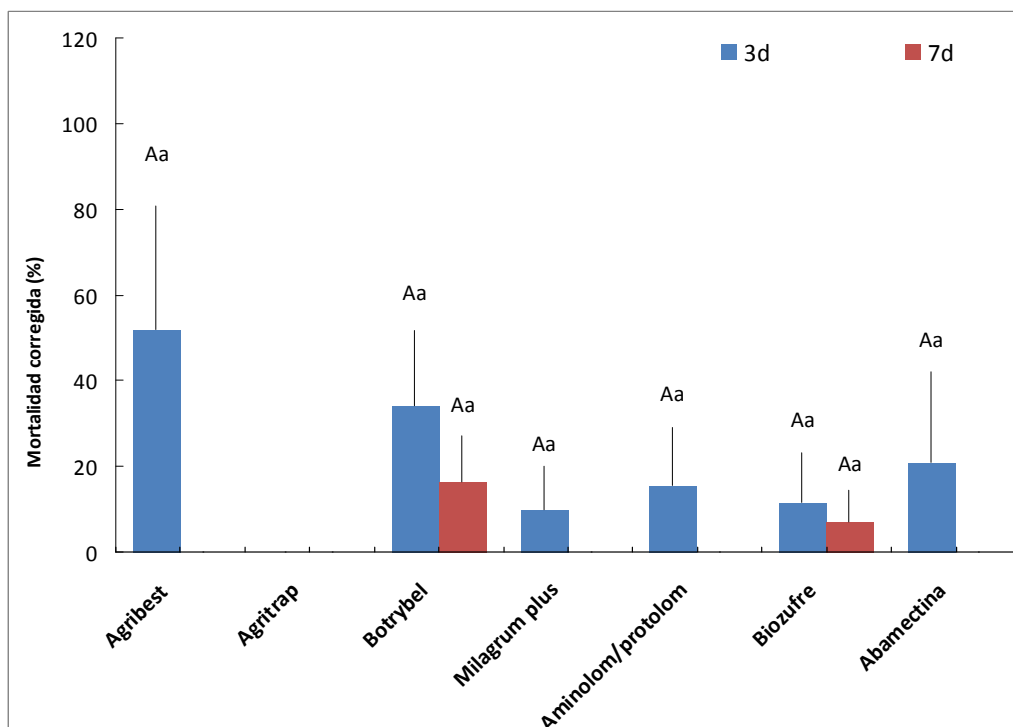


Figura 20. Evolución de la mortalidad corregida (%) de *Amblyseius swirskii* en condiciones de laboratorio en distintos momentos después de la aplicación los productos fitofortificantes. Los valores con diferentes superíndices indican diferencias significativas ($P < 0,05$) a lo largo del tiempo para un mismo fortificante (mayúsculas) o entre distintos fitofortificantes para un mismo tiempo (minúsculas).

Tabla 4. Mortalidad corregida de *Amblyseius swirskii* obtenida en los ensayos de laboratorio para cada producto fitofortificante a distintos tiempos después de la aplicación del mismo.

Tiempo	Agribest	Agritrap	Botrybel	Milagrum Plus	Aminolom/Protolom	Biozufre	Abamectina	P
24h	4,2 ± 14,4	2,1 ± 7,2	4,9 ± 11,5	2,5 ± 7,2	1,2 ± 4,1	3,5 ± 8,3	0	0,8373
48h	6,3 ± 15,5	4,2 ± 9,7	4,9 ± 11,5	4,8 ± 9,6	2,9 ± 6,8	4,9 ± 11,5	3,8 ± 8,8	0,9942
72h	6,9 ± 16,6	13,2 ± 20,6	2,1 ± 15,9	7,4 ± 20,5	0,1 ± 12,5	5,8 ± 11,5	10,7 ± 22,3	0,5279
P	0,9017	0,1261	0,8184	0,0997	0,3842	0,7277	0,003	

Tabla 5. Mortalidad corregida de *Amblyseius swirskii* obtenida en los ensayos en semicampo para cada producto fitofortificante a distintos tiempos después de la aplicación del mismo.

Tiempo	Agribest	Agritrap	Botrybel	Milagrum Plus	Aminolom/Protolom	Biozufre	Abamectina	P
3d	51,9± 50,1	0	34,0 ± 30,4	9,8± 17,3	15,6 ± 23,4	11,5 ± 19,9	20,9 ± 36,3	0,8520
7d	0	0	16,0 ± 18,5	0	0	7,1 ± 12,3	0	0,9586
P	0,6832	0,4623	0,0670	0,8014	0,8577	0,7666	0,5579	

Los valores muestran la media ± d.e (n=3). Los valores con diferentes superíndices indican diferencias significativas ($P<0,05$) a lo largo del tiempo para un mismo fortificante (mayúsculas) o entre distintos fitofortificantes para un mismo tiempo (minúsculas).

5.3. EVALUACIÓN EN *Aphidius colemani*.

Las evaluaciones de *Aphidius colemani* fueron efectuadas *in situ* no precisando de lupa binocular. A continuación se muestra la evolución de la población de *Aphidius colemani* para los diferentes tratamientos en condiciones de laboratorio y semicampo.

5.3.1. Ensayo de laboratorio.

La Figura 21 representa la evolución de la mortalidad corregida de *Aphidius colemani* para los distintos tratamientos en condiciones de laboratorio. Se observan mortalidades moderadas y altas para todas las poblaciones tratadas con los productos. Para el producto Agribest la mortalidad corregida fue del 25% a las 72 horas de la aplicación de los productos, mientras que para los productos Agritrap, Botrybel, Milagrum plus, Aminolom Protector /Protolom Total, Bioazufre y Abamectina se observaron mortalidades del 25%, 78%, 25%, 47%, 60% y 63%, respectivamente. Así, a excepción del producto Agribest, se pueden considerar como ligeramente o moderadamente perjudiciales los productos evaluados (según la OILB).

En la Tabla 6 se recogen los resultados del análisis estadístico de los datos de este ensayo.

5.3.2. Ensayo de semicampo.

Los resultados reflejados a continuación muestran la evolución de la mortalidad corregida de *Aphidius colemani* en condiciones de semicampo. Los datos de mortalidad están referenciados con los iniciales, es decir, población previa a los tratamientos (t_0).

En la Figura 22 se muestran los efectos nocivos de los fitofortificantes sobre la población de *Aphidius colemani* en condiciones de semicampo. Se puede observar que todos los fitofortificantes presentan efectos nocivos en las poblaciones de *Aphidius colemani* establecidas en semicampo, considerándose los productos evaluados como ligeramente nocivos para las poblaciones de *A. colemani* (según la OILB).

En la Tabla 7 se recogen los resultados del análisis estadístico de los datos de este ensayo.

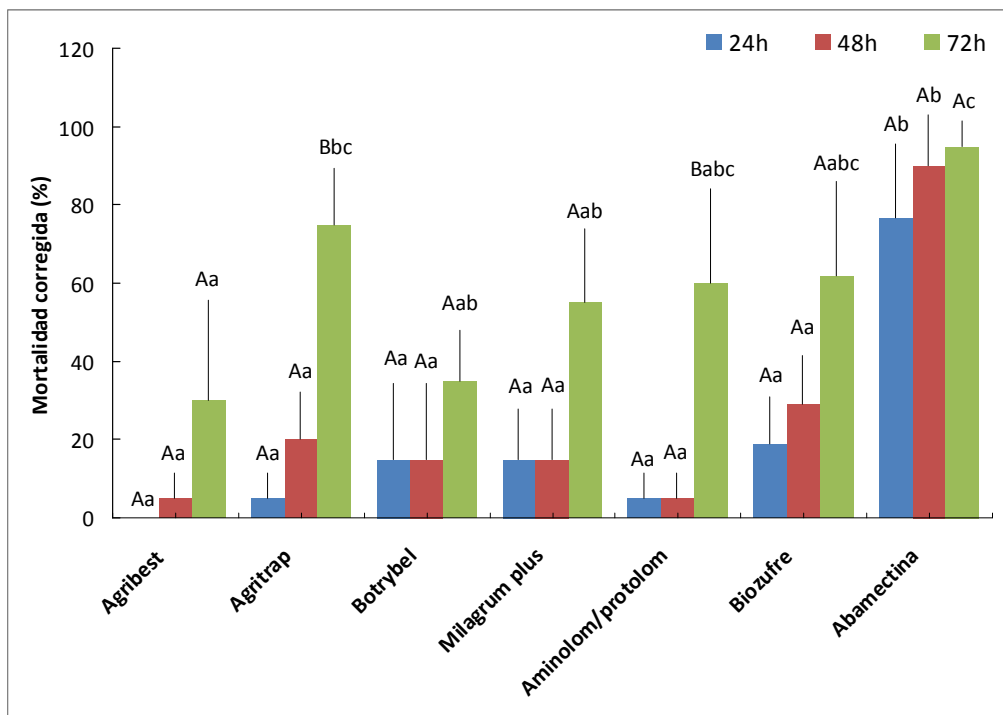


Figura 19. Evolución de la mortalidad corregida (%) de *Aphidius colemanii* en condiciones de laboratorio en distintos momentos después de la aplicación los productos fitofortificantes. Los valores con diferentes superíndices indican diferencias significativas ($P < 0,05$) a lo largo del tiempo para un mismo fortificante (mayúsculas) o entre distintos fitofortificantes para un mismo tiempo (minúsculas).

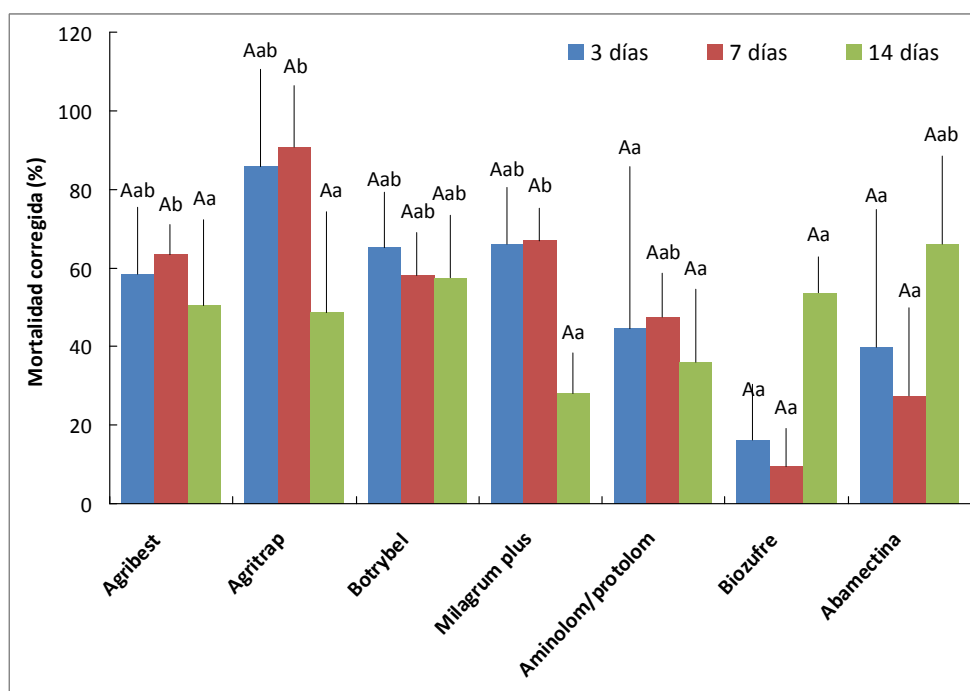


Figura 20. Evolución de la mortalidad corregida (%) de *Aphidius colemanii* en condiciones de laboratorio en distintos momentos después de la aplicación los productos fitofortificantes. Los valores con diferentes superíndices indican diferencias significativas ($P < 0,05$) a lo largo del tiempo para un mismo fortificante (mayúsculas) o entre distintos fitofortificantes para un mismo tiempo (minúsculas).

Tabla 6. Mortalidad corregida de *Aphidius colemani* obtenida en los ensayos de laboratorio para cada producto fitofortificante a distintos tiempos después de la aplicación del mismo.

Tiempo	Agribest	Agritrap	Botrybel	Milagrum Plus	Aminolom/Protolom	Biozufre	Abamectina	P
24h	0	5,1 ± 11,2	15,3 ± 35	15,0 ± 22,4	5,0 ± 11,2	19,0 ± 20,7	76,7 ± 32,5	0,6716
48h	5,0 ± 11,2	78,3 ± 20,9	15,2 ± 33,5	15,0 ± 22,4	5,0 ± 11,2	29,0 ± 21,3	90,0 ± 22,4	0,9643
72h	30,0 ± 44,7	75,6 ± 25,2	35,0 ± 33,5	55,0 ± 32,6	60,0 ± 41,8	62,0 ± 41,5	95,0 ± 11,2	0,7260
P	0,2282	0,3832	1	1	0,1448	0,3661	0,5634	

Tabla 7. Mortalidad corregida de *Aphidius colemani* obtenida en los ensayos en semicampo para cada producto fitofortificante a distintos tiempos después de la aplicación del mismo.

Tiempo	Agribest	Agritrap	Botrybel	Milagrum Plus	Aminolom/ Protolom	Biozufre	Abamectina	P
3d	58,4 ± 17,1	85,7 ± 24,7	65,1 ± 14,1	66 ± 14,6	44,4 ± 41,5	16,3 ± 14,1	39,6 ± 34,9	0,8713
7d	63,3 ± 13	90,7 ± 27	58,0 ± 18,9	67,0 ± 14,2	47,4 ± 19,7	9,5 ± 16,5	27,5 ± 38,4	0,1519
14d	50,4 ± 37,9	48,6 ± 44,3	57,6 ± 27,4	28,0 ± 17,9	36,1 ± 31,9	53,5 ± 16,1	66,1 ± 38,5	0,9083
P	0,4700	0,9981	0,7671	0,5618	0,6498	0,6399	0,9597	

Los valores muestran la media ± d.e (n=3).

5.4. EVALUACIÓN EN *Orius laevigatus*.

A continuación se muestra la evolución de la población de *Orius laevigatus* para los diferentes tratamientos en condiciones de laboratorio y semicampo.

5.4.1. Ensayo de laboratorio.

Las evaluaciones de *Orius laevigatus* fueron efectuadas *in situ* no precisando de lupa binocular. En la Figura 21 se representa la evolución de la mortalidad corregida de *Orius laevigatus* para los distintos tratamientos. Se observó una mortalidad para el producto Agribest del 20% a las 72 horas de la aplicación de los productos. Se presenta un moderado efecto reductor de las poblaciones similar a las 24 y 48 horas para el mismo producto, siendo más elevado para el producto de referencia Abamectina, con una reducción de la población del 49% a las 72 horas posteriores a la aplicación del producto. Aún así, ninguno de los productos se considera nocivo para dicha población dado que no supera valores del 30% en la reducción de la población (según la OILB).

En la Tabla 8 se recogen los resultados del análisis estadístico de los datos de este ensayo.

5.4.2. Ensayo en semicampo.

Los resultados reflejados a continuación muestran la evolución de la mortalidad corregida de *Orius laevigatus* en semicampo. Los datos de mortalidad están referenciados con los iniciales, es decir, población previa a los tratamientos (t_0). En la Figura 22 se observa que tanto los fitofortificantes Agribest, Botrybel, Milagrum Plus y el producto de referencia Abamectina presentan valores de mortalidad iguales o superiores al 20% en la mortalidad corregida a los 14 días de la aplicación de los productos. En consecuencia, ninguno de los productos se considera nocivo para dicha población dado que no supera valores del 30% en la reducción de la población (según la OILB).

En la Tabla 9 se recogen los resultados del análisis estadístico de los datos de este ensayo.

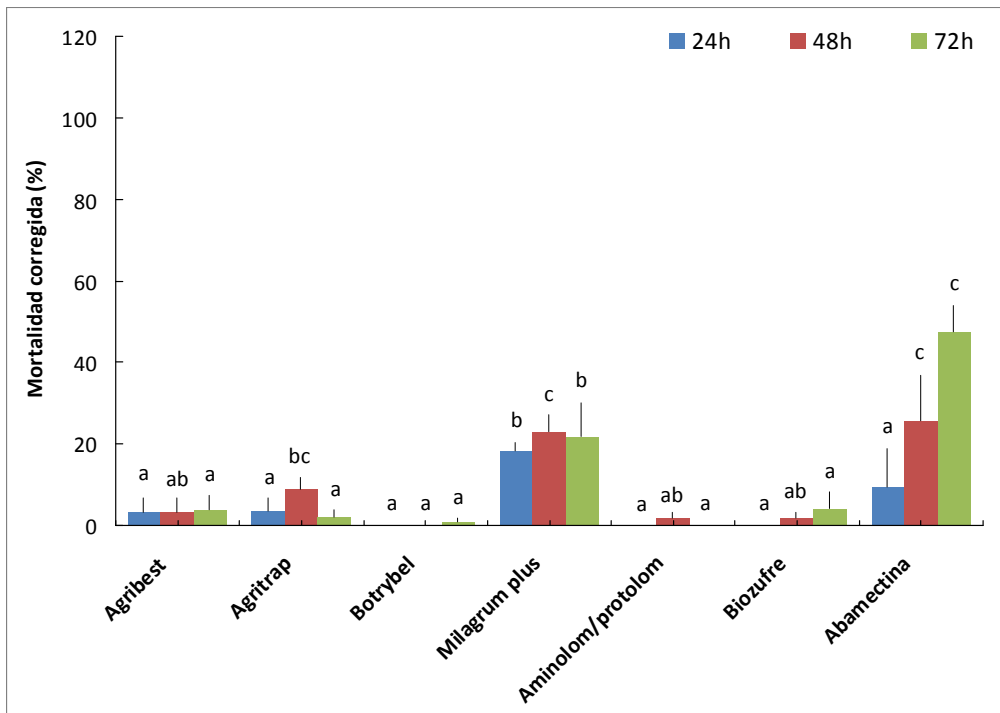


Figura 21. Evolución de la mortalidad corregida (%) de *Orius laevigatus* en condiciones de laboratorio en distintos momentos después de la aplicación los productos fitofortificantes. Los valores con diferentes superíndices indican diferencias significativas ($P < 0,05$) a lo largo del tiempo para un mismo fortificante (mayúsculas) o entre distintos fitofortificantes para un mismo tiempo (minúsculas).

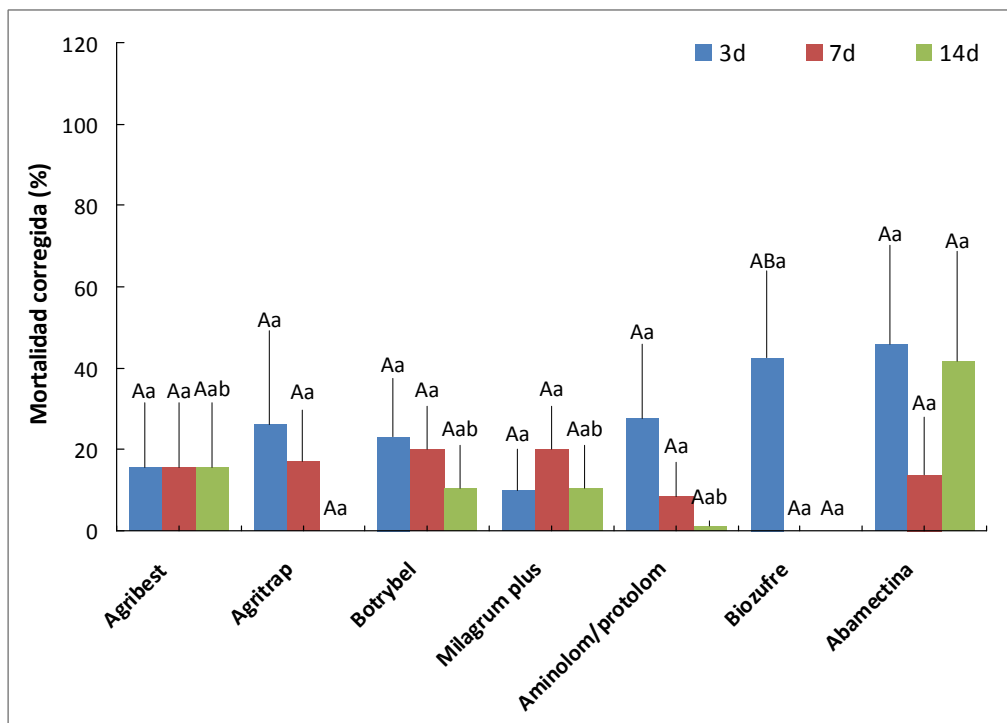


Figura 20. Evolución de la mortalidad corregida (%) de *Orius laevigatus* en condiciones de laboratorio en distintos momentos después de la aplicación los productos fitofortificantes. Los valores con diferentes superíndices indican diferencias significativas ($P < 0,05$) a lo largo del tiempo para un mismo fortificante (mayúsculas) o entre distintos fitofortificantes para un mismo tiempo (minúsculas).

Tabla 8. Mortalidad corregida de *Orius laevigatus* obtenida en los ensayos de laboratorio para cada producto fitofortificante a distintos tiempos después de la aplicación del mismo.

Tiempo	Agribest	Agritrap	Botrybel	Milagrum Plus	Aminolom/Protolom	Biozufre	Abamectina	P
24h	3,3 ± 5,8	3,6 ± 5,5	0	18,4 ± 3,4	0	0	9,4 ± 16,3	0,6408
48h	3,3 ± 5,8	8,8 ± 5,4	0	23,0 ± 7,0	1,7 ± 2,9	1,7 ± 2,9	25,5 ± 19,5	0,7277
72h	3,7 ± 6,4	2,2 ± 3	0,9 ± 1,6	21,9 ± 14,3	0	4,2 ± 7,2	47,4 ± 11,1	0,8924
P	1	0,8847	0,7702	0,4218	0,8435	0,5787	0,7702	

Tabla 9. Mortalidad corregida de *Orius laevigatus* obtenida en los ensayos en semicampo para cada producto fitofortificante a distintos tiempos después de la aplicación del mismo.

Tiempo	Agribest	Agritrap	Botrybel	Milagrum plus	Aminolom/Protolom	Biozufre	Abamectina	P
3d	15,7 ± 27,2	26,2 ± 39,7	23,0 ± 25,2	10,0 ± 17,3	27,5 ± 31,9	42,5 ± 36,8	45,8 ± 42,5	0,9971
7d	15,7 ± 27,2	17,2 ± 21,8	20,2 ± 18,2	20,2 ± 18,2	8,3 ± 14,4	0	13,9 ± 24,1	0,9518
14d	15,7 ± 27,2	0	10,5 ± 18,2	10,5 ± 18,2	1,3 ± 2,1	0	41,8 ± 46,7	0,5389
P	1	0,3099	0,9608	0,9970	0,5084	-	0,8213	

Los valores muestran la media ± d.e (n=3)

5.6. EVALUACIÓN GLOBAL DE LOS PRODUCTOS FITOFORTIFICANTES.

La Tabla 10 resume la clasificación de los productos fitofortificantes en función de su toxicidad sobre la fauna auxiliar de acuerdo a los criterios establecidos por la Organización Internacional de Lucha Biológica e Integrada (OILB).

Tabla 10. Cuadro resumen de la toxicidad de los productos fortificantes ensayados en las especies de fauna auxiliar utilizadas en el presente estudio.

	Laboratorio				Semicampo			
	<i>A. colemani</i>	<i>A. swirskii</i>	<i>N. tenuis</i>	<i>O. laevigatus</i>	<i>A. colemani</i>	<i>A. swirskii</i>	<i>N. tenuis</i>	<i>O. laevigatus</i>
Agribest	2	1	1	1	2	1	1	1
Agritrap	3	1	1	1	2	1	1	1
Aminolom Protector/Protolom Total	2	1	1	1	2	1	1	1
Biozufre	2	1	1	1	2	1	1	1
Botrybel	2	1	1	1	2	1	1	1
Milagrum Plus	2	1	1	1	2	1	1	1

1= Inocuo: < 30% en laboratorio de reducción <50% en semi-campo).

2= Levemente perjudicial: 30-79% en laboratorio de reducción (26-50% en semicampo)

3= Perjudicial: > 80 % de reducción laboratorio (> 75% de la reducción en semi.-campo).

6. DISCUSIÓN

Durante el desarrollo de los ensayos se registraron valores de temperatura inferiores a los óptimos para el OCB *Aphidius colemani* durante los diez primeros días desde el inicio del experimento, ya que *A. colemani* mantiene una actividad óptima en un rango de temperaturas entre los 20 °C y 30 (Reyes, 2010; Badii et al., 2006). Durante los primeros días se registraron temperaturas medias en torno a los 15°C, siendo inferiores a las óptimas para este OCB por lo que se pudo ver influida la instauración de este enemigo natural en condiciones de invernadero. No obstante, durante la segunda mitad del desarrollo del ensayo se registraron temperaturas medias que se mantuvieron sobre los 20° C, favoreciendo la supervivencia de los individuos hacia el final del ensayo, no siendo un factor que influyera negativamente sobre las poblaciones de *A. colemani* por las condiciones de humedad relativa y temperatura favorables. Para el enemigo natural *N. tenuis*, su desarrollo óptimo es a temperaturas cercanas a los 25°C. A esta temperatura el ciclo completo de este insecto dura seis semanas (Navarro et al., 2006), viéndose ralentizado a temperaturas inferiores, sin embargo, en el ensayo no hubo problemas en la instauración de este enemigo natural en el cultivo previo a la iniciación de la toma de muestras. Para *O. laevigatus* la duración de los estados de huevo y ninfa duran 15 días a una temperatura óptima de 26°C. El rango de temperaturas para su desarrollo se encuentra entre los 15 y 30°C, con humedad relativa superior al 50% y una longitud del día mínima entre las 10 y 11 horas (Tapia et al., 2006), condiciones que se dieron durante el desarrollo de todo el experimento. La velocidad de crecimiento óptima para *A. swirskii* está entre 25 y 28°C, aguantando temperaturas ambientales superiores. Sin embargo se desactiva por debajo de los 15°C. La humedad relativa crítica para esta especie es de aproximadamente 70°C. Estos parámetros se mantienen constante en el espacio próximo a los nervios del envés de las hojas de hortalizas (García et al., 2009), por lo que se dieron las condiciones necesarias para la instauración de este OCB en el cultivo. Además, hay que tener en cuenta que los datos de temperatura y humedad relativa medidos fueron en el interior del invernadero pero no dentro de las jaulas experimentales, donde las condiciones de humedad y temperatura fueron superiores, favoreciendo así la instauración de todos los enemigos naturales estudiados en este ensayo.

Este fitofortificante ejerció un efecto negativo sobre las poblaciones de *A. colemani* en condiciones de semicampo, produciendo una mortalidad cercana al 60%, considerándose moderadamente perjudicial según la OILB, siendo este efecto ligeramente superior en condiciones de laboratorio. Esto pudo ser debido entre otras razones a que en condiciones de semicampo se tenían que utilizar plantas “banker” que actuaban como reservorio para el pulgón de la cebada, el cual era parasitado por *A. colemani* y cuyas momias contenían nuevos individuos de este enemigo natural. Estas plantas debían cambiarse cada dos semanas, eliminando en el proceso algunas momias parasitadas por el himenóptero además de adultos presentes en la maceta atraídos por la presencia de pulgón, lo cual pudo afectar a las poblaciones finales en el día 21. Por otro lado, los resultados obtenidos en laboratorio podrían ser más fiables a los obtenidos en condiciones de semicampo aun siendo similares, dado que en general, los ensayos en laboratorio en placa de Petri suelen producir una mayor mortalidad frente a ensayos establecidos en condiciones de semicampo, siendo los primeros más exigentes para las especies estudiadas, como muestran otros estudios realizados utilizando productos diferentes (Bostanian et al., 2005) al contrario de lo ocurrido en este ensayo, ya que los individuos tienen un mayor contacto con el principio activo que en condiciones dadas en semicampo. Así, *A. colemani* presenta una mortalidad corregida del 63% en condiciones de semicampo frente a la mortalidad corregida obtenida en laboratorio (55%), considerándose el fitofortificante biozufre como moderadamente perjudicial para esta especie en ambas condiciones. Para el enemigo natural *Nesidiocoris tenuis* se ha observado una leve mortalidad para las poblaciones de este depredador a los 21 días después del tratamiento en las placas pulverizadas con este producto en condiciones de laboratorio, observándose una mortalidad corregida del 16% de este enemigo natural, sin embargo se obtuvieron unos resultados muy bajos para la mortalidad corregida de *N. tenuis* en el ensayo con biozufre realizado en semicampo, presentando valores cercanos al 3%, lo cual la inocuidad de este producto frente al enemigo natural. En condiciones de laboratorio *N. tenuis* presenta una mortalidad corregida mayor que en semicampo (15%), como suele ocurrir con otros estudios realizados con esta especie en relación a otros productos formulados con azufre, donde se obtuvieron resultados similares tras la exposición de *N.tenuis* a residuos de azufre pulverizado tras 14 días de su aplicación (Zappalà et al., 2012, Baeza et al., 2009). De este modo, se considera en ambas condiciones el fitofortificante biozufre como inocuo para *N.tenuis*. En el caso de *O. laevigatus* se observaron resultados parecidos a los obtenidos en *N.tenuis* en ambas condiciones, con mortalidades corregidas del 3% y 0 % en condiciones de laboratorio y semicampo respectivamente, por lo que se considera el producto biozufre como inocuo para esta especie. Para el enemigo natural *Amblyseius swirskii* existen estudios sobre la inocuidad del azufre

hacia este enemigo natural (Pijnakker et al., 2009). Los datos obtenidos durante el ensayo de laboratorio muestran un efecto inocuo del fitofortificante biozufre sobre las poblaciones de *A. swirskii* a las 72 horas del inicio del ensayo con mortalidades inferiores al 3%, siendo levemente superior la mortalidad corregida en condiciones de semicampo. Así, para el ensayo de laboratorio y semicampo, el fitofortificante biozufre se clasificó como inocuo para este enemigo natural en ambos casos.

Agritrap foliar

Los resultados obtenidos tras la aplicación de Agritrap foliar sobre las poblaciones de *A. colemani* en condiciones de laboratorio y semicampo, dieron unos datos de mortalidad relativa del 78% para laboratorio y 55% en semicampo a los 14 días de la aplicación del producto. Este hecho pudo ser debido a la formulación del producto evaluado que, según el fabricante (Koppert), está compuesto por una formulación coloidal de alginato, que actúa de manera física como trampa líquida. Por su carga iónica es capaz de recubrir e inmovilizar insectos de pequeño tamaño y poco móviles tales como mosca blanca, áfidos y ácaros, esto puede resultar en un aumento de la mortalidad de *Aphidius colemani*, ya que este himenóptero puede tener un tamaño de 2mm según el hospedador parasitado, además, existen estudios que demuestran mediante olfatometría la atracción que ejerce el alginato sobre el enemigo natural *Aphidius ervi* y otros parasitoides de áfidos (Heuskin et al., 2012), por lo que Agritrap foliar se considera como moderadamente perjudicial según los datos obtenidos en el estudio. Para el enemigo natural *N. tenuis* se observaron tasas de mortalidad bajas, habiendo una mortalidad nula de *N. tenuis* a los 21 días del tratamiento con Agritrap foliar en condiciones de semicampo y muy bajas para las condiciones de laboratorio (14%). Esto pudo ser debido al tamaño de este depredador en relación con otros enemigos naturales estudiados como es el caso de *A. colemani*, el cual tenía un tamaño reducido en comparación con *N. tenuis*, mostrando así el efecto insecticida que tiene este producto sobre especies de invertebrados de tamaño reducido. Para el enemigo natural *O. laevigatus* se obtuvieron resultados similares a los obtenidos con el enemigo natural *N. tenuis*, obteniendo mortalidades relativas nulas en condiciones de laboratorio e inferiores al 20% de mortalidad corregida en condiciones de semicampo. Los resultados obtenidos muestran la inocuidad del producto sobre *O. laevigatus* y el motivo pudo haber sido similar al enunciado en el caso de *N. tenuis*. En referencia al ácaro depredador *A. swirskii*, en este caso se obtuvieron resultados nulos en cuanto a la toxicidad del producto sobre esta especie, siendo su mortalidad corregida del 13% en laboratorio frente al 0% obtenido en semicampo. De este modo, para *A. swirskii*, Agritrap

foliar es clasificado como inocuo, sin embargo hay que tener en cuenta las condiciones dadas durante el ensayo en pepino con *A. swirskii*, las cuales pudieron dar lugar a error.

Abamectina

En las plantas tratadas con abamectina, este resultó ser tóxico para *O. laevigatus*. Este compuesto parece afectar de forma muy negativa a esta especie dado que diversos autores han reportado mortalidades del 100% en poblaciones de ninfas y adultos en presencia de cantidades residuales (19-13,5 mg i.a./l) (Van de Veire et al., 1996; Van de Veire & Tirry, 2003, Biondi et al., 2012; Amor, 2013) Aunque la mortalidad fue menor en *N. tenuis*, Abamectina ha sido clasificado como ligeramente tóxico para adultos y ninfas por presencia de residuos de este producto en condiciones de laboratorio, al igual que sucede en otros estudios con dosis de 10mg i.a./l (Van de Veire y Tirry, 2003, Amor, 2013). En comparación a los ensayos realizados en laboratorio en placa de Petri, no se han encontrado resultados de semicampo referentes a *O. laevigatus* pero sí en una especie perteneciente al mismo género (*Orius insidiosus*) en cultivo de algodón bajo invernadero, obteniéndose mortalidades inferiores a las obtenidas en laboratorio como ocurre en este estudio, donde se obtuvieron unos resultados del 42% de mortalidad en semicampo frente al 50% de mortalidad obtenido en placa de Petri. Para el enemigo natural *Nesidiocoris tenuis* no se han encontrado estudios que aporten datos en referencia a la toxicidad de abamectina sobre *N.tenuis* en condiciones de semicampo pero si se han observado mortalidades del 25% en estudios previos realizados en condiciones de semicampo a los 21 días de la realización del estudio, donde el principio activo utilizado es emamectina, el cual es obtenido a partir de la abamectina, obteniendo resultados similares a los obtenidos en este estudio (López et al., 2011). En cuanto al himenoptero parasitoide *Aphidius colemani*, se observaron indicios de toxicidad de abamectina sobre *A.colemani* en las muestras tratadas en placa de Petri y semicampo como ocurre en otros estudios previos relacionados (Bostanian et al., 2005; Bostanian et al., 2004; Stara et al., 2011). Además, existen otros estudios donde Abamectina se muestra como no tóxico para esta especie pero sí influye en la capacidad de parasitación de *A.colemani* con tratamientos residuales de este plaguicida (Bostanian et al., 2005), por lo que este hecho pudo ser una de las causas de los resultados obtenidos en este estudio, con mortalidades del 95% y 70% en condiciones de laboratorio y semicampo respectivamente. Para *Amblyseius swirskii* existen resultados sobre los efectos negativos de abamectina sobre *A. swirskii* obtenidos en otros estudios tanto en semicampo como en laboratorio (Audenaert et al., 2013), siendo la abamectina clasificada como moderadamente perjudicial en otros estudios (Gradish et al., 2011). Existe una correlación de los resultados obtenidos en este ensayo en referencia a

abamectina sobre el enemigo natural *A. Swirskii* en ambas condiciones, considerándose como inocuo para esta especie a pesar del carácter acaricida de este producto. Los resultados obtenidos pudieron ser debidos a los problemas técnicos presentados en el cultivo durante la realización de este estudio. Dados los resultados obtenidos en este y otros estudios, a pesar de los resultados obtenidos para *A. swirskii*, se puede afirmar que el producto abamectina es un buen candidato para su utilización como referencia positiva dada la toxicidad que presenta frente a los distintos enemigos naturales evaluados durante el ensayo.

Botrybel

Este producto está formulado a partir de sustrato vegetal fermentado por la bacteria *Bacillus velezensis*, con una concentración mayor a 10^8 UFC de este microorganismo. Este producto sí ha sido estudiado como antagonista de diversos patógenos de origen fúngico (Fernández et al., 2004), sin embargo, no hay ensayos previos de su comportamiento frente a los organismos de control biológico estudiados en este trabajo. En el ensayo realizado con *Aphidius colemani* se observaron mortalidades corregidas entorno al 50-60% en condiciones de laboratorio y semicampo, efecto que pudo ser debido a las razones nombradas anteriormente para los tratamientos con Biozulfre. . Con los resultados obtenidos, el producto Botrybel se considera como ligeramente perjudicial según para este OCB a pesar de los dla OILB. Para los enemigos naturales *N. tenuis* y *O. laevigatus* los resultados revelados mostraron ser inocuos tanto en condiciones de laboratorio como en condiciones de semicampo dado que no se registraron mortalidades de estos insectos superiores al 15% en condiciones de laboratorio e inferiores al 5% en condiciones de semicampo, siendo estos resultados similares para los resultados obtenidos con el enemigo natural *A. swirskii* en condiciones de semicampo, poniendo de manifiesto que los resultados sobre mortalidad corregida obtenidos en ambas condiciones muestran que este producto es inocuo para los 3 OCBs nombrados anteriormente.

Milagrum Plus

Este producto está formulado con un 60% de fosfoglicéridos y extractos vegetales fermentados. Existen estudios realizados por la empresa Promo-vert Crop Services S.L llevados a cabo en pepino en invernadero en Almería y lechuga al aire libre en Alicante, mostrando resultados en el control de mildiu, sin embargo no existen estudios previos sobre el comportamiento de este fitofortificante sobre la fauna auxiliar estudiada. Para el organismo de control biológico *Aphidius colemani* se produjeron mortalidades cercanas al 50% para

condiciones de laboratorio, dando resultados cercanos al 20% durante los ensayos realizados en invernadero, la mortalidad obtenida en semicampo pudo ser a las razones explicadas previamente en los demás productos analizados, no obstante, los resultados obtenidos durante el ensayo en laboratorio mostraron que el producto evaluado es ligeramente perjudicial para este organismo, Para el OCB *Nesidiocoris tenuis* se produjeron resultados similares en los ensayos realizados en condiciones de (40%) y semicampo (20%). Con los resultados obtenidos y dada la ausencia de estudios relacionados se puede afirmar que este producto es inocuo para este OCB. *Orius laevigatus* mostró un comportamiento similar a *N. tenuis* frente a este producto, por lo que ambos resultados mostraron la inocuidad del producto sobre este OCB. *A.swirskii* mostró comportamientos similares con este producto a los demás OCBs estudiados, obteniéndose mortalidades cercanas al 0% en ambas condiciones a las 72h y 7 días en laboratorio y semicampo respectivamente.

Agribest

Agribest es un producto con una formulación de alginato en solución coloidal y alcoholes como sustancias mojantes, el principio activo presente en este producto es parecido al utilizado en el producto Agritrap, sin embargo, los resultados obtenidos son distintos, dado que en condiciones de laboratorio no se produjeron mortalidades elevadas a las 72 horas de la aplicación del producto (25%) en las poblaciones de *A. colemani*, a diferencia del producto Agritrap, en el cual hubo mortalidades cercanas al 80% para ese producto. Sin embargo, en condiciones de semicampo se dieron resultados similares a pesar de los problemas derivados en este ensayo en condiciones de semicampo, con mortalidades del 45 % para ambos productos. Con los resultados obtenidos se considera como producto inocuo en condiciones de laboratorio y moderadamente perjudicial para condiciones de semicampo sobre este OCB. *Nesidiocoris tenuis* y *Orius laevigatus* mostraron resultados similares, con mortalidades inferiores al 10% para ambos insectos e las 72 horas de la aplicación de los productos en condiciones de semicampo y 72 horas en condiciones de laboratorio y mortalidades nulas a los 21 días de la aplicación del producto en invernadero. Además, existen estudios donde se utilizó alginato para microencapsulado de alimento para depredadores del género *Orius* (Tan et al., 2013), por lo que se puede afirmar la inocuidad de este producto sobre ambos enemigos naturales. Para el enemigo natural *Amblyseius swirskii* se observaron valores de mortalidad bajos en condiciones de laboratorio mortalidad nula durante los ensayos de semicampo, por lo que este producto resultó inocuo para este enemigo natural.

Aminolom Protector – Protolom Total

Protolom total es un producto formulado a partir de una mezcla de oligoelementos a base de Cu, Mn, Zn y extractos vegetales. Se han desarrollado estudios sobre el comportamiento de extractos vegetales contra el desarrollo de enfermedades de origen fúngico y bacteriano mediante la resistencia inducida de las plantas tras la aplicación de estos productos (Corrales et al., 2012) además de la utilización de extractos de neem, colza, extracto de ajo y otros derivados para el control de insectos plaga (Godfrey, 2011). Sin embargo, no existen ensayos previos del efecto de este producto en concreto sobre la fauna auxiliar, por lo que este es el primer estudio realizado sobre la interacción de este fitofortificante con diferentes OCBs. Tras la aplicación del producto sobre las plantas y placas en condiciones de semicampo e invernadero, se observó que este fue moderadamente perjudicial para *Aphidius colemani* tanto en condiciones de laboratorio como en semicampo, con mortalidades del 65% y 37% respectivamente. Estos resultados difieren de los resultados obtenidos en otros estudios (Zhou et al., 2003) donde los extractos vegetales utilizados resultaron inocuos para *A. colemani* en condiciones de laboratorio. *Nesidiocoris tenuis* resultó ser tolerante a la aplicación de este producto, mostrándose como inocuo para esta especie, con mortalidad nula en condiciones de laboratorio y semicampo a las 72 h y 21 días respectivamente de la aplicación del producto. Para *Orius laevigatus* los resultados fueron similares a los obtenidos en el ensayo con *N. tenuis*. El ácaro depredador *A. swirskii* presentó mortalidades corregidas nulas en las condiciones de laboratorio y semicampo. Existen estudios que muestran el efecto negativo de algunos extractos vegetales como la piretrina sobre la supervivencia de hembras de este ácaro (Castagnoli et al., 2002). Sin embargo, los resultados obtenidos en este estudio en condiciones de laboratorio mostraron la inocuidad de Protolom total sobre las poblaciones de *A. swirskii*.

7. CONCLUSIONES.

Los resultados del presente estudio permiten obtener las siguientes conclusiones:

1. Las tasas de mortalidad de los organismos de control biológico son similares en condiciones de laboratorio y en semicampo, y por lo tanto ambos tipos de ensayos son adecuados para evaluar la toxicidad de sustancias fitofortificantes.
2. Los productos fitofortificantes analizados no presentaron efectos secundarios destacables sobre los organismos de control biológico *Amblyseius swirskii*, *Nesidiocoris tenuis* y *Orius laevigatus*, por lo que pueden considerarse, en general, inocuos para estas especies.
3. El enemigo natural *Aphidius colemani* mostró mayor sensibilidad hacia los productos evaluados, en especial hacia el producto Agritrap Foliar, con el que llegaron a registrarse mortalidades cercanas al 80%.
4. La respuesta de la fauna auxiliar a los nuevos productos fitofortificantes parece que es específica de cada especie, por ello se recomienda su evaluación para cada especie en particular.

8. BIBLIOGRAFÍA.

- Amor Parrilla, F. (2013). Compatibilidad de *Orius laevigatus* (Fieber)(Hemiptera: Anthocoridae) y *Nesidiocoris tenuis* (Reuter)(Hemiptera: Miridae), depredadores importantes en cultivos hortícolas protegidos, con nuevas barreras físicas selectivas y modernos plaguicidas (Doctoral dissertation, Agronomos).
- Audenaert, J., Vissers, M., & Gobin, B. (2013). Testing side-effects of common pesticides on *A. swirskii* under greenhouse circumstances. *Communications in agricultural and applied biological sciences*, 79(2), 207-210.
- Badii, M., Abreu, J. (2006). Control biológico una forma sustentable de control de plagas (Biological control a sustainable way of pest control). *Daena: International Journal of Good Conscience*, 1(1), 82-89.
- Baeza, E., Pérez-Parra, J., Pérez, C., Meca, D. , Navarro, S., Gázquez, J. , & López, J. (2009, June). Influence of the Sulphur Application Method on Pests, Diseases and Natural Enemies in a Greenhouse Pepper Crop. In *International Symposium on High Technology for Greenhouse Systems: GreenSys2009 893*. 1309-1316
- Banderas, M. , Acedo, L. , SaLvdador, E., Navarro, M. (2012). Evaluación de la eficacia de *Amblyseius andersoni* (Chant) en el control biológico de *Aculops lycopersici* (Masse) en cultivo de tomate de invernadero. *Boletín de sanidad vegetal. Plagas*, 38(2), 203-212.
- Bielza, P. (2007). Compatibilidad activa de plaguicidas y fauna auxiliar.
- Biondi, A., Desneux, N., Siscaro, G., & Zappalà, L. (2012). Using organic-certified rather than synthetic pesticides may not be safer for biological control agents: selectivity and side effects of 14 pesticides on the predator *Orius laevigatus*. *Chemosphere*, 87(7), 803-812.
- Bostanian, N. , Akalach, M. (2004). The contact toxicity of indoxacarb and five other insecticides to *Orius insidiosus* (Hemiptera: Anthocoridae) and *Aphidius colemani* (Hymenoptera: Braconidae), beneficials used in the greenhouse industry. *Pest management science*, 60(12), 1231-1236.
- Bostanian, N., Akalach, M., Chiasson, H. (2005). Effects of a Chenopodium-based botanical insecticide/acaricide on *Orius insidiosus* (Hemiptera: Anthocoridae) and *Aphidius colemani* (Hymenoptera: Braconidae). *Pest management science*, 61(10), 979-984.
- Byrne, D., Bellows, T., Parrella, M. (1990). Whiteflies in agricultural systems. En: Gerling D., *Whitelies: their bionomics, pest status and management*. Intercept, Andover, UK. pp. 227-261.
- Cabello, T. (1996). *Utilización de pesticidas en cultivos en invernaderos del sur de España y análisis de los riesgos toxicológicos y medio ambientales*. *Phytoma*, 75, 11-19.
- Cabello, T., Saéz, E., Gómez, V., Abad, M. M., & Belda, J. (1990). Problemática fitosanitaria en cultivos hortícolas intensivos de Almería. *Agrícola Vergel*, 104, 640-647.
- Castagnoli, M., Angeli, G., Liguori, M., Forti, D., & Simoni, S. (2002). Side effects of botanical insecticides on predatory mite *Amblyseius andersoni* (Chant). *Anzeiger für Schädlingkunde*, 75(5), 122-127.
- Castañé, C., Riudavets, J., & Alomar, O. (2009). El depredador generalista *Dicyphus tamaninii* en el control de poblaciones mixtas de mosca blanca y de trips en pepino de invernadero. *Boletín de Sanidad Vegetal, Plagas*, 35, 29-37.
- Corrales, L. , Sánchez, L. , Cuervo, J., Joya, J. , Marquez, K. (2012). Efecto biocontrolador de *Bacillus* spp., frente a *Fusarium* sp., bajo condiciones de invernadero en plantas de tomillo (*Thymus vulgaris* L.). *NOVA*, 10(17).

- Fernández, A., Villaverde, M., Casanova, J., Malo, J., Nicolas, J. A., & Blanca, I. (2004). Nuevo aislado de *Bacillus* y su utilización para el control de hongos fitopatógenos. *Agroecología. net*, 6, 50-57.
- Ferraro F. Aznar, J. (2008). El distrito agroindustrial de Almería.
- García Marí, F., Costa Comelles, J., (1994). Plagas agrícolas. *Agropubli SL Phytoma España*.
- García, M., (2009) Control biológico de plagas en Almería
- García, M., (2011) La adopción de tecnologías en los invernaderos hortícolas mediterráneos. Universidad de Almería, p, 239, (2011).
- García, V. M. (2000). Principales enfermedades del pepino en el sudeste español. *Vida rural*, (111), 50-52.
- Godfrey L.D, 2011. Spider mites: Integrated Pest Management for Home Gardeners and Landscape Professionals. Pest Notes, publication 7405. University of California.
- Gradish, A. Scott-Dupree, C. , Shipp, L., Harris, C. , Ferguson, G. (2011). Effect of reduced risk pesticides on greenhouse vegetable arthropod biological control agents. *Pest management science*, 67(1), 82-86.
- Gradish, A., Scott-Dupree, D., Shipp, L., Harris, R., & Ferguson, G. (2011). Effect of reduced risk pesticides on greenhouse vegetable arthropod biological control agents. *Pest management science*, 67(1), 82-86.
- Heuskin, S., Lorge, S., Godin, B., Leroy, P., Frère, I., Verheggen, F. J., ... & Lognay, G. (2012). Optimisation of a semiochemical slow-release alginate formulation attractive towards *Aphidius ervi* Haliday parasitoids. *Pest management science*, 68(1), 127-136.
- Jolly, D. A., & Norris, K. (1991). Marketing prospects for organic and pesticide-free produce. *American Journal of Alternative Agriculture*, 6(04), 174-179.
- Lopez, J., Amor Parrilla, F., Bengochea Budia, P., Medina Velez, P., Budia Marigil, F., & Viñuela Sandoval, E. (2011). Short communication. Toxicity of emamectin benzoate to adults of *Nesidiocoris tenuis* Reuter, *Macrolophus pygmaeus* (Rambur) and *Diglyphus isaea* Walker on tomato plants. Semi-field studies. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 9(2), 617-622.
- López, J. (2008). Fitofortificantes: las plantas responden. *Phytoma España: La revista profesional de sanidad vegetal*, (198), 68.
- Losilla, M., (2010). Significado de la implantación del control biológico para la comercialización en la producción. *Cuadernos de estudios agroalimentarios*, (1), 103-110.
- Martínez-Carrasco, J., Gavilán, M. (2011). Incidencia de los factores abióticos en la producción del tomate en invernadero. *Agricultura: Revista agropecuaria*, (939), 270-273.
- Miras, J. (2009). *Estudio de la contaminación por metales pesados y otros procesos de degradación química en los suelos en los invernaderos del poniente almeriense* (Vol. 133). Universidad Almería.
- Miras, J. (2009). *Estudio de la contaminación por metales pesados y otros procesos de degradación química en los suelos en los invernaderos del poniente almeriense* (Vol. 133). Universidad Almería.
- Navarro, M, Tapia, G. M. (2006). *Nesidiocoris tenuis* Reuter, un depredador polífago. *Horticultura: Revista de industria, distribución y socioeconomía hortícola: frutas, hortalizas, flores, plantas, árboles ornamentales y viveros*, (193), 60-65.
- Pijnakker, J., Ramakers, P., Castañé, C., & Perdakis, D. (2009). Effect of vaporizing sulphur on pest predators in greenhouses. *IOBC/WPRS Bulletin*, 49, 341-345.

- Reche Mármol, J., (2010). Cultivo del pimiento dulce en invernadero. *Estudios e informes técnicos. Consejería de Agricultura y pesca.*
- Reche Mármol, J. (2009). Cultivo del tomate en invernadero. Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino.
- Reche Mármol, J., (2000). Cultivo intensivo del calabacín. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, Secretaría General Técnica.
- Reche Mármol, J., (2011). Cultivo del pepino en invernadero. Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino.. Madrid.
- Reyes Vargas, V. (2010). Ciclo biológico y cría de (*Aphidius colemani*) parasitoide de adultos del Pulgón Harinoso (*Brevicoryne brassicae*), plaga del brócoli.
- Stara, J., Ourednickova, J., & 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(1), 25-31.
- Stern, V., Smith, F., Van den Bosch, R., Hagen, K. S. (1959). The integration of chemical and biological control of the spotted alfalfa aphid. The integrated control concept. *Hilgardia*, 29(2), 81-101.
- Tan, X. L., Wang, S., & Zhang, F. (2013). Optimization an optimal artificial diet for the predatory bug *Orius sauteri* (Hemiptera: Anthocoridae). *PloS one*, 8(4), e61129.
- Tapia, G., & Navarro, M. (2006). " *Orius laevigatus*", un buen agente contra trips. *Horticultura: Revista de industria, distribución y socioeconomía hortícola: frutas, hortalizas, flores, plantas, árboles ornamentales y viveros*, (194), 42-43.
- Van de Veire, M., Tirry, L. (2003). Side effects of pesticides on four species of beneficials used in IPM in glasshouse vegetable crops:" worst case" laboratory tests. *IOBC WPRS BULLETIN*, 26(5), 41-50.
- Van De Veire, M., Smagghe, G., & Degheele, D. (1996). Laboratory test method to evaluate the effect of 31 pesticides on the predatory bug, *Orius laevigatus* (Het: Anthocoridae). *Entomophaga*, 41(2), 235-243.
- van der Blom, J. (2002). La introducción artificial de la fauna auxiliar en cultivos agrícolas. *Boletín de sanidad vegetal. Plagas*, 28(1), 107-118.
- van der Blom, J. (2010). Applied entomology in Spanish greenhouse horticulture. *Proc Neth Entomol Soc Meet*, 21, 9-17.
- van der Blom, J., Robledo, A., Torres, S., Sánchez, J.A., (2010). Control biológico en horticultura en Almería: un cambio radical, pero racional y rentable. *Cuadernos de Estudios Agroalimentarios*. 1, 45–60.
- van der Bolm, J. (2009). Implementación masiva del control biológico en Almería. In *XXXVII Seminario de Técnicos y Especialistas en Horticultura: Almería, 2007* (pp. 77-82).
- Vergani, R. (2002). Una breve historia del tomate. *Horticultura: Revista de industria, distribución y socioeconomía hortícola: frutas, hortalizas, flores, plantas, árboles ornamentales y viveros*, (158), 18-27.
- Vila, E., Cabello, T. (2014). Biosystems engineering applied to greenhouse pest control. In *Biosystems Engineering: Biofactories for Food Production in the Century XXI* (pp. 99-128). Springer International Publishing.
- Zappalà, L., Siscaro, G., Biondi, A., Mollá, O., González-Cabrera, J., & Urbaneja, A. (2012). Efficacy of

sulphur on *Tuta absoluta* and its side effects on the predator *Nesidiocoris tenuis*. *Journal of Applied Entomology*, 136(6), 401-409.

Zhou, Q., Liang, G. (2003). [Effect of plant alcohol extracts on vegetable aphids and their parasitoids]. *Ying yong sheng tai xue bao. The journal of applied ecology/Zhongguo sheng tai xue xue hui, Zhongguo ke xue yuan Shenyang ying yong sheng tai yan jiu suo zhu ban*, 14(2), 249-252.