

Puesta a punto de una cría masiva del depredador polífago *Dicyphus tamaninii* Wagner (Hemiptera: Miridae)

N. AGUSTÍ, R. GABARRA

Diversos parámetros biológicos, como la duración del desarrollo embrionario y ninfal, el porcentaje de eclosión de los huevos, la proporción de sexos y la longevidad de los adultos de *Dicyphus tamaninii* Wagner (Hemiptera: Miridae) fueron estudiados con el fin de poner a punto un método de cría masiva para esta especie de depredador polífago utilizado en programas de control integrado de plagas (CIP) en el Mediterráneo. Bajo las condiciones de cría aquí propuestas, la duración del desarrollo embrionario y ninfal fueron de 12,5 y 20,8 días, respectivamente. El porcentaje de eclosión de los huevos fue del 87%, la proporción de sexos muy cercana a 1:1 y la longevidad de adultos de 24,2 días. Finalmente, el protocolo de cría fue también evaluado y adaptado a *Macrolophus caliginosus* Wagner (= *Macrolophus melanotoma* (Costa)) (Hemiptera: Miridae), probablemente el depredador polífago más utilizado para el control de insectos plaga en el cultivo de tomate. Los valores de producción de *M. caliginosus* fueron similares a los valores de producción obtenidos con *D. tamaninii*, lo que hace posible utilizar este método de cría para la producir ambas especies depredadoras.

N. AGUSTÍ, R. GABARRA. Entomología, IRTA (Recerca i Tecnologia Agroalimentàries), Ctra. de Cabriels, Km 2, E-08348 Cabriels (Barcelona). Tel: 937507511 (ext. 1243), Fax: 937533954, e-mail: nuria.agusti@irta.es

Palabras clave: Control biológico, cultivos hortícolas, moscas blancas, *Macrolophus caliginosus*, producción.

INTRODUCCIÓN

Los depredadores polífagos están más adaptados a los cambios que se pueden dar en el cultivo y al aprovechamiento de las presas que se encuentran en el mismo que los monófagos (ANDERSON 1962). Estos depredadores pueden ser muy efectivos en ecosistemas agrarios con condiciones heterogéneas, como el litoral mediterráneo donde son muy abundantes. Los míridos son depredadores polífagos que han demostrado una elevada capacidad de reducir las poblaciones de la mosca blanca *Trialeurodes vaporariorum* Westwood (Hemiptera: Aleyrodidae). En la cuenca mediterránea, la aplicación de un programa

de control integrado de plagas (CIP), basado en la conservación de las poblaciones autóctonas de los míridos *Dicyphus tamaninii* Wagner (Fig. 1) y *Macrolophus caliginosus* Wagner (= *Macrolophus melanotoma* (Costa)) (Fig. 2) (Hemiptera: Miridae), proporciona un buen control de esta mosca blanca en parcelas de tomate de aire libre (ALOMAR *et al.* 1991; ALOMAR 1994; ALBAJES *et al.* 1996; ALOMAR *et al.* 2002). *M. Calignosus* ha sido también identificada como *M. pygmaeus* sobre tomate (MARTÍNEZ-CASCALES *et al.* 2006, PERDIKIS *et al.* 2003).

El género *Dicyphus* presenta una distribución holártico-neotropical y se ordena en cuatro subgéneros, tres de los cuales se



Figura 1. Adulto (A) y ninfa (B) de *Dicyphus tamaninii* Wagner.

encuentran en la Península Ibérica. De estos, solo dos especies han sido encontradas sobre tomate: *D. tamaninii* y *D. errans* (Wolff) (Hemiptera: Miridae) (ALOMAR 1994; GOULA y ALOMAR 1994). *D. tamaninii* es una especie de distribución mediterránea (GOULA 1989; GOULA y ARNÓ 1994) que se encuentra sobre diferentes cultivos como: tomate, berenjena, patata, calabacín, pepino, judía, melón, alfalfa, haba, escarola, apio, lechuga y fresón (GOULA y ALOMAR 1994; RIUDAVETS y CASTAÑÉ 1998).

El ciclo biológico de *D. tamaninii* ha sido estudiado por diversos autores (SALAMERO *et al.* 1987; BARNADAS 1993; RIUDAVETS 1995; ARNÓ 1997; ALVARADO *et al.* 1997). La puesta se realiza en el interior de tejidos vegetales que aseguran una buena disponibilidad hídrica para el huevo. La duración del desarrollo embrionario a 25°C es de 11 días sobre judía verde (ARNÓ 1997) y de 12 días sobre tomate (RIUDAVETS 1995). El desarrollo postembrionario es heterometábolo y consta de cinco estadios ninfales (N1-N5), los cuales presentan unos hábitos alimentarios parecidos a los de los adultos. La duración del desarrollo ninfal depende de diversas condi-

ciones ambientales. A 25°C se sitúa entre los 17,7 días y los 21,5 días en función de la dieta (BARNADAS 1993; RIUDAVETS 1995; ALVARADO *et al.* 1997).

D. tamaninii, tiene un aparato bucal picador-chupador, como muchos otros heterópteros, y presenta un régimen alimentario mixto, zoófago y fitófago (DOLLING 1991). Este depredador generalista es capaz de alimentarse de diferentes plagas como son: las moscas blancas *T. vaporariorum* y *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae), huevos de lepidóptero de las especies *Helicoverpa armigera* (Hübner), *Chrysodeixis chalcites* Esper y *Autographa gamma* Linnaeus (Lepidoptera: Noctuidae), los trips *Frankliniella occidentalis* (Pergande) (Thysanoptera: Thripidae), los pulgones *Aphis gossypii* Glover y *Macrosiphum euphorbiae* (Thomas) (Hemiptera: Aphididae), el ácaro *Tetranychus* spp. (Acari: Tetranychidae) y el minador de hoja *Liriomyza* spp. (Diptera: Agromyzidae) (SALAMERO *et al.* 1987; RIUDAVETS *et al.* 1993; BARNADAS 1993; ALVARADO *et al.* 1997). Su capacidad depredadora es superior o similar a la de otros depredadores autóctonos del litoral mediterráneo



Figura 2. Adulto de *Macrolophus caliginosus* Wagner.

como *M. caliginosus*, *Orius majusculus* (Reuter) o *Orius laevigatus* (Fieber) (Hemiptera: Anthocoridae) (BARNADAS *et al.* 1998; RIUDAVETS 1995; ALVARADO *et al.* 1997). Por otro lado, *M. caliginosus* es también una especie que se encuentra en la cuenca mediterránea (GOULA 1986; TAVELLA *et al.* 1997; SANCHEZ *et al.* 2003; CASTAÑÉ *et al.* 2004).

Ambas especies son depredadoras de las moscas blancas *T. vaporariorum* y *B. tabaci*, los trips *F. occidentalis*, los pulgones *A. gossypii* y *M. euphorbiae*, y el ácaro *Tetranychus* spp. (RIUDAVETS *et al.* 1993; FAUVEL *et al.* 1987; ALVARADO *et al.* 1997; BARNADAS *et al.* 1998). Se reproduce naturalmente sobre cultivos de tomate, patata, berenjena, calabacín, pepino, alfalfa y judía (GOULA y ALOMAR 1994). Varios autores han estudiado su utilización como agente de control biológico de *T. vaporariorum* y de *B. tabaci* en cultivo de tomate (ALOMAR *et al.* 1991; MALAUSA 1989; TROTIN-CAUDAL y MILLOT 1994; SAMPSON y KING 1996; GABARRA *et al.* 2006; ALOMAR *et al.* 1991). Presenta también un carácter fitófago, pero no se ha visto daños en fruto a pesar de que se encuentre en elevadas poblaciones, debido a que principalmente se alimenta de las hojas. A diferencia de *D. tamaninii*, *M. caliginosus* es criado y comercializado por varias empresas desde 1994 (CASTAÑÉ *et al.* 2006) y en el Nordeste Español se está aplicando en programas de

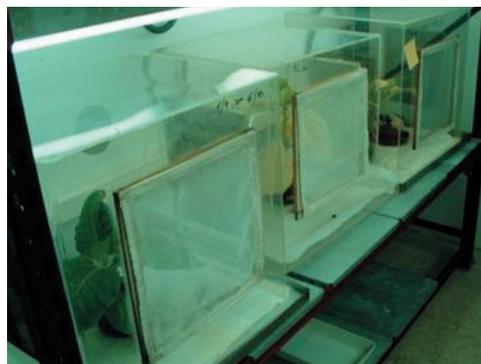


Figura 3. Jaulas utilizadas para criar *D. tamaninii* en camara climática y sobre tabaco.

CIP basados en su conservación y aumentación (GABARRA y BESRI 1999).

En este estudio se determinan una serie de parámetros biológicos de *D. tamaninii* necesarios para poner a punto una cría continuada de laboratorio de esta especie. También se evalúa la posibilidad de aplicar la metodología descrita para poder criar el depredador *M. caliginosus*. Este sistema de cría debe permitir el abastecimiento de ambos depredadores para su inoculación o aumentación en cultivos hortícolas en los que se aplican programas CIP basados en el control biológico.

MATERIAL Y MÉTODOS

D. tamaninii, *M. caliginosus* y *T. vaporariorum* proceden originariamente de campos de tomate de la zona de El Maresme (Barcelona). *T. vaporariorum* fue criada posteriormente en plantas de tabaco en invernaderos del IRTA. Los huevos de *Ephestia kuehniella* (Zeller) (Lepidoptera: Pyralidae) se compraron a BIOTOP, Valbonne, Francia.

Se usaron dos tipos de jaulas de metacrilato (Fig. 3) de 40 x 50 x 50 cm con ventilación: las jaulas de puesta (que contenían a los adultos durante el período de apareamiento y puesta), y las jaulas de emergencia (donde emergían los huevos y las ninfas llegaban a la edad adulta). Cada jaula de pues-

ta contenía una planta de tabaco (*Nicotiana tabacum* L., cv. Brazilian Blend) de unos 25 cm de alto, con una superficie foliar de unos 1000 cm² y previamente infestada de *T. vaporariorum*. Posteriormente, un número determinado de adultos se introdujeron en cada jaula de puesta durante 7 días. La composición de la dieta se basa también en resultados obtenidos en trabajos anteriores (AGUSTÍ 1998; AGUSTÍ y GABARRA, 2008) y se compone de una mezcla al 50% de ninfas de *T. vaporariorum* y huevos de *E. kuehniella*. La cantidad de alimento introducido en las jaulas se basó en el estudio de BARNADAS (1993). Este autor sitúa el consumo diario de un adulto de *D. tamaninii* en 15 ninfas de mosca blanca/día. Así pues, se les ofreció 20 unidades (50% de huevos y 50% de ninfas) por individuo y día para garantizar un exceso. Pasados los 7 días, los adultos se retiraron y las plantas procedentes de las jaulas de puesta fueron introducidas en jaulas de emergencia a las que se les introduce la misma dieta y la misma cantidad de alimento. Todos los experimentos se llevaron a cabo en cámaras climáticas a $25 \pm 2^\circ\text{C}$ y a un fotoperíodo de 16 horas de luz y 8 de oscuridad.

Desarrollo embrionario y ninfal, porcentaje de eclosión de los huevos, proporción de sexos y longevidad de adultos.

La duración del desarrollo embrionario y el porcentaje de eclosión de los huevos se estudiaron a fin de determinar a partir de que momento y cuanto alimento debía introducirse en las jaulas de emergencia. Para ello, se analizaron 6 jaulas de emergencia que contenían 150 adultos durante 7 días. Las ninfas de primer estadio (N1) fueron contabilizadas los días 14, 17, 20 y 23 a partir del inicio de la cría en cada jaula. Los porcentajes de aparición se calcularon para cada día ($(\# \text{ N1 emergidas el día } x / \text{ total } \# \text{ N1 emergidas}) * 100$) y se calcularon las medias (\pm SE). La media ponderada (\pm SE) de la duración del período de emergencia se calculó a partir del número de N1 emergidas por día y jaula.

Para determinar el porcentaje de eclosión de huevos se utilizaron 5 jaulas de puesta con plantas de tabaco a las que sólo se les dejaron las dos hojas apicales para reducir la superficie de puesta. En cada jaula, se introdujeron 10 hembras y 6 machos todos de 15 días de edad y se dejaron durante 48 horas. Posteriormente, los adultos se retiraron y se marcaron 20 huevos al azar dibujando un círculo alrededor del opérculo (la única parte visible). Teniendo en cuenta que el período embrionario de *D. tamaninii* había sido previamente descrito entre los 11 y los 12 días (ARNÓ 1997; RIUDAVETS 1995), el 15º día se contó el número de huevos eclosionados y se calculó la media (\pm SE) por planta.

La duración del desarrollo ninfal se determinó con el fin de conocer cuándo aparecen los adultos y para decidir hasta cuándo deben mantenerse las jaulas de emergencia. Para ello, se introdujeron entre 150 y 200 adultos en 11 jaulas de puesta. En sus correspondientes jaulas de emergencia se contabilizaron el número de ninfas y adultos (machos y hembras) cada 5 días. Los conteos empezaron el día en que apareció el primer adulto hasta el día 52. El porcentaje de emergencia de adultos ($(\# \text{ adultos} / \# \text{ total adultos} + \text{ ninfas}) * 100$) se calculó por cada grupo de 5 días y por cada una de las 11 jaulas, y posteriormente se calcularon las medias (\pm SE). El mismo procedimiento fue aplicado tanto para los machos como para las hembras. Se calculó también la emergencia acumulada de adultos cada 5 días, así como la media ponderada (\pm SE) de la duración del período de emergencia de los machos. Debido a que se cogieron grupos de 5 días, se consideró que los adultos emergieron en medio del intervalo (2,5 días). La proporción de sexos en la descendencia se calculó por jaula a partir del porcentaje de machos y hembras obtenidos en cada una de las 11 jaulas.

Para estudiar la longevidad de los adultos se consideraron tres jaulas de puesta que contenían entre 30 y 70 adultos de un día de edad. Cada 7 días, se contaron el número de adultos (machos y hembras) vivos y muertos

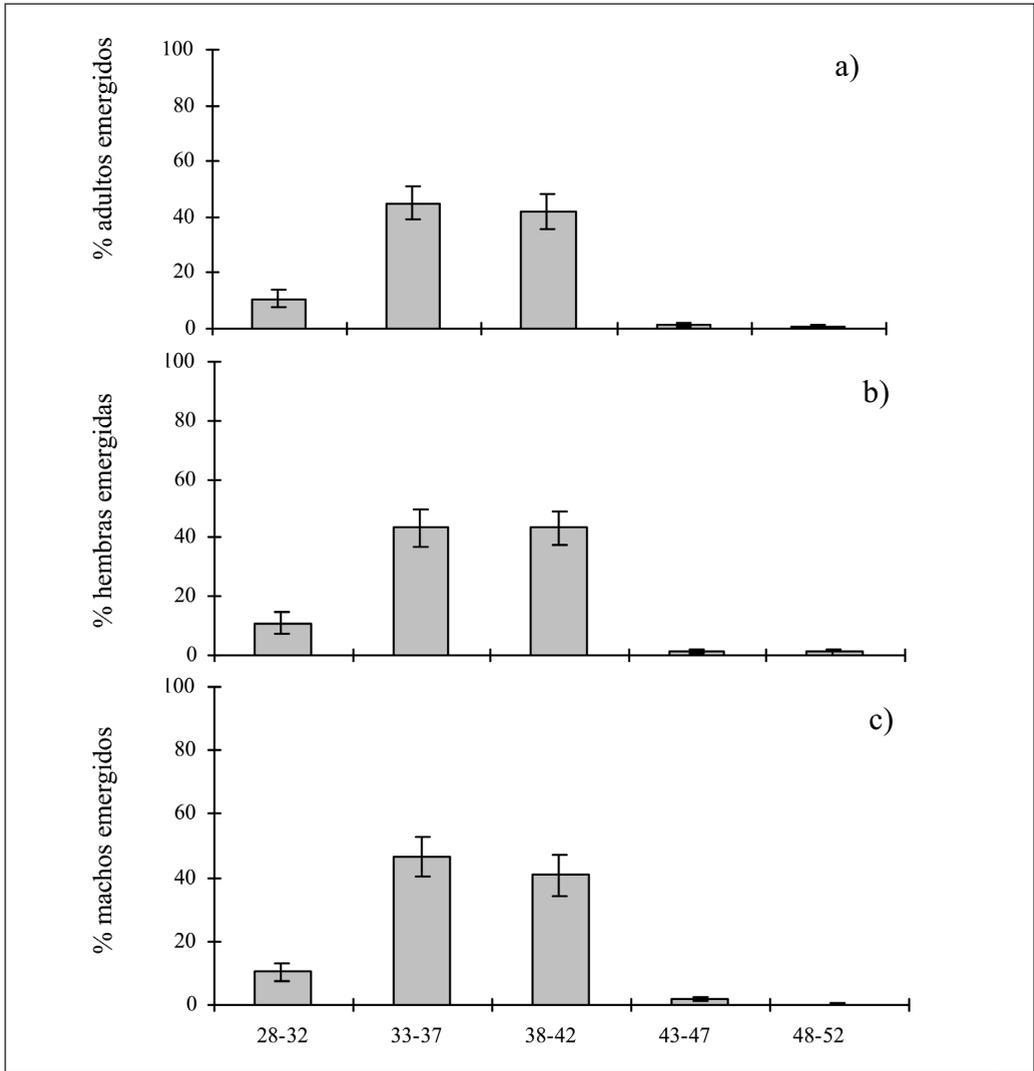


Figura 4. Porcentajes de emergencia de *D. tamaninii* en función del tiempo (día 0 = inicio del ciclo de cría): a) adultos; b) hembras; c) machos.

por jaula. Posteriormente se calculó el porcentaje de mortalidad masculina ($(\# \text{ machos muertos} / \# \text{ machos vivos} + \text{muertos}) * 100$) y femenina ($(\# \text{ hembras muertas} / \# \text{ hembras vivas} + \text{muertas}) * 100$) por jaula y semana, así como la media de las 3 jaulas por semana. Se calculó también la media ponderada de la longevidad femenina ($\pm \text{SE}$) en días a partir

de las hembras muertas obtenidas cada semana por jaula, y lo mismo se hizo para los machos. Debido a que se tomaron grupos de 7 días, se consideró que la muerte apareció en la mitad de la semana (3,5 días). Los valores de longevidad de machos y hembras fueron estadísticamente comparados mediante una t-Student (MANUGISTICS, 2000).

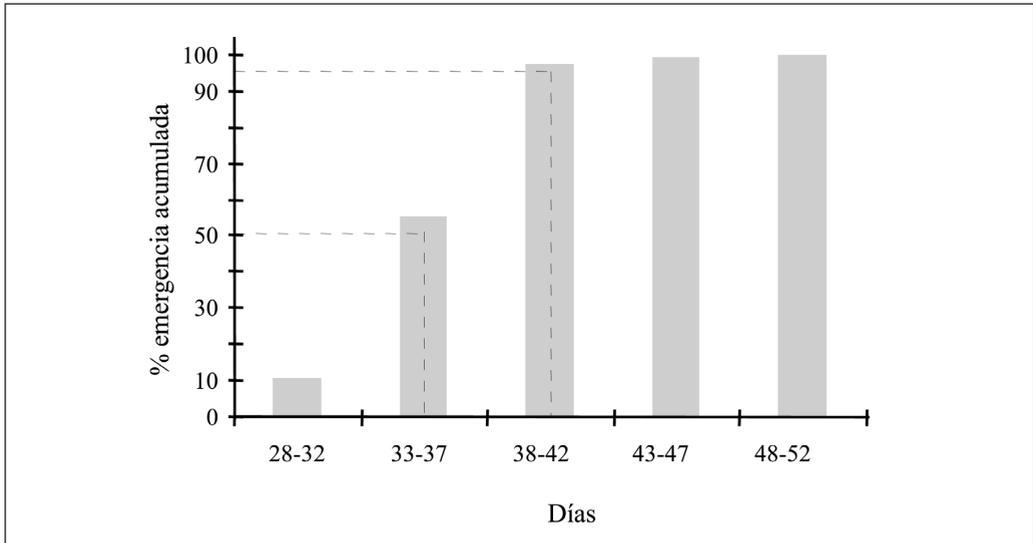


Figura 5. Emergencia acumulada de los adultos de *D. tamarinii* en las jaulas de emergencia (día 0 = inicio del ciclo de cría). Las líneas punteadas indican el 50 y el 95% de la emergencia de los adultos.

Evaluación final de la cría de *D. tamarinii* y adaptación para la cría de *M. caliginosus*.

A partir de los resultados obtenidos, finalmente se diseñó un método de cría para *D. tamarinii*. Con el fin de evaluar la eficacia de esta cría, se calcularon diferentes parámetros como la producción (# adultos+ninfas/hembras/día), el porcentaje de ninfas ((# ninfas/# ninfas+adultos) * 100) obtenidas en 108 jaulas de emergencia, así como, el tiempo y el coste del mantenimiento de esta cría.

D. tamarinii y *M. caliginosus* son móridos muy similares en diversos parámetros biológicos (BARNADAS 1993, RIUDAVETS de 1995, ALVARADO *et al.* 1997). Por esta razón se decidió aplicar el mismo método de cría puesto a punto para *D. tamarinii* a *M. caliginosus*. A fin de evaluar la eficacia de esta cría de *M. caliginosus*, se calcularon la producción (# adultos + ninfas / hembras / día) y el porcentaje de ninfas ((# ninfas / # ninfas +adultos) * 100) obtenidos en 115 jaulas de emergencia. La producción y el porcentaje de ninfas obtenidas para ambas especies fueron estadísticamente comparadas mediante

el test estadístico t-Student (MANUGISTICS, 2000).

RESULTADOS

Desarrollo embrionario y ninfal, porcentaje de eclosión de los huevos, proporción de sexos y longevidad de adultos.

Los resultados obtenidos para determinar la duración del período de emergencia de las ninfas de 1er estadio (N1) pusieron de manifiesto que un 40% \pm 2,5 de las N1 habían emergido el día 14º desde el comienzo del ciclo de cría (7º día en las jaulas de emergencia). Esto, sumado al 55% \pm 2,1 obtenido el día 17º, significa que en esa fecha había un 95% de N1 emergidas. Los días 20º y 23º emergieron el 4% \pm 0,9 y el 1% \pm 0,3 que quedaban, respectivamente. En base a esto, la media de emergencia de las N1 se situó en 16,0 \pm 0,1 días desde el comienzo del ciclo de cría (n = 6 jaulas, 431,8 \pm 26,8 N1/jaula). Sabiendo que el período de puesta fue de 7 días, el intervalo de emergencia de las N1 se situó entre los 13º al 19º días desde el comienzo del ciclo de cría (días 6º al 12º en

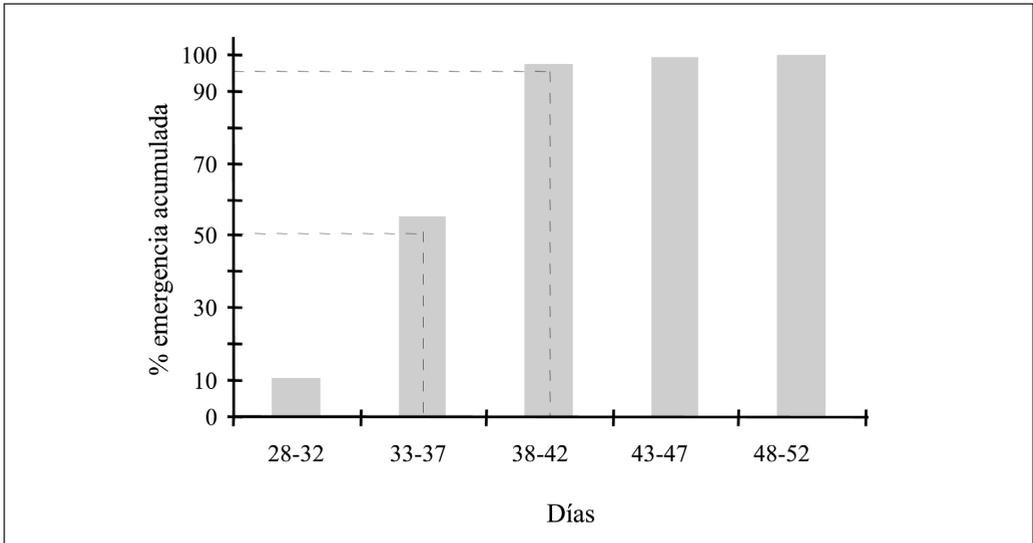


Figura 6. Mortalidad acumulada de machos y hembras de *D. tamaninii* a 25°C y fotoperíodo de 16L:8D. Las líneas punteadas indican el 50 y el 95% de mortalidad de machos y hembras.

las jaulas de emergencia) (Fig. 7). Por lo tanto, no es hasta la segunda semana cuando debe empezar la introducción de alimento. Contando a partir del día 3,5 (día medio en las jaulas de puesta), significa que la duración del período embrionario de *D. tamaninii* bajo estas condiciones de cría es de $12,5 \pm 0,1$ días.

La media (\pm SE) del porcentaje eclosión de huevos de *D. tamaninii* ($n = 5$ plantas) fue de $87\% \pm 6,2$, de cuyo valor se deduce que el tabaco es un sustrato de puesta de buena calidad para criar *D. tamaninii*.

En la Fig. 4a se representa el porcentaje de emergencia de adultos por grupos de 5 días en función del tiempo. El día 0 corresponde al comienzo del ciclo de cría. El 97,7% de los adultos emergieron entre los días 28° y 42°, con un pico de emergencia (87,1%) entre los días 33° y 42°. A partir de este pico y hasta el día 52° solo emergieron el 2,3% de los adultos. Considerando sólo las hembras (Fig. 4b), la máxima emergencia (86,7%) fue también entre los días 33° y 42°. Lo mismo para los machos (Fig. 4c), con un 87,4%. Comparando los resultados obteni-

dos en el intervalo del 33° al 37° días para machos y hembras, se observa una proporción ligeramente superior en los machos. En el período comprendido entre los 38° y 42° días, la aparición es ligeramente superior en las hembras, lo que demuestra que los machos emergen unos días más tarde.

Basándose en el número de adultos emergidos cada 5 días y jaula, la media (\pm SE) de la emergencia de adultos fue de $36,8 \pm 0,5$ días desde el comienzo del ciclo de cría. Sabiendo que el período de puesta fue de 7 días, el intervalo de aparición de adultos resulta entre los 34° y 40° días desde el inicio de la cría. Contando a partir del día 3,5 (día medio en las jaulas de puesta) significa que la duración del desarrollo embrionario + ninfal de *D. tamaninii* bajo estas condiciones de cría fue de $33,3 \pm 0,5$ días. Si la duración del período embrionario fue de 12,5 días, la duración del período ninfal es de 20,8 días. En la Fig. 5 se representa el porcentaje acumulado de aparición de adultos. Los resultados demuestran que no vale la pena mantener la jaula más allá de los 42 días, porque los adultos han emergido casi todos (97,7%)

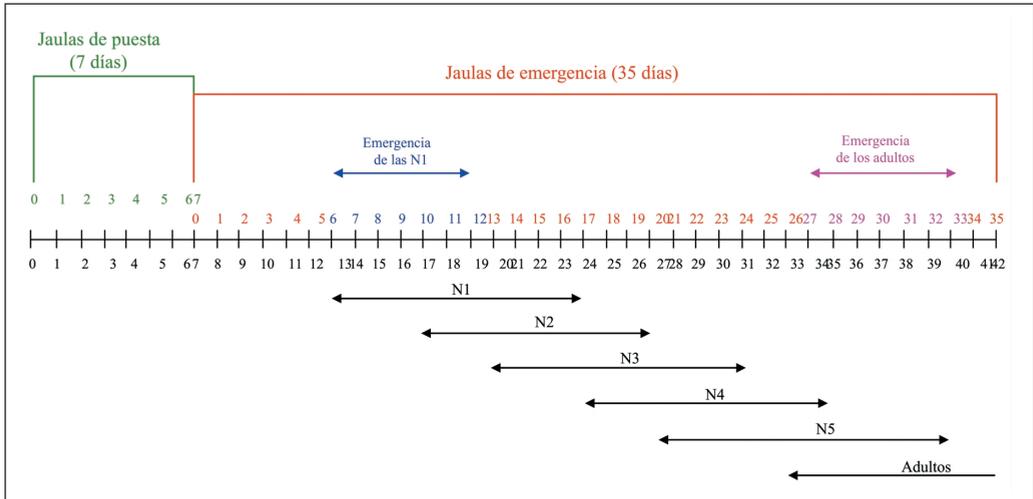


Figura 7. Esquema de un ciclo de cría de *D. tamaninii* (42 días). En la parte superior se representa los períodos de emergencia de las ninfas de 1er estadio (N1) y los adultos en función del tiempo (días). En la parte inferior se representan los períodos de los diferentes estadios ninfales (Nn) basados en Barnadas (1993).

con anterioridad. También en esta figura está representado el momento en el que se espera el 50 y el 95% de los adultos emergidos. Por lo tanto, en base a estos resultados, el mejor momento para parar el mantenimiento de las jaulas de emergencia es a las 6 semanas (42 días). Sabiendo que la media de la duración del período de emergencia de los adultos es de 36,8 días ($33,3 + 3,5$ días) desde el comienzo del ciclo de cría, la edad media de estos adultos a los 42 días es de 5 días.

La media (\pm SE) de la proporción de sexos obtenida ($n = 11$ jaulas, $165 \pm 36,3$ adultos /jaula) fue de $47,6\% \pm 1,3$ para las hembras y de $52,2\% \pm 1,2$ para los machos, lo que significa que la proporción de sexos de *D. tamaninii* bajo estas condiciones de cría es muy cercana a 1:1.

En la figura 6 se representa los porcentajes de mortalidad acumulada de machos y hembras. Todos los adultos tenían 1 día de edad al comienzo del experimento, por lo tanto, la semana 1 es la primera desde que emergieron. El porcentaje de mortalidad de los machos fue superior al de las hembras durante las 3 primeras semanas. A partir de la 4ª semana a la 7ª son las hembras las que

presentaron una mayor mortalidad. A partir de la 8ª semana, la supervivencia es muy baja. El 50% de los adultos murieron entre la 3ª y la 4ª semana y el 95% ocurrió a la mitad de la 6ª semana para las hembras y al inicio de la 7ª semana para los machos.

El promedio de longevidad de las hembras ($24,9 \pm 2,1$ días) no fue significativamente diferente de los machos ($23,5 \pm 4,3$ días) ($t = 0,30$, g.l. = 4, $P = 0,78$). La media de longevidad de los adultos fue de $24,2 \pm 2,2$ días.

Evaluación final de la cría de *D. tamaninii* y adaptación para la cría de *M. caliginosus*.

En base a todos estos resultados, se propuso un método de cría para *D. tamaninii* el cual se resume en la Fig. 7 y el Cuadro 1. Esta cría fue estructurada por semanas y cada ciclo consta de 6. La primera semana, 75 adultos que provenían de la apertura de jaulas de emergencia el día 42º, se introdujeron en jaulas de puesta. Esta densidad de adultos esta basada en experimentos previos en los que se determinó la mejor densidad de adultos en las jaulas de puesta (AGUSTÍ y GABARRA, 2009). El 7º día se retiran los

Cuadro 1. Condiciones del método de cría de *D. tamaninii* (EK= *E. kuehniella*; TV= *T. vaporariorum*).

Factor	Condiciones
Condiciones abióticas	25°C, 16L:8D, 70% HR, jaulas de 40x50x50 cm
Substrato de puesta	Planta de tabaco
Superficie de puesta	1000 cm ²
Período de puesta	1 semana
Duración de 1 ciclo de cría	6 semanas
Período de emergencia de las N1	Del día 13 al 19
Período de emergencia de los adultos	Del día 34 al 40
Edad de los adultos para ser introducidos en las jaulas de puesta	5 días
Numero de adultos en las jaulas de puesta	75 adultos/jaula
Cantidad de comida en las jaulas de puesta	750 huevos EK + 750 ninfas TV /día
Cantidad de comida en las jaulas de emergencia	3400 huevos EK + 3400 ninfas TV /día
Frecuencia del control de Calidad:	cada 6 semanas
- % de ninfas a los 42 días	≤ 11%
- Peso de 20 hembras de 5 días	≥ 2.7 mg

Cuadro 2. Coste semanal de la cría masiva de *D. tamaninii*.

Concepto	Cantidad/semana
Trabajo manual	3,5 horas
Huevos de <i>E. kuehniella</i>	2,5 gr
Ninfas de <i>T. vaporariorum</i>	3400 cm ² de hoja de tabaco
Consumo cámara climática	136,5 Kw

Cuadro 3. Producción (# adultos+ninfas/hembra/día) y porcentaje de ninfas obtenidas en la cría masiva de *D. tamaninii* y *M. caliginosus* (media ± SE).

Especie	Producción	% ninfas	n
<i>D. tamaninii</i>	1.53±0.058a	10,10±0,779a	107
<i>M. caliginosus</i>	1.65±0.074a	7,44±0,649b	114

Valores seguidos de letras diferentes en la misma columna son significativamente diferentes ($P < 0.05$, test t-Student).

Cuadro 4. Duración del período embrionario (días) de *D. tamaninii* a 25 °C.

Concepto	Cantidad/semana	Referencia
Substrato de puesta	Período embrionario (días)	
Tabaco	12,5	Resultados propios
Tomate	12,1	Riudavets 1995
Judía verde	11	Arnó 1997

adultos y la planta de tabaco es trasladada a una jaula de emergencia durante 5 semanas donde eclosionan los huevos y las ninfas se

desarrollan hasta adultos. En total, 1 ciclo de cría equivale a 42 días. Dos veces por semana (cada 3-4 días) se riega la planta y se

introduce la alimentación. La cantidad de alimento se calculó a razón de 20 unidades/individuo/ día, repartidos al 50% entre huevos de *E. kuehniella* (750/día) + ninfas de *T. vaporariorum* (750/día), que fue estandarizado en un trozo de hoja de tabaco de unos 10 x 10 cm infestado de mosca. En las jaulas de emergencia, el alimento se introdujo a partir de la 2ª semana, cuando empiezan a emerger las N1. El número aproximado de individuos en las jaulas de emergencia se calculó a partir de la producción obtenida de N1 y resultó en unos 340. Esto significa que el alimento introducido debe ser alrededor de 3.400 huevos de *E. kuehniella* + 3400 ninfas de *T. vaporariorum* (4 trozos de hoja de tabaco de 10 x 10 cm) por día. El valor de 20 unidades/ individuo/día se refiere al consumo del adulto, lo que asegura un exceso de alimento ya que el consumo de las ninfas es menor. Además, no se tuvo en cuenta que el 46% de las N1 mueren en las jaulas de emergencia (AGUSTÍ y GABARRA, 2009), y por tanto aumentó aún más el exceso de alimento. Las plantas de tabaco introducidas en las jaulas de puesta, podían estar también infestadas de ninfas de *T. vaporariorum*, lo que contribuye a aumentar aún más este exceso de alimento.

Para el control de calidad de la cría se propone un control cada 6 semanas (= 1 ciclo de cría) y se tienen en cuenta toda una serie de valores estudiados tanto en el presente trabajo como en trabajos anteriores. Este control de calidad consiste en determinar el porcentaje de ninfas obtenidas en la apertura de una jaula de emergencia, así como el peso de 20 hembras de esta jaula a los 42 días. Los valores aceptables de estos dos parámetros serían $\leq 11\%$ y $\geq 2,7$ mg, respectivamente (Cuadro 1). Estos valores se basan en resultados previos (AGUSTÍ y GABARRA, 2008; AGUSTÍ y GABARRA, 2009). La evaluación de los costes semanales de la cría se describe en el Cuadro 2. Esta evaluación corresponde a un ciclo de cría, lo que significa el equivalente al mantenimiento de 6 jaulas. El tiempo necesario por semana fue de $3,43 \pm 0,06$ horas ($n = 5$ réplicas), que

incluye el mantenimiento de las jaulas de puesta y de emergencia, el regado de las plantas y la alimentación de todas las jaulas, así como el mantenimiento de las plantas en el invernadero. La cantidad de huevos de *E. kuehniella* introducida en las 6 jaulas fue el equivalente de 2,5 gr por semana (40.000 huevos = 1 gr). El consumo semanal de ninfas de *T. vaporariorum* fue el equivalente de 3.400 cm² de superficie de hoja de tabaco infestada por esta mosca blanca. El coste energético de la cámara climática se calculó en función del espacio ocupado por las 6 jaulas. El coste energético del invernadero donde las plantas de tabaco han sido criadas no se tuvo en cuenta, así como el coste de la construcción de las jaulas.

Los valores de producción y porcentaje de ninfas obtenido a los 42 días (media \pm SE) de esta cría de *D. tamaninii* durante 14 meses se muestran en el Cuadro 3. Bajo estas condiciones de cría se producen semanalmente 400 individuos, entre adultos y N5. El resultado de la adaptación de estas condiciones de cría a *M. caliginosus* durante dos años se muestran también en el Cuadro 3, donde se dan los valores de producción y del porcentaje de ninfas obtenidas a los 42 días (media \pm SE). La producción no fue significativamente diferente ($t = 1,29$, g.l. = 221, $P = 0,20$) a la producción obtenida con *D. tamaninii*, lo cual confirma que este método de cría es también adecuado para *M. caliginosus*. Por el contrario, el porcentaje de ninfas obtenido a los 42 días, fue significativamente mayor ($t = 2,59$, g.l. = 221, $P < 0,05$) para *D. tamaninii*. Sabiendo que los costes semanales de esta cría son los mismos que para *D. tamaninii* y que la producción es también muy similar (433 individuos / semana), el coste por *M. caliginosus* se asume que es también similar.

DISCUSIÓN

Bajo las condiciones de cría propuestas aquí, la duración del período de desarrollo embrionario y embrionario+ninfal de *D. tamaninii* fueron de 12,5 y 33,3 días, respec-

tivamente. A partir de la diferencia de estos dos valores, la duración del período ninfal resultó ser 20,8 días. Los Cuadros 4 y 5 muestran la duración de los período embrionario y ninfal de *D. tamaninii* obtenidos por otros autores en diferentes sustratos de puesta y con diferentes dietas. Los resultados obtenidos aquí son muy similares a los obtenidos por Riudavets (1995) en tomate (Cuadro 4), siendo ligeramente más largos sobre tabaco. La duración del período ninfal de *D. tamaninii* obtenido en el presente trabajo se sitúa entre los valores de otros resultados con otras presas y a la misma temperatura (Cuadro 5).

El principal objetivo de este trabajo fue el desarrollar un método de cría masiva que permitiera conocer la edad aproximada de los individuos en cada momento. En la Fig. 7 se representa la duración de cada uno de los estadios ninfales en base al trabajo de BARNADAS (1993) (Cuadro 6). Este cuadro muestra también como las duraciones ninfales pueden diferir en función de la dieta, sobre todo en el estadio N3. Como se muestra en la Fig. 7, el período de emergencia de los adultos obtenidos bajo el protocolo de cría puesto a punto en el presente trabajo se inicia el día 34º, casi al mismo tiempo que indica Barnadas (1993) situado en el día 33º.

La planta de tabaco fue elegida como sus-

trato de oviposición en base a resultados anteriores (MALAUSA, 1992; CONSTANT *et al.* 1996). En estos estudios, se comparó la oviposición sobre tabaco y tomate, así como, sobre sustratos artificiales. Los valores más altos en planta, y el hecho de que las hojas de tabaco tienen una mayor superficie foliar que la planta de tomate hizo que el tabaco fuera el mejor candidato. En este trabajo, el porcentaje de huevos de *D. tamaninii* eclosionados en tabaco ha sido del 87%. Estos resultados son similares a los datos obtenidos por RIUDAVETS (1995) para la misma especie depredadora en tomate (87,3%) y a la misma temperatura (25°C). Para *M. caliginosus* se situó en el 80%. CONSTANT *et al.* (1996) estudió el porcentaje de huevos eclosionados de *M. caliginosus* a 22°C sobre tabaco y el geranio *Pelargonium peltatum* L., siendo del 81,6% y 43,4%, respectivamente. El tabaco es por tanto, una planta de buena calidad como sustrato de oviposición para *D. tamaninii*.

La proporción de sexos de *D. tamaninii* obtenida en este estudio estuvo muy cerca del 1:1. Resultados similares fueron obtenidos por ARNÓ (1997) bajo condiciones de termofotoperiodo 16:11°C, 9,5L: 14,5D y *B. tabaci* como dieta, así como a los obtenidos por ALVARADO *et al.* (1997) a 25°C, 16L: 8F y con pulgones como dieta. De acuerdo con

Cuadro 5. Duración del periodo ninfal (días) de *D. tamaninii* (TV= *T. vaporariorum*, EK= *E. kuehniella*).

Presa	Período larval (días)	Tº (°C)	Referencia
<i>M. euphorbiae</i>	17,7	25	Alvarado <i>et al.</i> 1997
<i>F. occidentalis</i>	18,9	25	Riudavets 1995
<i>B. tabaci</i>	20,2	25	Barnadas 1993
TV+EK	20,8	25	Resultados propios
<i>A. gossypii</i>	21,5	25	Alvarado <i>et al.</i> 1997
<i>T. vaporariorum</i>	21,8	22	Salamero <i>et al.</i> 1987

Cuadro 6. Duración de los diferentes estadios ninfales (Nn) (en días) de *D. tamaninii* a 25°C.

Presa	N1	N2	N3	N4	N5	Referencia
<i>F. occidentalis</i>	4	3	2,3	3,2	5,5	Riudavets 1995
<i>B. tabaci</i>	4,3	2,9	4	3,4	5,6	Barnadas 1993

WAAGE *et al.* (1985) y JERVIS y COPLAND (1996), en enemigos naturales diploides, como Hemiptera, Neuroptera, Diptera y Coleoptera, la proporción de sexos casi nunca difiere de 1:1.

La longevidad de machos y hembras procedentes de la cría fue de unos 24 días. RIUDAVETS (1995) mostró una longevidad de esta misma especie de 21 días criada sobre judía verde y alimentada con el trips *Frankliniella occidentalis* Pergande. Esto significa que la dieta utilizada en esta cría fue capaz de alargar su vida debido a una calidad más elevada. El mismo efecto se había observado anteriormente para *M. caliginosus* cuando fueron alimentados con *F. occidentalis* y huevos de *E. kuehniella* (RIUDAVETS 1995; FAUVEL *et al.* 1987).

El método de cría propuesto aquí incluye una evaluación periódica (cada 6 semanas) de la calidad de esta cría. Este control de calidad propone evaluar dos parámetros: el porcentaje de ninfas y el peso de las hembras. Otros parámetros propuestos en otros protocolos de control de calidad de *M. caliginosus* fueron el porcentaje de hembras ($\geq 45\%$) y la fecundidad a 22 °C, 16L: 8D y 75 \pm 10% HR (≥ 7 huevos/hembra/72 horas) (CASTAÑÉ 1998; VAN LENTEREN *et al.* 2003). Estos son parámetros también propuestos para otras especies de depredadores, como *Orius* spp. (TOMMASINI y BOLCKMANS 1998; van Lenteren *et al.* 2003). Debido a la estrecha relación existente entre la fecundidad y el peso de las hembras de *D. tamaninii* (AGUSTÍ 1998; AGUSTÍ y GABARRA, 2009), proponemos este parámetro ya que es más rápido y menos engorroso de evaluar.

Al considerar 108 ciclos de cría de *D. tamaninii* (Cuadro 6) y en base a la producción obtenida (1,53 adultos + ninfas/hembra/día), la cría se multiplicaría por cinco en cada ciclo. Teniendo en cuenta el método de cría propuesto, según el cual 37,5 hembras ponen sus huevos durante 7 días y que la

producción es de 1,5 individuos/hembra/día, se obtienen 5,25 individuos por adulto introducido en las jaulas de puesta. Aunque los valores de producción obtenidos en las crías de *D. tamaninii* y *M. caliginosus* no fueron significativamente diferentes, el porcentaje de ninfas obtenido a los 42 días, fue significativamente mayor para *D. tamaninii*, lo que sugiere un cierto retraso en el desarrollo ninfal de *D. tamaninii*. Este resultado es respaldado también por la diferente duración del período ninfal obtenido para ambas especies por RIUDAVETS (1995).

No hay demasiados trabajos publicados que muestren los valores de producción de crías masivas de heterópteros. ALAUZET *et al.* (1992) obtuvo una producción de 1,15 adultos/hembras/día para *O. majusculus* sobre hojas de geranio a 25 °C y alimentados con huevos de *E. kuehniella*. SNODGRASS y McWILLIAMS (1992) obtuvieron valores de producción de 37 adultos/hembra para una cría de *L. lineolaris* sobre sustrato artificial y una alimentación a base de judía verde y brócoli a 25 °C. Sabiendo que la longevidad de las hembras de *D. tamaninii* es de unos 24 días, esto significa una producción de 36 adultos+ninfas/hembra, muy similar a la obtenida para *L. lineolaris*. En base a estos resultados, la producción obtenida en este trabajo para *D. tamaninii* y *M. caliginosus* (Cuadro 6) son muy similares a la producción obtenida en otras crías de heterópteros, lo que hace de este protocolo un método válido para la cría masiva de estos heterópteros.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a Pilar Hernandez y Victor Muñoz su asistencia en el laboratorio. Este estudio fue financiado por el MEC (proyecto AGL 2007-60371). La Dra. Nuria Agustí goza de un contrato Ramón y Cajal del Ministerio de Educación y Ciencia.

ABSTRACT

AGUSTÍ, N., R. GABARRA. 2009. Development of a mass rearing protocol of the polyphagous predator *Dicyphus tamaninii* Wagner (Hemiptera: Miridae). *Bol. San. Veg. Plagas*, **35**: 205-218.

Several biological parameters, such as the embryonic and nymphal development length, egg hatching percentage, progeny sex ratio and adult longevity of *Dicyphus tamaninii* Wagner (Hemiptera: Miridae) were studied in order to develop a mass rearing method for this species of polyphagous predator used in integrated pest management (IPM) programs in the Mediterranean. Under the rearing conditions proposed here, the length of the embryonic and nymphal periods were 12,5 and 20,8 days, respectively. The egg hatching percentage was 87%, sex ratio was very close to 1:1 and adult longevity was 24,2 days. Finally, the rearing protocol was also evaluated and adapted to *Macrolophus caliginosus* Wagner (Hemiptera: Miridae), probably the most used polyphagous predator in pest control on tomato crops. Production values of *M. caliginosus* were similar to the production values obtained with *D. tamaninii*, allowing the use of this rearing method for both predator species.

Key words: Biological control, horticultural crops, whiteflies, *Macrolophus caliginosus*, production.

REFERENCIAS

- AGUSTÍ, N. 1998. Biología de *Dicyphus tamaninii* Wagner (Heteroptera: Miridae) i identificació molecular de les preses ingerides. Tesis Doctoral. Universitat de Barcelona.
- AGUSTÍ, N., GABARRA, R. 2008. Efecto de la alimentación polífaga sobre la reproducción y otros parámetros biológicos de *Dicyphus tamaninii* Wagner (Heteroptera: Miridae). *Bol. San. Veg. Plagas*, **34**: 247-256.
- AGUSTÍ, N., GABARRA, R. 2009. Effect of adult age and insect density of *Dicyphus tamaninii* Wagner (Heteroptera: Miridae) on progeny. *J. Pest Sci.*, **82**: 241-246.
- ALBAJES, R., ALOMAR O., RIUDAVETS, J., CASTAÑÉ, C., ARNÓ, J., GABARRA R. 1996 The mirid bug *Dicyphus tamaninii*: an effective predator for vegetable crops. *IOBC/WPRS Bull.*, **19** (1): 1-4.
- ALOMAR, O., CASTAÑÉ, C., GABARRA, R., ARNÓ, J., ARINO, J., ALBAJES, R. 1991. Conservation of native mirid bugs for biological control in protected and outdoor tomato crops. *IOBC/WPRS Bull.*, **14** (5): 33-42.
- ALOMAR, O. 1994. Mírids depredadors en el control integrat de plagues en conreus de tomàquet. Tesis Doctoral. Universitat de Barcelona.
- ALOMAR, O., GOULA, M., ALBAJES, R. 2002. Colonisation of tomato fields by predatory mirid bugs (Hemiptera: Heteroptera) in northern Spain. *Agr. Eco. Env.* **89** (1-2): 105-115.
- ALAUZET, C., DARGAGNON, D., HATTE, M. 1992. Production d'un Hétéroptère prédateur: *Orius majusculus* (Het.: Anthocoridae). *Entomophaga*, **37** (2): 249-252.
- ALVARADO, O., BALTÀ, O., ALOMAR, O. 1997. Efficiency of four Heteroptera as predators of *Aphis gossypii* and *Macrosiphum euforbiae* (Hom.: Aphididae). *Entomophaga*, **42**: 215-226.
- ANDERSON, N.H. 1962. Anthocoridae of the Pacific Northwest with notes on distributions, life histories, and habits (Heteroptera). *Can. Entomol.*, **94** (12): 1325-1334.
- ARNÓ, J. 1997. Bases biològiques per al disseny d'un programa de control integrat de plagues en tomàqueres de tardor-hivern sota plàstic. Tesis Doctoral. Universitat de Lleida.
- BARNADAS, I. 1993. Avaluació de la capacitat depredadora dels mírids *Dicyphus tamaninii* i *Macrolophus caliginosus* sobre l'aleiròdid *Bemisia tabaci* biotipus B. Proyecto final de carrera. Universitat de Lleida.
- BARNADAS, I., GABARRA, R., ALBAJES, R. 1998. Predatory capacity of two mirid bugs preying on *Bemisia tabaci*. *Ent. Exp. Appl.*, **86**: 215-219.
- CASTAÑÉ, C. 1998. Guidelines produced by the EC concerted action grant on quality control of mass reared arthropods (PL921076). *Newsletters on biological control in greenhouses*, **18**: 16.
- CASTAÑÉ, C., ALOMAR, O., GOULA, M., GABARRA R. 2004. Colonization of tomato greenhouses by the predatory mirid bugs *Macrolophus caliginosus* and *Dicyphus tamaninii*. *Biol. Control*, **30** (3): 591-597.
- CASTAÑÉ, C., QUERO, R., RIUDAVETS, J. 2006. The brine shrimp *Artemia* sp. as alternative prey for rearing the predatory bug *Macrolophus caliginosus*. *Biol. Control*, **38**: 405-412.
- CONSTANT, B., GRENIER, S., BONNOT, G. 1996. Artificial substrate for egg laying and embryonic development by the predatory bug *Macrolophus caliginosus* (Heteroptera: Miridae). *Biol. Control*, **7**: 140-147.
- DOLLING, W.R. 1991. The Hemiptera. Oxford University Press, New York.
- FAUVEL, G., MALAUSA, J.C., KASPAR, B. 1987. Etude en laboratoire des principales caractéristiques biologiques de *Macrolophus caliginosus* (Het.: Miridae). *Entomophaga*, **32** (5): 529-543.

- GABARRA, R., CASTAÑÉ, C., ALBAJES R. 1995 The mirid bug *Dicyphus tamaninii* as a greenhouse whitefly and western flower thrips predator on cucumber. *Biocontrol Sci. Tech.*, **5**: 475-488.
- GABARRA, R., BESRI, M. 1999. Implementation of IPM: Case studies. Tomato. En: R. Albajes, M.L. Gullino, J.C. van Lenteren y Y. Elad (eds). *Integrated pest and disease management in greenhouse crops*. Kluwer Academic publishers, 420-734.
- GABARRA, R., ZAPATA, R., CASTAÑÉ, C., RIUDAVETS, J., ARNÓ J. 2006. Releases of *Eretmocerus mundus* and *Macrolophus caliginosus* for controlling *Bemisia tabaci* on spring and autumn greenhouse tomato crops. *IOBC/WPRS Bull.*, **29** (4): 71-76.
- GOULA, M. 1986. Contribución al conocimiento de los Hemipteros (Insecta, Heteroptera, familia Miridae). Tesis Doctoral. Universitat de Barcelona.
- GOULA, M. 1989. Catàleg dels Miridae (Heteroptera) del massís del Garraf. *Ses. Entomol. ICHN-SCL*, **5**: 67-76.
- GOULA, M., ALOMAR, O. 1994. Míridos (Heteroptera: Miridae) de interés en el control integrado de plagas en el tomate. Guía para su identificación. *Bol. San. Veg. Plagas*, **20**: 131-143.
- GOULA, M., ARNÓ, J. 1994. Nota sobre la fauna de míridos (Insecta, Heteroptera) hallada en zonas de cultivo de tomate del Mediterráneo español. *Inv. Agr. (Fuera de Serie)*, **2**: 93-97.
- JERVIS, M.A., COPLAND, M.J.W. 1996. The life cycle. En: Jervis MA y Kidd N (eds) *Insect natural enemies. Practical approaches to their study and evaluation*. Chapman & Hall, London, 63-160.
- MALAUSSA, J.C. 1989. Sur l'utilisation de mirides prédateurs (Hétéroptères) dans la lutte biologique contre les ravageurs des cultures maraîchères sous serre. En: Cavalloro R y Pelereys C (eds), *IPM in protected vegetable crops*. Brookfield, Rotterdam, 63-66.
- MALAUSSA, J.C. 1992. Le ricerche svolte in Francia sull'impiego dei Miridi predatori nella lotta biologica in colture ortive di serra. En: Anonimo (eds), *Strategie di lotta biologica integrata. Atti delle giornate di studio*. Cagliari, 75-94.
- MANUGISTICS. 2000. StatGraphics Plus version 5. Manugistics, Inc., Rockville, MD, EEUU.
- MARTÍNEZ-CASCALES, J.I., CENIS, J.L., CASSIS, G., SANCHEZ, J.A. 2006. Species identity of *Macrolophus melanotoma* (Costa 1839) and *Macrolophus pygmaeus* (Rambur 1839) (Heteroptera: Miridae) based on morphological and molecular data and binomic implications. *Ins. Syst. Evol.*, **37**: 385-404.
- PERDIKIS, D.C., MARGARITPOULOS, J.T., STAMATIS, C., MAMURIS, Z., LYKOURESSIS, D.P., TSITSIPIS, J.A., PEKAS, A. 2003. Discrimination of the closely related biocontrol agents *Macrolophus melanotoma* (Hemiptera: Miridae) and *M. pygmaeus* using mitochondrial DNA analysis. *Bull. Entomol. Res.*, **93**: 507-514.
- RIUDAVETS, J. 1995. Depredadors autòctons per al control biològic de *Frankliniella occidentalis* (Thysanoptera: Thripidae) en conreus hortícoles. Tesis Doctoral. Universitat de Lleida.
- RIUDAVETS, J., GABARRA, R., CASTAÑÉ, C. 1993. *Frankliniella occidentalis* predation by native natural enemies. *IOBC/WPRS Bull.*, **16** (2): 137-140.
- RIUDAVETS, J., CASTAÑÉ, C. 1998. Identification and evaluation of native predators of *Frankliniella occidentalis* (Thysanoptera: Thripidae) in the Mediterranean. *Environ. Entomol.*, **27** (1): 86-93.
- SALAMERO, A., GABARRA, R., ALBAJES, R. 1987. Observations on the predatory and phytophagous habits of *Dicyphus tamaninii* Wagner (Heteroptera: Miridae). *IOBC/WPRS Bull.*, **10** (2): 165-169.
- SANCHEZ, J.A., MARTÍNEZ-CASCALES J.I., LACASA A. 2003. Abundance and wild host plants of predatory mirids (Heteroptera: Miridae) in horticultural crops in the Southeast of Spain. *IOBC/WPRS Bull.*, **26** (10): 147-152.
- SAMPSON, A.C., KING, V.J. 1996. *Macrolophus caliginosus*, field establishment and pest control effect in protected tomatoes. *IOBC/WPRS Bull.*, **19** (1): 143-146.
- SNODGRASS, G.L., MCWILLIAMS, J.M. 1992. Rearing the tarnished plant bug (Heteroptera: Miridae) using a tissue paper oviposition site. *J. Econ. Entomol.*, **85** (4): 1162-1166.
- TAVELLA, L., ALMA, A., SARGIOTTO, C. 1997. Samplings of Miridae Dicyphinae in tomato crops of Northwest Italy. *IOBC/WPRS Bull.*, **20** (4): 249-256.
- TOMMASINI, M.G., BOLCKMANS, K. 1998. Guidelines produced by the EC concerted action grant on quality control of mass reared arthropods (PL921076). *Newsletters on biological control in greenhouses*, **18**: 25.
- TROTTIN-CAUDAL, Y., MILLOT, P. 1994. Lutte intégrée contre les ravageurs sur tomate sous abri. Situation et perspectives en France. *IOBC/WPRS Bull.*, **17** (5): 5-13.
- VAN LENTEREN, J.C., HALE, A., KLAPWIJK, J.N., VAN SCHELT, J., STEINBERG, S. 2003. Guidelines for quality control of commercially produced natural enemies. En: J.C. van Lenteren (ed.), *Quality Control and Production of Biological Control Agents: Theory and Testing Procedures*. CABI Publishing, Wallingford, UK: 265-303.
- WAAGE, J.K., CARL, K.P., MILLS, N.J., GREATHED, D.J. 1985. Rearing entomophagous insects. En: Singh P y Moore RF (eds), *Handbook of Insect Rearing*, Elsevier, Amsterdam, 1: 45-66.

(Recepción: 17 noviembre 2008)

(Aceptación: 17 abril 2009)