**Evaluación del movimiento tritrófico del
insecticida tiametoxam en los depredadores
Hippodamia convergens y *Orius insidiosus*
alimentados con áfidos**

Erick Javier Martínez Rodríguez

**Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano
Honduras**

Noviembre, 2017

ZAMORANO
CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA

**Evaluación del movimiento tritrófico del
insecticida tiametoxam en los depredadores
Hippodamia convergens y *Orius insidiosus*
alimentados con áfidos**

Proyecto especial de graduación presentado como requisito parcial para optar
al título de Ingeniero Agrónomo en el Grado
Académico de Licenciatura

Presentado por

Erick Javier Martínez Rodríguez

Zamorano, Honduras

Noviembre, 2017

Evaluación del movimiento tritrófico del insecticida tiametoxam en los depredadores *Hippodamia convergens* y *Orius insidiosus* alimentados con áfidos

Erick Javier Martínez Rodríguez

Resumen. Los insectos benéficos son organismos que se alimentan de insectos plagas los cuales atacan los cultivos y ocasionan daños económicos. Las aplicaciones foliares de insecticidas químicos reducen las poblaciones de enemigos naturales, especialmente cuando estas aplicaciones son de amplio espectro. El tiametoxam es un insecticida sistémico que surge como alternativa para las aplicaciones de químicos foliares que reducen las poblaciones de enemigos naturales, sin embargo se desconoce el efecto indirecto que puede tener sobre los depredadores que se alimentan de las plagas afectadas por el insecticida. Los objetivos del estudio fueron 1) Evaluar el efecto del movimiento tritrófico del insecticida sobre los depredadores *Hippodamia convergens* y *Orius insidiosus* al alimentarse de áfidos previamente expuestos a plantas aplicadas con tiametoxam, 2) Evaluar la bioactividad y la residualidad del tiametoxam después de aplicado a las plantas para el control de áfidos. Para la evaluar el efecto en los depredadores se utilizaron dos tratamientos, áfidos con y sin exposición al tiametoxam, con 10 repeticiones en un DCA. Para evaluar la bioactividad del tiametoxam en áfidos se utilizaron dos tratamientos, plantas con y sin tiametoxam donde fueron colocados los áfidos para su exposición al tiametoxam. Se utilizaron cinco repeticiones en un BCA. Ambos ensayos fueron evaluados a 7, 14, 21, 28, 35 y 42 días después de aplicación (DDA). No hubo ningún efecto en el movimiento tritrófico del tiametoxam en el *H. convergens*, mientras que la interacción entre el tiametoxam y *O. insidiosus* tuvo un efecto negativo evaluados los primeros 21 DDA.

Palabras clave: Bioactividad, enemigos naturales, residualidad

Abstract. Natural enemies are organisms that feed on pest insects that attack crops and create economic damages. Foliar applications of chemical insecticides reduce natural enemy population especially when applications are done in a general manner. Thiamethoxam is a synthetic insecticide used as an alternative for foliar chemical applications that reduce natural enemy populations, however the effect it may have on natural predators is unknown. The objectives of this study were to 1) Evaluate the effect of the tri-trophic movement of the insecticide on *Hippodamia convergens* and *Orius insidiosus* predators, when fed on previously thiamethoxam exposed aphids, 2) Evaluate the bioactivity and the residuals of thiamethoxam after application on plants for aphid control. To evaluate the effect on predators, two treatments were used, aphids exposed and not exposed to thiamethoxam, with 10 repetitions using a CRD. To evaluate thiamethoxam bioactivity in aphids, two treatments were used, plants with and without thiamethoxam, where aphids were placed for insecticide exposition. Five repetitions were used on a CBD. Variables were evaluated 7,14,21,28 35 and 42 days after treatment (DAT). There was no effect caused in the *H. convergens* lady beetle by thiamethoxam, however *O. insidiosus* had a negative effect when exposed to thiamethoxam the first 21 DAT evaluated.

Key words: Bioactivity, natural enemies, residuals

CONTENIDO

Portadilla	i
Página de firmas.....	ii
Resumen.....	iii
Contenido.....	iv
Índice de Figuras	v
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. METODOLOGÍA.....	4
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	8
4. CONCLUSIONES.....	15
5. RECOMENDACIONES.....	16
6. LITERATURA CITADA.....	17

ÍNDICE DE FIGURAS

Figuras	Página
<p>1. Longevidad de <i>H. convergens</i> alimentados con <i>M. persicae</i> expuestos a plantas tratadas con insecticida o ‘CI’ (barras negras) y áfidos expuestos a plantas sin insecticida o ‘SI’ (barras blancas) a 7, 14, 21, 28, 35, y 42 DDA. Letras diferentes sobre barras representan diferencias significativas (análisis de supervivencia Kaplan and Meier $P < 0.05$) entre supervivencia de mariquitas sobre áfidos expuestos a plantas con o sin insecticida.</p>	8
<p>2. Longevidad de <i>O. insidiosus</i> alimentados con <i>Aphis gossypii</i> expuestos a plantas tratadas con insecticida o ‘CI’ (barras negras) y áfidos expuestos a plantas sin insecticida o ‘SI’ (barras blancas) a 7, 14, 21, 28, 35, y 42 DDA. Letras diferentes sobre barras representan diferencias significativas (análisis de supervivencia Kaplan and Meier $P < 0.05$) entre supervivencia de la chinche sobre áfidos expuestos a plantas con o sin insecticida.</p>	9
<p>3. Porcentaje de supervivencia de áfidos <i>M. persicae</i> expuestos a plantas de zinnia con insecticida o ‘CI’ (barras negras) y áfidos expuestos a plantas sin insecticida o ‘SI’ (barras blancas). A). Evaluación realizada a las 48 horas. B). Evaluación realizada a las 72 horas. Números 7, 14, 21, 28, 35, y 42 en el eje ‘x’ representan ‘días después de aplicación’ en la que plantas que fueron infestadas con áfidos. Letras diferentes sobre barras representan diferencias significativas (Tukey HDS de $P < 0.05$) entre supervivencia de áfidos sobre plantas con y sin insecticida.</p>	11
<p>4. Porcentaje de supervivencia de áfidos <i>A. gossypii</i> expuestos a plantas de chile con insecticida o ‘CI’ (barras negras) y áfidos expuestos a plantas sin insecticida o ‘SI’ (barras blancas). A). Evaluación realizada a las 48 horas. B). Evaluación realizada a las 72 horas. Números 7, 14, 21, 28, 35, y 42 en el eje ‘x’ representan ‘días después de aplicación’ en la que las plantas fueron infestadas con áfidos. Letras diferentes sobre barras representan diferencias significativas (Tukey HDS de $P < 0.05$) entre supervivencia de áfidos sobre plantas con y sin insecticida.</p>	12
<p>5. Concentración de tiametoxam en zinnias expresado en mg de insecticida por kg en peso seco de tejido vegetal evaluados durante 7, 14, 21, y 28 DDA.</p>	13
<p>6. Concentración de tiametoxam en chile expresado en mg de insecticida por kg en peso seco de tejido vegetal evaluados durante 7, 14, 21, y 28 DDA.</p>	14

1. INTRODUCCIÓN

Los insecticidas han sido por mucho tiempo una fuente viable y efectiva para el control de plagas agrícolas. Insecticidas organoclorados, organofosforados, y piretroides han sido la base para minimizar el efecto dañino que causan insectos fitófagos en las producciones (Morales et al. 2004). Actualmente la eficacia de los insecticidas ha disminuido debido al desarrollo de resistencia por parte de insectos (Amirzade et al. 2014), por lo que es necesario recurrir a otras formas para controlar la plaga deseada.

El control biológico es un método que emplea organismos vivos para reducir la densidad de la población de otros organismos plagas (Fischbein 2012). El valor del control biológico recae en su efectividad a mediano y largo plazo y su compatibilidad con otras prácticas de control a un bajo riesgo ambiental y una producción sustentable. Entre estos organismos se encuentran bacterias, hongos, nematodos e insectos para el control de diversas plagas. Los enemigos naturales son una herramienta muy utilizada en la agricultura para mantener poblaciones de plagas debajo del nivel de daño económico de los cultivos. Los depredadores, los parasitoides, y los parásitos son enemigos naturales que regulan las poblaciones de plagas debajo del umbral de daño económico (Fischbein 2012).

Los depredadores son uno de los grupos más importantes de enemigos naturales (Camargo et al. 2017). Entre los depredadores más comunes y abundantes se encuentran la mariquita *Hippodamia convergens* Guérin-Ménéville (Coleoptera: Coccinellidae), importante depredador encontrado desde Norte América hasta la parte superior de Sur América y la chinche pirata *Orius insidiosus* Say (Hemiptera: Anthocoridae). El *H. convergens* es una de las mariquitas más comunes en Norte América, encontrando especies en diferentes hábitats como bosques, jardines, parques naturales, y campos agrícolas. La abundancia de comida juega un importante papel en la ovoposición de la hembra. Si hay suficiente alimento, la hembra puede poner más de 200 huevos durante su vida. Estas mariquitas son depredadores activos, los cuales buscan su alimento por medio de feromonas y compuestos químicos de secreciones dejados por la presa.

El *O. insidiosus* es un hemíptero muy común en todo el continente Americano. Su ciclo de desarrollo dura aproximadamente 3 semanas, y son encontradas en hábitats naturales y campos con cultivos agrícolas (Butler y O'Neil 2007). El *H. convergens* y *O. insidiosus* han sido incorporados con éxito en programas de Manejo Integrado de Plaga como controladores biológicos, y tienen la capacidad de alimentarse de insectos de cuerpo suave como los áfidos, thrips, escamas, y ácaros (Harwood et al. 2007).

Los áfidos son considerados plagas de importancia económica a nivel mundial debido a su adaptabilidad a diferentes plantas (más de 500 especies) y por su capacidad de transmisión de virus fitopatógenos (Delfino y Buffa 2007). Dos de las especies más importantes de áfidos son *Myzus persicae* Sulzer y *Aphis gossypii* Glover (Hemiptera: Aphididae). Estos áfidos son encontrados en muchas partes alrededor del mundo. Además de atacar campos de cultivos, estos áfidos infestan vegetales y ornamentales creciendo dentro de invernaderos. Esto les permite altos crecimientos poblacionales en áreas donde el clima no es apto para su reproducción en campo (Capinera 2014).

Se conoce que los áfidos son presa común de los depredadores, sin embargo debido a su rápida tasa de reproducción, los productores optan por distintas herramientas para su control. El uso del control biológico no siempre puede ser suficiente para controlar las poblaciones insectívoras de plagas presentes, y esto conlleva a alternativas químicas (Amirzade et al. 2014).

Los neonicotinoides son insecticidas químicos sistémicos que actúan atacando los receptores de acetilcolina en el sistema nervioso de los insectos (Bredeson et al. 2015). Los neonicotinoides pertenecen a la clase de insecticidas más utilizados a nivel mundial. Estos insecticidas actúan principalmente sobre insectos chupadores de savia (hemípteros), cuya intoxicación es causada al activar los receptores nicotínicos de la acetilcolina en las células nerviosas de los insectos (Girolami et al. 2009). Esto provoca parálisis en el insecto y ocasiona la muerte rápida al no poder alimentarse (Bredeson et al. 2015).

El grupo de insecticidas de los neonicotinoides (Grupo IRAC 4A) se ha incrementado, por su efectividad en el control de plagas y su baja toxicidad en mamíferos. Debido al movimiento sistémico en la planta, los neonicotinoides pueden ser aplicados al suelo en forma de “drench”, absorbidos por las raíces y distribuidos a través del sistema vascular (Cloyd and Bethke 2011). Esta forma de aplicar reduce la exposición del insecticida a organismos benéficos en el medio ambiente (Bredeson et al. 2015).

Aunque se conoce que al aplicar insecticidas sistémicos hay un efecto negativo en las poblaciones de plagas que afectan los cultivos, hay estudios que aseguran que afectan la longevidad de enemigos naturales (Cloyd y Bethke 2011). Estudios afirman que al incorporar insecticidas sistémicos en los cultivos, hay un efecto en los depredadores por medio de interacciones tritróficas (Lundgren 2009).

Un agroecosistema está compuesto por tres niveles tróficos, la planta, el herbívoro y su enemigo natural. El neonicotinoide al moverse a través de los niveles tróficos podría afectar al depredador al alimentarse del herbívoro que ha ingerido concentraciones del insecticida aplicado en los cultivos (Girolami et al. 2009).

Muchos de los depredadores son omnívoros, los cuales se alimentan de su presa natural, del material vegetal, néctar y del polen de ciertas plantas. Aunque se conoce que los depredadores dependen de la alimentación de otros insectos, estos también suelen alimentarse de plantas o utilizar los productos de las plantas para suplementar su dieta, creando una ruta hacia la exposición de insecticidas sistémicos (Moscardini et al. 2015).

Debido a que la importancia del uso de plaguicidas neonicotinoides para controlar plagas en cultivos agrícolas y su alta residualidad en el cultivo, se hace necesario conocer el efecto que tiene tiametoxam en los depredadores *H. convergens* y *O. insidiosus*, al moverse a través de los niveles tritróficos

Los objetivos de esta investigación fueron:

- Evaluar el efecto del movimiento tritrófico del tiametoxam sobre la mariquita *Hippodamia convergens* al alimentarse del áfido *Myzus persicae* previamente expuestos a plantas de *Zinnia elegans* tratadas con tiametoxam.
- Evaluar el efecto del movimiento tritrófico del insecticida sobre la chinche pirata *Orius insidiosus* al alimentarse del áfido *Aphis gossypii* previamente expuestos a plantas de *Capsicum annuum* tratadas con tiametoxam.
- Evaluar la bioactividad y la residualidad del tiametoxam después de aplicado a las plantas para el control de áfidos.

2. METODOLOGÍA

Ubicación

Para este estudio se realizaron dos experimentos. La metodología utilizada en ambos experimentos fue la misma, se utilizaron depredadores y cultivos diferentes para cada experimento.

Experimento 1. Evaluación del efecto del movimiento tritrófico del tiametoxam en *Hippodamia convergens* alimentado con áfidos *Myzus persicae* expuestos al cultivo de *Zinnea elegans*

Este experimento fue realizado en un invernadero del Centro de Investigación y Desarrollo Agrícola de la Universidad Estatal de Ohio (OARDC por sus siglas en ingles), localizado en el estado de Ohio, USA. Las condiciones ambientales fueron establecidas a 25°C, 16 horas de luz por día, a una humedad relativa promedio de 75%, utilizando el sistema ARGUS® (Argus Control System, British Columbia, Canadá). El experimento inició el 21 de diciembre del 2016 y finalizó el 15 de marzo del 2017.

Se utilizó semillas de zinnias de la variedad Purity White (BFG Co., Burton, Ohio) las cuales fueron plantadas en medio Pro-Mix® (Quebec, Canada). A los siete días después de la siembra, se realizó el trasplante al invernadero en maceteros (10 cm diámetro superior, 8.9 cm diámetro inferior, 8.9 cm de alto) rellenos con medio Pro-Mix®. Las plantas fueron etiquetadas de acuerdo a su respectivo tratamiento y puestas en cajas de tela (47 cm × 47 cm × 89 cm). Las plantas fueron regadas con un sistema de riego por goteo dos veces al día, con un caudal de 110 mL/min por planta.

Experimento 2. Evaluación del efecto del movimiento tritrófico del tiametoxam en *Orius insidiosus* alimentado con áfidos *Aphis gossypii* expuestos al cultivo de *Capsicum annuum*

Se realizó bajo condiciones de casa malla de la Unidad de Control Biológico de la Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano, Francisco Morazán, Honduras, ubicada a 32 km al este de Tegucigalpa. El experimento se inició el 17 de Abril y finalizó el 31 de julio, una temperatura promedio de 23 °C.

Se utilizaron semillas de chile de la variedad Aristotle, (BFG Co., Burton, Ohio) plantadas en un medio de peat moss. A los 30 días después de la siembra, se realizó el trasplante a bolsas plásticas (10 cm de altura × 10 cm de ancho) rellenas con medio de compost y

suelo. Las plantas fueron etiquetadas de acuerdo a su respectivo tratamiento y puestas en las mesas metálicas dentro de la casa malla. Las plantas fueron regadas de manera manual una vez al día.

Tratamientos

Las plantas fueron aplicadas con tiametoxam a los 7 días después de trasplante. Para el experimento 1 las plantas de zinnias fueron tratadas con tiametoxam utilizando la formulación comercial Flagship® 25WG, se utilizó una dosis de 170g de Flagship® 25WG en 100L de agua. Para el experimento 2 las plantas de chile fueron tratadas con tiametoxam utilizando la formulación comercial Actara® 25WG, se usó una dosis de 170g de Actara® en 100L de agua. Para ambos experimentos se aplicaron 100 mL de la solución por planta, en forma de drench. Sólo se realizó una aplicación durante todo el experimento.

Se utilizaron un total de 120 plantas para cada experimento, 30 de estas plantas fueron utilizadas para evaluar la longevidad de los depredadores de las cuales 15 se aplicaron con tiametoxam, y 15 se dejaron sin aplicar. Para evaluar el porcentaje de supervivencia de los áfidos, se utilizaron 60 plantas, de las cuales 30 fueron aplicadas con tiametoxam y 30 se dejaron sin aplicar. Las 30 plantas restantes fueron usadas para otras evaluaciones donde se necesitarían hojas sin ningún tipo de tratamiento.

Variables

Las variables se evaluaron a los 7, 14, 21, 28, 35 y 42 días después de aplicación (DDA). Para determinar el efecto del movimiento tritrófico en los depredadores, se evaluó la longevidad del depredador alimentado con áfidos expuestos a tiametoxam. Para determinar la bioactividad del tiametoxam se evaluó el porcentaje de supervivencia de áfidos expuestos a hojas de cultivos tratados con tiametoxam. Para determinar la residualidad del tiametoxam a través del tiempo se midió la concentración en mg/kg utilizando el Ultra Performance Liquid Chromatography (UPLC).

Longevidad de depredador

En el experimento 1 se utilizaron individuos de la especie *Hippodamia convergens* obtenidas de ARBICO Organics®, (Tucson; AZ). Áfidos adultos de *Myzus persicae* utilizados fueron obtenidos de la colonia del Departamento de Entomología de OARDC.

Para el experimento 2 se utilizaron individuos de la especie *Orius insidiosus* y adultos de *Aphis gossypii* obtenidos del Laboratorio de Control Biológico (Zamorano, Francisco Morazán).

Se colocaron áfidos en 20 platos Petri (50 áfidos/plato), cada plato Petri contenía una hoja de la planta evaluada (10 hojas con insecticida y 10 hojas sin insecticida) para la alimentación y exposición al insecticida. A las 24 h de exposición, un total de 30 áfidos fueron transferidos a otros 20 platos Petri con hojas limpias (sin insecticida). Adultos de los depredadores fueron recolectados de la colonia y colocados junto con los áfidos por un período de 24 h. Un depredador fue colocado por plato Petri, teniendo un total de 20 depredadores alimentados sobre áfidos. Después de 24 h los depredadores ya alimentados, fueron retirados y colocados en 20 platos Petri con una nueva hoja limpia. Posteriormente, la longevidad de los depredadores fue evaluada cada 24 h durante los próximos 7 días.

Porcentaje de Supervivencia

Para el experimento 1 se utilizaron áfidos *Myzus persicae* obtenidos de la colonia del Departamento de Entomología de OARDC. El *Aphis gossypii* utilizado en el segundo experimento fue obtenido de la unidad de Control Biológico de la Escuela Agrícola Panamericana, El Zamorano.

Hojas jóvenes abajo del botón floral fueron seleccionadas para la infestación con áfidos. Un total de 10 áfidos adultos de la misma edad fueron colocados en el envés de las hojas utilizando un pincel fino para el traspaso. Para confinar los áfidos, se utilizó una “caja clip”. El porcentaje de supervivencia de los áfidos fue observado 48 y 72 horas post-infestación, las infecciones de los áfidos se realizaron 7, 14, 21, 28, 35 y 42 DDA. Los áfidos que no presentaban movimiento al ser tocados con el pincel fueron considerados muertos.

Desarrollo de curvas de concentración

A las 72 horas post-infestación, los áfidos fueron removidos de la hoja. El material vegetativo arriba de la hoja infestada fue colectado para la cuantificación de tiametoxam. Un total de 5 hojas fueron colectadas por planta. El material fue envuelto en papel aluminio y colocado en un sobre previamente etiquetado. Las muestras fueron congeladas en nitrógeno líquido y almacenadas en un congelador a -80°C hasta el momento de realizar el análisis químico.

El tejido vegetal fue retirado del congelador, descongelado y secado en un horno (FISHER Isotemp[®] Oven) a una temperatura de $70\sim 80^{\circ}\text{C}$ durante 48 horas. El tejido vegetal fue pesado y colocado en tubos plásticos Falcón de 50 ml. Un total de 10 ml de 1% de solución de ácido acético en acetonitrilo (v/v) fue agregado a cada muestra. Fosfato de trifenilo (TPP) fue agregado a la muestra como estándar interno. La cantidad de TPP utilizada fue agregada en base al peso de la muestra (10 mg de TPP diluido en 1% de solución de ácido acético en acetonitrilo por kilogramo de la muestra).

El contenido en el tubo fue luego macerado utilizando un micro molidor (PCU, Kinematica, Littau Switzerland). Las muestras fueron luego procesadas siguiendo el protocolo de manufactura del ‘Quick Easy Cheap Effective Rugged and Safe’ QuEChERS kit Restek[®] Qseq[®] (Bellefonte, PA). La muestra y las sales fueron agitadas por 1 minuto y luego centrifugada por 1 min a 3000 rpm. Un total de 1 ml del supernadante fue transferido a un tubo de dSPE (dispersive solid phase extraction/extracción de fase sólida dispersiva). El tubo de dSPE contiene 150 mg de MgSO_4 , 50 mg de amina secundaria-primaria (PSA), y 50 ml de C18. El tubo dSPE fue agitado en vortex durante 30 segundos, y luego centrifugado por 1 min a 3600 rpm.

Un total de 600 μl de muestra líquida fue transferida a frascos de muestra (Walters[®], Milford, MA) de 12×32 mm. Los frascos fueron colocados en una bandeja de metal a 55°C y secados con un flujo constante de nitrógeno durante 20 min. La muestra fue luego re-suspendida con 600 μl de agua ultra pura, y colocada en vortex por 2 min. La re-suspensión fue transferida a un nuevo frasco de muestra para su análisis de química utilizando el Ultra Performance Liquid Chromatography (UPLC).

Diseño experimental

Para analizar la longevidad del depredador se utilizó un diseño completamente al azar (DCA). Para el análisis de datos se usó el programa estadístico RStudio (versión 0.099.893) con un análisis factorial (ANOVA) para calcular la variación entre tratamientos, y un Kaplan and Meier a la $P < 0.05$ para el análisis de la longevidad de los depredadores.

Para analizar el porcentaje de supervivencia de áfidos, se utilizó un diseño de bloques completamente al azar (BCA). Se usó el programa estadístico RStudio (versión 0.099.893). Se evaluaron dos tratamientos: plantas tratadas y sin tratar utilizando el análisis factorial (ANOVA) para la supervivencia de áfidos (a las 48 y 72 horas), se usó una separación de medias Tukey HDS a la $P < 0.05$.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Longevidad de depredador

La longevidad de las mariquitas *H. convergens* alimentadas con áfidos *M. persicae* expuestos a plantas de zinnia tratadas con tiametoxam no mostró diferencias significativas de las mariquitas alimentadas con áfidos que no fueron expuestos a tiametoxam ($P > 0.05$) (Figura 1).

Figura 1. Longevidad de *H. convergens* alimentados con *M. persicae* expuestos a plantas tratadas con insecticida o 'CI' (barras negras) y áfidos expuestos a plantas sin insecticida o 'SI' (barras blancas) a 7, 14, 21, 28, y 35 DDA. Letras diferentes sobre barras representan diferencias significativas (análisis de supervivencia Kaplan and Meier $P < 0.05$) entre supervivencia de mariquitas sobre áfidos expuestos a plantas con o sin insecticida.

En los días 7, 14, y 21 DDA, la longevidad de la chinche *O. insidiosus* al ser alimentados con *A. gossypii* expuestos a plantas de chile con insecticida mostró que fue afectada negativamente ($P < 0.05$) en comparación con la longevidad cuando se alimentan de áfidos expuestos a plantas sin insecticida (Figura 2) Sin embargo, la longevidad del *O. insidiosus* en los días 28, 35, y 42 después de exposición fue igual ($P > 0.05$) entre los tratamientos.

Figura 2. Longevidad de *O. insidiosus* alimentados con *Aphis gossypii* expuestos a plantas tratadas con insecticida o 'CI' (barras negras) y áfidos expuestos a plantas sin insecticida o 'SI' (barras blancas) a 7, 14, 21, 28, 35, y 42 DDA. Letras diferentes sobre barras representan diferencias significativas (análisis de supervivencia Kaplan and Meier $P < 0.05$) entre supervivencia de la chinche sobre áfidos expuestos a plantas con o sin insecticida.

Los insecticidas sistémicos al ser aplicado en forma de drench o granular al suelo reduce la toxicidad a organismos benéficos presentes en el ambiente, sin embargo estudios han revelado que la aplicación de estos insecticidas tiene un efecto en la longevidad de los enemigos naturales (Cloyd y Bethke 2011).

El consumir áfidos expuesto a tejido conteniendo tiametoxam no afecto la longevidad del *H. convergens*, concluyendo que este depredador no es susceptible a concentraciones del insecticida presente en los áfidos. Brendeson (2015) realizó un estudio similar, alimentando una especie de coccinelidae, *Coleomegilla maculata* DeGeer, con áfidos (*Rhopalosiphum padi*) que habían sido expuestos a concentraciones de tiametoxam. Al alimentar a las mariquitas por un periodo de 24 horas, no se observó ninguna diferencia significativa entre los tratamientos evaluados. Amirzade et al. (2014) en su estudio comparan el efecto que tuvieron tres neonicotinoides en la mortalidad del depredador *Coccinella undecimpunctata* Reiche, concluyendo que la toxicidad del tiametoxam fue menor en comparación con las aplicaciones de imidacloprid y acetamiprid.

La mariquita podría ser implementada en programas de MIP que utilicen aplicaciones de tiametoxam Youn et al. (2003) realizaron un estudio en el cual evaluaron el efecto del imidacloprid y el acetamiprid en el depredador *Harmonia axyridis*. La mortalidad ocasionada a las mariquitas ocurre a causa de la ingesta de áfidos expuestos a los insecticidas. Estos insecticidas tienen una alta residualidad toxica, y su metabolización es menor a la del tiametoxam, teniendo un efecto en la mortalidad y comportamiento de las mariquitas.

En la Figura 2. Se observa que los primeros 21 DDA, la longevidad del *O. insidiosus* se vio afectada al alimentarse de áfidos expuestos a tiametoxam . Después de los 21 días, la longevidad del *O. insidiosus* no se ve afectada.. Camargo et al. (2017) evaluó el efecto que tendría la mortalidad del *O. insidiosus* al alimentarse de áfidos de la soya (*Aphis glycines*) con concentraciones de tiametoxam . La mortalidad del *O. insidiosus* fue directamente relacionada con el consumo de residuos tóxicos en los áfidos expuestos a tiametoxam . Se encontraron concentraciones de tiametoxam en los áfidos alimentados por el depredador, sin embargo se desconoce la cantidad exacta del insecticida en el momento que fue ingerido el áfidos.

Porcentaje de supervivencia de áfidos

El porcentaje de supervivencia se midió a los 7, 14, 21, 28, 35, y 42 después de aplicación y en cada fecha se realizaron dos lecturas a las 48 y 72 horas. No se encontró interacción entre días después de la aplicación y el tratamiento de plantas para los áfidos *M. persicae* y *A. gossypii* a las 48 y 72 horas de evolución. Sin embargo, ‘DDA’ y ‘tratamiento de plantas’ como tratamientos independientes si presentaron diferencia ($P < 0.05$). Los áfidos expuestos a plantas con insecticida por periodos de 48 h y 72 h presentaron supervivencia significativamente menor al porcentaje de supervivencia de áfidos expuestos a plantas sin insecticida (Figura 3 y 4). Durante los días 7, 14, 21, y 28 después de aplicado, el porcentaje de supervivencia de los áfidos *M. persicae* no supera valores de 20% en promedio (Figura 3A) mientras que el *A. gossypii* expuesto 48 horas alcanzo valores hasta de 30% de supervivencia (Figura 4A). En los días 35 y 42 después de aplicado, los áfidos muestran un incremento en supervivencia de alrededor del 10%.

La supervivencia de áfidos expuestos a plantas tratadas por 72 horas durante los días 7, 14, 21, 28, 35, y 42 después de aplicación es consistentemente menor a la supervivencia de áfidos expuestos por 48 horas. De igual manera la exposición para 48 horas, a 28, 35 y 42 después de aplicación, los áfidos muestran un incremento promedio de 10% en comparación a los áfidos alimentados sobre plantas entre 7 y 21 días después de aplicado. Áfidos expuestos a plantas no tratadas muestran supervivencia similar durante los días 7, 14, 21, 28, 35, y 42 después de aplicación, independientemente del tiempo de exposición sobre la planta (48 h y 72 h).

La baja tasa de supervivencia en los áfidos se debe a la toxicidad que presenta el tiametoxam en el insecto plaga. El porcentaje de supervivencia de áfidos durante el experimento se vio afectado por el consumo de tiametoxam en las plantas. En el estudio realizado por Amirzade et al. (2014), se utilizaron tres insecticidas para evaluar el efecto de la residualidad en la especie de áfido *Agonoscena pistaciae*. Los resultados muestran que el tiametoxam fue el neonicotinoide más tóxico hacia los áfidos adultos, en comparación a las aplicaciones de acetamiprid e imidacloprid.

Figura 3. Porcentaje de supervivencia de áfidos *M. persicae* expuestos a plantas de zinnia con insecticida o 'CI' (barras negras) y áfidos expuestos a plantas sin insecticida o 'SI' (barras blancas). **A**). Evaluación realizada a las 48 horas. **B**). Evaluación realizada a las 72 horas. Números 7, 14, 21, 28, 35, y 42 en el eje 'x' representan 'días después de aplicación' en la que plantas que fueron infestadas con áfidos. Letras diferentes sobre barras representan diferencias significativas (Tukey HDS de $P < 0.05$) entre supervivencia de áfidos sobre plantas con y sin insecticida.

Figura 4. Porcentaje de supervivencia de áfidos *A. gossypii* expuestos a plantas de chile con insecticida o 'CI' (barras negras) y áfidos expuestos a plantas sin insecticida o 'SI' (barras blancas). **A**). Evaluación realizada a las 48 horas. **B**). Evaluación realizada a las 72 horas. Números 7, 14, 21, 28, 35, y 42 en el eje 'x' representan 'días después de aplicación' en la que las plantas fueron infestadas con áfidos. Letras diferentes sobre barras representan diferencias significativas (Tukey HDS de $P < 0.05$) entre supervivencia de áfidos sobre plantas con y sin insecticida.

Curvas de concentración de tiametoxam

La cuantificación de tiametoxam en las plantas de zinnia reveló que la concentración de insecticida en los primeros 21 días fue de 320 mg de insecticida por kilogramo de material vegetal en peso seco (Figura 5). En los días 14, 21, y 28 después de aplicado, la concentración de insecticida disminuye a valores alrededor de 40 mg/kg.

Figura 5. Concentración de tiametoxam en zinnias expresado en mg de insecticida por kg en peso seco de tejido vegetal evaluados durante 7, 14, 21, y 28 DDA.

La cuantificación de tiametoxam en las plantas de chile reveló disminución de concentración en el tejido vegetal a través del tiempo (Figura 6). Durante el día 7 DDA la concentración de tiametoxam es de 400 mg/kg. Sin embargo, al día 14, 21 y 28 DDA hay una reducción entre 20 y 40 % de la concentración inicial.

Figura 6. Concentración de tiametoxam en chile expresado en mg de insecticida por kg en peso seco de tejido vegetal evaluados durante 7, 14, 21, y 28 DDA.

El porcentaje de supervivencia de los áfidos *M. persicae* y *O. insidiosus* en los primeros días fue de 0%, datos que concuerdan con los resultados obtenidos por Krupke et al. en el 2017, quienes obtuvieron las concentraciones más elevadas en el tejido vegetal en las primeras dos semanas después de haber realizado la aplicación, lo cual lo relaciona directamente con la alta mortalidad en áfidos de soya *Aphis glycines*.

Las concentraciones del tiametoxam en nuestro estudio perduraron hasta 42 días después de aplicación. Estos resultados concuerdan con los datos de un estudio desarrollado en Minnesota, en el cual observaron presencia del insecticida hasta 49 días después de realizada la aplicación, ocasionando porcentajes de mortalidad en los áfidos de soya (McCornack and Ragsdale 2006).

4. CONCLUSIONES

- El movimiento tritrófico del tiametoxam no afecta al *Hippodamia convergens* al utilizarse para el control de plagas, el cual podría ser incorporado a un manejo integrado de plagas combinado con la liberación de H. convergens.
- El depredador *O.insidiosus* se vio afectado por el movimiento tritrófico del tiametoxam en los primeros 21 DDA, por lo cual es recomendable hacer liberaciones de O. Insidiosus después de 21 de aplicación del tiametoxam
- La bioactividad y la residualidad del tiametoxam disminuyó a través del tiempo, viéndose reflejado en el porcentaje de supervivencia de los áfidos *M.persicae* y *A.gossypii* que a partir de los 28 DDA se incrementa.

5. RECOMENDACIONES

- Evaluar el efecto del movimiento tritrófico del insecticida tiametoxam en la longevidad de los enemigos naturales en condiciones de campo.
- Evaluar el efecto que podría tener la cantidad de áfidos consumidos sobre la supervivencia y longevidad de los enemigos naturales.
- Evaluar la concentración de tiametoxam en los áfidos al ser expuestos a los enemigos naturales.

6. LITERATURA CITADA

- Amirzade N, Izadi H, Jalali MA, Zohdi H. 2014. Evaluation of three neonicotinoid insecticides against the common pistachio psylla, *Agonoscena pistaciae*, and its natural enemies. *Journal of Insect Science*. 14(35): 1-8.
- Bredeson M, Reese R, Lundgren J. 2015. The effects of insecticide dose and herbivore density on tri-trophic effects of thiamethoxam in a system involving wheat, aphids, and ladybeetles. *Crop Protection*. 69:70–76.
- Butler CD, O’Neil RJ. 2007. Life history characteristics of *Orius insidiosus* (Say) fed *Aphis glycines* Matsumura. *Biological Control*. 40(3):333–338.
- Camargo C, Hunt TE, Giesler LJ, Siegfried BD. 2017. Thiamethoxam toxicity and effects on consumption behavior in *Orius insidiosus* (Hemíptera: Anthocoridae) on soybean. *Environ Entomol*. 46(3): 693–699.
- Capinera J. 2014. *Myzus persicae* (Sulzer) (Insecta:Hemiptera:Aphididae). University of Florida (USA).654 p.
- Cloyd R, Bethke J. 2011. Impact of neonicotinoid insecticides on natural enemies in greenhouse and interiorscape environments. *Pest Management Sci*. 67(1):3–9.
- Delfino MA, Buffa LM. 2007. Afidos en Plantas Ornamentales de Córdoba, Argentina (Hemíptera: Aphididae). *Neotropical Entomology*. 37(1):074-080.
- Fischbein D. 2012. Introducción a la teoría del control biológico de plagas: Serie Técnica: Manejo Integrado de Plagas Forestales. Cuadernillo 15. Río Negro, Argentina 21 p.
- Girolami V, Mazzon L, Squartini A, Mori N, Marzaro M, Di Bernardo A, Creatti M, Giorio C, Tapparo A. 2009. Translocation of Neonicotinoid Insecticides from coated seeds to seedling guttation drops: A novel way of intoxication for bees. *Economic Entomology*. 102(5):1808-15.
- Harwood J, Desneux N, Rowley D, Greenstone M, Obrycki J. 2007. Tracking the role of alternative prey in soybean aphid predation by *Orius insidiosus*: a molecular approach. *Molecular Ecology*. 16(20):4390-400.

- Krupke CH, Alford AM, Cullen EM, Hodgson EW, Knodel JJ, McCornack B, Potter BD, Spigler MI, Tilmon K, Welch K. 2017. Assessing the value and pest management window provided by neonicotinoid seed treatments for management of soybean aphid (*Aphis glycines* Matsumura) in the upper midwestern United States. *Pest Manag Sci.* 73(10):2184–2193.
- Lundgren J. 2009. Relationships of Natural Enemies and Non-prey Foods. *Progress in Biological Control.* San Diego (USA) Springer Science + Business Media B.V. 490 p.
- McCornack B, Ragsdale D. 2006. Efficacy of thiamethoxamto suppress soybean aphid populations in Minnesota soybean. *Crop Management.* 5:1–6.
- 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.
- Moscardini VF, Gontijo PC, Michaud JP, Carvalho GA. 2015. Sublethal effects of insecticide seed treatments on two nearctic lady beetles (Coleoptera: Coccinellidae). *Ecotoxicology.* 24(5):1152–1161.
- Seagraves M, Lundgren J. 2010. Effects of neonicotinoid seed treatments on soybean aphid and its natural enemies. *Journal Pest Science.* 85:125–132.
- Youn YN, Seo M, Shin J, Jang C, Yu Y. 2003. Toxicity of greenhouse pesticides to multicolored Asian lady beetles, *Harmonia axyridis* (Coleoptera:Coccinellidae). *Biological Control.* 28(2):164–170.