



UNIVERSIDAD DE JAÉN
Centro de Estudios de Postgrado

EFFECTOS SUBLETALES DE LOS INSECTICIDAS: RESISTENCIA COMPORTAMENTAL DE INSECTOS

Alumno: SERGIO MORENO MORENO

Tutor/a: R. GONZÁLEZ RUIZ
Dpto.: BIOLOGÍA ANIMAL, BIOLOGÍA VEGETAL Y
ECOLOGÍA

Fecha: 28-NOVIEMBRE-2020



RAMÓN GONZÁLEZ RUIZ, PROFESOR TITULAR DEL
DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA ANIMAL, BIOLOGÍA
VEGETAL Y ECOLOGÍA DE LA UNIVERSIDAD DE JAÉN.

Como **TUTOR** de D. Sergio Moreno Moreno, en el Máster Universitario en Olivar y Aceite de Oliva, durante el curso 2019-2020.

INFORMA: Que el presente trabajo fin de máster, ha sido realizado por D./D^a. SERGIO MORENO MORENO, para la obtención del Título de Máster Universitario en Olivar y Aceite de Oliva por la Universidad de Jaén.

Jaén, a 28 de noviembre de 2020

GONZALEZ
RUIZ
RAMON -
26188870N

Firmado
digitalmente por
GONZALEZ RUIZ
RAMON - 26188870N
Fecha: 2020.11.25
19:26:41 +01'00'

Fdo.:

Fdo:



1	EFFECTO DEL TIPO DE MANEJO DE CULTIVO SOBRE LA ENTOMOFAUNA	6
1.1	IMPORTANCIA DE LA ENTOMOFAUNA	6
1.2	TIPOS DE MANEJO EN OLIVAR	8
1.1.1	Manejo tradicional	8
1.1.2	Manejo integrado de plagas	9
1.1.3	Cultivo ecológico	9
1.3	INFLUENCIA DEL TIPO DE MANEJO SOBRE LA ENTOMOFAUNA DEL OLIVAR 10	
1.4	EFFECTOS DEL TIPO DE MANEJO SOBRE LA ENTOMOFAUNA EN OTROS CULTIVOS	14
2	EFFECTOS SECUNDARIOS DE LA APLICACIÓN DE INSECTICIDAS EN EL COMPORTAMIENTO Y DIVERSIDAD DE LA ENTOMOFAUNA.	20
2.1	EFFECTOS SECUNDARIOS DE LA APLICACIÓN DE INSECTICIDAS EN EL COMPORTAMIENTO Y DIVERSIDAD DE ENTOMOFAUNA EN OLIVAR.	20
2.1.1	EFFECTOS SECUNDARIOS DE LA APLICACIÓN DE INSECTICIDAS EN EL COMPORTAMIENTO DE LA ENTOMOFAUNA	20
3	UTILIDAD DE LOS EFFECTOS SECUNDARIOS EN LA CARACTERIZACIÓN DE LOS DISTINTOS TIPOS DE MANEJO	30
4	PUESTA A PUNTO DE UNA METODOLOGÍA PARA LA CATALOGACIÓN DE LOS DISTINTOS TIPO DE MANEJO	39
5.	EXPLORACIÓN DE LOS EFFECTOS COLATERALES DE LOS INSECTICIDAS NATURALES SOBRE LA ENTOMOFAUNA BENEFICIOSA	44
6	CONCLUSIONES.....	53
7	BIBLIOGRAFÍA.....	54

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Diversidad taxonómica en la provincia de Jaén	7
Tabla 2 Continuación de tabla 2.....	8
Tabla 3 Tabla de tipo de manejo y el tipo de tratamiento químico usado para el control de cada plaga.	11
Tabla 4 Cultivos analizados en régimen convencional (CON) y ecológico (ORG).....	15
Tabla 5 Insecticida, ingrediente activo y mecanismo de acción usados en el estudio de Solange y col. (2017).....	25
Tabla 6 Toxicidad crónica de la lambda-cialotrina sobre <i>E. fetida</i> en suelo. Resumen de los resultados para reproducción, supervivencia y biomasa.	27
Tabla 7 Insecticidas probados en laboratorio: estado de vida susceptible <i>O.concolor</i> Szepi.....	29
Tabla 8 Influencia del modo de aplicación de diversos insecticidas en la susceptibilidad de hembras jóvenes de <i>Psytalia concolor</i>	30
Tabla 9 Valores de captura (número total de individuos y porcentajes) de insectos benéficos en las parcelas control y tratadas con dimetoato, correspondientes a los diferentes regímenes de manejo (régimen convencional, CM; régimen integrado de plagas IPM y régimen orgánico, OM), en los muestreos de 2017 y 2018. Se incluye el resultado de su comparación estadística mediante la prueba de Mann-Whitney (estadísticas U, Z, valor p).	35
Tabla 10 Lista de las principales especies de insectos benéficos capturados en el estudio. Se indica el número total de individuos capturados (n), así como la desviación estándar (S.D.), la media para cada especie en los dos intervalos de muestreo, tanto para la parcela control como para la parcela tratada.	40
Tabla 11 Prueba t-student para un número creciente de repeticiones, en los datos de captura de <i>A. intermedius</i> en los 2 intervalos de muestreo.....	42

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Proporción de cadenas tróficas capturadas en primavera en trampas de caída y trampas cromotrópicas.....	6
Figura 2 Ubicación Olivares objeto de estudio	10
Figura 3 Índice de abundancia relativa de depredadores capturados y porcentaje para los 3 tipos de manejo considerados (convencional, MIP y ecológico).....	12
Figura 4 Abundancia relativa de parasitoides capturados y porcentaje para los 3 tipos de manejo considerados (convencional, MIP y ecológico).....	12
Figura 5 Número de individuos capturados en zonas con cubierta y sin cubierta en Torreperogil y Linares durante los años 1999 y 2000.....	14
Figura 6 Valores promedios de riqueza de especies para diferentes órdenes colectados mediante conteo visual en huertas con práctica ecológica(orgánica) y convencional.	16
Figura 7 Abundancia de individuos para diferentes órdenes colectados mediante conteo visual en huertas ecológicas y convencionales.	16
Figura 8 Total de insectos en el árbol y la cubierta durante los días posteriores a la siega de la cubierta en cítricos en La Casella (Alzira, Valencia) en junio de 2011.	18
Figura 9 Evolución de depredadores en árbol y cubierta durante los días posteriores a la siega de cubierta en cítricos en La Casella (Alzira, Valencia) en junio de 2011.	18
Figura 10 Evolución de parasitoides en el árbol y la cubierta durante los días posteriores a la siega de cubierta en cítricos en La Casella (Alzira, Valencia) en junio de 2011.....	19
Figura 11 Evolución de fitófagos en árbol y cubierta durante los días posteriores a la siega de cubierta en cítricos en La Casella (Alzira, Valencia) en junio de 2011.	19
Figura 12 Imagen <i>Psytalia concolor</i>	28
Figura 13 Presencia de <i>Harraphidia laufferi</i> en olivares orgánicos y convencionales tratados con insecticida.	34
Figura 14 Parámetros estadísticos (mediana, máximo, mínimo e intervalo Q25-Q75) correspondientes a los depredadores capturados en las trampas adherentes de las parcelas control tanto del olivar convencional como ecológico.	36
Figura 15 Valores de captura en diferentes intervalos de muestreo para <i>C. agilis</i> , <i>A. intermedius</i> y <i>O. laevigatus</i> en parcelas tratadas y control en manejos orgánico y tradicional.....	37
Figura 16 Error relativo del valor medio de captura en relación con el aumento del tamaño de muestra.	41
Figura 17 Error relativo del valor medio de captura en relación con el aumento en el tamaño de la muestra.....	41

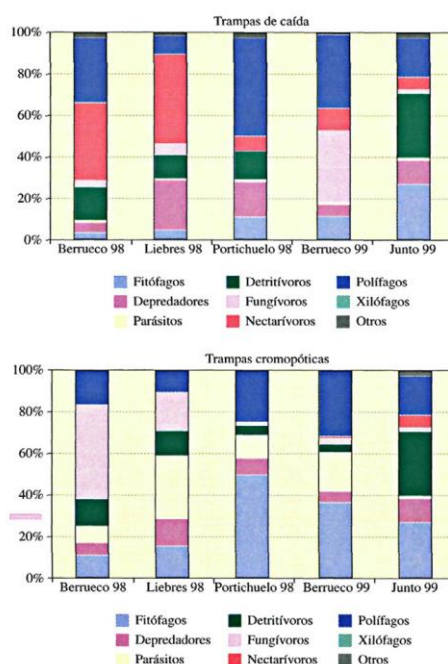
1 EFECTO DEL TIPO DE MANEJO DE CULTIVO SOBRE LA ENTOMOFAUNA

1.1 IMPORTANCIA DE LA ENTOMOFAUNA

La entomofauna agrícola y las prácticas llevadas a cabo para su conservación y manejo dentro de un agroecosistema son muy importantes, ya que el aumento de la biodiversidad de la entomofauna, se traduce en una mayor cantidad y diversidad de enemigos naturales de las plagas, los cuales constituyen un método de control natural contra las especies plaga.

La entomofauna del olivar de Jaén es rica en abundancia y diversidad (Torres y col. 2001) realizaron muestreos en trampas de caída y trampas cromotrópicas arrojaron 35065 ejemplares en trampas de caída y 30593 en trampas cromotrópicas. Además, en las trampas colocadas en las diferentes zonas de muestreo en primavera, se encontraron un gran número de categorías tróficas en diferente proporción, en los dos tipos de trampas como muestra la siguiente figura:

Figura 1. Proporción de cadenas tróficas capturadas en primavera en trampas de caída y trampas cromotrópicas.



Fuente: tomado de Torres y col. (2001).

En la tabla se observa que, en las trampas de caída en las diferentes zonas de muestreo, varía la proporción de categorías taxonómicas capturadas, pero que los mayoritarios son los polívoros, los nectarívoros y los detritívoros. En las trampas cromotrópicas los mayoritarios son los xilófagos. Tal y como se puede observar en los resultados de Ruiz-Torres y Montiel Bueno (2000), el olivar de Jaén presenta una gran diversidad taxonómica.

Tabla 1 Diversidad taxonómica en la provincia de Jaén

			Zona 1		Zona 2		Zona 7	Zona 8	Zona 3	Zona 4			Zona 5		Zona 9		Zona 6
			P	V	V	O	V	O	V	P	V	Q	P	V	P	V	V
O.COLEMBOLOS	Entomobryidae	(Det.)	x	x	x	x	x		x	x	x	x	x	x	x	x	x
	Sminthuridae	(Det.)															
O.TISANURA		(Det.)		x													
O.ORTHOPTERA	Gryllidae	(Fit.)	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
	Rhaphidophoridae	(Fit.)					x	x									
	Acrididae	(Fit.)		x			x								x	x	
O.DERMAPTEROS		(Det.)								x							
O.EMBIOPTERA	Embiidae	(Dep.)	x	x						x					x	x	
O.DICTYOPTERA	Mantidae	(Dep.)															x
	Blattidae	(Det.)	x	x	x		x	x	x		x						x
O.PSOCOPTERA		(Det.)	x	x	x	x			x	x	x		x	x		x	
O.HOMOPTERA	Cixiidae	(Fit.)	x	x	x	x			x	x	x	x	x	x	x	x	x
	Isidae	(Fit.)	x						x	x	x	x	x	x	x	x	x
	Cicadellidae	(Fit.)	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
	Psyllidae	(Fit.)	x	x	x		x	x					x	x	x	x	x
	Aphididae	(Fit.)	x	x	x	x		x	x			x	x	x	x	x	x
	Coccidae	(Fit.)		x									x	x	x	x	x
O.HETEROPTERA	Timidae	(Fit.)															x
	Reduviidae	(Dep.)	x	i													
	Nabidae	(Dep.)		x					x	x	x	x			x		x
	Anthrenidae	(Dep.)											x				
	Miridae	(Fit.)	x		x						x		x	x	x	x	x
	Dipsosomatidae	(Dep.)		x					x								
	Aradidae	(Fung.)		x													
	Lygaeidae	(Fit.)		x								x					
	Pyrrhocoridae	(Pol.)											x				
	Pentatomidae	(Fit.)															x
	Phlaeothripidae	(Fit.)	x	x	x		x			x	x		x	x	x	x	x
	Aelothripidae	(Dep.)		x						x	x		x	x	x	x	
O.NEUROPTERA	Thripidae	(Fit.)	x														
	Raphidiidae	(Dep.)															
O.COLEOPTERA	Chrysomelidae	(Dep.)	x	x	x	x			x	x	x	x	x	x	x	x	x
	Carabidae	(Dep.)		x	x	x	x	x		x	x	x	x	x	x	x	x
	Hydrophilidae	(Det.)								x							
	Staphylinidae	(Dep.)	x	x	x	x	x	x		x	x	x	x	x	x	x	x
	Lucanidae	(Xil.)		x													
	Scarabaeidae	(Fit.)					x		x	x	x	x			x	x	x
	Dascolloidea	(Fit.)		x	x	x	x		x	x	x	x	x	x	x	x	x
	Buprestidae	(Fit.)	x	x						x		x					x
	Elatidae	(Fit.)								x		x			x		x
	Cantharidae	(Dep.)											x				
	Dermestidae	(Det.)								x							
	Anobiidae	(Xil.)												x			
	Bostriichidae	(Xil.)								x			x				x
	Trogossitidae	(Dep.)						x									x
	Cleridae	(Dep.)								x	x		x	x			
	Nitidulidae		x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
	Cucujidae	(Dep.)	x	x			x			x	x	x	x	x	x	x	x
	Chryptophagidae	(Fung.)		x	x	x				x	x	x	x	x	x	x	
	Coccinellidae	(Dep.)		x						x	x		x	x			x
	Tenebrionidae	(Fit.)		x			x		x	x	x	x	x	x	x	x	x
	Meloidae	(Par.)															
	Anthicidae	(Det.)	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
	Cerambycidae	(Xil.)		x									x				
	Chrysomelidae	(Fit.)		x			x			x		x	x	x			x
	Curculionidae	(Fit.)		x		x	x			x	x		x	x			x
	Scolytidae	(Xil.)								x			x		x		
	Meliridae	(Dep.)	x	x									x	x			
O.SIFONAPTERA	Hystriochysyllidae	(Par.)								x							
O.DIPTERA	Tipulidae	(Det.)								x							
	Psychodidae	(Det.)								x			x				x
	Simuliidae	(Det.)								x							x
	Chironomidae	(Det.)								x	x		x	x			x
	Bibionidae	(Fit.)								x	x	x	x	x	x	x	x
	Scatopidae	(Det.)	x	x						x	x	x	x	x	x	x	x
	Mycetophilidae	(Fung.)	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
	Cecidomyiidae	(Fit.)	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
	Asilidae	(Dep.)			x	x				x	x		x	x			

Fuente: tomado de Ruiz-Torres y Montiel Bueno (2000).

Tabla 2 Continuación de tabla 2

			Zona 1		Zona 2		Zona 7	Zona 8	Zona 3	Zona 4			Zona 5		Zona 9		Zona 6
			P	V	V	O	V	O	V	P	V	O	P	V	P	V	V
O.DIPTERA	Empididae	(Dep.)															
	Dolichopodidae	(Dep.)	x	x				x		x	x	x	x	x	x	x	x
	Phoridae	(Det.)	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
	Platypodidae	(Nect.)		x													
	Syrphidae	(Dep.)					x			x			x				
	Lauxaniidae	(Det.)	x	x	x	x		x				x	x				x
	Drosophilidae	(Nect.)	x	x	x	x			x	x	x	x	x	x			x
	Oestridae	(Par.)		x													
	Calliphoridae	(Det.)	x	x						x	x		x	x	x	x	
	Chloropidae	(Fit.)	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
	Trypetidae	(Fit.)		x	x	x			x	x		x	x				x
O.LEPIDOPTERA	Micropterigidae	(Polin.)		x				x								x	x
	Nepticulidae	(Fit.)		x													
	Noctuidae	(Fit.)	x	x						x		x			x	x	
	Piraloidea	(Fit.)	x	x			x	x	x	x		x		x	x		
	Tineoidea	(Fit.)	x	x			x	x		x	x	x	x	x	x		x
	Cossioidea	(Fit.)	x	x			x	x				x				x	x
	Papilionoidea	(Fit.)		x			x										x
	Tortricidae	(Fit.)		x													x
	Cimbicidae	(Fit.)											x				
	Trigonidae	(Par.)		x													
	Ichneumonidae	(Par.)		x	x	x			x	x	x		x	x			x
	Braconidae	(Par.)		x	x	x			x	x	x	x	x	x	x	x	x
O.HIMENOPTERA	Evaniidae	(Par.)											x				
	Cynipidae	(Fit.)		x	x				x		x	x					x
	Chalcidoidea	(Par.)	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
	Proctotrupoidea	(Par.)	x	x	x		x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
	Betuloidea	(Par.)		x													
	Scolioidea	(Pol.)	x	x				x		x	x	x	x	x	x	x	x
	Formicidae	(Pol.)	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
	Pompilidae	(Dep.)								x	x		x				
	Vespidae	(Pol.)				x											x
	Sphecidae	(Dep.)	x	x		x		x	x	x			x	x	x	x	x
	Apoidea	(Nect.)	x	x	x		x		x	x	x	x	x		x		x
Total			35	67	32	28	32	25	31	65	44	41	62	42	43	30	58

Fuente: tomado de Ruiz-Torres y Montiel Bueno (2000).

Cómo se observa en las tablas hay 16 órdenes diferentes y un total de 98 familias diferentes.

1.2 TIPOS DE MANEJO EN OLIVAR

Esto nos da una idea de que en la provincia de Jaén y en el cultivo del olivo exista gran biodiversidad de entomofauna que, además, variará en función del tipo de manejo que se lleve a cabo en el cultivo. La diferenciación entre tipos de manejo del olivar radica, en el nivel de importancia que se da a limitar la erodibilidad, a las interacciones: fitófago-entomófago y a optimizar los mecanismos naturales de control, en contraposición a la aplicación sistémica de insecticidas En el olivar existen 3 tipos de manejo principales:

1.1.1 Manejo tradicional

Este tipo de manejo se caracteriza por la eliminación sistemática, y casi completa, de la cubierta herbácea y del matorral anexo, tanto bajo la copa de los árboles como

entre las líneas del cultivo y las zonas colindantes a este. Dicho proceso es realizado mediante el uso de herbicidas de pre emergencia y post emergencia. La eliminación de dicha cubierta provoca una más que notoria pérdida de biodiversidad y la generación de un suelo totalmente desnudo. Paralelamente a esto, otro rasgo diferenciador de este tipo de manejo, es el uso de plaguicidas químicos convencionales mediante lucha sistemática, y recurriendo al uso de estos cuando se considere necesario de un modo totalmente arbitrario.

1.1.2 Manejo integrado de plagas

El control integrado de plagas, es un modelo de gestión agrícola, cuya principal característica, es el establecimiento de umbrales que determinan la necesidad de aplicación de insecticidas, lo que permite suprimir una parte considerable del tratamiento anteriormente llevado a cabo, en el que las plagas son identificadas, los umbrales de acción son considerados y todas las posibilidades de control son tenidas en cuenta y evaluadas. Principios preventivos y estrategias proactivas o de prevención son elementos esenciales del programa del MIP, con el fin de evitar tener que llevar a cabo acciones más agresivas (como la aplicación de químicos) para solucionar el problema.

1.1.3 Cultivo ecológico

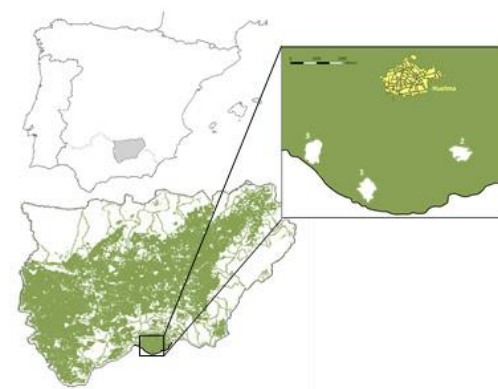
El principal elemento diferenciador del olivar ecológico frente a los demás tipos de manejo, es la total supresión de los agroquímicos de síntesis. Esto tiene como finalidad fomentar el desarrollo de grandes comunidades de enemigos naturales y lograr así potenciar su efectividad. Esto se consigue mediante un manejo adecuado de la cubierta vegetal, lo que logra aumentar las interacciones tróficas de estos insectos. El control de plagas, depende por tanto exclusivamente de procesos totalmente biológicos, en los que los enemigos naturales son los principales responsables.

1.3 INFLUENCIA DEL TIPO DE MANEJO SOBRE LA ENTOMOFAUNA DEL OLIVAR

Desde la revolución industrial, con el aumento de la actividad industrial y el aumento del CO₂ y los gases de efectos invernadero emitidos a la atmósfera, se ha aumentado la velocidad a la que se está produciendo el cambio climático, la zona mediterránea, es un área muy susceptible a los efectos negativos del cambio climático, y la agricultura juega un papel importante en este sentido, ya que tiene un gran poder fijador de CO₂ (Medina y col, 2008), con lo cual, ha surgido una corriente ecológica en todo el mundo de protección de la naturaleza, y esto también ha llegado al cultivo del olivo y a como se había gestionado anteriormente. Anteriormente, en el manejo tradicional, no se tenía en cuenta el efecto de los enemigos naturales de las plagas y sólo se usaba los insecticidas para combatirlos, pero en los últimos años, surgió el cultivo ecológico, en el que hay presencia de una cubierta vegetal que sirve como hábitat y refugio para estos insectos, con lo que han surgido diferentes investigaciones sobre cómo afecta este manejo a la entomofauna.

Se realizó un estudio comparativo de los 3 tipos de manejo mencionados anteriormente en la provincia de Jaén realizado por González-Ruiz y Gómez-Guzmán (2019), en este estudio se muestrearon 3 olivares que se indican a continuación:

Figura 2 Ubicación Olivares objeto de estudio



Fuente: tomado de González-Ruiz y Gómez-Guzmán (2019).

- **Olivar Convencional:** en esta zona, se encontraba un olivar convencional con las siguientes coordenadas (37° 36'18.20 " N 3°28'33.59 " W), los olivos eran

de la variedad picual con una densidad de 100 árboles/hectárea. En este olivar se usaba herbicidas de pre-emergencia para eliminar las plantas adventicias y se usaba dimetoato como insecticida.

- **Olivar MIP:** en esta zona, había un olivar con control integrado de plagas (37° 37'44.79" N 3°26'32.75 " W), variedad picual y con una densidad de plantación similar a la zona de muestreo 1. En este olivar, se encontraba una cubierta vegetal de 2,5 m en el centro de las calles, que se controlaba mediante una desbrozadora. Las plagas, se controlaban mediante insecticidas organofosforados.
- **Olivar ecológico:** en esta zona, se localizaba un olivar ecológico (37° 37'24.38"N 3° 29'51.22 " W), en este olivar no se usa ningún producto químico y existía una cubierta vegetal que se encargaba de albergar la entomofauna para el control de plagas de forma biológica.

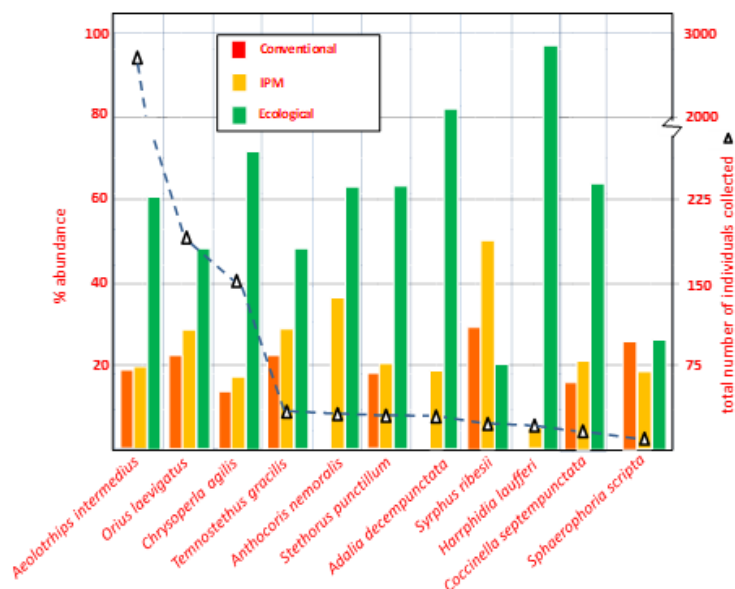
Tabla 3 Tabla de tipo de manejo y el tipo de tratamiento químico usado para el control de cada plaga.

		Management		
		Conventional	IPM	Ecological
Pest/Pathogen	Active Principles	Volume-Weight (avg/ Ha & year)	Volume-Weight (avg/ Ha & year)	Volume-Weight (avg/ Ha & year)
Herb Vegetation	Glyphosate (20%) + Oxifluorfen (3%)	0,3 L/Ha 4 L /Ha	---	---
Fusicladiumoleagineum Colletotrichum gloeosporides Pseudomonas savastanoi	Copper oxychloride (20%) + Propineb (15%)	0,8 Kg /Ha	0,8 Kg /Ha	---
Aceria oleae	S (80%)	1,4 Kg/Ha	0,75 Kg/Ha	---
Prays oleae	Dimethoate 40%	0,9 L /Ha	0,3 L /Ha	---
Euzophera pinguis	Chlorpyrifos 48%	1,5 L /Ha	0,75 L /Ha	---
Phloeotribus scarabaeoides	Dimethoate 40%	0,9 L /Ha	0,45 L /Ha	---
Bactrocera oleae	Dimethoate 40%	1,8 L /Ha	0,9 L /Ha	---

Fuente: tomado de González-Ruiz y Gómez-Guzmán (2019).

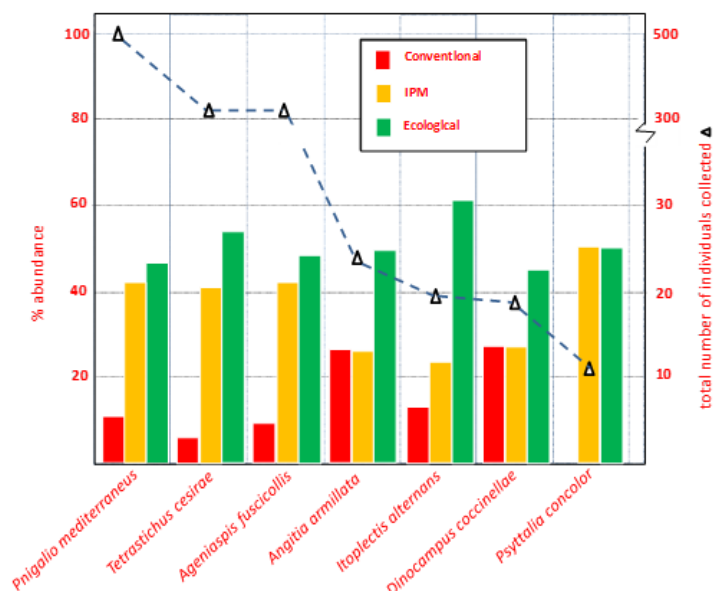
Una vez puestas las trampas y analizadas las capturas la abundancia relativa de parasitoides y depredadores, se obtuvieron los siguientes resultados:

Figura 3 Índice de abundancia relativa de depredadores capturados y porcentaje para los 3 tipos de manejo considerados (convencional, MIP y ecológico).



Fuente: tomado de González-Ruiz y Gómez-Guzmán (2019).

Figura 4 Abundancia relativa de parasitoides capturados y porcentaje para los 3 tipos de manejo considerados (convencional, MIP y ecológico).



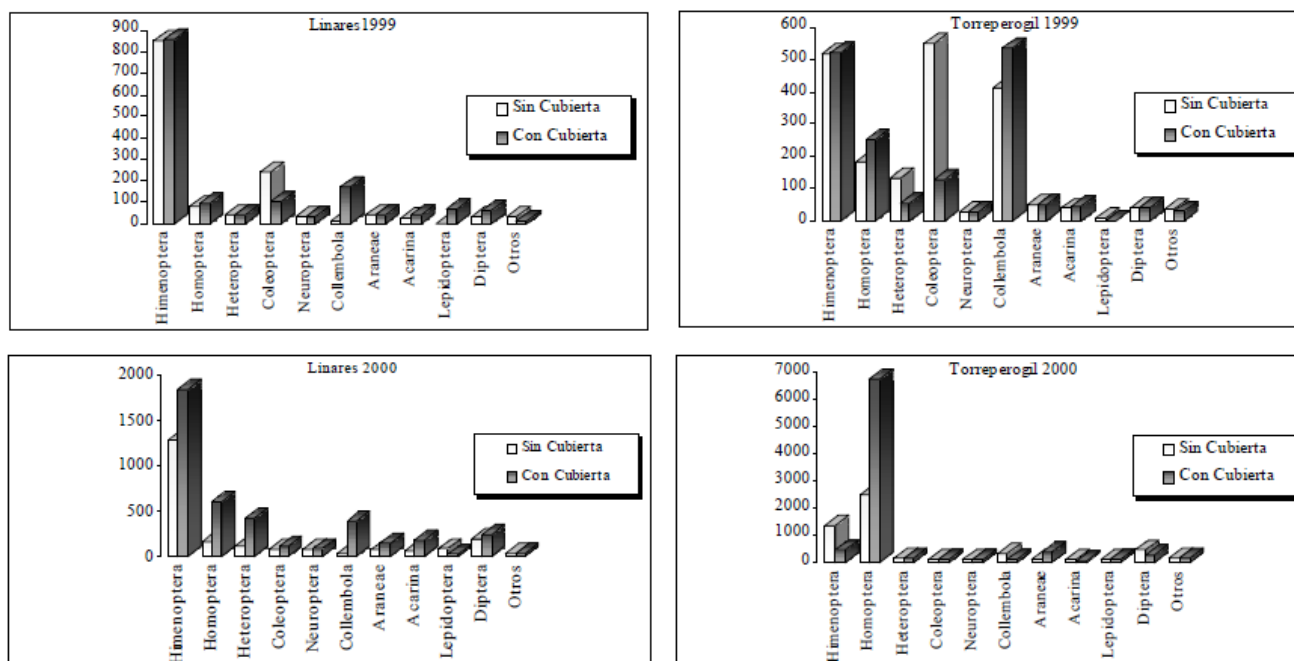
Fuente: tomado de González-Ruiz y Gómez-Guzmán (2019)

Cómo se puede observar, el tipo de manejo es un factor determinante en la abundancia de insectos en el olivar. Existe un gran aumento en la abundancia de capturas y diversidad de enemigos naturales en el olivar ecológico respecto de los olivares Tradicional y MIP. La cubierta vegetal del olivar ecológico aumenta de manera drástica la abundancia de insectos en concordancia con Vercher y col. (2012) que vieron el efecto de la siega de la cubierta vegetal en las poblaciones de insectos en cultivos cítricos ecológicos.

Con lo cual, es de gran interés analizar el efecto del manejo del suelo: cubiertas vegetales frente al laboreo. El laboreo en general, tiene mayor influencia sobre el suelo del cultivo y los microatrópodos, mientras que el impacto sobre los insectos fitófagos, viene determinado por las relaciones ecológicas establecidas de éstos con la flora adventicia. El conocimiento de las respuestas de las poblaciones de artrópodos a las distintas prácticas de manejo del suelo, es un tema de gran interés que permite desarrollar estrategias de manipulación que favorezcan la diversificación de la biodiversidad en general, e incrementen las poblaciones de depredadores polífagos y otros insectos beneficiosos del agroecosistema. El estudio llevado a cabo por González y col. (2004) se centra en los posibles efectos de las cubiertas vegetales sobre la artropodofauna del olivar, en relación a la abundancia y composición taxonómica de los diferentes grupos, en la copa y en el suelo.

El estudio, se ha realizado en dos zonas olivareras de la provincia de Jaén (Linares y Torreperogil), donde la variedad predominante es Picual o Marteño, y con un marco de plantación de 10 x 10 m. Los experimentos se llevaron a cabo durante los años 1999-2000 en las dos parcelas de olivar, las cuales se diferenciaban en que una tenía suelo desnudo y la otra poseía cobertura vegetal de cereal. Mensualmente se tomaron muestras de 20 árboles (bloques de 4 x 4) en cada zona desde abril a noviembre. En la copa se recogieron las muestras con ayuda de una manga entomológica cuyo tamaño de red es 60 cm. de diámetro y mediante vareo de las ramas; el contenido era transferido a una bolsa de plástico para la posterior limpieza e identificación de los ejemplares en el laboratorio. En el suelo, la toma de muestras se realizó mediante trampas de caída, colocadas durante 24h bajo la copa de los árboles.

Figura 5 Número de individuos capturados en zonas con cubierta y sin cubierta en Torreperogil y Linares durante los años 1999 y 2000.



Fuente: tomado de González y col. (2004).

Como se observa en los gráficos de arriba, los olivares con cubierta presentaron un mayor número de capturas. Los resultados obtenidos en el trabajo de González y col. (2004), manifiestan, un leve aumento en el número de individuos en olivares con cubierta vegetal en las 2 zonas muestreadas, en concordancia con González-Ruiz y Gómez-Guzmán (2019).

1.4 EFECTOS DEL TIPO DE MANEJO SOBRE LA ENTOMOFAUNA EN OTROS CULTIVOS

La agricultura moderna, implica la simplificación de la estructura del ambiente en grandes áreas, donde se reemplaza la diversidad natural con una pequeña variedad de plantas cultivadas (Altieri, 1999). Los cultivos hortícolas, son otro claro ejemplo de que el tipo de manejo influye de una forma determinante sobre la abundancia y diversidad de entomofauna asociada a estos, un estudio realizado en Córdoba, Argentina, por Zalazar y Salvo (2007), comparó la entomofauna asociada a cultivos hortícolas ecológicos y tradicionales. En este caso, se pretendía comprobar como

afectaba el manejo, a la abundancia, riqueza de especies y a la proporción de grupos funcionales en la siguiente tabla se muestra los cultivos objeto de estudio:

Tabla 4 Cultivos analizados en régimen convencional (CON) y ecológico (ORG)

Especies/variedades vegetales analizadas	Huerta
<i>Beta vulgaris</i> var. <i>cicla</i> L. (acelga)	CON1, CON3, ORG1
<i>Brassica oleracea</i> var. <i>capitata</i> L. (repollo)	CON1
<i>Capsicum annuum</i> L. (pimiento)	ORG1, ORG3
<i>Cichorium intybus</i> L. (achicoria)	ORG2, ORG3
<i>Cucurbita máxima</i> Duchesne (zapallito)	CON2, CON3
<i>Lactuca sativa</i> L. (lechuga)	CON1, CON3, ORG2, ORG3
<i>Raphanus sativus</i> L. (rabanito)	ORG2
<i>Solanum melongena</i> L. (berenjena)	CON2, ORG1
<i>Phaseolus vulgaris</i> L. (chaucha)	CON2

Fuente: tomado de Zalazar y Salvo (2007).

En la última semana de abril y la primera de mayo del 2003, se realizó un único muestreo en seis campos hortícolas, tres, utilizando prácticas de manejo convencional y tres orgánicos. Los seis campos están ubicados en la zona centro de la Provincia de Córdoba (Argentina), en un radio de 55 km, con centro en Córdoba.

La práctica de manejo convencional, consistió en la aplicación de insecticidas sintéticos (principalmente dimetoato y cipermetrina, 2-5 aplicaciones por ciclo de cultivo), fertilizantes artificiales (urea y fosfato diamónico) y utilización de mecanismos de labranza habituales.

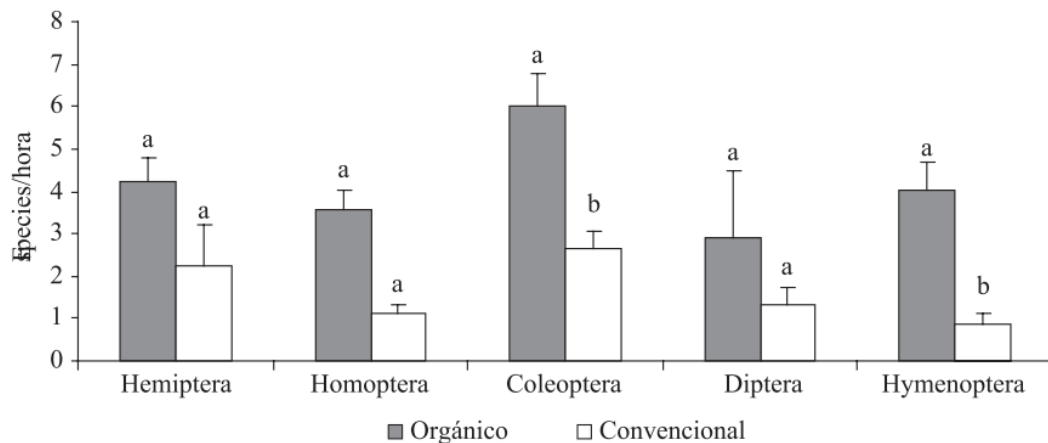
En cada campo se midieron las siguientes variables:

- Superficie destinada a cada cultivo
- Riqueza específica y abundancia de insectos
- Riqueza específica y abundancia de los principales gremios tróficos (fitófagos y entomófagos).
- Riqueza específica y abundancia de los principales órdenes de insectos.
- Proporción numérica y específica de fitófagos en relación al total de insectos y especies recogidas.

- Relación numérica y específica entre entomófagos y fitófagos.

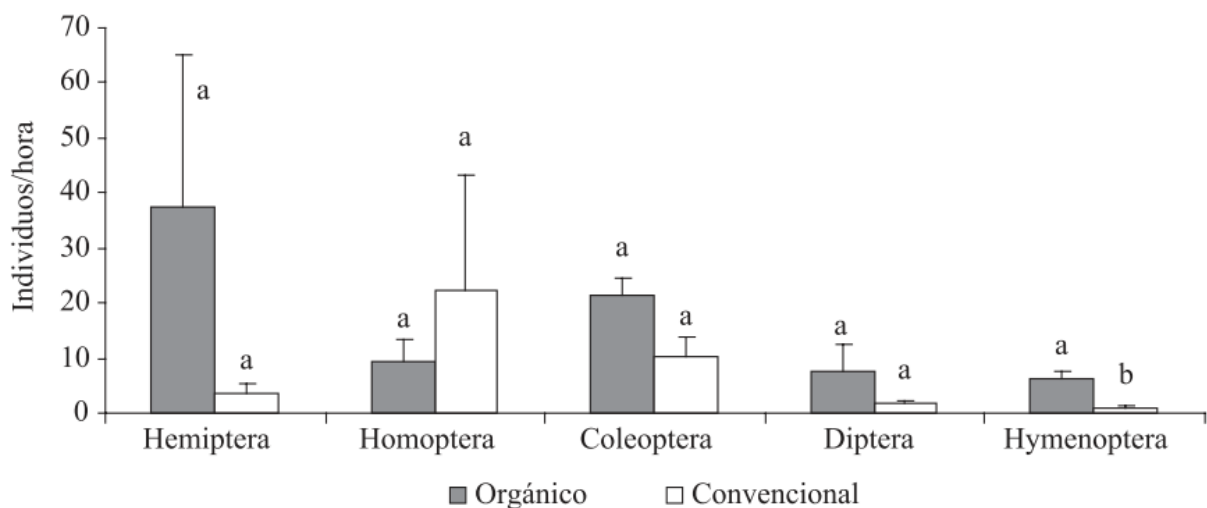
Los resultados fueron los siguientes:

Figura 6 Valores promedios de riqueza de especies para diferentes órdenes colectados mediante conteo visual en huertas con práctica ecológica(orgánica) y convencional.



Fuente: tomado de Zalazar y Salvo (2007).

Figura 7 Abundancia de individuos para diferentes órdenes colectados mediante conteo visual en huertas ecológicas y convencionales.



Fuente: tomado de Zalazar y Salvo (2007).

Los campos orgánicos presentaron un número significativamente mayor de especies que los convencionales, mientras que la abundancia de insectos, mostró la misma tendencia. La ausencia de químicos nocivos y el laboreo menos agresivo, sería la

causa de estas tendencias, coincidentes en términos generales con lo observado por otros autores (Feber y col. 1997). La maleza que crecía en los campos orgánicos y la mayor diversidad de vegetales, tanto de especies cultivadas como la vegetación espontánea que había en los bordes atrajeron una mayor diversidad de insectos (Zalazar y Salvo 2007).

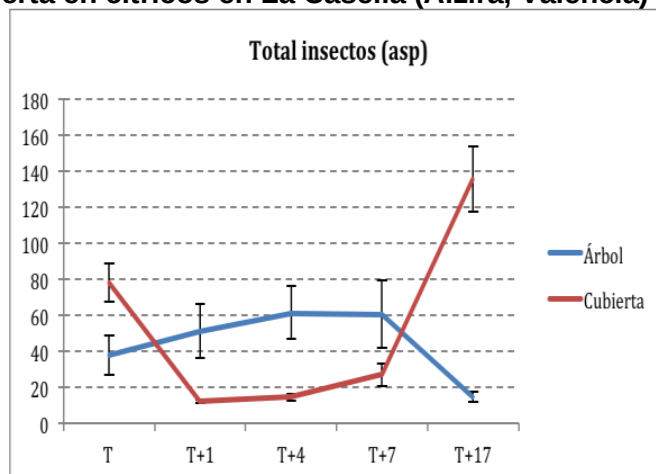
En cítricos, también se han efectuado este tipo de estudios, el estudio de (Vercher y col. 2012), analizó el efecto de la siega de la cubierta vegetal en fauna auxiliar en cítricos ecológicos. Se realizó un estudio analizando el efecto de la siega de primavera y del tipo de cubierta vegetal (silvestre, alfalfa, festuca y vallico) en la comunidad de artrópodos de un campo de clementinos ecológicos en Alzira (Valencia). En junio de 2010 se realizó una siega de las cubiertas vegetales dejando una parte sin segar. Se llevaron cabo muestreos de la fauna auxiliar presente en los árboles y en las cubiertas antes de la siega, y en y en los sucesivos días a ésta (1, 4, 7, 17 días). Como métodos de muestreo, se han utilizado un aspirador adaptado y trampas cromáticas pegajosas. Se realizaron ANOVAS factoriales estudiando la influencia del estrato (cubierta o árbol), de la siega, del tipo de cubierta vegetal y del tiempo. Los resultados indican como el factor más influyente en la comunidad de artrópodos es el factor estrato, siendo menor la influencia del tipo de cubierta vegetal. Los resultados también muestran la evolución de parasitoides y depredadores después de la siega, así como los movimientos de dichas especies entre estratos y/o entre zonas segadas y no segadas (Vercher y col. 2012).

En la citricultura española, hay muchos estudios que constatan los beneficios de las cubiertas vegetales en el control de plagas de cítricos (Calabuig y col. 2011). En el estudio de Vercher y col (2012), se pretenden entender las interacciones entre los artrópodos beneficiosos y las cubiertas vegetales y los cítricos, analizando la distribución de algunos de los enemigos naturales de las más importantes plagas de cítricos entre dos estratos de vegetación cubiertas vegetales y árboles de cítricos (Vercher y col. 2012).

Se identificaron un total de 36.082 artrópodos, 29.129 capturados con trampas amarillas y 6.953 con aspirador. Los resultados muestran que en cítricos el orden más importante fue Hymenoptera (31%), seguidos del Hemiptera Homoptera (23%)

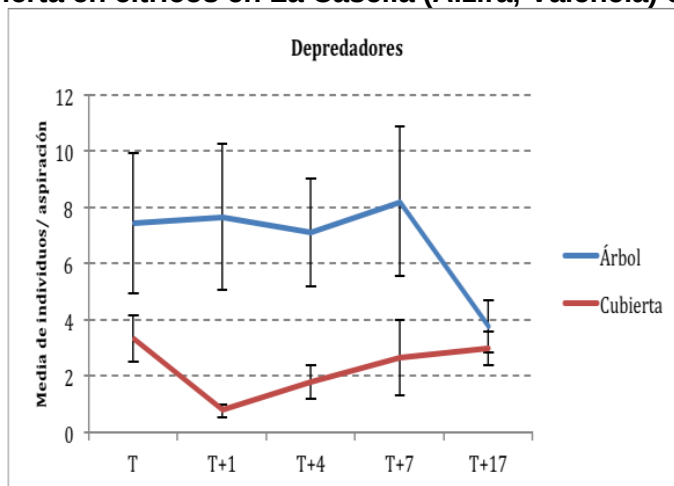
y del Psocoptera (17%); y en cubiertas vegetales los Hemiptera Homoptera (39%) fueron más numerosos que el Tysanoptera (36%) y el Hymenoptera (15%).(Vercher y col. 2012).

Figura 8 Total de insectos en el árbol y la cubierta durante los días posteriores a la siega de la cubierta en cítricos en La Casella (Alzira, Valencia) en junio de 2011.



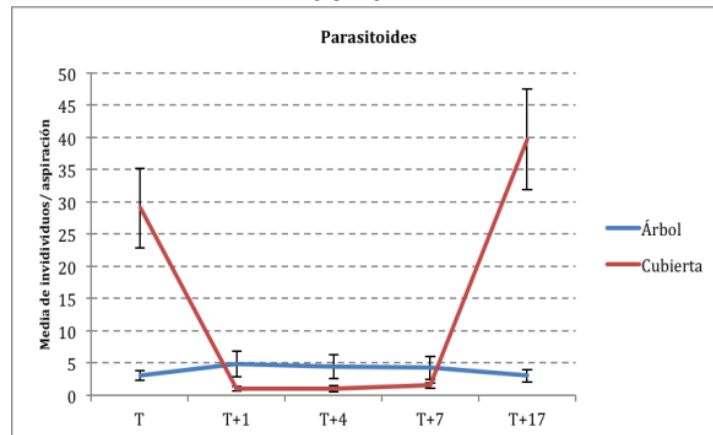
Fuente: tomado de Vercher y col. (2012).

Figura 9 Evolución de depredadores en árbol y cubierta durante los días posteriores a la siega de cubierta en cítricos en La Casella (Alzira, Valencia) en junio de 2011.



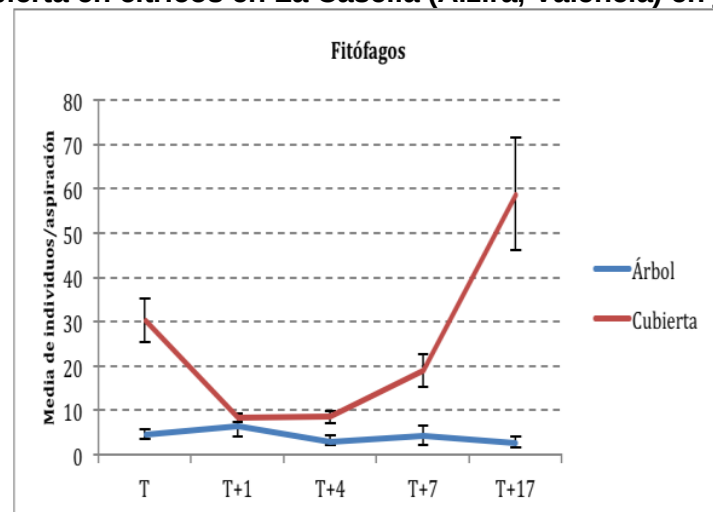
Fuente: tomado de Vercher y col. (2012).

Figura 10 Evolución de parasitoides en el árbol y la cubierta durante los días posteriores a la siega de cubierta en cítricos en La Casella (Alzira, Valencia) en junio de 2011.



Fuente: tomado de Vercher y col. (2012).

Figura 11 Evolución de fitófagos en árbol y cubierta durante los días posteriores a la siega de cubierta en cítricos en La Casella (Alzira, Valencia) en junio de 2011.



Fuente: tomado de Vercher y col. (2012).

Si se analizan los datos del total de artrópodos obtenidos en las capturas con aspirados, se observa una disminución de individuos en las cubiertas una vez realizada la siega. Tras la bajada de las poblaciones, éstas se mantienen y es a partir del día 17 tras la siega cuando comienzan a aumentar las poblaciones, alcanzando niveles superiores a los obtenidos en momentos previos a la siega. Por el contrario, en los cítricos las poblaciones no varían sustancialmente, lo que hace

pensar que la disminución de poblaciones en las cubiertas no implica una migración de éstas hacia los árboles.

Este comportamiento de los insectos tras la siega, es similar cuando se estudian los insectos según sus hábitos alimenticios, distinguiendo entre depredadores, parasitoides y fitófagos. En los tres casos, las poblaciones de los cítricos no varían significativamente tras la siega (únicamente se da una disminución a los 17 días en los depredadores) mientras que en las cubiertas sí que se ven reducciones de las poblaciones de artrópodos tras la siega, con posterior recuperación de las poblaciones (Vercher y col. 2012).

2 EFECTOS SECUNDARIOS DE LA APLICACIÓN DE INSECTICIDAS EN EL COMPORTAMIENTO Y DIVERSIDAD DE LA ENTOMOFAUNA.

2.1 EFECTOS SECUNDARIOS DE LA APLICACIÓN DE INSECTICIDAS EN EL COMPORTAMIENTO Y DIVERSIDAD DE ENTOMOFAUNA EN OLIVAR.

2.1.1 Efectos secundarios de la aplicación de insecticidas en el comportamiento de la entomofauna

La mayoría de los estudios en este campo, se han centrado en los mecanismos de respuesta fisiológicos y bioquímicos de los insectos a la aplicación de los insecticidas, pero muy pocos han indagado en las respuestas conductuales que estos insecticidas producen en los insectos, es decir, los estudios se han centrado sólo en la influencia de insecticidas en la mortalidad de los insectos, pero este tipo de estudios no es suficiente para poder evaluar las respuestas conductuales en insectos, con lo cual, ante esta situación y como el principal método de control de plagas son los insecticidas, se empezó a estudiar las dosis subletales en insectos debido, a que se podían obtener una gran cantidad de datos nuevos. Para evaluar

los efectos subletales se utiliza la dosis letal media (DL50), que es muy útil para comparar la toxicidad de diferentes compuestos activos e insecticidas con mismos compuestos activos. Se considera dosis subletal a aquella que está por debajo del (DL50) y se definen como efectos biológicos, fisiológicos, demográficos o de comportamiento sobre individuos o poblaciones que sobreviven a la exposición a un tóxico a dosis letales o subletales (Solange y col. 2017). Estas respuestas conductuales, son un conjunto de acciones que limitan el efecto perjudicial del insecticida, las especies que tienen estas conductas tienen una tendencia a escapar para evitar el contacto con el insecticida.

Con el fin de lograr la sostenibilidad, el manejo integrado de plagas (MIP) representa una mejora notable con respecto a los enfoques convencionales anteriores, por lo que optimizar la eficacia de la actividad entomófaga de los enemigos naturales de las plagas es un factor determinante. MIP no necesariamente requieren la supresión de insecticidas, pero más bien interesa la necesidad de reducir su dependencia, eliminando aplicaciones innecesarias. Sin embargo, la correcta integración del control químico y biológico es una parte esencial del manejo sostenible de plagas. En los agroecosistemas de MIP, una gran proporción de insectos que no forman parte de ninguna plaga se ven afectados por dosis subletales de insecticida. Una dosis / concentración subletal, es aquella definida como la dosis que no induce mortalidad aparente en la población experimental. Los efectos inducidos, se han descrito afectando la biología, la fisiología o el comportamiento de individuos o poblaciones que sobreviven a la exposición de un tóxico letal o dosis subletal. El conjunto de modificaciones de comportamiento, proporciona a los insectos un mecanismo de escape a los efectos tóxicos de los pesticidas, que se ha denominado resistencia conductual, como la primera barrera o mecanismo de desintoxicación. Para la correcta integración de las aplicaciones de insecticidas y el control biológico, la influencia de los efectos secundarios del insecticida en los insectos beneficiosos debe ser evaluada. Estudios recientes, sugieren que en cultivos convencionales de olivos y en MIP, estas especies con frecuencia muestran comportamientos resistencia, mientras que, en cultivos orgánicos (ecológicos), sus poblaciones carecen de ella. Parece haber una estrecha relación entre la aplicación de insecticidas y el desarrollo de poblaciones resistentes conductualmente.

Por otro lado, como se comenta anteriormente, los insecticidas afectan a la biología de los insectos. Los efectos de la exposición a estas dosis de insecticidas sobre la biología de los insectos aparecen por oviposición reducida, mayor periodo de desarrollo de etapas inmaduras o de vida, algunos insecticidas que son tóxicos sobre la fecundidad y la fertilidad de los insectos, afectan a cambios de comportamiento, particularmente sobre la etapa reproductiva, como por ejemplo, los insecticidas: lufenuron, metoxifenoazida, spinosad, endosulfán y tebufenoazida sobre la *Anticarsia gemmatilis* H'bner (Lepidoptera: Noctuidae), disminuyeron el peso pupal, la longevidad adulta y la fertilidad del insecticida. El insecticida hexaflumuron, disminuyó el número total de óvulos, el periodo de oviposición, la pupación y la aparición adulta de *Plutella xylostella* (Linnaeus). Los efectos subletales del insecticida Cyantraniliprol en *Helicoverpa assulta* (Guenée), disminuyeron el peso de la pupa y la fecundidad adulta de la generación parental (Solange y col. 2017).

Este hallazgo, ha sugerido establecer un procedimiento práctico basado en la realización a pequeña escala de aplicaciones de campo. En el estudio de González-Ruiz y Gómez-Guzman (2019). Se realiza una metodología sobre un procedimiento de campo a pequeña escala para poder identificar cultivos orgánicos. Se compararon los distintos tipos de manejo del olivo respecto a la aplicación de insecticidas, hay diferentes plagas del olivo, para las cuales las cantidades de insecticida aplicado varían para el manejo convencional y el MIP, como por ejemplo como para el *Prays oleae* Bern. (Lep., Praydidae), se usa 3 veces más insecticida en el convencional que en el MIP (Ver Tabla 3).

Es obvio considerar que la frecuencia de aplicación de insecticida, constituye el principal factor limitante de la diversidad y abundancia de la comunidad de insectos beneficiosos. También, es uno de los principales factores desencadenantes para la implementación de la gestión integrada de plagas. Sin embargo, no todos los modelos de MIP han permitido la deseada sostenibilidad, ni han logrado la efectividad deseada, frecuentemente debido a la falta de integración y coordinación de los diferentes elementos del programa. La integración del control químico y biológico puede ser parte de manejo sostenible de plagas; por lo tanto, es esencial

saber los efectos letales y subletales de los insecticidas en los enemigos naturales, para maximizar la compatibilidad entre estas dos tácticas. Esto condujo al regreso de los insecticidas como elemento central en el control de plagas, lo que explica por qué estudios recientes no permiten establecer una clara diferenciación entre el MIP y la gestión convencional, mientras que sus deficiencias son especialmente evidentes al comparar cualquiera de estas dos gestiones con gestión orgánica. Aunque en comparación con la gestión convencional, MIP representa una reducción promedio en el uso de insecticidas de al menos 50%, no obstante, se ha demostrado que es insuficiente para garantizar sostenibilidad de las poblaciones de insectos beneficiosos y optimizar su efectividad entomófaga (González-Ruiz y Gómez-Guzman 2019).

Además, los estudios recientes muestran que los insectos pertenecientes a un sistema de manejo convencional o MIP, muestran resistencia conductual, mientras que en cultivos ecológicos no la tienen. Con lo cual, parece existir una clara relación entre la aplicación de insecticida y el desarrollo de comportamiento resistente. Entre las especies de insectos capaces de desarrollar resistencia conductual, son *Chrysoperla agilis* (Stephens) (Neuroptera: Chrysopidae) enemigo natural del prays del olivo, *Aeolothrips intermedius* Bagnall (Thysanoptera: Aeolothripidae) y *Chelonus eleaphilus* (Hym. Braconidae). La manera de ver de forma empírica si se desarrollan resistencias conductuales, es a través de la captura en trampas cromáticas, es decir, las que tienen una mayor tasa de capturas en trampas cromáticas, se atribuye a los efectos causados por dosis sub-letales, como movimientos espasmódicos, sobreexcitación, hiperactividad, irritación etc.

Los efectos conductuales que desarrollan los insectos, están destinados a evitar tocar las superficies tratadas con insecticida, por lo tanto, las trampas cromáticas son un área de refugio para los insectos. Para los insectos con capacidad de desarrollar resistencia conductual, se puede afirmar que la mayor frecuencia de captura es causa de perturbaciones causadas por las aplicaciones de insecticida.

Entre los insectos beneficiosos, la susceptibilidad a los insecticidas se ha detectado que afecta a una respuesta diferente en los patrones de comportamiento post-tratamiento. Algunas especies, tienen valores de población prácticamente

insignificantes o están muy ausentes en agroecosistemas sujetos a aplicación de insecticidas, mientras que son relativamente comunes en sistemas con manejo ecológico, algunas especies de este grupo son la mosca serpiente *Harraphidia laufferi* (Raphidioptera: Raphidiidae), mariquitas (Coleoptera: Coccinellidae) y *Temnostethus* sp. (Hemiptera: Anthocoridae). Estas especies, muestran una captura significativamente menor en trampas cromáticas posteriores al tratamiento. Esta metodología se podría usar en la identificación de olivares orgánicos, ya que permite diferenciar claramente aquellos en los que se usa insecticida y en los que no, del mismo modo resulta útil para definir el periodo de conversión a un olivar orgánico (González-Ruiz y Gómez-Guzman 2019).

Cómo se ha comprobado, es un hecho indudable que los insectos al verse afectados por los insecticidas, cambian su comportamiento normal por otro tipo de comportamientos inducidos por el insecticida en dosis que no sean letales. Hay varios parámetros de su comportamiento que cambian, como su alimentación, elección de los sitios de ovoposición, feromonas encargadas de la comunicación, entre otros.

La producción y emisión de feromonas y su detección actúan mediante mecanismos muy complejos y cada insecticida tiene unos mecanismos de actuación diferentes sobre los insectos como se muestra en la siguiente tabla:

Tabla 5 Insecticida, ingrediente activo y mecanismo de acción usados en el estudio de Solange y col. (2017).

Chemical group	Active ingredient	Mechanism of action
Antibiotic insecticide (Spinosyn)	Spinosad	Nicotinic acetylcholine receptors and γ -aminobutyric acid receptors
Botanical insecticides	Azadirachtin	Ecdysis inhibitor
	Essential oils and major compounds in general	Ecdysis inhibitor, acetylcholinesterase inhibitor, octopamine mimic
Carbamate	Methomyl	Acetylcholinesterase inhibitors
Hydrazines		
Bisacylhydrazine	Bisacylhydrazine (RH 5849)	Ecdysteroids agonists
Diacylhydrazines	Methoxyfenozide	
	Tebufozide	
Diamide	Cytraniliprole	Ryanodine receptors (affecting calcium channels in the sarcoplasmic reticulum)
	Chlorantraniliprole	
Insect growth regulators		
Juvenile hormone mimics	Pyriproxyfen	Inhibition of the development of insect adult characteristics
Urea derivatives	Hexaflumuron	Chitin synthesis inhibitor
	Lufenuron	
	Novaluron	
	Triflumuron	
Thiadiazines	Buprofezin	
Neonicotinoid	Acetamiprid	Acetylcholine mimic
	Clothianidin	
	Imidacloprid	
	Thiacloprid	
Organochlorides	Endosulfan	Interfere with the transmission of nervous impulses (flux of Na and K)
Organophosphates	Chlorpyrifos	Acetylcholinesterase inhibitors
Pyrethroid	Deltamethrin	Channel sodium modulators

Fuente: tomado de Solange y col. (2017)

Se ha hablado de los mecanismos en los insecticidas que afectan al comportamiento de los insectos, pero los insectos tienen respuestas fisiológicas a estas dosis y concentraciones de insecticida, generalmente todos los insecticidas producen respuestas fisiológicas. La HR 5849 bisacilhidrazina y los insecticidas de tebufenozida afectan negativamente al desarrollo de la reproducción masculina y al volumen testicular de *Spodiptera litura* (Fabricius) cuando las larvas fueron expuestas a dosis subletales. Otros insecticidas como los neonicotinoides, afectan al sistema inmune de las abejas melíferas, afectando al número de hemocitos, la respuesta a la encapsulación y la actividad microbiana, además, afecta al sistema inmunitario. Los insecticidas de la clase de la antranilamida, afectan a los receptores en los músculos y los canales de calcio, además, este insecticida también reduce la actividad de las enzimas esterasas y oxidasas de *Spodoptera exigua* (Hübner). La actividad de amilasa en el intestino medio de *Tribolium castaneum* (Coleoptera,

Tenebrionidae) se redujo por concentraciones subletales de piretroides(Solange y col. 2017).

Otros estudios, como el de Haynes (1978), han indagado en los efectos subletales de los insecticidas neurotóxicos, uno de los aspectos fisiológicos a los que afecta este tipo de insecticidas es la reproducción, la cual en los insectos implica una compleja serie de eventos y circunstancias, que reciben órdenes del sistema nervioso. Los insectos pueden alterar estas respuestas y provocar por tanto una disminución del éxito reproductivo. Normalmente sólo se documenta el resultado final de la intoxicación, como una disminución de las crías viables. Esta alteración en la reproducción puede producir una reducción de la oviposición que podría indicar uno o muchos efectos como la localización de la pareja, cortejo y eventos específicos relacionados con la espermatogénesis, movilidad de espermatozoides, ovogénesis, ovulación y fertilización de óvulos (Haynes 1978).

Otros estudios son más específicos sobre especies de insectos concretos como, por ejemplo, en otro trabajo de Ricardo y col. (2010), se estudiaron los efectos subletales de la lambda-cialotrina sobre *Eisenia fétida*. Los objetivos de este trabajo fueron evaluar mediante bioensayos de toxicidad crónica los efectos de lambda-cialotrina en *Eisenia fétida* (lombrices) sobre los parámetros de comportamiento, supervivencia, biomasa, reproducción y bioacumulación.

Se hizo un test de huida en el que se colocaron cajas con 200gr de suelo donde se aplicó la lambda-cialotrina y se hicieron tres réplicas y a diferentes dosis de insecticida, el objetivo era ver qué efectos subletales se manifestaban en *Eisenia fétida*. En los resultados del test de huida no se registró mortalidad y se observó que a bajas concentraciones aumentó la huida.

A parte del test de huida, se realizó un bioensayo de toxicidad crónica, las lombrices se expusieron a una serie geométrica de cuatro concentraciones de lambda-cialotrina 1, 2, 4 y 8 mg kg y un control durante 56 días, dosis superiores a las recomendadas para la agricultura (Ricardo y col. 2010). En este bioensayo, hubo supervivencia en las diferentes réplicas y en el control, pero se observó que se perdió clitelo de la lombriz a partir de una semana de tratamiento, disminuyendo a

partir de la séptima semana. Por otro lado, la reproducción fue menor en todas las concentraciones realizadas.

Tabla 6 Toxicidad crónica de la lambda-cialotrina sobre *E. fetida* en suelo. Resumen de los resultados para reproducción, supervivencia y biomasa.

Concentración (mg kg ⁻¹)	Juveniles	% de juv.	Juv./Oot.	Mort. adultos (%)	Biom. día 0	Biom. día 56
0	150	100	0,91	0	2,74	4,10
1	7	4,67	0,24	2,5	2,78	3,90
2	13	8,67	0,39	0	2,77	3,80
4	11	7,33	0,28	0	2,68	3,71
8	8	5,33	0,33	0	2,65	3,56

Fuente: tomado de Ricardo y col. (2010)

Los test de huida proporcionan más información en cuanto a la dinámica poblacional en comparación con los bioensayos tradicionales ya que la gran cantidad de quimiorreceptores presentes en los segmentos corporales de los oligoquetos, junto con sus hábitos locomotores les confieren una gran sensibilidad a los tóxicos.

Las lombrices juveniles y las adultas son sensibles a la lambda-cialotrina, se observó pérdida de clitelo y reducción del número de juveniles.

En este trabajo se estudió específicamente la lambda-cialotrina, pero se pueden comprobar los efectos subletales sobre alguna población de insecto debido a varios insecticidas.

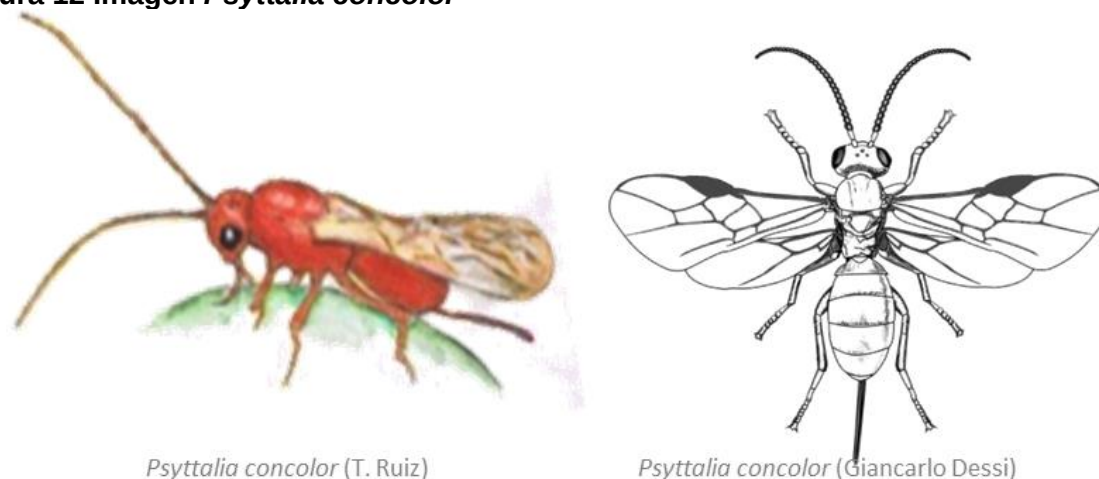
El uso de insecticidas, sean o no de síntesis provoca, en última instancia, la muerte de la mayor parte de los individuos de la determinada plaga, pero también de numerosas especies de enemigos naturales. Al ver como el uso indiscriminado de los insecticidas estaba acabando con la entomofauna beneficiosa en los cultivos, suponiendo esto, un gran coste ambiental, se empezó a estudiar cómo afectaba el uso de los insecticidas a la diversidad de parasitoides de las principales plagas.

Una de las principales plagas del olivar es la mosca del olivo (*Bactrocera oleae*), puede provocar la pérdida de un gran porcentaje de la producción, la hembra selecciona el fruto donde pone cada huevo y es capaz de poner 12 huevos al día,

con lo cual es una especie capaz de causar una gran cantidad de pérdidas económicas

Uno de los parasitoides de la mosca del olivo, es *Psytalia concolor* (Szépgliegeti, 1910) (Hym., Braconidae).

Figura 12 Imagen *Psytalia concolor*



Fuente: tomado de ("Plagas del Olivo").

Sobre este tema, se evaluaron en 2 trabajos efectos secundarios y toxicidad que algunos insecticidas tenían sobre este parasitoide de la mosca, con el fin de establecer una lucha de la plaga mejor.

En ambos casos los ejemplares usados del parasitoide fueron criados en laboratorio, ambos trabajos coinciden en las condiciones de cría, que son de $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ y $75\pm 5\%$ HR (humedad relativa).

Por un lado, en el estudio de Budia Marigil y col. (1992), se evaluó el efecto directo de diferentes insecticidas (dimetoato, fenitrotión, formotión, malatión, fosalone, triclorfón, endosulfán y carbaril), sobre la supervivencia de los adultos del parasitoide, y, en segundo lugar, sus posibles efectos sobre el comportamiento de las hembras tratadas (capacidad parasítica). Este segundo ensayo, sólo se lleva a cabo cuando el producto no ha afectado la supervivencia de adultos. En los ensayos de supervivencia se emplearon hembras de menos de un día de edad, con 4 unidades por plaguicida, y cuatro para el control. En el ensayo de la capacidad parasítica, a los 3 días de estar en contacto con el plaguicida se seleccionan 12

hembras para tratamiento y 12 de control. Durante 4 días, se ofrecen 20 larvas maduras de *C.capitata* , la exposición dura 2 horas y se observa si las hembras buscan y parasitan al huésped, determinándose después el número de descendientes y el número de huéspedes atacados. (Budia Marigil y col. 1992).

En el estudio de Viñuela y col. (2005) se evaluó la toxicidad de malatión, pimetrocina, piretrinas naturales y triflurmeturón, según el método de aplicación.

El primero de los métodos de aplicación usados, fue un ensayo para evaluar la actividad residual. Luego les siguió un tratamiento tópico a las hembras recién emergidas, se trataron con una solución acetónica. En tercer lugar, se realizó un tratamiento por ingestión a las hembras recién emergidas, y por último se hizo un análisis con distintas concentraciones de malatión y piretrinas (Viñuela y col. 2005).

Tabla 7 Insecticidas probados en laboratorio: estado de vida susceptible *O.concolor* Szepi.

Ingrediente activo	Nombre comercial	Firma	Contenido l.a.	Conc. producto ensayado % *	Conc. ensayada % l.a	Evaluación	
						Mortalidad	Parasitismo
Dimetoato	Sistematón LE	Agrocros	40 %	0,15	0,060	3	—
Fenitrotión	Folithion LE	Bayer	50 %	0,15	0,075	3	—
Formotión	Anthio LE	Sandoz	33 %	0,15	0,050	3	—
Malatión	Malafin LE	Agrocros	50 %	0,30	0,150	4	—
Fosalone	Zolone LE	Rhône-Poulenc	35 %	0,20	0,070	3	—
Triclorfón	Dipterex PS	Bayer	80 %	0,40	0,320	4	—
α -Cipermetrín	Fastac LE	Shell	10 %	0,04	0,004	3	—
Endosulfán	Thimul 35 LE	Rhône-Poulenc	35 %	0,25	0,088	3	—
Carbaril	Sevin PM	Rhône-Poulenc	85 %	0,20	0,170	4	—
<i>B. thuringiensis</i> var <i>kurstaki</i>	Bactospeine SC	Agrocros	8,5·10 ⁶ IU/l	0,20		1	1
Ciromacina	Trigard PM	Ciba-Geigy	75 %	0,02	0,015	2	—

* Concentración más alta recomendada en España para el olivar.

Fuente: tomado de Budia Marigil y col. (1992).

Solo el insecticida *Bacillus thuringiensis*, resultó inocuo. Ciromatrina fue ligeramente tóxico, también para otros parasitoides, los demás insecticidas tuvieron una mortalidad elevada sobre *P. concolor*.

Tabla 8 Influencia del modo de aplicación de diversos insecticidas en la susceptibilidad de hembras jóvenes de *Psytalia concolor*.

RESIDUAL					
Insecticidas	Conc. mg i.a./l	Longevidad media (días)	Huéspedes atacados (%)	Descendencia (%)	OILB ²
Testigo	0	26,0 ± 2,1 a	64,7 ± 10,8 a	48,5 ± 9,7 a	1
Malation	1500	< 1 b	-	-	4
Pimetrocina	300	22,0 ± 1,2 a	69,4 ± 7,0 a	55,2 ± 6,9 a	1
Piretrinas+PBO	80 ¹	< 1 b	-	-	4
Triflumuron	150	26,5 ± 2,5 a	69,8 ± 8,4 a	49,9 ± 8,2 a	1
INGESTIÓN					
Testigo	0	25,5 ± 3,4 a	77,2 ± 7,1 a	58,2 ± 7,2 a	1
Malation	1500	< 1 c	-	-	4
Pimetrocina	300	19,2 ± 2,4 ab	59,0 ± 6,7 a	40,8 ± 5,6 a	1
Piretrinas+PBO	80	< 1 c	-	-	4
Triflumuron	150	17,5 ± 2,9 ab	74,1 ± 4,6 a	54,2 ± 6,4 a	2
TÓPICO					
Testigo	0	36,5 ± 5,4 a	70,3 ± 4,8 a	57,4 ± 2,9 a	1
Malation	1500 (344) ³	< 1 b	-	-	4
Pimetrocina	300 (68,8)	33,2 ± 5,6 a	73,1 ± 8,3 a	54,9 ± 5,7 a	1
Piretrinas+PBO	80 (18,3)	< 1 b	-	-	4
Triflumuron	150 (34,4)	27,7 ± 10,7 a	72,2 ± 3,7 a	48,7 ± 3,2 a	1

Los datos pertenecientes a la misma columna y forma de tratamiento que tienen la misma letra no difieren significativamente ($P>0.05$).

¹El dato de concentración de Piretrinas+PBO hace referencia a las piretrinas exclusivamente.

²El sistema de clasificación de la OILB es el que sigue: 1=inocuo (<30%); 2=ligeramente tóxico (30-70%); 3=moderadamente tóxico (80-99%); 4=tóxico (>99%).

³Dosis equivalente expresada en µg i.a./g insecto.

Fuente: tomado de Viñuela y col. (2005).

Como conclusión, el malatión y las piretrinas naturales afectaron de manera importante a la longevidad de *P. concolor*, ya que las hembras adultas del parasitoide murieron en horas. Ambos insecticidas tienen efecto neurotóxico, produciendo un efecto rápido de choque en el insecto. En general, los insecticidas que pertenecen a grupos superiores como son los carbamatos y piretroides tienen un efecto tóxico muy alto. Los nuevos insecticidas reguladores del crecimiento son menos tóxicos en adultos que estos grupos de insecticida, como es el caso del triflumuron (Viñuela y col. 2005).

Como hemos podido observar, en el caso de *P. concolor*, el uso abusivo de insecticidas puede provocar daños severos en las poblaciones de enemigos naturales que habitan en los cultivos, y que son de gran ayuda para los agricultores en el control de importantes plagas, como *B. oleeae*.

3 UTILIDAD DE LOS EFECTOS SECUNDARIOS EN LA CARACTERIZACIÓN DE LOS DISTINTOS TIPOS DE MANEJO

La utilización de los efectos secundarios en la entomofauna beneficiosa para la caracterización del tipo de manejo del cultivo, es algo novedoso que no se había

documentado anteriormente, generalmente, los estudios sobre estos temas habían ido dirigidos a sistemas de cultivos sometidos a un control de plagas de tipo químico, pero se ha evaluado cómo se comportan los insectos en fincas con un sistema de cultivo orgánico, en relación a las convencionales, tratadas con químicos para la lucha contra las plagas. La entomofauna, genera una serie de conductas *pre mortem*, que hace que eviten las zonas contaminadas con el insecticida, con lo cual, los insectos evitan el contacto con el insecticida volando a zonas libres de la toxina. Esta es la primera barrera del insecto contra el insecticida, y cabe considerar que los comportamientos difieren con el tipo de manejo de cultivo, con lo cual, es importante estudiar estos comportamientos en función del manejo del cultivo.

El olivar convencional es el que mayor superficie cultivada tiene (70%), seguido del MIP (26%) y del orgánico (24%). Podemos observar, como el olivar orgánico tiene poca superficie cultivada, aunque, en los últimos años ha aumentado su superficie debido a que, desde la administración, se ha fomentado este tipo de cultivo, con el fin de ofrecer productos de más calidad y respetuosos con el medio ambiente. La administración fomentó esto a través de subvenciones, lo cual hizo que hubiera situaciones de fraude, debido a estos fraudes para recibir ayudas, surge la necesidad de identificar los olivares orgánicos a través de la entomología presente, ya que, a través de una identificación de este tipo no cabría lugar a dudas de si las prácticas llevadas a cabo en ese olivar, son realmente de tipo orgánico y si se favorece en este caso la entomofauna beneficiosa y el control de plagas de tipo biológico.

Con lo cual, la metodología de identificación de manejo de cultivo a través de la entomofauna sumado a los comportamientos que muestra la entomofauna respecto a la aplicación del insecticida, resulta muy interesante para detectar este tipo de fraudes.

Respecto a este tipo de identificación de manejo de cultivo se han descrito 2 trabajos, en los que se comparan los diferentes manejos de cultivo. Cuyos nombres son:

- Agricultural practices and beneficial olive grove 2 insects: A useful complementary methodology 3 against subsidy fraud (1)
- Behavioural Resistance in Insects: Its potential use as bioindicator of organic agriculture (2)

En uno de ellos, se comparan 2 tipos de manejo (1). Por un lado, un manejo de control integrado de plagas y por otro un olivar orgánico. Los dos olivares han seguido un tratamiento correspondiente a su tipo de manejo, por un lado, el IPM ha seguido un tratamiento con dimetoato en primavera y otoño, y en el orgánico no se ha aplicado nada, el control de plagas depende directamente de la entomofauna.

En el otro estudio se seleccionaron 3 olivares (2). Por un lado, un convencional, un MIP y un olivar orgánico, de nuevo, siguiéndose los tratamientos adecuados a cada manejo.

Una vez visto el diseño experimental de ambos trabajos, se realizó un muestreo que fue muy similar en ambos trabajos. Una vez aplicado el insecticida inmediatamente después se colocaron trampas adhesivas cromáticas. En ambos estudios las trampas se colocaron a 1.5 m del suelo y con orientación S-E. Las trampas se cambiaron a los 5 días, dando un total de 64 muestras, que fueron llevadas y examinadas en el laboratorio en ambos estudios.

Los resultados de ambos estudios arrojan datos interesantes.

Por un lado, en el estudio de Gómez-Guzmán y col. (2017), las especies de depredadores capturados fueron las siguientes:

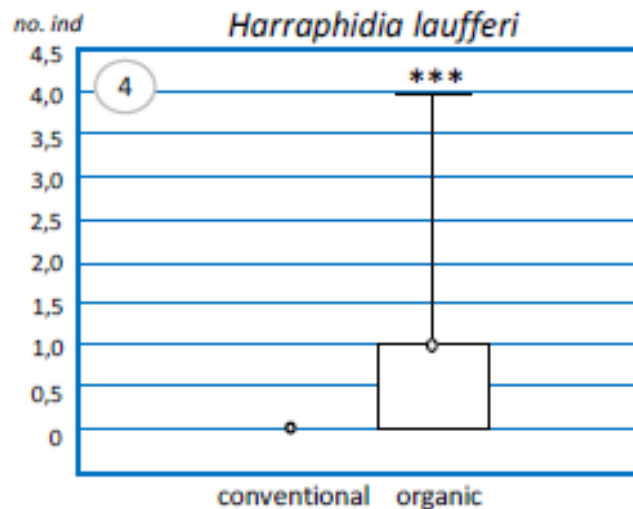
- El más abundante fue *Aeolothrips intermedius* Bagnall (Thys., Aeolothripidae) con un 85%. Es depredador de ácaros y de *Liothrips oleae*.
- Le siguió *Chrysoperla agilis* con un 5,4%. Es depredador de la polilla del olivo.
- Los hemípteros alcanzaron el 6%.

- En una proporción más baja se encontraron las mariquitas 2,3%, depredadores de diversas plagas en olivo.
- Un 0,7% correspondió a los dípteros.

Los resultados concuerdan con los resultados obtenidos en Gómez-guzmán and González-ruiz (2020). En este trabajo, el índice más alto de capturas correspondió a *Aeolothrips intermedius* Bagnall (Thys., Aeolothripidae) a este le siguieron las especies del complejo *Chrysoperla carnea* sensu lato, que comprende las siguientes especies: *Ch. affinis* former, *Ch. kolthoffi*, *Chrysoperla lucasina* (Lacroix, 1912), *Chrysoperla carnea sensu stricto* or *Chrysoperla pallida* and *Chrysoperla agilis* sp. nov. Unas capturas muy similares en los 2 trabajos. Todas estas especies, cumplen unos roles ecológicos específicos en el olivar a la hora de luchas contra las plagas, con lo cual, la presencia de estas especies en el olivar, nos asegura un correcto funcionamiento del control de plagas.

Es de interés ver cómo afecta el tipo de actividad agrícola en la abundancia de depredadores. Los resultados de Gómez-Guzmán y col. (2017), muestran que los olivares sometidos a pesticidas presentan una abundancia menor de especies, resultados que concuerdan con Gómez-Guzmán y González-Ruiz (2020). Esto se puede ver especialmente en la mosca de la serpiente *Harraphidia laufferi*, sólo se recogió en olivares orgánicos, debido a que sus larvas requieren de 2 a 3 años para su desarrollo, esto hace que sea muy vulnerable, con lo cual, su escasez entre los depredadores capturados puede ser una consecuencia a su mayor susceptibilidad a los pesticidas, como se muestra en la siguiente imagen.

Figura 13 Presencia de *Harraphidia laufferi* en olivares orgánicos y convencionales tratados con insecticida.



Fuente: tomado de Gómez-Guzmán y col. (2017).

Es interesante ver cómo afecta el impacto de los regímenes de gestión agrícola en la abundancia relativa de insectos beneficiosos, tanto en las parcelas de control, como en las parcelas tratadas. Para comprobar esto, se realizó una prueba de normalidad de Shapiro-wilk. Se comprobaron diferencias significativas entre las parcelas con diferentes regímenes de gestión, como era de esperar, salvo en el depredador *Orius laevigatus* en el año 2017.

Los datos mostraron que los datos de captura del manejo tradicional y el MIP son similares, sin embargo, más altos en el orgánico. En las parcelas de gestión convencional e MIP hay diferencias de capturas entre las parcelas tratadas y el control. Las parcelas tratadas, tienen un número de capturas más alto, debido a que los insectos presentan resistencias conductuales que hacen que huyan del insecticida a zonas libres de pesticida, esto hace que aumenten las capturas. En las parcelas control, los insectos no tiene esa resistencia conductual, haciendo que no vuelen a zonas libres de pesticida y caigan en las trampas. En las parcelas de manejo orgánico pasó lo contrario, en las parcelas tratadas disminuyó el número de capturas en las parcelas tratadas respecto al control, debido precisamente a la ausencia de esa resistencia conductual. Este hecho es válido para la mayoría de los insectos beneficiosos, incluyendo especies como *Aeolothrips intermedius*, *Chelonus*

eleaphilus, *Chrysoperla agilis*, y *Anthocoris nemoralis* (Gómez-Guzmán y González-Ruiz 2020). En la siguiente tabla se pueden comprobar estos datos.

Tabla 9 Valores de captura (número total de individuos y porcentajes) de insectos benéficos en las parcelas control y tratadas con dimetoato, correspondientes a los diferentes regímenes de manejo (régimen convencional, CM; régimen integrado de plagas IPM y régimen orgánico, OM), en los muestreos de 2017 y 2018. Se incluye el resultado de su comparación estadística mediante la prueba de Mann-Whitney (estadísticas U, Z, valor p).

		2017									2018								
		Control Plot		Treated Plot		U	Z	p		Control Plot		Treated Plot		U	Z	p			
		N	%	N	%					N	%	N	%						
<i>Aeolothrips intermedius</i>		CM	488	36,83	837	63,17	316	-2,64	0,008	T>C	372	37,27	626	62,73	340,5	-2,31	0,021	T>C	
		IPM	445	29,93	1042	70,07	305,5	-2,78	0,005	T>C	416	29,21	1008	70,79	267	-3,29	<0,001	T>C	
		OM	1607	64,85	871	35,15	323,5	2,53	0,010	C>T	1516	65,63	794	34,37	270,5	3,24	0,001	C>T	
<i>Pnigalio mediterraneus</i>		CM	46	27,54	121	72,46	328	-2,54	0,010	T>C	39	25,32	115	74,68	286	-3,11	0,001	T>C	
		IPM	194	53,44	169	46,56	477,5	0,47	0,640		147	45,23	178	54,77	478,5	-0,45	0,651		
		OM	231	56,90	175	43,10	463	0,66	0,509		179	61,94	110	38,06	407,5	1,41	0,157		
<i>Ageniaspis fucicollis</i>		CM	25	23,81	80	76,19	295,5	-3,05	0,002	T>C	33	30,00	77	70,00	393,5	-1,65	0,098		
		IPM	90	54,22	76	45,78	396	1,59	0,119		62	41,33	88	58,67	486,5	-0,35	0,725		
		OM	159	60,69	103	39,31	384	1,74	0,081		186	62,00	114	38,00	366,5	1,96	0,043	C>T	
<i>Tetrastichus cesirae</i>		CM	19	26,76	52	73,24	378	-1,95	0,051		27	29,35	65	70,65	366	-2,05	0,040	T>C	
		IPM	52	39,69	79	60,31	430,5	-1,13	0,259		61	39,87	92	60,13	374,5	-1,87	0,050	T>C	
		OM	169	59,72	114	40,28	458	0,736	0,461		237	60,31	156	39,69	408,5	1,39	0,163		
<i>Chelonus eleaphilus</i>		CM	33	22,15	116	77,85	129,5	-5,22	<0,001	T>C	38	27,94	98	72,06	213	-4,09	<0,001	T>C	
		IPM	33	17,84	152	82,16	91,5	-5,73	<0,001	T>C	51	31,10	113	68,90	314,5	-2,69	0,006	T>C	
		OM	116	78,91	31	21,09	139,5	5,1	<0,001	C>T	142	70,30	60	29,70	266,5	3,34	<0,001	C>T	
<i>Orius laevigatus</i>		CM	43	51,81	40	48,19	457	0,79	0,427		31	44,29	39	55,71	496	0,23	0,820		
		IPM	40	51,28	38	48,72	476	0,51	0,609		35	39,77	53	60,23	376	-1,89	0,057		
		OM	88	77,88	25	22,12	320	2,69	0,007	C>T	109	72,19	42	27,81	359,5	2,09	0,036	C>T	
<i>Chrysoperla agilis</i>		CM	20	30,30	46	69,70	322,5	-2,68	0,008	T>C	13	20,63	50	79,37	267,5	-3,52	<0,001	T>C	
		IPM	23	31,51	50	68,49	344,5	-2,37	0,017	T>C	21	26,58	58	73,42	286	-3,19	0,001	T>C	
		OM	104	77,04	31	22,96	331	2,52	0,012	C>T	97	73,48	35	26,52	333	2,46	0,013	C>T	
<i>Coccinella septempunctata</i>		CM	11	45,83	13	54,17	493,5	0,33	0,742		25	45,45	30	54,55	504,5	0,11	0,913		
		IPM	13	46,43	15	53,57	489	-0,37	0,709		32	62,75	19	37,25	426	1,26	0,206		
		OM	55	78,57	15	21,43	344,5	2,47	0,013	C>T	82	74,55	28	25,45	288,5	3,11	0,002	C>T	
<i>Anthocoris nemoralis</i>		CM	0	0,00	9	100,00	400	-1,5	0,133		3	16,67	15	83,33	381	-2,45	0,014	T>C	
		IPM	2	12,50	14	87,50	382	-2,57	0,011	T>C	6	17,65	28	82,35	348	-2,79	0,005	T>C	
		OM	32	82,05	7	17,95	365	2,66	0,007	C>T	48	70,59	20	29,41	341,5	2,45	0,014	C>T	
<i>Harraphidia laufferi</i>		CM	0	--	0	--	512	0	1		0	--	0	--	512	0	1		
		IPM	0	--	0	--	512	0	1		1	100	0	0	496	0,21	0,829		
		OM	20	86,96	3	13,04	330	3,17	<0,001	C>T	34	87,18	5	12,82	206,5	4,62	<0,001	C>T	

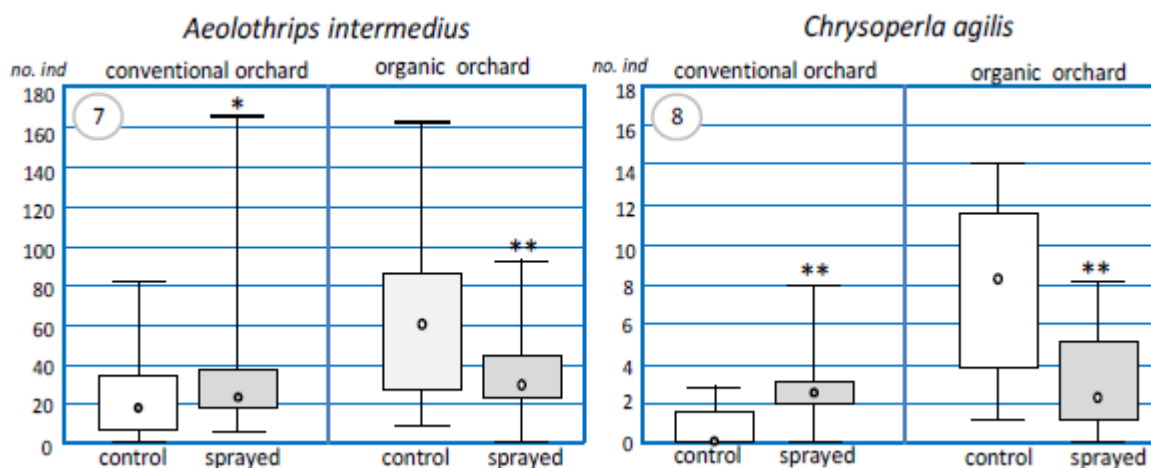
Fuente: tomado de Gómez-Guzmán y González-Ruiz (2020).

Cómo se ha podido comprobar el olivar con manejo orgánico muestra mayores capturas, pero es de importancia indicar, como se induce la resistencia conductual en los insectos. En primer lugar, en las parcelas convencionales, hay más capturas en las parcelas tratadas que en las parcelas de control, siendo más significativo para los depredadores más abundantes. Este aumento de capturas en las parcelas tratadas se debe a una reacción de escape al insecticida por parte del insecto a zonas libres de pesticidas (Gómez-Guzmán y col. 2017). Este comportamiento se estudió en el parásito *Cimex lectularius* y ocurre también en la mayoría de

depredadores estudiados. Algunos depredadores como *Ch. Agilis* tienen capacidad para producir mecanismos de defensa contra los insecticidas.

En cuanto a las parcelas con gestión orgánica, se obtuvieron menos capturas en las parcelas tratadas con respecto a las de control, muy significativa para *Aelothrips intermedius*, *Ch agilis*, *Orius laevigatus*, *Harraphidia laufferi* y *Anthocoris nemoralis*, esto se demuestra para depredadores como *Ch. Agilis* y *Aelothrips intermedius*, teniendo unos comportamientos totalmente diferentes de la misma especie en distintos tipos de manejo agrícola en función de su susceptibilidad al insecticida. Esto se puede comprobar fácilmente en las siguientes imágenes.

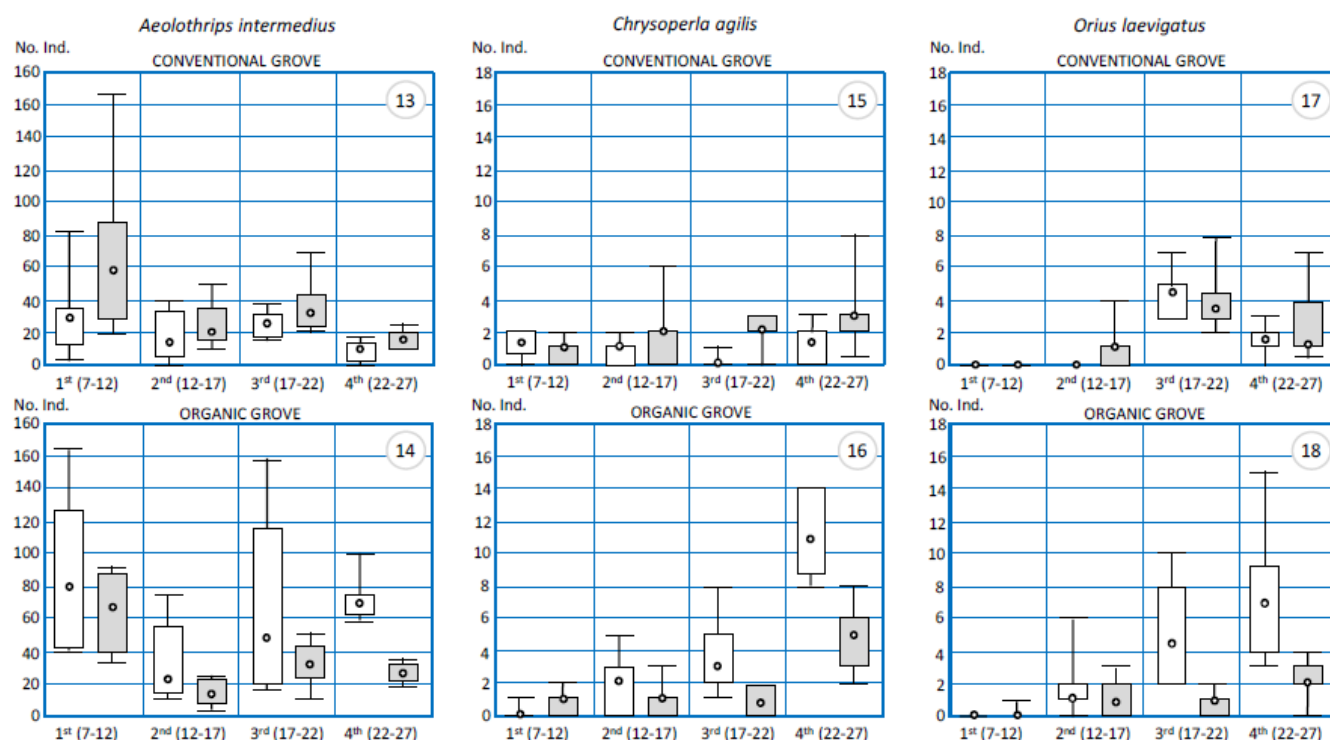
Figura 14 Parámetros estadísticos (mediana, máximo, mínimo e intervalo Q25-Q75) correspondientes a los depredadores capturados en las trampas adherentes de las parcelas control tanto del olivar convencional como ecológico.



Fuente: tomado de Gómez-Guzmán y col. (2017).

Como se puede comprobar, los 2 depredadores tienen diferentes grados de significación según el tipo de manejo, en las 2 especies, en el manejo convencional se obtuvieron más capturas para la parcela tratada, mientras que en los manejos orgánicos se obtuvieron más capturas en las parcelas control, sin tratamiento. Esto corresponde al diferente grado de susceptibilidad a los insecticidas. Para profundizar sobre este tema, se estudió la variación de valores de captura de 3 especies (*C. agilis*, *A. intermedius*, *O. laevigatus*) en parcelas tratadas y de control en manejos orgánicos y convencionales, para comprobar cómo había afectado el uso durante años de insecticida.

Figura 15 Valores de captura en diferentes intervalos de muestreo para *C. agilis*, *A. intermedius* y *O. laevigatus* en parcelas tratadas y control en manejos orgánico y tradicional.



Fuente: tomado de Gómez-Guzmán y col. (2017)

Es decir, en estas graficas se muestra que los valores de *A. intermedius* fueron más altos en las parcelas con insecticida en el manejo convencional, para las 2 especies restantes, el efecto se observa más tarde por la ausencia de adultos. En los orgánicos, el menor número de capturas en las parcelas tratadas, se mantiene durante todo el periodo. Esto se explica, por la presión que ejercen los insecticidas, haciendo que sobrevivan aquellos individuos más adaptados frente a la exposición frente a insecticida, a través de mecanismos de resistencia durante generaciones, explicando esto, la variación de los 2 tipos de manejo. Bajo una fuerte presión de

insecticida una población es más susceptible a desarrollar resistencia conductual. Hay ciertas especies que carecen de capacidad para generar estos mecanismos, como *H. laufferi* esto hace que sea más susceptible a los insecticidas, haciendo que esta especie sea un excelente indicador de manejo orgánico(Gómez-Guzmán y col. 2017).

Como conclusión de este capítulo, se ha podido comprobar que la resistencia conductual es una herramienta muy útil para distinguir los tipos de manejo en olivar, se puede determinar, si los individuos de una especie han desarrollado la resistencia conductual, en aquellos cultivos en los que se han utilizado insecticidas convencionales. Por otro lado, la ausencia de esta resistencia conductual indica que un cultivo es realmente un cultivo orgánico.

Pero, además, como comentaba anteriormente, también es una herramienta útil para la detección de fraudes. La aplicación de los insecticidas en los diferentes regímenes de manejo estudiados, arroja 2 conclusiones. Por un lado, en los cultivos orgánicos, en las parcelas de control se muestran numerosas capturas de insectos, mientras que en las parcelas tratadas se produce una disminución. Esto sucede porque estos insectos no han estado en contacto con el insecticida, con lo cual se produce una reacción de escape al insecticida. En los olivares convencionales e MIP, se encuentran valores de captura más altos en las parcelas tratadas con respecto al control, pero aparecen en trampas en parcelas tratadas después de la aplicación de insecticida. La entomofauna de este tipo de olivares está sometida al uso de insecticidas, con lo cual pueden haber desarrollado estrategias de escape al insecticida los insectos alcanzados con dosis subletales. Los resultados de este estudio indican una relación inversa entre la frecuencia de aplicación de insecticidas y el éxito en la depredación de *Ch. agilis* (Gómez-Guzmán y González-Ruiz 2020).

Los regímenes convencionales y MIP, han arrojado resultados muy parecidos, con lo cual sería necesario proponer protocolos menos agresivos en la gestión de plagas en el manejo MIP. Los resultados de esta investigación, han permitido determinar que los insectos más beneficiosos tienen el potencial de desarrollar mecanismos de

escape contra el insecticida, como reacción defensiva. Es muy probable que esta capacidad se haya desarrollado después de la aplicación continua de insecticidas (regímenes convencionales y de MIP), ya que está ausente en las poblaciones de cultivos orgánicos. Este hecho puede representar una herramienta importante para desarrollar metodologías que permitan determinar si un determinado cultivo objetivo está siendo sometido a la aplicación de insecticidas sintéticos (Gómez-Guzmán y González-Ruiz 2020).

4 PUESTA A PUNTO DE UNA METODOLOGÍA PARA LA CATALOGACIÓN DE LOS DISTINTOS TIPO DE MANEJO

Entre las principales innovaciones en el cultivo del olivo, destaca la conversión de las prácticas de cultivo hacia la agricultura ecológica. Dado que los cultivos ecológicos están sujetos a la concesión de subvenciones económicas por parte del Ministerio de Agricultura de España, esto ha dado lugar a situaciones fraudulentas, enmascarando el uso de pesticidas convencionales en cultivos "falsos orgánicos". Investigar métodos alternativos, complementarios a los químicos analíticos, que pueden proporcionar información fiable a los cultivos orgánicos discernibles de los sujetos a pesticidas sintéticos es el objetivo de esta investigación.

En el estudio (González-Ruiz y Gómez-Guzmán, 2020), realizado durante el periodo de control químico de *Bactrocera oleae* se seleccionaron 6 parcelas cada una con 49 olivos. (configuración 7x7). Aleatoriamente, tres de ellos fueron seleccionados y tratados con 40% de dimetoato a una concentración de 0.1% (v/v) por un pulverizador de mochila hidráulica (MATABI Evolution 16©) de 16 l de capacidad. Un volumen homogéneo de solución entre 2 l y 3 l por árbol, se aplicó en condiciones de calma atmosférica, con velocidades de viento de 3 a 5 km/h. Las tres parcelas restantes, se consideraron parcelas de control y sólo se aplicó agua destilada dentro de ellas. Se utilizaron trampas pegajosas cromáticas después de la aplicación del insecticida, a 1,5 m del suelo y en el sector sur.

Las trampas se retiraban y renovaban a los 7 días, para minimizar los efectos de la pseudo replicación, en cada intervalo de muestreo, se seleccionaron aleatoriamente un par de parcelas, una tratada y un control, después en el laboratorio, se identificaron los ejemplares obtenidos en las trampas.

Posteriormente, se realizó un análisis estadístico en Statgraphics Centurion 2016 y STATISTICA.

Los resultados de captura muestran 2838 individuos que se corresponden con 5 especies de enemigos naturales.

Tabla 10 Lista de las principales especies de insectos benéficos capturados en el estudio. Se indica el número total de individuos capturados (n), así como la desviación estándar (S.D.), la media para cada especie en los dos intervalos de muestreo, tanto para la parcela control como para la parcela tratada.

			Control			Treated		
			n	Mean	S.D.	n	Mean	S.D.
<i>Aeolotrrips intermedius</i>		27/09-04/10	428	8,73	6,55	577	11,78	7,68
		04/10-11/10	260	5,31	3,07	418	8,53	6,83
<i>Chelonus eleaphilus</i>		27/09-04/10	34	0,69	0,87	81	1,65	1,65
		04/10-11/10	114	2,33	2,01	200	4,08	2,84
<i>Ageniaspis fuscicollis</i>		27/09-04/10	78	1,59	1,40	102	2,08	1,59
		04/10-11/10	56	1,14	1,27	56	1,14	1,40
<i>Elasmus flabellatus</i>		27/09-04/10	79	1,61	1,57	56	1,14	1,21
		04/10-11/10	54	1,10	1,57	45	0,92	1,27
<i>Pnigalio mediterraneus</i>		27/09-04/10	56	1,14	1,38	58	1,18	1,27
		04/10-11/10	43	0,88	1,05	43	0,88	1,11

Fuente: tomado de González-Ruiz y Gómez-Guzmán (2020).

La especie más abundante ha sido, *A. intermedius* con el 59% de las capturas. Es una especie muy importante para el control de ácaros.

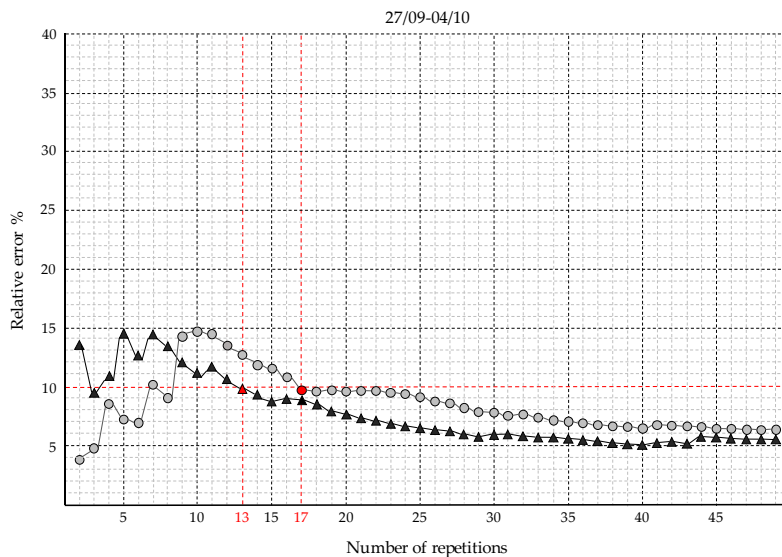
El resto de los enemigos naturales capturados han sido parasitoides. La especie más abundante de parasitoide ha sido *Chelonus eleaphilus* (Silvestri, 1908), con el 15,12% del total de capturas. Este parasitoide, es muy útil en el control de *Prays oleae*.

Ageniaspis fuscicollis (Dalman, 1820) (Hym., Encyrtidae), con el 10,29% del total de capturas, ha sido una de las especies más abundantes de parasitoides. Es un parasitoide que puede alcanzar tasas de parasitismo del 70%. Por otro lado,

Elasmus flavellatus (Fonscolombe, 1832) (Hym., Eulophidae), tuvo el 8,24% del total de capturas. Las especies de este género son principalmente larvas ectoparasitoides de lepidópteros. Por último, *Pnigalio mediterraneus* (Ferrière y Delucchi, 1957) (Hym., Eulophidae), fue el que tuvo menor número de capturas, es un ectoparasitoide que ataca principalmente a larvas de *Bactrocera oleae* (González-Ruiz y Gómez-Guzmán 2020).

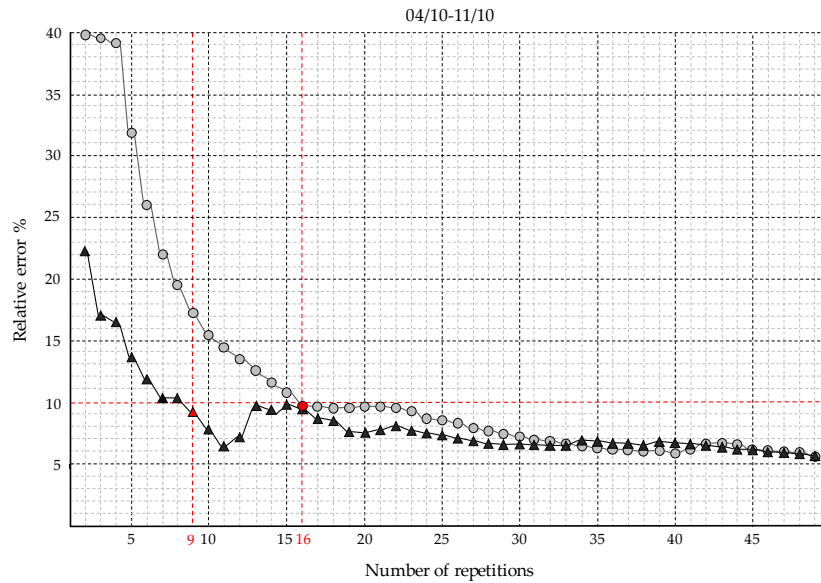
A partir de estos datos obtenidos sobre los individuos capturados, se puede hacer una determinación del tamaño de la muestra en función del error relativo de la medida. La especie escogida para establecer la relación entre el tamaño de muestra y el error relativo debido a su mayor índice de captura, ha sido *A. intermedius*.

Figura 16 Error relativo del valor medio de captura en relación con el aumento del tamaño de muestra.



Fuente: tomado de González-Ruiz y Gómez-Guzmán (2020).

Figura 17 Error relativo del valor medio de captura en relación con el aumento en el tamaño de la muestra.



Fuente: tomado de González-Ruiz y Gómez-Guzmán (2020).

La determinación del número mínimo de repeticiones para obtener estimaciones aceptables que permitan determinar diferencias significativas en las pruebas de comparación estadística entre las gráficas tratadas y de control es de 17 repeticiones. Esto permitirá futuros estudios para adaptar el tamaño de la parcela para la aplicación de la técnica propuesta, en orden de detección de cultivos verdaderamente orgánicos, reduciendo en la medida de lo posible, el área de aplicación del tratamiento experimental, y permitiendo así obtener resultados fiables, interfiriendo lo menos posible en un cultivo totalmente orgánico (González-Ruiz y Gómez-Guzmán 2020).

Una vez determinado el tamaño de la muestra en función del error relativo, en función con el aumento del tamaño de muestra, se estimó el tamaño de muestra para detectar diferencias significativas entre las parcelas tratadas y de control.

Tabla 11 Prueba t-student para un número creciente de repeticiones, en los datos de captura de *A. intermedius* en los 2 intervalos de muestreo.

No. repetition	27/09-04/10							04/10-11/10						
	Control		Treated		T-student			Control		Treated		T-student		
	s	Mean	√Mean	Mean	√Mean	t	p	Mean	√Mean	Mean	√Mean	t	p	
3		6,00	2,45	10,67	3,27	-2,47	>0,05	2,67	1,63	8,00	2,83	-1,8	>0,05	
4		5,25	2,29	9,25	3,04	-1,88	>0,05	2,00	1,41	6,75	2,60	-2,15	>0,05	
5		5,00	2,24	12,80	3,58	-2,27	>0,05	2,40	1,55	6,20	2,49	-2,05	>0,05	
6		5,33	2,31	14,50	3,81	-2,76	*	2,67	1,63	5,83	2,42	-1,99	>0,05	
7		4,71	2,17	12,71	3,57	-2,21	*	2,71	1,65	5,71	2,39	-2,18	*	
8		4,63	2,15	14,75	3,84	-2,74	*	3,25	1,80	5,25	2,29	-1,58	>0,05	
9		4,11	2,03	15,44	3,93	-3,37	**	3,56	1,89	5,11	2,26	-1,4	>0,05	
10		5,40	2,32	16,90	4,11	-3,16	**	3,70	1,92	5,00	2,24	-1,33	>0,05	
11		5,00	2,24	15,64	3,95	-3,04	**	4,27	2,07	5,00	2,24	-0,98	>0,05	
12		5,08	2,25	15,92	3,99	-3,34	**	4,33	2,08	5,67	2,38	-1,26	>0,05	
13		4,85	2,20	16,38	4,05	-3,82	***	4,69	2,17	7,38	2,72	-1,43	>0,05	
14		4,93	2,22	15,86	3,98	-3,87	***	4,93	2,22	7,50	2,74	-1,44	>0,05	
15		4,67	2,16	15,73	3,97	-4,26	***	5,07	2,25	8,60	2,93	-1,7	>0,05	
16		4,88	2,21	14,94	3,86	-3,88	***	4,88	2,21	8,69	2,95	-1,99	>0,05	
17		4,82	2,20	14,47	3,80	-3,94	***	4,65	2,16	8,71	2,95	-2,3	*	
18		5,22	2,29	14,39	3,79	-3,87	***	4,50	2,12	9,17	3,03	-2,68	*	
19		4,95	2,22	14,21	3,77	-4,17	***	4,42	2,10	9,37	3,06	-2,97	**	
20		5,05	2,25	14,10	3,75	-4,27	***	4,20	2,05	10,05	3,17	-3,44	**	
21		4,86	2,20	13,71	3,70	-4,39	***	4,29	2,07	10,76	3,28	-3,64	***	
22		5,45	2,34	13,45	3,67	-3,99	***	4,27	2,07	11,55	3,40	-3,92	***	
23		5,61	2,37	13,74	3,71	-4,13	***	4,52	2,13	11,48	3,39	-3,87	***	
24		5,92	2,43	13,54	3,68	-3,97	***	4,63	2,15	11,33	3,37	-3,88	***	
25		5,92	2,43	13,52	3,68	-4,12	***	4,64	2,15	11,36	3,37	-4,03	***	
26		6,19	2,49	13,35	3,65	-3,97	***	4,77	2,18	11,15	3,34	-3,94	***	
27		6,30	2,51	13,96	3,74	-4,14	***	4,78	2,19	10,96	3,31	-3,96	***	
28		6,36	2,52	14,00	3,74	-4,25	***	4,86	2,20	10,86	3,30	-3,97	***	
29		6,55	2,56	14,03	3,75	-4,26	***	4,93	2,22	10,86	3,30	-4,04	***	
30		6,53	2,56	13,63	3,69	-4,01	***	4,87	2,21	10,60	3,26	-3,97	***	
31		6,42	2,53	13,39	3,66	-4,06	***	4,97	2,23	10,39	3,22	-3,81	***	
32		6,25	2,50	13,28	3,64	-4,26	***	5,09	2,26	10,22	3,20	-3,68	***	
33		6,36	2,52	13,33	3,65	-4,31	***	5,21	2,28	10,00	3,16	-3,45	***	
34		6,50	2,55	13,09	3,62	-4,13	***	5,29	2,30	9,71	3,12	-2,91	**	
35		6,63	2,57	13,23	3,64	-4,19	***	5,34	2,31	9,51	3,08	-2,77	**	
36		6,92	2,63	13,00	3,61	-3,88	***	5,39	2,32	9,36	3,06	-2,68	**	
37		6,89	2,63	13,05	3,61	-4,03	***	5,30	2,30	9,22	3,04	-2,73	**	
38		7,05	2,66	12,89	3,59	-3,89	***	5,21	2,28	9,13	3,02	-2,84	**	
39		6,92	2,63	12,72	3,57	-3,95	***	5,10	2,26	8,97	3,00	-2,87	**	
40		7,13	2,67	12,53	3,54	-3,72	***	5,13	2,26	8,88	2,98	-2,84	**	

Fuente: tomado de González-Ruiz y Gómez-Guzmán (2020).

A partir de los datos del primer muestreo, observamos que para obtener diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$), se requeriría un tamaño de muestra de al menos 6 repeticiones. Mediante el análisis de los datos del segundo intervalo de muestra, se pueden detectar diferencias estadísticamente significativas entre las gráficas tratadas y de control con un tamaño mínimo de muestra de 17 repeticiones ($p < 0,05$). Se observó el nivel más alto de significancia estadística ($p < 0.001$), observado con un tamaño mínimo de muestra de 13 repeticiones en el primer muestreo, y 21 repeticiones, en el segundo (González-Ruiz y Gómez-Guzmán 2020).

En general, los resultados de los dos enfoques analíticos estudiados aquí, son relativamente coincidentes, ya que el tamaño de la muestra de 17 repeticiones, permite estimaciones con un margen de error aceptable, y al mismo tiempo permite la detección de diferencias estadísticamente significativas para determinar el efecto inducido por la aplicación de insecticidas, en el comportamiento de los insectos. Este

tamaño de la muestra sugiere que, para obtener resultados fiables, se necesitaría un área de aproximadamente 100 m² para la aplicación experimental del insecticida. En relación con la superficie media de un olivar medio, normalmente superior a 10 Has, el área dedicada a la aplicación de esta técnica analítica representa una proporción inferior al 0,1% del cultivo total, que se utilizará para la inducción de efectos subletales por la aplicación de insecticidas. Esto sugiere que el impacto ejercido a nivel agroecosistema es prácticamente insignificante. Por lo tanto, el uso de esta metodología se presenta como una herramienta complementaria para la verificación de cultivos orgánicos, y su aplicación no sería un obstáculo para que los cultivos verdaderamente orgánicos pierdan su certificación.

A modo de conclusión o resumen, este estudio hizo posible seleccionar la especie *Aeolothrips intermedius* como el insecto beneficioso más adecuado para ser considerado como un bioindicador en estudios destinados a la verificación de olivares bajo régimen de cultivo orgánico.

Según los objetivos, la determinación de diferencias estadísticamente significativas para la aplicación efectiva de esta metodología, basada en la inducción de efectos subletales en insectos beneficiosos y el posterior seguimiento mediante un dispositivo de trampas amarillas pegajosas, requiere un mínimo de 17 repeticiones.

De acuerdo con lo anterior, los resultados han permitido determinar que el tamaño mínimo de la parcela objetivo experimental, para obtener estimaciones de población aceptables (error relativo de hasta el 10%), requeriría una superficie mínima de al menos 100 m², lo que representa un número mínimo de 17 olivos.

5. EXPLORACIÓN DE LOS EFECTOS COLATERALES DE LOS INSECTICIDAS NATURALES SOBRE LA ENTOMOFAUNA BENEFICIOSA

Hasta el momento, la mayoría de estudios se refieren a efectos generados por los insecticidas de síntesis más comunes, como el dimetotato, con lo cual es necesario ampliar estos estudios para así poder tener un ámbito de estudio más amplio. Es interesante comprobar los efectos que tienen los insecticidas biológicos, aceptados en la agricultura ecológica, sobre la entomofauna beneficiosa.

-Piretrinas: las piretrinas son compuestos botánicos extraídos de varias especies de plantas del género *Chrysanthemum*. La actividad insecticida de las piretrinas naturales, se debe a un conjunto de moléculas naturales (ésteres): piretrina I y II, las más comunes, y otros cuatro ingredientes diferentes que son el cinerin I y II, y el jasmolin I y II. Estos ésteres, tienen una actividad neurotóxica sobre el sistema nervioso central (SNC) y un elevado efecto de choque (Morales y col. 2004; Beeman, 1982; Charles y col. 1999). Minutos después de la aplicación, el insecto afectado presentará limitaciones de movimiento y vuelo, conocido como efecto knockdown (característico de las piretrinas II) (Lafargue y col. 2018; Casida y col. 1983) y, eventualmente, la muerte (específica de las piretrinas I).

Las piretrinas contenidas en extractos generalmente tienen una concentración del principio activo de cerca del 30 % y el resto consiste en oleorresinas que contienen glicoproteínas y lactonas sesquiterpénicas (Hasibur y col. 2014; McLaughlin, 1973; Todd y col. 2003). Para aumentar su efectividad como insecticidas los preparados comerciales de piretrinas se acompañan de sustancias sinérgicas como el butóxido de piperonilo, sulfóxido de piperonilo (Todd y col. 2003); y MGK-264, cada uno tiene su propia toxicidad intrínseca y característica físico-química que pueden mejorar la toxicidad de la propia piretrina (Lafargue y col. 2018).

Este insecticida posee interesantes propiedades debido a su rápido efecto de choque en insectos, su amplio espectro insecticida, gran poder repelente y, a su vez, rápida degradación en el ambiente (Henry y col. 1999) y baja toxicidad en mamíferos (Philogène y col. 2002; Lafargue y col. 2018; Zapata y col. 2005); toxicidad que sí presenta en peces y demás organismos acuáticos (Mauck y col. 1976).

Sin embargo, varios estudios de laboratorio han indicado que este insecticida resulta tóxico para varias especies de artrópodos beneficiosos (Walker y col. 1996; Ledieu y col. 1989; Franz y col. 1980; Hassan, 1982; Castagnoli y col. 2005; Medina y col. 2007; Dusoet y col. 2008; Jansen y col. 2008; Kraiss y col. 2008; Kalushkov, 1999; Bayoun y col. 1995; Olszak, 1999; Wiles y Jepson, 1995; Longley y col. 1997; Jansen, 2001). Morales y col. (2004) concluyeron que la aplicación de piretrinas reduce la longevidad y la capacidad parasitoide de los adultos de *Hyposoter didymator* (Thunberg), un Ichneumónido parasitoide de gran interés para su uso potencial en programas de control biológico de especies plaga como los noctuidos *Spodoptera exigua* (Hübner), *S. littoralis* (Boisduval) y *Helicoverpa armígera* (Hübner) (Cabello, 1989; Caballero y col. 1990; Izquierdo y col. 1994). Por otro lado, Zapata y col. (2005) y Jansen y col. (2010) revelaron que las piretrinas afectan severamente a la longevidad de *Psytalia concolor* (Szépligeti) (syn. *Opius concolor*) y *Aphidius rhopalosiphi* (Stefani-Perez), dos braconídeos parasitoides de gran relevancia como agentes de control biológico. En el caso de *Psytalia concolor*, basándose en la clasificación de la OILB (Organización Internacional de Lucha Biológica) (Hassan y col. 1987, 1998, Sterk y col. 1999), las piretrinas se clasificaron en todos los ensayos (residual, tópico e ingestión) según el efecto producido en la supervivencia del insecto como categoría 4 (tóxico) (Zapata y col. 2005). También se ha probado una marcada toxicidad en *Adalia bipunctata* (Linnaeus), un coccinélido depredador de gran uso en el control de numerosas especies de áfidos (Jansen y col. 2010).

Aunque los efectos de este pesticida en campo probablemente se encuentren limitados debido a su inestabilidad frente a la luz solar (Soderlund y Bloomquist, 1989; Crosby, 1995) y a temperaturas elevadas (Coto), surge la pregunta sobre el impacto de este producto en las comunidades de artrópodos beneficiosos que habitan en cultivos bajo régimen ecológico.

Azadiractina: La azadiractina es un compuesto insecticida natural biodegradable producido por *Azadirachta indica* (árbol de Neem), una especie de árbol perteneciente a la familia Meliáceas. La azadiractina se encuentra en las semillas de los frutos inmaduros y puede ser extraído fácilmente con solventes orgánicos

(Hermel y col. 1987; Johnson y col. 1996). Al menos 135 metabolitos secundarios han sido hallados en el Neem (Navarrete y col. 2017), éstos pueden clasificarse en dos grupos: los isoprenoides, que incluyen las protomeliacinas, limonoides, azadirone, csecomeliacinas como nimbin, salannin y azadiractina (Girish y Shankara, 2008); y el otro grupo está integrado por ácidos fenólicos como tánico, gálico, ferúlico y chlorogénico (Singh y col. 2005). El poder insecticida de la azadiractina se ha confirmado en 500 especies de insectos plaga (Villamil Montero y col. 2012).

El mecanismo de acción de la azadiractina radica en la inhibición de la enzima que cataliza el proceso que convierte a la ecdisona en la hormona activa 20-Hidroxiecdisona (Mitchell y col. 1997). Los efectos que esto produce son la reducción de la fecundidad e interrupción de la comunicación sexual, impedimento de la ovoposición, esterilidad en adultos, bloqueo de la muda, efecto antialimentario y bloqueo en la síntesis de quitina (Koolman y col. 1998; Mordue y col. 2005; Cañarte, 2001; Valarezo y col. 2008).

Estudios como los de Schmutterer y Singh (2002), Morgan y col. (2009), Simmons y Abd-Rabou (2011) y Mohamed y col. (2014) indican que este insecticida no afecta a vertebrados e insectos beneficiosos (depredadores, abejas, etc.), ya que ha de ser ingerido para hacer efecto.

Sin embargo, existe discrepancia sobre el efecto que este compuesto produce en insectos parasitoides; ya que tal y como señala Schmutterer (1990) es de suponer que estos insectos, al absorber una gran cantidad de azadiractina de sus hospedadores, sí que podrían verse afectados.

Feldhege y Schmutterer (1993), Lowery y Isman (1995), Simmonds y col. (2002), Lyons y col. (2003) o Saber y col. (2004) señalan que a altas dosis, como las utilizadas en experimentos de laboratorio, sí que existen efectos perjudiciales para los parasitoides.

Feldhege y Schmutterer (1993) demostraron el efecto negativo de dosis altas de azadiractina sobre la emergencia y capacidad parasítica de *Encarsia formosa* (Gahan), un afelínido de gran uso en el control biológico de plagas en invernaderos (Hoddle y col. 1998).

Según el estudio realizado por Lowery e Isman (1995), el aceite extraído de las semillas de *Azadirachta indica*, el cual posee altas concentraciones de azadiractina, resulta tóxico para *Diaeretiella rapae* (Stary), un braconídeo parasitoide de numerosas especies de pulgones plaga como *Brevicoryne brassicae* (Linnaeus) (Marsh, 1979).

En el estudio llevado a cabo por Simmonds y col. (2002), concentraciones altas de azadiractina (500 ppm) produjeron en individuos adultos *Encarsia formosa* un efecto antiovipositor y repelente.

En el bioensayo de Lyons y col. (2003), una dosis de azadiractina de 500 g/ha supuso una reducción en la capacidad parasítica de la especie *Trichogramma minutum* (Riley) (Trichogrammatidae) debido a una disminución en la supervivencia de las hembras.

Finalmente, en el estudio de Saber y col. (2004) la especie *Trichogramma cacoeciae* (Marchal) (Trichogrammatidae) se vio afectada por la aplicación de Neemazal 1 % (preparación comercial de cuya sustancia activa es la azadiractina).

Sin embargo, existen numerosos estudios que indican que a dosis de campo (bajas concentraciones) y en concentraciones acuosas, los tratamientos con azadiractina no afectan a los parasitoides (Tang y col. 2002; Akol y col. 2002; Lyons y col 2003; Mitchell y col. 2004).

En el estudio llevado a cabo por Tang y col. (2002), al aplicar azadiractina en bajas dosis (11 y 45 ppm) sobre individuos del áfido hospedador *Toxoptera citricida* (Kirkaldy), no se produjo una reducción significativa en las tasas de supervivencia del parasitoide *Lysiphlebus testaceipes* (Cresson) (Braconidae).

Lyons y col. (2003) demostraron que hay un impacto mínimo en *Trichogramma minutum* al aplicar una concentración operativa (0,00375%) de azadiractina.

Mitchell y col. (2004) aplicaron extracto acuoso de Neem sobre huevos de *Clavigralla scutellaris* (Westwood) (Coreidae) parasitados por el esceliónido *Gryon fulviventre* (Crawford) (Scelionidae), dándose como resultado que ni la supervivencia de los adultos de la especie parasitoide ni las tasas de parasitismo se vieron afectadas.

Finalmente, en el caso del ichneumónido parasitoide *Diadegma mollipla* (Holmgren), al exponerlo a formulaciones de azadiractina no se observaron efectos adversos en la longevidad y capacidad parasítica (Akol y col. 2002). Esto puede deberse a la rápida capacidad de excreción de azadiractina que posee esta especie, lo que le permite mantener los niveles por debajo de los considerados críticos para el desarrollo del insecto (Rembold y col. 1984).

Por lo tanto, pese a que la aplicación de azadiractina a altas dosis produce efectos perjudiciales sobre los parasitoides; existe un impacto mínimo de este compuesto en ellos si se aplica en bajas dosis (dosis de campo) o en suspensiones acuosas.

Spinosad: El Spinosad es un metabolito natural producido por el actinomiceto del suelo *Saccharopolyspora spinosa* (Mertz y Yao). Su modo de acción afecta al sistema nervioso, aunque de forma diferente a los insecticidas de los grupos neonicotinoides, fiproles, avermectinas y ciclodiones; ya que activa al receptor de acetilcolina nicotínico y también a los receptores GABA. Esto origina una permanente excitación de las neuronas motoras (Salgado, 1997, 1998), que se acaba traduciendo finalmente en la muerte del insecto por hiperexcitación (Snyder y col. 2007). Este compuesto actúa tanto por contacto como por ingestión (ADÁN y col., 1996; Bret y col, 1997), siendo particularmente efectivo contra especies plaga de lepidópteros, dípteros, algunos coleópteros, isópteros, formícidos y trips (Bret y col. 1997).

Spinosad tiene una toxicidad moderada para peces y demás organismos acuáticos, pero muy poca para aves y mamíferos (Bret y col. 1997; Breslin y col. 2000). Debido a esto y a la rápida descomposición de este compuesto en el medio ambiente (Cleveland y col. 2002; Thompson y col. 2002), la OMS lo clasifica como un material

“sin peligro agudo”, mientras que la EPA lo clasifica como “sin riesgo de toxicidad aguda”.

Sin embargo, una amplia cantidad de literatura, derivada de un número creciente de estudios de laboratorio y de campo ha definido los riesgos para los insectos beneficiosos que plantea el uso del spinosad.

Estudios como los realizados por Viñuela y col. (1998) y Tillman y Mulrooney (2000) constatan el efecto negativo que este compuesto produce sobre ciertas especies de depredadores. Los resultados del estudio de Viñuela y col. (1998) mostraron que el Spinosad tuvo un grado de toxicidad elevado al ser ingerido por individuos de *Podisus maculiventris* (Say) (Pentatomidae), especie muy útil en el control de *Lymantria dispar* (Linnaeus) (Erebidae) y *Leptinotarsa decemlineata* (Say) (Chrysomelidae) (De Clercq 2008). Por otro lado, Tillman & Mulrooney (2000) concluyeron que el spinosad aplicado tópicamente resulta ser altamente tóxico para la especie *Geocoris punctipes* (Say) (Geocoridae), depredador de la pulgilla del tabaco *Epitrix fasciata* (Blatchley) (Chrysomelidae). No obstante, en el estudio realizado por Pietrantonio y Benedict (1997) el Tracer™, un compuesto a base de Spinosad, resultó ser inofensivo (<25% mortalidad) para la especie depredadora *Orius insidiosus* (Say) (Anthocoridae).

En el caso de la toxicidad del spinosad sobre especies parasitoides, numerosos estudios han reportado sus efectos negativos (Pietrantonio y Benedict, 1997; Tillman y Mulrooney, 2000; Schneider y col. 2000; Williams y col. 2003; Elzen y col. 2000; Schneider y col. 2003; Barden, 1998).

En el estudio realizado por Pietrantonio y Benedict (1997), el Tracer™ resultó ser bastante dañino para el parasitoide *Cotesia marginiventris* (Cresson) (Braconidae), endoparasitoide generalista muy útil en el control de *Autographa gamma* (Linnaeus) y *Chrysodeixis chalcites* (Esper) (Urbaneja y col. 2002).

Parasitoides: En el estudio realizado por Pletrantonio y Benedict (1997) una serie de insectos de distintas especies fueron expuestos a residuos de Tracer™, un compuesto a base de Spinosad. En el caso del parasitoide *Cotesia plutellae* (Kurdjumov) (Braconidae) el insecticida resultó ser ligeramente nocivo. Finalmente,

en el caso de *Cotesia marginiventris* (Cresson) (Braconidae) el Tracer™ resultó ser bastante dañino. En el estudio realizado por Ruberson y Tillman (1999) se realizaron una serie de aplicaciones experimentales de Spinosad tanto en laboratorio como en campo sobre distintas especies de enemigos naturales. Los resultados mostraron que este compuesto aplicado tópicamente fue altamente tóxico para los parasitoides *Bracon mellitor* (Say) (Braconidae), *Cardiochiles nigriceps* (Viereck) (Braconidae) y *Cotesia marginiventris* (Cresson) (Braconidae). Paralelamente a esto, el parasitoide *Bracon mellitor* resultó afectado negativamente a exposición residual de Spinosad.

De acuerdo a los resultados obtenidos, de los tres insecticidas evaluados, el spinosad fue el más tóxico para *H. didymator*, ya que tan sólo 48 h después de haber emergido los adultos, éstos murieron a las concentraciones más altas, y en días sucesivos la mortalidad se fue produciendo en las concentraciones más bajas.

Para *D. insulare* y *T. exiguum*, los valores de LC50 después de la exposición a residuos secos variaron de 0.3 a 3.3 ppm. Los valores tópicos de LC50 para las especies de plagas de lepidópteros generalmente varían de 0.1 a 3 ppm (Bret y col. 1997; Sparks y col. 1998), lo que indica que la susceptibilidad de estos parasitoides fue similar a la de sus huéspedes lepidópteros.

Se ha informado que Spinosad es más dañino para los parasitoides que el indoxacarb (Nowack y col. 2001; Ruberson y Tillman, 1999), o IGR como tebufenozida, triflumuron, etc. (Pietrantonio y Benedict, 1999; Consoli y col. 2001). A este respecto, se ha informado que el spinosad es más similar a los insecticidas piretroides que a los pesticidas bioracionales (Ruberson y Tillman, 1999; Hill y Foster, 2000; Cleary y Scholz, 2002; Scholz y col. 2002). Es probable que la pérdida de huéspedes después de una aplicación de spinosad limite la reproducción de toda una generación de parasitoides. La muerte de parasitoides inmaduros que se desarrollan en los hospedadores, como resultado de las aplicaciones de spinosad, también puede reducir la siguiente generación de parasitoides.

Para el spinosad, tales estudios serían particularmente relevantes para los parasitoides dada su predisposición a sufrir efectos subletales en estudios de laboratorio (Elzen y col. 2000; Schneider y col. 2003) (Williams 2003).

Un estudio realizado para el registro de spinosad utilizando *Lespesia archippivora* (Riley) respalda la idea de susceptibilidad a los taquínidos incluso a tasas bajas (25 g a.i. ha⁻¹), pero no se dieron detalles específicos (Barden, 1998).

Los resultados de laboratorio no son extrapolables a los de campo. De las muchas vías de exposición del enemigo al plaguicida en la naturaleza (CROFT, 1990), las dos investigadas en este trabajo, a través del agua contaminada y a través del tegumento, cuando se simulan en laboratorio, se incrementa de forma notable la eficacia de los insecticidas, porque son condiciones muy desfavorables para los insectos Viñuela y col. 1998).

Finalmente, en el estudio de campo este compuesto apenas mostró efectos de toxicidad sobre los enemigos naturales.

Parte de la explicación de las diferencias en toxicidad observadas entre las pruebas tópicas y de campo podría ser que el comportamiento del insecto, tal ya que descansa sobre el envés de una hoja, podría reducir la posibilidad de que el insecto reciba una aplicación tópica del insecticida en el campo. (Tillman y Mulrooney 2000).

La idea de que el spinosad tiene poco impacto en las poblaciones de insectos enemigos naturales puede considerarse realista en el caso de las especies depredadoras (Murray y Lloyd 1997).

El insecticida biológico *Bacillus thuringiensis*, es uno de los bioinsecticidas más empleados, es una bacteria Gram-positiva, aerobia estricta. El poder insecticida de esta bacteria se encuentra en una protoxina que produce cuando se forma la endospora bacteriana (Montiel Bueno y Ruiz Torres 2005). Esta protoxina, recibe el nombre de Cry, se han encontrado toxinas activas contra insectos lepidópteros (mariposas), coleópteros (escarabajos), dípteros (mosquitos), himenópteros (hormigas), ácaros y también contra otros invertebrados como nemátodos, gusanos planos y protozoarios (Soberón y Bravo 2007). El bioinsecticida a concentraciones estudiadas, incrementó el período de desarrollo de la larva en un día, y el de la pupa en dos, y aumentó a su vez el período total desde la larva hasta la emergencia del adulto en tres días más con respecto al testigo (Bulet y Villalón 2013). El efecto de este insecticida, no está basado en una toxicidad a corto plazo, sino a la generación

de patologías generadas en las larvas que ingieren las esporas, no habiendo una reacción de huida.

6 CONCLUSIONES

El uso del insecticida no siempre acarrea la muerte de los individuos, con lo cual es muy importante conocer que efectos provoca el uso del insecticida a los insectos alcanzados por esa dosis no letal, que como se ha expuesto en el trabajo anteriormente son: oviposición reducida, mayor periodo de desarrollo de etapas inmaduras o de vida, algunos insecticidas que son tóxicos sobre la fecundidad y la fertilidad de los insectos, afectan a cambios de comportamiento, particularmente sobre la etapa reproductiva, número total de óvulos, el periodo de oviposición, la pupación.

Actualmente está aumentando la superficie plantada de olivar ecológico y como tal, es importante saber que los olivares ecológicos están manejados de forma correcta, y para saber si un olivar es ecológico o no, se ha puesto a punto una metodología a través de la entomofauna presente para determinar si es realmente un cultivo ecológico bien manejado, se ha detectado que *H.laufferi* es un gran indicador para detectar si un olivar es ecológico, además de esto, el uso del insecticida genera cambios en la conducta de los insectos que tienden a huir del mismo y esto hace que al colocar trampas tras la aplicación del insecticida en los olivares convencionales, hay más capturas en las parcelas tratadas que en el control y en las parcelas ecológicas sea al contrario, hay menos capturas en las parcelas tratadas.

Una vez que sabemos que factores nos hacen saber si un olivar es realmente ecológico, surge la necesidad de depurar esta metodología para que pueda funcionar correctamente y tras los análisis estadísticos correspondientes, se ha comprobado que se necesitan 17 repeticiones y una superficie de 100m² que equivalen a unos 17 olivos para una muestra representativa.

Los insecticidas biológicos han mostrado diferente comportamiento en su uso en campo y en laboratorio, con diferentes efectos sobre los insectos.

Las piretrinas tienen un elevado efecto de choque, el insecto a los pocos minutos mostrará limitaciones de movimiento y vuelo, reduce la longevidad y la capacidad parasitoide de los adultos de *Hyposoter didymator* (Thunberg). Los efectos que las piretrinas producen son: la reducción de la fecundidad e interrupción de la comunicación sexual, impedimento de la ovoposición, esterilidad en adultos, bloqueo de la muda, efecto antialimentario y bloqueo en la síntesis de quitina.

La azadiractina ha demostrado un comportamiento diferente en función de si la aplicación es en laboratorio a altas dosis, o en campo donde la dosis es más baja.

La azadiractina, efecto negativo de dosis altas sobre la emergencia y capacidad parasítica de *Encarsia formosa* (Gahan), tóxico para *Diaeretiella rapae* (Stary), individuos adultos *Encarsia formosa* un efecto antiovipositor y repelente y reducción en la capacidad parasítica de la especie *Trichogramma minutum* (Riley).

Por otro lado, existen numerosos estudios en los que no se ha detectado efectos negativos de este compuesto cuando se utiliza en dosis de campo.

El spinosad produce la muerte del insecto por hiperexcitación. Al igual que la azadiractina, en dosis de laboratorio es tóxico, pero a bajas dosis de campo, no se detectan efectos en los insectos, esto puede deberse a que el insecto al refugiarse en el envés de la hoja no reciba una aplicación tópica.

El *Bacillus thuringiensis* ha resultado ser un insecticida inocuo a corto plazo, pero si que su efecto puede generar patologías derivadas a largo plazo.

7 BIBLIOGRAFÍA

“PlagasDelOlivo.” <http://www.ujaen.es/investiga/plagasolivo/fichas/7/index.html> (June 3, 2020).

Akol, A. M., Sithanantham, S., Njagi, P. G. N., Varela, A., & Mueke, J. M. (2002). Relative safety of sprays of two neem insecticides to *Diadegma mollipla* (Holmgren),

a parasitoid of the diamondback moth: effects on adult longevity and foraging behaviour. *Crop protection*, 21(9), 853-859.

Ansen JP, Hautier L, Mabon N and Schiffers B, Pesticide selectivity list to beneficial arthropods in four field vegetable crops. *IOBC/WPRS Bull* 35:66–77 (2008).

Barden, G. (1998). Evaluation of the new active Spinosad in the products Laser Naturalyte insect Control and Tracer Naturalyte Insect Control. NRA (National Registration Authority for Agricultural and Veterinary Chemical), Canberra., Australia.

Bayoun IM, Plapp FW, Gilstrap FE and Michels GJ, Toxicity of selected insecticides to *Diuraphis noxia* (Homoptera: Aphididae) and its natural enemies. *J Econ Entomol* 88:1177–1185 (1995).

Beeman, R.W. 1982. Recent advances in mode of action of insecticides. *Ann. Rev. Entomol.* 27: 253-281.

Budia Marigil, Flor y col. 1992. “Efectos Secundarios de Algunos Plaguicidas Utilizados En El Olivar Español Sobre Adultos de *Opius Concolor* Szepi. (Hym. Braconidae), Parasitoide de La Mosca de La Aceituna, *Bactrocera Oleae* (Gmel.) (Dip. Tephritidae).” *Boletín de sanidad vegetal. Plagas* 18(2): 315–21.

Caballero, P.; Vargas-Osuna, E.; Aldebis, H. K. y Santiago-Alvarez, C, 1990: Parásitos asociados a poblaciones naturales de *Spodoptera littoralis* Boisduval y *S. exigua* Hb. (Lepidoptera: Noctuidae). *Bol. San. Veg. Plagas*, 16: 91-96.

Cabello, T., 1989: Natural enemies of noctuid pest (Lepidoptera: Noctuidae) on alfalfa, corn, cotton and soybeans crops in southern Spain. *J. Appl. Entomol*, 108: 80-88.

Cañarte, E. 2001. Elminador de la hoja de los cítricos *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera: Gracillariidae) en Ecuador. Tesis de maestro en Ciencias. Colegio de Postgraduados, Instituto de fitosanidad, Especialidad de entomología y acarología.

Casida, J.E; Gammon, D.W; Glickman, A.H; Lawrence, L.J. 1983. Mechanisms of selective action of pyrethroid insecticides. *Annual review pharmacology and toxicology*. 23:413-438 pp.

Castagnoli M, Liguori M, Simoni S and Duso C, Toxicity of some insecticides to *Tetranychus urticae*, *Neoseiulus californicus* and *Tydeus californicus*. *Biocontrol* 50:611–622 (2005).

Charles, W. H., Shahab, A. S., Isiah, M. W. 1999. Separation of natural pyrethrum extracts using micellar electrokinetic chromatography. *J. Chromatogr. A*. 863: 89-103.

Coto, J. L. P. control de plagas y enfermedades en agricultura ecológica.

Crosby DG, Environmental fate of pyrethrins, in *Pyrethrum Flowers: Production, Chemistry, Toxicology, and Uses*, ed. by Casida JE and Quistad GB. Oxford University Press, New York, NY, pp. 194–213 (1995).

De Clercq, P. (2008). Spined Soldier Bug, *Podisus maculiventris* (Say) (Hemiptera: Pentatomidae, Asopinae). In *Encyclopedia of entomology* (Vol. 4, pp. 3508-3510). Springer.

Dilaila Baró Bulet;Elina Massó Villalón. (2013). “Efectos provocados por *Bacillus Thuringiensis* Cepa-13 Sobre *Chrysopa* en condiciones de laboratorio.” *Fitosanidad* 17(1): 25–30.

Dilaila Baró Bulet;Elina Massó Villalón. Efectos provocados por *Bacillus thuringiensis* cepa-13 sobre *Chrysopa* exterior en condiciones de laboratorio. *Fitosanidad*. 2013;17(1):25–30.

Duso C, Malagnini V, Pozzebon A, Castagnoli M, Liguori M and Simoni S, Comparative toxicity of botanical and reduced-risk insecticides to Mediterranean populations of *Tetranychus urticae* and *Phytoseiulus persimilis* (Acari Tetranychidae, Phytoseiidae). *Biol Cont* 47:16–21 (2008).

Elzen, G. W., Maldonado, S. N., & Rojas, M. G. (2000). Lethal and sublethal effects of selected insecticides and an insect growth regulator on the boll weevil (Coleoptera: Curculionidae) ectoparasitoid *Catolaccus grandis* (Hymenoptera: Pteromalidae). *Journal of Economic Entomology*, 93(2), 300-303.

Feber, R. E., L. G. Firbank, P. J. Johnson, and D. W. Macdonald. 1997. "The effects of organic farming on pest and non-pest butterfly abundance." *Agriculture, ecosystems and environment* 64(2): 133–39.

Feldhege, M., & Schmutterer, H. (1993). Investigations on side-effects of Margosan-O on *Encarsia formosa* Gah (Hym., Aphelinidae), parasitoid of the greenhouse whitefly, *Trialeurodes vaporariorum* Westw. (Hom., Aleyrodidae). *Journal of applied entomology*, 115(1-5), 37-42.

Franz JM, Bogenschütz H, Hassan SA, Huang P, Naton E, Suter H, et al, Results of a joint pesticide testing programme by the IOBC/WPRS working group: pesticides and beneficial arthropods. *Entomophaga* 25:231–236 (1980).

Girish, K. y S. Shankara Bhat. (2008). Neem–agreen treasure. *Electronic journal of Biology*. 4(3):102-111. <http://eprints.uni-mysore.ac.in/id/eprint/15031>

Gómez-Guzmán, J. A., F. J. Garcia-Marin, M. Sáinz-Pérez, and R. González-Ruiz. (2017). "Behavioural resistance in insects: Its potential use as bio indicator of organic agriculture." *IOP conference series: earth and environmental science* 95(4): 0–10.

Gómez-Guzmán, Jose Alfonso, and Ramón González-ruiz. (2020). "Agricultural practices and beneficial olive grove insects : a useful complementary methodology against subsidy fraud ."

González B, Rodríguez E, Fernández F, Civantos M, Campos M, (2004). "Influencia Del Manejo Del Suelo En Las Poblaciones de Artrópodos En El Cultivo Del Olivo.": 93–104. <http://wwwsp.inia.es/Publicaciones/OtrasPublicaciones/Documents/Proyecto CA099-004.pdf>.

Gonzalez-Ruiz, Ramón and Gómez Guzmán José Alfonso. 2020. "Determination of the sampling size for the reliable identification of organic crops by inducing sublethal effects in beneficial insects."

Gonzalez-Ruiz, Ramón and Gómez Guzmán José Alfonso. 2019. "Side effects of insecticides on beneficial insects: a practical tool to identify organic agroecosystems." *World Journal of Agriculture and Soil Science* 4(1): 3–7.

Gonzalez-Ruiz, Ramón and Gómez Guzmán José Alfonso. 2019. "Agricultural management greatly affects the beneficial entomofauna of the olive groves." *American Journal of Biomedical Science & Research* 1(3): 144–51.

Hasibur Rehman, Al Thbiani Aziz, Shalini Saggu; Zahid Khorshid Abbas; Anand Mohan; Abid A Ansari. 2014. Systematic review on pyrethroid toxicity with special reference to deltamethrin. *Journal of entomology and zoology studies*; 2 (6): 60-70 pp.

Hassan SA, Relative tolerance of three different strains of the predatory mite *Phytoseiulus persimilis* A.-H. (Acari, Phytoseiidae) to 11 pesticides used on glasshouse crops. *Jappl Entomol* 93:55–63 (1982).

Hassan, S. A., Albert, R., Bigler, F., Blaisinger, P., Bogenschütz, H., Boller, E., and Huang, P. (1987). Results of the third joint pesticide testing programme by the IOBC/WPRS-Working group "Pesticides and Beneficial organisms" 1. *Journal of applied entomology*, 103(1-5), 92-107.

Hassan, S.A. 1998. Standard characteristics of test methods. En: *Ecotoxicology. Pesticides and beneficial organisms*. P.T. Haskell & P. McEwen eds. Chapman and Hall, pp: 56-58.

Henrry, CH.W., Shahab, S. A., Warner, I. M. 1999. Separation of natural pyrethrum extracts using miceliar electrokinetic chromatography. *Jorunal of Chromatography*, 863: 89-103.

Hermel, K., E. Pahlich and H. Schumetter, 1987. Azadirachtin content of Neem kernel from different geographical locations, and its dependence on temperature, relative humidity and light. *Journal of agricultural sciences*, 27: 171-184.

Hoddle, M. S., Van Driesche, R. G., & Sanderson, J. P. (1998). Biology and use of the whitefly parasitoid *Encarsia formosa*. *Annual review of entomology*, 43(1), 645-669.

Izquierdo, J. I.; Solans, P. y Vitale, J., 1994: Parasitoides y depredadores de *Heliothis armígera* (Hübner) en cultivos de tomate para consumo en fresco. Bol. San. Veg. Plagas, 20: 521-530.

Jansen JP, a three-year field study on the short-term effects on insecticides used to control cereal aphids on plant-dwelling aphid predators in winter wheat. PestManag Sci 56:533–539 (2001).

Jansen, J. P., Defrance, T., y Warnier, A. M. (2010). Effects of organic-farming-compatible insecticides on four aphid natural enemy species. Pest management science: formerly pesticide science, 66(6), 650-656.

Johnson, S., E.D. Morgan y C.E. Peiris, 1996. Development of the major triterpenoides and oil in the fruits and seeds of Neem (*Azadirachta indica*). Annals of botany, 78: 383-388.

Kalushkov P, the effect of aphid prey quality on searching behaviour of *Adalia bipunctata* and its susceptibility to insecticides. Entomol Exp Appl 92:277–282 (1999).

Kenneth F. Haynes. 1978. "Sub-lethal effects of pollution." Marine pollution bulletin 9(8): 223–24.

Koolman, J., H.J. Bidmon, M. Lehmann and G. Kauser, 1998. One the mode of action of azadirachtin in blowfly larvae and pupae. Endocrinological Frontiers in Physiological Insect Ecology, 1: 55-67.

Kraiss H and Cullen EM, Efficacy and nontarget effects of reducedrisk insecticides on *Aphis glycines* (Hemiptera: Aphididae) and its biological control agent *Harmonia axyridis* (Coleoptera: Coccinellidae). J Econ Entomol 101:391–398 (2008).

Lafargue, G. L., Medina, J. M. A., Acosta, A. L., & Llanes, Y. M. (2018). Piretrinas y piretroides. Anuario Ciencia en la UNAH, 16(1).

Ledieu MS, Helyer NL and Derbyshire DM, Pests and diseases of protected crops, in Pest and Disease Control Handbook, ed. By Scopes N and Stables L. BCPC Publications, Thornton Heath, Surrey, UK, pp. 405–511 (1989).

Longley M, Jepson PC, Izquierdo J and Sotherton N, Temporal and spatial changes in aphid and parasitoid populations following applications of deltamethrin in winter wheat. *Entomol Exp Appl* 83:41–52 (1997).

Lowery, D. T., & Isman, M. B. (1995). Toxicity of neem to natural enemies of aphids. *Phytoparasitica*, 23(4), 297-306.

Lyons, D. B., Helson, B. V., Bouchier, R. S., Jones, G. C., & McFarlane, J. W. (2003). Effects of azadirachtin-based insecticides on the egg parasitoid *Trichogramma minutum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *The Canadian Entomologist*, 135(5), 685-695.

Marsh, P. M. (1979). Family Aphidiidae. *Catalog of hymenoptera in America North of Mexico* Smithsonian Institution Press, Washington DC, 295-313.

Mauck, W. L., Olson, L. E., & Marking, L. L. (1976). Toxicity of natural pyrethrins and five pyrethroids to fish. *Archives of environmental contamination and toxicology*, 4(1), 18-29.

McLaughlin GA. 1973. History of pyrethrum. In “Pyrethrum; The natural insecticide”. J. E. Casida (eds.). Academic Press. New York, NY. 3 p.

Medina P, Morales JJ, Budia F, Adan A, Del Estal P and Vinuela E, Compatibility of endoparasitoid *Hyposoter didymator* (Hymenoptera: Ichneumonidae) protected stages with five selected insecticides. *J Econ Entomol* 100:1789–1796 (2007).

Medina, F, A Iglesias, and C Mateos. 2008. “Mitigación Del Cambio Climático Mediante Técnicas de La Agricultura Ecológica En España.” VIII Congreso Sociedad Española de Agricultura Ecológica (October).

Mitchell, M.J., S.L Smith., S. Johnson & E.D Morgan, 1997. Effects of the neem tree compounds azadirachtin, salannin, nimbin, and 6-desacetylnimbin on ecdysone 20-monooxygenase activity. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 35: 199-209.

Mitchell, P. L., Gupta, R., Singh, A. K., & Kumar, P. (2004). Behavioral and developmental effects of neem extracts on *Clavigralla scutellaris* (Hemiptera:

Heteroptera: Coreidae) and its egg parasitoid, *Gryon fulviventre* (Hymenoptera: Scelionidae). Journal of Economic Entomology, 97(3), 916-923.

Mohamed ES, H. Abdelgader y A. Satti. 2014. Field evaluation of a newly introduced thiamethoxam insecticide and neem seed water extract against the predator *Hippodamia variegata* in Sudan. International Journal of Agriculture Innovations and Research. 3(3):931-935.

https://www.researchgate.net/profile/Abdalla_Satti/publication/271504234_Field_Evaluation_of_a_Newly_Introduced_Thiamethoxam_Insecticide_and_Neem_Seed_Water_Extract_Against_the_Predator_Hippodamia_Variegata_in_Sudan/links/54c913120cf25087c4ec4d28.pdf

Montiel Bueno A, Ruiz Torres M. Efectos de las aplicaciones de "*Bacillus thuringiensis*" var. Kurstaki sobre la entomofauna del olivar en la provincia de Jaén. Boletín Sanid Veg Plagas. 2005;31(1):89–110.

Montiel Bueno, Alfonso, and Manuel Ruiz Torres. 2005. "Efectos de Las Aplicaciones de '*Bacillus Thuringiensis*' Var. Kurstaki Sobre La Entomofauna Del Olivar En La Provincia de Jaén." Boletín de sanidad vegetal. Plagas 31(1): 89–110.

Morales, J., Budia, F., & Viñuela, E. (2004). Efectos secundarios de cinco insecticidas sobre los diferentes estadios de desarrollo del parasitoide *Hyposoter didymator* (Thunberg) (Hymenoptera: Ichneumonidae). Bol. San. Veg. Plagas, 30, 773-782.

Mordue, A.J., E.D. Morgan & A.J. Nisbet, 2005. Azadirachtin, a Natural Product in Insect Control, 117-135 p. In: Mordue, A. J., E. D. Morgan & A.J. Nisbet. Comprehensive Molecular Insect Science - Control. Elsevier, Oxford, United Kingdom. 2875p.

Morgan, E.D., 2009. Azadirachtin, a scientific gold mine. Bioorganic & Medicinal Chemistry, 17: 4096–4105.

Navarrete, B., Valarezo, O., Cañarte, E., & Solórzano, R. (2017). Efecto del nim (*azadirachta indica* juss.) sobre *bemisia tabaci gennadius* (hemiptera: aleyrodidae) y controladores biológicos en el cultivo del melón *cucumis melo* l.

Olszak RW, Influence of some pesticides on mortality and fecundity of the aphidophagous coccinellid *Adalia bipunctata* L. (Col., Coccinellidae). J Appl Entomol 123:41–45 (1999).

Philogène, B.J.R., Regnault-Roger, C, Vincent, C. 2002. Produits phytosanitaires insecticides d'origine végétale: promesses d'hier et d'aujourd'hui. En: Biopesticides d'origine végétale. (Regnault-Roger, C, Philogène, B.J.R., Vincent, C. Eds.). Tec&Doc Editions. Londres, pp.1-18.

Ricardo, Tamara, Maria Inés Maitre, and Alba Rut Rodríguez. 2010. “Efectos Subletales de La Lambda-Cialotrina Sobre *Eisenia Fetida* (Annelida, Oligochaeta, Lumbricidae).” Ciencia del Suelo 28(1): 39–46.

Ruiz-Torres, M, and A Montiel Bueno. 2000. “Introducción Al Conocimiento de La Entomofauna Del Olivar En La Provincia de Jaén. Aspectos Cualitativos. (I).” Boletín de sanidad vegetal. Plagas 26(I): 129–47.

Ruiz Torres Manuel, Montiel Bueno Alfonso 2001. “Entomofauna Del Olivar En La Provincia.” (II): 531–60.

Saber, M., Hejazi, M. J., & Hassan, S. A. (2004). Effects of Azadirachtin/Neemazal on different stages and adult life table parameters of *Trichogramma cacoeciae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). Journal of economic entomology, 97(3), 905-910.

Schmutterer, H & R.P. Singh, 2002. In the neem tree azadirachta indica A. Juss. and other meliaceous plants. 2nd ed. Neem Foundation: Mumbai, 411–456p.

Schmutterer, H. 1990. Properties a potencial of natural pesticides from the neem tree. Annun. Rev. Entomol. 35: 271-297. DOI:10.1146/annurev.en.35.010190.001415

Schneider, M. I., Budia, F., Gobbi, A., LENICOV, A. D. R., & Viñuela, E. (2000). Toxicidad tóxica del tebufenocida, Spinosad y Azadiractina sobre pupas del parasitoide *Hyposoter didymator* (Thunberg, 1822). Bol. San. Veg. Plagas, 26(4), 475-482.

- Schneider, M. I., Smagghe, G., Gobbi, A., & Viñuela, E. (2003). Toxicity and pharmacokinetics of insect growth regulators and other novel insecticides on pupae of *Hyposoter didymator* (Hymenoptera: Ichneumonidae), a parasitoid of early larval instars of lepidopteran pests. *Journal of Economic Entomology*, 96(4), 1054-1065.
- Simmonds, M. S. J., Manlove, J. D., Blaney, W. M., & Khambay, B. P. S. (2002). Effects of selected botanical insecticides on the behaviour and mortality of the glasshouse whitefly *Trialeurodes vaporariorum* and the parasitoid *Encarsia formosa*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 102(1), 39-47.
- Simmons, A. y A. Shaaban. 2011. Populations of predators and parasitoids of *Bemisia tabaco* (Hemiptera: Aleyrodidae) after the application of eight biorational insecticides in vegetable crops. *Pest management science*. 67(8):1023- 1028. DOI:10.1002/ps.2155
- Singh, U., S. Maurya y D. Singh. 2005. Phenolic acids in neem (*Azadirachta indica*) a major pre-existing secondary metabolite. *Journal of herbal pharmacotherapy*. 5(1): 35-43. DOI:10.1080/J157v05n01_05
- Snyder, D. E., Meyer, J., Zimmermann, A. G., Qiao, M., Gissendanner, S. J., Cruthers, L. R., ... & Young, D. R. (2007). Preliminary studies on the effectiveness of the novel pulicide, spinosad, for the treatment and control of fleas on dogs. *Veterinary parasitology*, 150(4), 345-351.
- Soberón M, Bravo A. Las toxinas Cry de *Bacillus thuringiensis*: modo de acción y consecuencias de su aplicación. *Biotecnología* [Internet]. 2007; 14:303–14. Available from: http://www.ibt.unam.mx/computo/pdfs/libro_25_aniv/capitulo_27.pdf
- Soberón, Mario, and Alejandra Bravo. 2007. “Las Toxinas Cry de *Bacillus Thuringiensis*: Modo de acción y consecuencias de su aplicación.” *Biotecnología* 14: 303–14. http://www.ibt.unam.mx/computo/pdfs/libro_25_aniv/capitulo_27.pdf.
- Soderlund, D. M., & Bloomquist, J. R. (1989). Neurotoxic actions of pyrethroid insecticides. *Annual review of entomology*, 34(1), 77-96.

Solange M. de França, Mariana O. Breda, Douglas R. S. Barbosa, Alice M. N. Araujo and Carolina A. Guedes. 2017. "The sublethal effects of Insecticides in insects."

Sterk, G., Hassan, S. A., Baillod, M., Bakker, F., Bigler, F., Blümel, S., ... & Calis, J. N. M. (1999). Results of the seventh joint pesticide testing programme carried out by the IOBC/WPRS-Working Group 'Pesticides and Beneficial Organisms'. *BioControl*, 44(1), 99-117.

Tang, Y. Q., Weathersbee, A. A., & Mayer, R. T. (2002). Effect of neem seed extract on the brown citrus aphid (Homoptera: Aphididae) and its parasitoid *Lysiphlebus testaceipes* (Hymenoptera: Aphidiidae). *Environmental Entomology*, 31(1), 172-176.

Todd GD; Wohlers D; and Citra M. 2003. Toxicology profile for pyrethrins and pyrethroids. Department of health and human services. Agency for toxic substances and disease registry. Atlanta, GA.

Urbaneja, A., van Der Blom, J., Lara, L., Timmer, R., & Blockmans, K. (2002).

Utilización de *Cotesia marginiventris* (Cresson) (Hym.: Braconidae) para el control biológico de orugas (Lep.: Noctuidae) en el manejo integrado de plagas en pimiento bajo invernadero. *Bol. San. Veg. Plagas*, 28, 239-250.

Valarezo, O., E. Cañarte y B. Navarrete. 2008. El nim: insecticida botánico para el manejo de plagas agrícolas. INIAP. Portoviejo. Boletín Divulgativo No. 336.
https://www.researchgate.net/publication/302044854_El_nim_Insecticida_botanico_para_el_manejo_de_plagas_agricolas

Vercher R, Calabuig Altea, Domínguez-Gento Alfons, Ballester Ricardo, González Sandra, 2012. "Influencia de la siega de la cubierta vegetal en las poblaciones de fauna auxiliar en cítricos ecológicos." X Congreso de SEAE "20 años impulsando la producción ecológica": 1–9.

Villamil Montero, D. A., Naranjo, N., & Van Strahlen, M. A. (2012). Efecto Insecticida del extracto de semillas de Neem (*Azadirachta indica* A. Juss) sobre *Collaria scenica* Stal (Hemiptera: Miridae). *EntomoBrasilis*, 5(2).

Viñuela Sandoval, Elisa, Flor Budia Marigil, Nery Zapata, and Pilar Medina. 2005. "Toxicidad de Malation, Pimetrocina, Piretrinas Naturales + PBO y Triflumuron en adultos del parasitoide '*Psytalia Concolor*' (Szépligeti) (Hym. :Baconidae) Según El Modo de Aplicación." Boletín de sanidad vegetal. Plagas 31(1): 111–18.

Walker, C. H., Hopkin, S. P., SIBLY, R., & PEAKALL, D. (1996). and (2000) Principles of Ecotoxicology, 1st and 2nd editions.

Wiles JA and Jepson PC, Dosage reduction to improve the selectivity of deltamethrin between aphids and coccinellids incereals. Entomol Exp Appl 76:83–96 (1995).

Williams, T., Valle, J., & Viñuela, E. (2003). Is the naturally derived insecticide Spinosad® compatible with insect natural enemies. Biocontrol science and technology, 13(5), 459-475.

Zalazar, Laura, and Adriana Salvo. 2007. "Entomofauna asociada a cultivos hortícolas orgánicos y convencionales en Córdoba, Argentina." Neotropical Entomology 36(5): 765–73.

Zapata, N., Medina, P., Viñuela, E., & Budia, F. (2005). Toxicidad de malation, pimetrocina, piretrinas naturales+ PBO y triflumuron en adultos del parasitoide *Psytalia concolor* (Szepligeti)(Hym.: Braconidae)