



Universidad de Concepción
Dirección de Postgrado
Facultad de Agronomía
Programa de Magíster en Ciencias Agronómicas

**EFFECTOS SUBLETALES DE AGROQUÍMICOS SINTÉTICOS
Y NATURALES CONTRA *Goniozus legneri* Gordh
(Hymenoptera: Bethyridae)**

Tesis para optar al grado de Magíster en Ciencias Agronómicas

JOSÉ FRANCISCO LEYTON HERRERA
CHILLÁN-CHILE
2023

Profesor Guía: Gonzalo Silva Aguayo
Dpto. de Producción Vegetal,
Facultad de Agronomía
Universidad de Concepción

Esta tesis ha sido realizada en el Departamento de Producción Vegetal de la Facultad de Agronomía, Universidad de Concepción.

Profesor Guía

Dr. Gonzalo Silva Aguayo
Facultad de Agronomía
Universidad de Concepción

Comisión Evaluadora

Dra. Marcela Rodríguez García
Facultad de Ciencias Naturales y
Oceanográficas
Universidad de Concepción

Dr. J. Concepción Rodríguez Maciel
Posgrado en Fitosanidad-Entomología y
Acarología
Colegio de Postgraduados

Dr. Julio S. Bernal
Department of Entomology
Texas A&M University

Director de Programa

Dra. Marisol Vargas Concha
Facultad de Agronomía
Universidad de Concepción

AGRADECIMIENTOS

La presente investigación fue realizada como parte de los requisitos de graduación del Programa de Magíster en Ciencias Agronómicas. El autor agradece a la Agencia Nacional de Investigación y Desarrollo de Chile (ANID) y a la Universidad de Concepción Campus Chillán por la oportunidad y el apoyo otorgados durante su estancia en el programa. Así mismo, se agradece a Biobichos Ltda. por brindar material biológico y técnicas empleados en esta investigación.

TABLA DE CONTENIDOS

	Página
AGRADECIMIENTOS	iii
TABLA DE CONTENIDOS	iv
ÍNDICE DE TABLAS	v
ÍNDICE DE FIGURAS	vii
RESUMEN	ix
SUMMARY	x
CAPÍTULO I.- Introducción General.....	1
Hipótesis	5
Objetivo General	6
Objetivos Específicos	6
Referencias citadas	6
CAPÍTULO II.- Toxicidad y Efectos Subletales de Insecticidas Sintéticos sobre <i>Goniozus legneri</i> Gordh (Hymenoptera: Bethyridae).....	14
Resumen	14
Abstract	15
Introducción	16
Materiales y Métodos	17
Resultados y Discusión	22
Conclusión	38
Referencias citadas	38
CAPÍTULO III.- Toxicidad y Efectos Subletales de Insecticidas Naturales sobre <i>Goniozus legneri</i> Gordh (Hymenoptera: Bethyridae).....	44
Resumen	44
Abstract	45
Introducción	46
Materiales y Métodos	47
Resultados y Discusión	52
Conclusión	67
Referencias citadas	68
CONCLUSIONES GENERALES	73

INDICE DE TABLAS

CAPÍTULO II.

		Página
Tabla 1	Insecticidas evaluados en condiciones de laboratorio contra <i>Goniozus legneri</i> .	18
Tabla 2	Dosificaciones evaluadas contra adultos de <i>Goniozus legneri</i> .	18
Tabla 3	Criterio de clasificación de los efectos subletales de acuerdo a los criterios de Shanower et al. (1992).	20
Tabla 4	Concentración letal 50% (CL ₅₀) y 90% (CL ₉₀) de insecticidas evaluados en <i>G. legneri</i> a las 72 h de exposición.	24
Tabla 5	Reducción de parasitismo sobre <i>P. interpunctella</i> y emergencia de adultos de <i>G. legneri</i> asperjados con insecticidas.	29
Tabla 6	Concentración letal 50% (CL ₅₀) y 90% (CL ₉₀) de insecticidas evaluados en <i>G. legneri</i> a las 72 h de exposición superficial.	31
Tabla 7	Reducción de parasitismo sobre <i>P. interpunctella</i> y de emergencia de adultos de <i>G. legneri</i> sometidos a una superficie tratada con insecticidas.	36

CAPÍTULO III.

		Página
Tabla 1	Insecticidas evaluados en condiciones de laboratorio contra <i>G. legneri</i> .	47
Tabla 2	Dosificaciones evaluadas en laboratorio contra adultos de <i>G. legneri</i> .	48
Tabla 3	Clasificación de los efectos subletales de acuerdo a los criterios de Shanower et al. (1992).	50
Tabla 4	Concentración letal 50% (CL ₅₀) y 90% (CL ₉₀) de insecticidas naturales evaluados contra <i>G. legneri</i> tras 72 h de exposición directa.	52
Tabla 5	Reducción de parasitismo sobre <i>P. interpunctella</i> y de emergencia de adultos de <i>G. legneri</i> bajo aspersión directa de diferentes insecticidas naturales.	57
Tabla 6	Concentración letal 50% (CL ₅₀) y 90% (CL ₉₀) de insecticidas evaluados en <i>G. legneri</i> a las 72 h de exposición superficial.	59
Tabla 7	Reducción de parasitismo sobre <i>P. interpunctella</i> y de emergencia de adultos de <i>G. legneri</i> sometidos a una superficie tratada con diferentes insecticidas.	64

INDICE DE FIGURAS

CAPÍTULO II.

		Página
Figura 1	Arena de selección de hospederos adaptada de Thuler et al. (2007).	21
Figura 2	Mortalidad de <i>G. legneri</i> a las 24 (A), 48 (B) y 72 (C) h de exposición a diferentes concentraciones de insecticida.	23
Figura 3	Parasitismo de <i>G. legneri</i> expuesto directamente a insecticidas sobre <i>P. interpunctella</i> .	26
Figura 4	Progenie y porcentaje de conversión a adultos de <i>G. legneri</i> expuestos a insecticidas vía aspersion directa.	27
Figura 5	Mortalidad de <i>G. legneri</i> a las 24 (A), 48 (B) y 72 (C) h en una superficie tratada con concentraciones de diferentes insecticidas.	30
Figura 6	Parasitismo de <i>G. legneri</i> expuesto a superficie tratada con insecticidas sobre hospedero <i>P. interpunctella</i> .	33
Figura 7	Progenie y porcentaje de conversión a adultos de <i>G. legneri</i> expuestos a insecticidas vía superficie tratada.	34
Figura 8	Preferencia de <i>G. legneri</i> por larvas de <i>P. interpunctella</i> tratadas con dosificaciones de insecticidas y el control.	37

CAPÍTULO III.

		Página
Figura 1	Arena de selección de hospederos adaptada de Thuler et al. (2007).	51
Figura 2	Mortalidad de <i>G. legneri</i> a las 24 (A), 48 (B) y 72 (C) h de exposición a diferentes concentraciones de insecticidas naturales.	53
Figura 3	Parasitismo sobre <i>P. interpunctella</i> de <i>G. legneri</i> expuesto a insecticidas.	55
Figura 4	Progenie y porcentaje de conversión a adultos de <i>G. legneri</i> expuestos a diferentes insecticidas naturales vía aspersión directa.	56
Figura 5	Mortalidad de <i>G. legneri</i> a las 24 (A), 48 (B) y 72 (C) h en una superficie tratada con diferentes concentraciones de insecticidas naturales.	60
Figura 6	Parasitismo sobre larvas de <i>P. interpunctella</i> de <i>G. legneri</i> expuesto a una superficie tratada con insecticidas.	62
Figura 7	Progenie y porcentaje de conversión a adultos de <i>G. legneri</i> expuestos a insecticidas naturales vía superficie tratada.	63
Figura 8	Preferencia de <i>G. legneri</i> por larvas de <i>P. interpunctella</i> tratadas con dosificaciones de insecticidas naturales y el control.	66

RESUMEN

El manejo convencional de insectos plaga de importancia agrícola, centrado en el uso de insecticidas sintéticos, ha provocado impactos ambientales negativos y el desarrollo de insectos y ácaros resistentes. Esta situación ha propiciado la búsqueda de alternativas de control más racionales que pueden ser incluidas en un manejo integrado de plagas (MIP). Entre estas alternativas destaca el uso de enemigos naturales como *Goniozus legneri* (Gordh) (Hymenoptera: Bethyridae), un ectoparásitoide utilizado en el control de una amplia gama de plagas. Sin embargo, la inclusión de enemigos naturales en un programa de MIP dependerá de su compatibilidad con las otras estrategias de control y especialmente con un uso racional de insecticidas sintéticos o naturales. Por ello, el objetivo de esta investigación fue determinar los efectos letales y subletales de diferentes tipos de insecticidas sintéticos y naturales sobre adultos de *G. legneri*. Se evaluó el efecto de insecticidas sintéticos (espirotetramato en mezcla con tiacloprid, bifentrina, pirimicarb e imidacloprid) y naturales (*Bacillus thuringiensis*, azadiractina, polisulfuro de calcio y piretrinas), en adultos de *G. legneri* empleando las dosis comerciales de cada insecticida más 1/2, 1/4, 1/8 y 1/16 de esta concentración. Las aplicaciones se realizaron por aspersión y como residuo superficial además de evaluar un posible efecto repelente. Los resultados mostraron que, entre los insecticidas sintéticos, espirotetramato en mezcla con tiacloprid ocasionó la menor mortalidad (aspersión 12,2%, residual 13,3%) y los menores efectos subletales en el parasitismo (-26,7%) y en la emergencia de adultos (-18,1%). Por otra parte, bifentrina fue el insecticida sintético más tóxico (aspersión $CI_{50} = 9,62 \text{ mg l}^{-1}$, residual $CI_{50} = 107,38 \text{ mg l}^{-1}$). Entre los insecticidas naturales, *Bacillus thuringiensis* ocasionó la menor mortalidad (aspersión 19,2%; residual 14,5%) y los menores efectos subletales en todos los parámetros evaluados. A su vez las piretrinas, ocasionaron un 100% de mortalidad de *G. legneri* en su dosis comercial. Ningún insecticida evaluado presenta actividad repelente sobre *G. legneri*. Se concluye que tanto la mezcla de espirotetramato con tiacloprid como *B. thuringiensis* son las mejores alternativas de insecticidas para su utilización en conjunto con *G. legneri* en un programa de MIP.

SUMMARY

The conventional management of agricultural pests focuses on synthetic insecticides has caused adverse environmental impacts and the development of resistant populations of insects and mites. Consequently, it is important to search for rational control alternatives with the possibility of being included in a sound Integrated Pest Management (IPM) program. Using natural enemies such as the ectoparasitoid, *Goniozus legneri* (Gordh) (Hymenoptera: Bethyridae), is an alternative. However, including natural enemies in an IPM program will depend on compatibility with other control tactics, mainly with the rational use of synthetic or natural insecticides. Therefore, this research aimed to determine the lethal and sublethal effects of different synthetic and natural insecticides against adults of *G. legneri*. The effect of synthetic (spirotetramat mixed with thiacloprid, bifenthrin, pirimicarb, and imidacloprid) and natural insecticides (*Bacillus thuringiensis*, azadirachtin, calcium polysulfide, and pyrethrins) were assessed against adults of *G. legneri*. These insecticides were used at the commercial dose (1.0x) and 1/2, 1/4, 1/8, and 1/16x of this concentration. The treatments were assessed by direct spraying or exposure to a treated surface. In addition, a possible repellent effect was assessed too. The results showed that, among the synthetic insecticides, spirotetramat mixed with thiacloprid, caused the lowest mortality (spray 12.2%, residual 13.3%) and the lowest sublethal effects in parasitism (-26.7%) and adult emergence (-18.1%). Bifenthrin was the most toxic synthetic insecticide (spray $LC_{50} = 9.62 \text{ mg l}^{-1}$, residual $LC_{50}=107.38 \text{ mg l}^{-1}$). Among the natural insecticides, *Bacillus thuringiensis* exhibited the lowest mortality (spray 19.2%; residual 14.5%) and the lowest sublethal effects in all parameters evaluated. Pyrethrins caused 100% mortality of *G. legneri* in its commercial dose. No insecticide has repellent activity against *G. legneri*. We concluded that both the mixture of spirotetramat with thiacloprid and *B. thuringiensis* are the best alternatives to use with *G. legneri* in an IPM program.

CAPÍTULO I

Introducción General

El planteamiento y desarrollo de diferentes estrategias enfocadas en la protección sostenible de cultivos constituye uno de los principales desafíos del sector agrícola y pone de manifiesto el problema que representan los insectos plaga para la producción vegetal (Popp y Hantos, 2011; Jankielsohn, 2018). Algunos insectos fitófagos son considerados plagas de importancia agrícola debido a que sus necesidades alimenticias están en conflicto con los intereses de los agricultores (Culliney, 2014), quienes por su parte buscan responder competitivamente a las exigencias de los mercados locales e internacionales que establecen elevados estándares de calidad de los productos, y protección del ambiente (Ivan et al., 2011). Por ello, es fundamental llevar a cabo estrategias de protección de cultivos de una manera sostenible, orientadas a evitar, prevenir o reducir las pérdidas ocasionadas por los insectos plaga (Dhaliwal et al., 2015).

Las estrategias de control convencionales centradas en el uso extensivo y poco racional de insecticidas sintéticos que no consideran su efecto sobre la fauna benéfica o la salud de las personas además de una correcta rotación según su mecanismo de resistencia, han provocado inquietudes sobre su sostenibilidad debido a su impacto ambiental negativo y aumento del número de insectos resistentes (Suckling et al., 1999; Lacey y Unruh, 2005). Además, estas prácticas contribuyen a la simplificación de los ecosistemas, lo que deriva en una disminución de la biodiversidad y la pérdida de funciones y servicios ecológicos que, eventualmente, producen la necesidad de utilizar una mayor cantidad de insumos externos para equilibrar los desbalances ecológicos (Cardinale et al., 2012; Wratten et al., 2013). Lo anterior ha provocado la búsqueda de alternativas de bajo impacto ambiental y enfoques agroecológicos (Kremen et al., 2012; Gurr et al., 2016) como componentes de un Manejo Integrado de Plagas (MIP).

Los programas de MIP abordan la combinación armónica de diferentes estrategias de control, incluyendo la utilización de controladores biológicos, sustancias naturales como extractos botánicos o derivados microbianos, y sintéticas como feromonas o repelentes, junto con un uso racional de plaguicidas sintéticos (Lengai et al., 2020).

Sin embargo, estos últimos continúan causando preocupación sobre su seguridad y efectos ambientales, además de ser percibidos como poco compatibles con el control biológico (Blanco y Bernal, 2003; Lacey y Unruh, 2005), lo cual ha impulsado el desarrollo de insecticidas naturales de bajo impacto ambiental conocidos como biorracionales (Reddy, 2016). Aunque, según Haddi et al. (2020) es contradictorio emplear sustancias sintéticas o naturales de forma simultánea con el control biológico en un programa de MIP debido a que estos pueden producir efectos adversos en los enemigos naturales.

Por lo general los insecticidas sintéticos solo deben ser utilizados como última medida cuando los demás métodos de control fallan en mantener a las poblaciones de plagas agrícolas en niveles inferiores a los umbrales económicos (Graves et al., 1999; Baker et al., 2020). Por ello, los tratamientos químicos no deberían ser realizados de forma regular ni preventiva en un enfoque de MIP (Brück et al., 2009). Sin embargo, cuando los plaguicidas sintéticos se vuelven indispensables para la producción, su uso debe considerar una perspectiva amplia, teniendo en cuenta especialmente sus efectos ecológicos y biológicos (Graves et al., 1999) sobre el agroecosistema y organismos benéficos.

Entre los diferentes tipos de insecticidas sintéticos, utilizados ampliamente en el control de plagas de importancia agrícola, se encuentran los piretroides como bifentrina, que es un compuesto de comportamiento mixto de tipo I/II (Gammon et al., 2019) diseñando en base a las piretrinas, su homólogo natural extraído de *Tanacetum cinerariifolium* (Trevir.) Sch.Bip. (Asteraceae) (Lengai et al., 2020). Los piretroides actúan provocando una interferencia en la transmisión del impulso nervioso por medio de su enlace con los canales de sodio de las células del sistema nervioso, ocasionando cambios en su cinética de activación (Narahashi, 1985; Yang y Li, 2014). Otros compuestos utilizados masivamente son los carbamatos donde destaca pirimicarb, que fue formulado específicamente para el control de áfidos y actúa inhibiendo la actividad de la acetilcolinesterasa en el sistema nervioso de los insectos (Hassall, 1990; Maroofpour et al., 2021) y que además, de acuerdo a James (2003) y Almasi et al. (2018) presenta baja toxicidad para los enemigos naturales.

Otro grupo químico ampliamente utilizado son los neonicotinoides donde destacan imidacloprid y tiacloprid que interrumpen los procesos de transferencia sináptica de los insectos al actuar como agonistas competitivos que se unen irreversiblemente a los receptores nicotínicos de la acetilcolina (nAChR) (Suchail et al., 2003; De Lima e Silva et al., 2017). Cabe destacar que este grupo de insecticidas, a pesar de estar comprobada su alta toxicidad en abejas en algunos países siguen siendo utilizados ampliamente (Klingelhöfer et al., 2022). Un grupo insecticida de reciente desarrollo son los derivados del ácido tetrámico como el espirotetramato, que puede inhibir el proceso de biosíntesis de lípidos, por lo que su uso es especialmente efectivo en las fases juveniles de insectos chupadores (Brück et al., 2009; Dangi y Lim, 2017).

Los compuestos biorracionales, que surgen como alternativa a los insecticidas sintéticos de amplio espectro, corresponden a sustancias que presentan una actividad controladora de plagas con efectos limitados o nulos sobre el ambiente y, supuestamente, baja toxicidad para organismos no blanco, como seres humanos, animales domésticos y de granja, y enemigos naturales (Hara, 2000; Horowitz e Ishaaya, 2004; Reddy, 2016). En esta categoría se engloban una variedad de compuestos de origen botánico, microbiano, mineral e incluso algunas sustancias sintéticas (Reddy, 2016).

Entre los insecticidas biorracionales más utilizados en la agricultura se encuentra el aceite de frutos de un árbol originario de la India conocido como Neem (*Azadirachta indica* (A. Juss) (Meliaceae)), el cual presenta un efecto regulador del crecimiento de insectos y disuasivo de alimentación y oviposición. La actividad reguladora del crecimiento implica la alteración del sistema hormonal de los insectos, de manera que impide su desarrollo normal a fase adulta y, por tanto, no necesariamente provoca la intoxicación de manera inmediata (Reddy, 2016). En la categoría de botánicos también se incluyen las piretrinas derivadas de una oleoresina de las flores de *Tanacetum cinerariifolium* (Asteraceae), que ocasionan hiperexcitación del sistema nervioso con descargas sinápticas repetitivas y constantes que terminan en la muerte del insecto (Gupta y Crissmas, 2013). Usualmente en las formulaciones comerciales el efecto de las piretrinas se potencia al mezclarlas con sinergistas como

butóxido de piperonilo (BOP), que actúa inhibiendo la actividad metabólica de las enzimas del citocromo P450 capaces de detoxificar insecticidas (Tozzi, 1999; Willoughby et al., 2007). También se consideran biorracionales compuestos como el polisulfuro de calcio, el cual es utilizado como fungicida, acaricida e insecticida (Holb et al., 2003; Vacacela Ajila et al., 2019), y cuyo efecto letal se produce por la descomposición de la formulación en dióxido de azufre y sulfuro de hidrógeno, siendo este último componente al que se le atribuye generalmente el efecto insecticida (Abbott, 1945; Vacacela Ajila et al., 2019). Igualmente son incluidos en la categoría de biorracionales los insecticidas microbiales, como las formulaciones de *Bacillus thuringiensis* (Berliner) basadas en cristales proteicos, producidos por la bacteria en su proceso de esporulación, los cuales actúan como toxina estomacal principalmente en larvas de lepidópteros y mosquitos (Chattopadhyay, 2004).

Lamentablemente la utilización de insecticidas biorracionales, es en general más costosa y compleja que la de los insecticidas sintéticos, especialmente en grandes extensiones de cultivos (Egbuna et al., 2020). Lo anterior se debe a que, existe una menor variedad de insecticidas biorracionales, ya que de los 114 insecticidas presentados a la Organización Internacional de Normalización (ISO) desde 1991, solo el 7,0% corresponde a esta categoría. Sin embargo, el impacto de los productos naturales es mayor a lo que se piensa debido a que muchos de ellos inspiraron la síntesis de insecticidas sintéticos (Sparks et al., 2019). Curiosamente, y pese a que el uso de bioplaguicidas continúa aumentando anualmente, su mercado no supera el 5,0% del mercado mundial y es dominado principalmente por *B. thuringiensis* que, en la actualidad, representa alrededor del 75% del uso de bioinsecticidas a nivel mundial (Samada y Tambunan, 2020).

Otra alternativa natural de manejo de insectos fitófagos es el control biológico, que consiste en la supresión del potencial reproductivo de una plaga por medio de la acción de enemigos naturales, ya sean parasitoides o depredadores (Hajek y Eilenberg, 2018), cuya eficacia dependerá de la habilidad del controlador para encontrar a su huésped o presa (Godfray, 1994), y de que su tasa de control sea mayor a la tasa de reproducción de la plaga (Van Lenteren y Manzaroli, 1999).

En el control biológico aplicado a la agricultura, los enemigos naturales más utilizados son los parasitoides (Bernal, 2007), entre los cuales destaca *Goniozus legneri* (Gordh) (Hymenoptera: Bethyridae), un ectoparasitoide endémico de Uruguay y Argentina que actúa controlando diversas larvas de lepidópteros y coleópteros (Gordh, 1982; Laumann et al., 2000; Garrido et al., 2005) que afectan cultivos y frutales de importancia económica (Ferrero et al., 2000). Por lo anterior, este parasitoide cuenta con potencial para ser utilizado en estrategias de control como herramienta de manejo de insectos plaga.

Goniozus legneri cuenta con variados antecedentes de utilización en programas de control biológico. Por ejemplo, este parasitoide fue introducido a California desde Uruguay para controlar *Amyelois transitella* (Zeller) (Lepidoptera: Pyralidae), una plaga del cultivo de almendros, extendiéndose su uso por más de una década (Legner y Silveira-Guido, 1983; Legner y Gordh, 1992; Laumann et al., 2000). En Chile, *G. legneri* se reportó por primera vez en 2007 atacando larvas de la polilla de la manzana (*Cydia pomonella* (L.) (Lepidoptera: Tortricidae)) y del algarrobo (*Ectomyelois ceratoniae* (Zeller) (Lepidoptera: Pyralidae)) en huertos de manzanos y nogales en distintas localidades de la zona central del país (Zaviezo et al., 2007).

En un programa de MIP, la compatibilidad entre las diferentes estrategias de control, y especialmente entre enemigos naturales y plaguicidas, es un punto crítico (Biondi et al., 2012), pues tanto los insecticidas sintéticos como los naturales pueden intoxicar a los controladores biológicos o provocarles efectos subletales afectando su fecundidad, reproducción, tiempo de desarrollo, movilidad, búsqueda y parasitismo, entre otros (Cloyd, 2012), factores que son determinantes tanto para el desempeño del enemigo natural como para el éxito de un programa de MIP.

Hipótesis

Los insecticidas sintéticos y naturales ocasionan efectos subletales que afectan negativamente la supervivencia, aptitud biológica y el desempeño del parasitoide de plagas agrícolas *G. legneri*.

Objetivo General

Evaluar, en condiciones de laboratorio, los efectos letales y subletales de diferentes tipos de insecticidas sintéticos y naturales contra adultos de *G. legneri* con la finalidad de determinar la compatibilidad de este parasitoide con el uso de insecticidas en un enfoque de manejo integrado.

Objetivos Específicos

- Evaluar los efectos letales y subletales de los insecticidas sintéticos; espirotetramato en mezcla con tiacloprid, bifentrina, pirimicarb e imidacloprid en parámetros de parasitismo y de emergencia de adultos de *G. legneri*.
- Evaluar los efectos letales y subletales de los insecticidas naturales; *Bacillus thuringiensis* subsp. kurstaki, azadiractina, polisulfuro de calcio y piretrinas en parámetros de parasitismo y de emergencia de adultos de *G. legneri*.
- Evaluar la respuesta de repelencia de diferentes concentraciones de insecticidas sintéticos y naturales en adultos de *G. legneri*.

Referencias citadas

Abbott, C.E. 1945. The toxic gases of lime-sulfur. J. Econ. Entomol. 38(5): 618-620.

Almasi, A., A. Rasekh, M. Esfandiari, M.A. Seyahoei and M. Ziaee. 2018. The prospect of using sub-lethal imidacloprid or pirimicarb and a parasitoid wasp, *Lysiphlebus fabarum*, simultaneously, to control *Aphis gossypii* on cucumber plants. J. Asia-Pac. Entomol. 21(1): 161-167.

Baker, B.P., T.A. Green and A.J. Loker. 2020. Biological control and integrated pest management in organic and conventional systems. Biol. Control 140, 104095.

- Bernal, J.S. 2007. Biología, ecología y etología de parasitoides. *En*: L.A. Rodríguez del Bosque y H.C. Arredondo-Bernal (Eds.). Teoría y Aplicación del Control Biológico. Pp. 61-74. Sociedad Mexicana de Control Biológico. México.
- Biondi, A., L. Zappalà, J.D. Stark and N. Desneux. 2013. Do biopesticides affect the demographic traits of a parasitoid wasp and its biocontrol services through sublethal effects? *PLoS One* 8(9): e76548.
- Blanco, C. y J. Bernal. 2003. Insecticidas y control biológico. *En*: G. Silva y R. Hepp (Eds.). 2003. Bases para el uso racional de insecticidas. Pp. 69-86. Universidad de Concepción, Facultad de Agronomía. Fundación para la Innovación Agraria (FIA). Chillán, Chile.
- Brück, E., A. Elbert, R. Fischer, S. Krueger, J. Kühnhold, A.M. Klueken, R. Nauen, J. F. Niebes, U. Reckmann, H.J. Schnobach, R. Steffens and X. van Waetermeulen. 2009. Movento[®], an innovative ambimobile insecticide for sucking insect pest control in agriculture: biological profile and field performance. *Crop Prot.* 28(10): 838-844.
- Cardinale, B.J., J.E. Duffy, A. Gonzalez, D.U. Hooper, C. Perrings, P. Venail, A. Narwani, G.M. Mace, D. Tilman, D.A. Wardle, A.P. Kinzing, G.C. Daily, M. Loreau, J.B. Grace, A. Larigualderie, D.S. Srivastava and S. Naeem. 2012. Biodiversity loss and its impact on humanity. *Nature* 486(7401): 59–67.
- Chattopadhyay, A., N.B. Bhatnagar and R. Bhatnagar. 2004. Bacterial insecticidal toxins. *Crit. Rev. Microbiol.* 30(1): 33-54.
- Cloyd, R.A. 2012. Indirect effects of pesticides on natural enemies. *In*: R.P. Soundararajan (Ed.). Pesticides—Advances in Chemical and Botanical Pesticides. Pp. 127-150. IntechOpen. Rijeka, Croatia.

- Culliney, T.W. 2014. Crop losses to arthropods. *In*: D. Pimentel and R. Peshin (Eds.). Integrated pest management. Pp. 201-225. Springer Science+Business Media. Dordrecht, The Netherlands.
- Dangi, N. and U.T. Lim. 2017. Relative toxicity of spirotetramat to *Riptortus pedestris* (Hemiptera: Alydidae) and its egg parasitoids. *J. Econ. Entomol.* 110: 2016-2021.
- Dhaliwal, G.S., V. Jindal and B. Mohindru. 2015. Crop losses due to insect pests: global and Indian scenario. *Indian J. Entomol.* 77(2): 165-168.
- Egbuna, C., B. Sawicka, H. Tijjani, T.L. Kryeziu, J.C. Ifemeje, D. Skiba and C.B. Lukong. 2020. Biopesticides, safety issues and market trends. *In*: C. Egbuna and B. Sawicka (Eds.). Natural remedies for pest, disease and weed control. Pp. 43-53. Academic Press. London. UK
- Ferrero, A., R. Laumann, M.M. Gutierrez y T. Stadler. 2000. Evaluación en laboratorio de la toxicidad de insecticidas en *Cydia pomonella* L. (Lepidoptera: Tortricidae) y en su enemigo natural *Goniozus legneri* Gordh (Hymenoptera: Bethylidae). *Bol. Sanid. Veg. Plagas* 26: 559-575.
- Gammon, D.W., Z. Liu, A. Chandrasekaran, S.F. El-Naggar, Y.A. Kuryshev and S. Jackson. 2019. Pyrethroid neurotoxicity studies with bifenthrin indicate a mixed Type I/II mode of action. *Pest. Manag. Sci.* 75: 1190-1197.
- Garrido, S., L. Cichón, D. Fernández y C. Azevedo. 2005. Primera cita de la especie *Goniozus legneri* (Hymenoptera: Bethylidae) en el Alto valle de Río Negro, Patagonia Argentina. *Rev. Soc. Entomol. Arg.* 64(1-2): 14-16.
- Godfray, H.C.J. 1994. Parasitoids, Behavioral and Evolutionary Ecology. Princeton University Press. Princeton, USA.

- Gordh, G. 1982. A new species of *Goniozus* (Hymenoptera: Bethyridae) imported into California for the biological control of the navel orangeworm (Lepidoptera: Pyralidae). *Entomol. News* 93 (5): 136-138.
- Graves, J.B., B.R. Leonard and J.A. Ottea. 1999. Chemical approaches to managing arthropod pests. *In*: J.R. Ruberson (Ed.) *Handbook of Pest Management*. Pp. 449-486. Marcel Dekker, Inc. New York, USA.
- Gupta, R.C. and J.W. Crissman. 2013. Agricultural Chemicals. *In*: W.M. Haschek, C.G. Rousseaux, M.A. Wallig, B. Bolon and R. Ochoa (Eds.). *Haschek and Rousseaux's Handbook of Toxicologic Pathology* (3th. ed). Pp. 1349-1372. Academic Press. London, UK.
- Gurr, G.M., Z. Lu, X. Zheng, H. Xu, P. Zhu, G. Chen, X. Yao, J. Chen, Z. Zhu, J.L. Catindig, S. Villareal, H.V. Chien, L.Q. Cuong, C. Channoo, N. Chengwattana, L.P. Lan, L.H. Hai, J. Chaiwong, H.I. Nicol, D.J. Perovic, S. D. Wratten and K.L. Heong. 2016. Multi-country evidence that crop diversification promotes ecological intensification of agriculture. *Nat. Plants* 2: 16014.
- Haddi, K., L.M. Turchen, L.O. Viteri Jumbo, R.N. Guedes, E.J. Pereira, R.W. Aguiar and E.E. Oliveira. 2020. Rethinking biorational insecticides for pest management: Unintended effects and consequences. *Pest management science* 76(7): 2286-2293.
- Hajek, A.E. and J. Eilenberg. 2018. *Natural enemies: an introduction to biological control*. Cambridge University Press. Cambridge, UK.
- Hara, A.H. 2000. Finding alternative ways to control alien pests-Part 2: New insecticides introduced to fight old pests. *Hawaii Landscape* 4(1): 5.

- Hassall, K.A. 1990. The biochemistry and uses of pesticides: structure, metabolism, mode of action and uses in crop protection. Macmillan Press, Basingstoke, U.K.
- Holb, I.J., P.F. De Jong and B. Heijne. 2003. Efficacy and phytotoxicity of lime sulphur in organic apple production. *Ann. Appl. Biol.* 142(2): 225-233.
- Horowitz, A.R. and I. Ishaaya. 2004. Biorational insecticides-mechanisms, selectivity and importance in pest management. *In: A.R. Horowitz and I. Ishaaya (Eds.). Insect pest management.* Pp. 1-28. Springer, Berlin, Germany.
- Ivan, M., C. Drago and C. Gorica. 2011. Quality of agricultural-food products as a factor of the Republic of Serbia's competitiveness in international market. *Afr. J. Biotechnol.* 10(41): 7949-7952.
- James, D.G. 2003. Pesticide susceptibility of two coccinellids *Stethorus punctum* and *Harmonia axyridis* important in biological control of mites and aphids in Washington hops. *Biocontrol Sci. Tech.* 13: 253-259.
- Jankielsohn, A. 2018. The importance of insects in agricultural ecosystems. *Adv. Entomol.* 6(2): 62-73.
- Klingelhöfer, D., M. Braun, D. Brüggmann and D.A. Groneberg. 2022. Neonicotinoids: A critical assessment of the global research landscape of the most extensively used insecticide. *Environ. Res.* 213: 113727.
- Kremen, C., A. Iles and C. Bacon. 2012. Diversified farming systems: An agroecological, systems-based alternative to modern industrial agriculture. *Ecol. Soc.* 17(4): 44.
- Lacey, L.A. and T.R. Unruh. 2005. Biological control of codling moth (*Cydia pomonella*, Lepidoptera: Tortricidae) and its role in integrated pest management, with emphasis on entomopathogens. *Vedalia* 12(1): 33-60.

- Laumann, R.A., A.A. Ferrero y T. Stadler. 2000. Evaluación en laboratorio de *Goniozus legneri* Gordh (Hymenoptera: Bethylidae) enemigo natural de *Cydia pomonella* (L.)(Lepidoptera: Tortricidae) en cultivos de nogal de la provincia de Catamarca, República Argentina. Bol. San. Veg. Plagas 26(4): 537-550.
- Legner, E.F. and G. Gordh. 1992. Lower navel orange worm (Lepidoptera: Phycitidae) population densities following establishment of *Goniozus legneri* (Hymenoptera: Bethylidae) in California. J. Econ. Entomol. 85(6): 2153-2160.
- Legner, E.F. and A. Silveira-Guido. 1983. Establishment of *Goniozus emigratus* and *Goniozus legneri* [Hym: Bethylidae] on navel orangeworm, *Amyelois transitella* [Lep: Phycitidae] in California and biological control potential. Entomophaga 28(2): 97-106.
- Lengai, G.M., J.W. Muthomi and E.R. Mbega. 2020. Phytochemical activity and role of botanical pesticides in pest management for sustainable agricultural crop production. Sci. Afr. 7: e00239.
- Van Lenteren J.C. and G. Manzaroli. 1999. Evaluation and use of predators and parasitoids for biological control of pests in greenhouses. In: R. Albajes, M. Lodovica Gullino, J.C. van Lenteren and Y. Elad (Eds.). Integrated Pest and Disease Management in Greenhouse Crops. Pp. 183-201. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht, The Netherlands.
- De Lima e Silva, C., N. Brennan, J.M. Brouwer, D. Commandeur, R.A. Verweij and C.A. van Gestel. 2017. Comparative toxicity of imidacloprid and thiacloprid to different species of soil invertebrates. Ecotoxicology 26: 555-564.
- Maroofpour, N., M. Mousavi, M.J. Hejazi, S. Iranipour, H. Hamishehkar, N. Desneux, A. Biondi and K. Haddi. 2021. Comparative selectivity of nano and commercial formulations of pirimicarb on a target pest, *Brevicoryne brassicae*, and its predator *Chrysoperla carnea*. Ecotoxicology 30(2): 361-372.

- Narahashi T. 1985. Nerve membrane ionic channels as the primary target of pyrethroids. *Neurotoxicology* 6: 3-22.
- Popp, J. and K. Hantos. 2011. The impact of crop protection on agricultural production. *Stud. Agric. Econ.* 113(1): 47-66.
- Reddy, P.P. 2016. Biorational pest management. pp: 99-108. In: P.P. Reddy (Ed.). *Sustainable Crop Protection under Protected Cultivation*. Springer, Singapore.
- Samada, L.H. and U.S.F. Tambunan. 2020. Biopesticides as promising alternatives to chemical pesticides: A review of their current and future status. *Online J. Biol. Sci.* 20(2): 66-76.
- Sparks, T.C., F.J. Wessels, B.A. Lorsbach, B.M. Nugent and G.B. Watson. 2019. The new age of insecticide discovery-the crop protection industry and the impact of natural products. *Pestic. Biochem. Phys.* 161: 12-22.
- Suchail, S., L. Debrauwer and L.P. Belzunces. 2003. Metabolism of imidacloprid in *Apis mellifera*. *Pest. Manag. Sci.* 60(3): 291-296.
- Suckling, D.M., J.T.S. Walke and C.H. Wearing. 1999. Ecological impact of three pest management systems in New Zealand apple orchards. *Agric. Ecosyst. Environ.* 73(2): 129-140.
- Tozzi, A. 1999. A brief history of the development of piperonyl butoxide as an insecticide synergist. *In: D.G. Jones (Ed.). Piperonyl Butoxide*. Pp. 1-5. Academic Press. London. UK.
- Vacacela Ajila, H.E., E.E. Oliveira, F. Lemos, K. Haddi, F. Colares, P.H. Marques Gonçalves and A. Pallini. 2019. Effects of lime sulfur on *Neoseiulus californicus* and *Phytoseiulus macropilis*, two naturally occurring enemies of the two-spotted spider mite *Tetranychus urticae*. *Pest Manag. Sci.* 76(3): 996-1003.

- Willoughby, L., P. Batterham and P.J. Daborn. 2007. Piperonyl butoxide induces the expression of cytochrome P450 and glutathione S-transferase genes in *Drosophila melanogaster*. *Pest Manag. Sci.* 63(8): 803-808.
- Wratten, S., H. Sandhu, R. Cullen and R. Costanza. 2013. *Ecosystem services in agricultural and urban landscapes*. John Wiley & Sons. Oxford, UK.
- Yang, L. and L. Li. 2014. Actions of the pyrethroid insecticide bifenthrin on sodium channels expressed in rat cerebral cortical neurons. *Toxicol. Mech. Methods* 25(1): 63-69.
- Zaviezo, T., A. Romero, D. Castro y A. Wagner. 2007. Primer registro de *Goniozus legneri* (Hymenoptera: Bethyridae) para Chile. *Cienc. Inv. Agr.* 34(1): 57-61.

CAPÍTULO II

Toxicidad y Efectos Subletales de Insecticidas Sintéticos sobre *Goniozus legneri* Gordh (Hymenoptera: Bethylidae)

José Leyton^{1*}, Gonzalo Silva¹, Marcela Rodríguez², J.C. Rodríguez³ y Julio S. Bernal⁴.

¹Facultad de Agronomía, Universidad de Concepción, Vicente Méndez 595, Chillán, Chile.

²Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas. Universidad de Concepción, Víctor Lamas 1290, Concepción, Chile.

³Programa de Fitosanidad. Colegio de Postgraduados. Carretera Federal México- Texcoco. Km 36,5 Texcoco. Estado de México, México.

⁴Department of Entomology. Texas A&M University. College Station. USA.

*Autor de correspondencia: jleyton@udec.cl

Revista: Southwestern Entomologist Fecha de envío: 26 de enero del 2023.

Resumen

Los insecticidas sintéticos afectan a los enemigos naturales de las plagas como el parasitoide *Goniozus legneri* (Gordh) (Hymenoptera: Bethylidae). El objetivo de éste estudio fue evaluar algunos efectos letales y subletales de los insecticidas espirotetramato en mezcla con tiacloprid, bifentrina, pirimicarb e imidacloprid. Dichos insecticidas se evaluaron en adultos de *G. legneri* (72 h de edad) empleando las dosis de 1.0 (dosis comercial), 1/2, 1/4, 1/8 y 1/16. Las aplicaciones se realizaron en una torre de Potter por aspersion directa y exposición de individuos al residuo superficial del tratamiento. Como variables respuesta se evaluó la mortalidad (24, 48 y 72 h), parasitismo, cantidad de descendencia adulta y repelencia. Espirotetramato en mezcla con tiacloprid ocasionó la menor mortalidad (aspersion 12.2%, residual 13.3%) y los menores efectos subletales en el parasitismo (-26.7%) y en la emergencia de adultos (-18.1%) en aspersion directa. Bifentrina fue el insecticida más tóxico en las dos formas de aplicación (aspersion $Cl_{50} = 9.62 \text{ mg l}^{-1}$, residual Cl_{50}

= 107.38 mg l⁻¹). La mortalidad ocasionada por pirimicarb fue superior en exposición a superficie tratada (67.6%) que en aspersiones directas (24.7%). Imidacloprid mostró una reducción del parasitismo elevada (-83.3%) y también redujo significativamente el desarrollo de la progenie (-43.8%) de *G. legneri* asperjados directamente. Los tratamientos no mostraron efecto de repelencia significativo. Se concluye que el tratamiento de espirotetramato en mezcla con tiacloprid es apto para su uso en conjunto con *G. legneri* para el control de plagas, dado que tuvo los menores efectos letales y subletales.

Abstract

Synthetic insecticides cause adverse effects on natural enemies of insect pests, such as the parasitoid *Goniozus legneri* (Gordh) (Hymenoptera: Bethyridae). This research aimed to assess, in this species, the lethal and sublethal effects of spirotetramate in mixture with thiacloprid, bifenthrin, pirimicarb, and imidacloprid insecticides. These insecticides were evaluated against adults of *G. legneri* (72 h of age) using 1.0, 1/2, 1/4, 1/8, and 1/16 of the commercial dose, respectively. The applications were carried out with a Potter tower by spraying and exposing individuals to the treated surface. As a response variable, we assessed mortality (24, 48, and 72 h), parasitism, number of adult offspring, and repellency. Spirotetramate in mixture with thiacloprid caused the lowest mortality (spray, 12.2%; residual, 13.3%), the lowest sublethal effects on parasitism (-26.7%) and adult offspring (-18.1%) by direct spraying. Bifenthrin was the most toxic insecticide in both application forms (spray, $CI_{50} = 9.62 \text{ mg l}^{-1}$; residual, $CI_{50} = 107.38 \text{ mg l}^{-1}$). Mortality caused by pirimicarb was higher in surface-treated exposure (67.6%) than in direct sprays (24.7%). Imidacloprid showed the highest parasitism reduction (-83.3%) and significantly reduced the progeny development (-43.8%) when adults of *G. legneri* were directly sprayed. The treatments showed no significant repellent effect. Spirotetramate treatment in mixture with thiacloprid is suitable for use in conjunction with *G. legneri* for pest control since it causes the lowest lethal and sublethal effects.

Introducción

Uno de los desafíos de la producción agrícola es el control sostenible de los insectos plaga. Por ello, el manejo integrado de plagas (MIP) surge como una respuesta que aborda la combinación económica de diferentes estrategias de control, incluyendo el control químico y biológico (Lengai et al. 2020). Sin embargo, a los insecticidas sintéticos se les percibe como poco compatibles con el control biológico debido a su impacto sobre enemigos naturales, entre otros efectos secundarios nocivos. En consecuencia, se hace impostergable la búsqueda de alternativas de riesgo marginal (Lacey y Unruh 2005).

Entre los insecticidas sintéticos utilizados para el control de plagas agrícolas se encuentra espirotetramato. Este insecticida que deriva del ácido tetrámico funciona como inhibidor de la biosíntesis de lípidos y es efectivo contra estados inmaduros de insectos chupadores (Dangi y Lim 2017). Otros insecticidas utilizados son los piretroides como bifentrina. Este insecticida actúa provocando una irrupción de la función nerviosa por medio de su unión y modificación de los canales de sodio de la membrana celular de las neuronas (Gammon et al. 2019). Otro compuesto de uso común es el pirimicarb, un carbamato que actúa inhibiendo la actividad de la acetilcolinesterasa en el sistema nervioso de los insectos (Maroofpour et al. 2021) y se utiliza para el control de áfidos. Los insecticidas neonicotinoides imidacloprid y tiacloprid son utilizados asiduamente; estos actúan como agonistas competitivos del receptor nicotínico de la acetilcolina (nAChR), uniéndose irreversiblemente a estos y provocando una interrupción de la transferencia sináptica (De Lima e Silva et al. 2017). Como alternativa se emplean estrategias de control biológico, las cuales tienen como objetivo reducir la densidad de poblaciones de plagas por medio de la acción de enemigos naturales (Hajek y Eilenberg 2018). Entre estos se encuentra parasitoides como *Goniozus legneri* Gordh (Hymenoptera: Bethyridae), el cual ha sido utilizado en el control de insectos plagas asociadas a diversos cultivos y frutales (Ferrero et al. 2000).

Desafortunadamente, es común que en las zonas agrícolas donde se usa el control biológico, también se requiere el empleo de insecticidas convencionales. Por tanto,

en un programa de MIP, lograr la compatibilidad entre el control biológico y los insecticidas es un punto crítico (Biondi et al. 2012). Esta integración es útil pero compleja debido a que la mayoría de insecticidas afectan a los enemigos naturales, no solo a través de la toxicidad directa, sino también por medio de efectos subletales que interfieren en su fecundidad, reproducción, tiempo de desarrollo, tasa de emergencia, movilidad, capacidad de depredación y parasitismo, entre otros atributos (Cloyd 2012). Para contribuir a un mejor entendimiento acerca de las ventajas de aprovechar estas dos tácticas de manejo de plagas, en esta investigación se planteó el objetivo de evaluar los efectos letales y subletales de los insecticidas espirotetramato en mezcla con tiacloprid, bifentrina, pirimicarb e imidacloprid en el parasitoide *G. legneri*.

Materiales y Métodos

La investigación se realizó en el Laboratorio de Entomología y Acarología Agropecuaria de la Facultad de Agronomía de la Universidad de Concepción, Campus Chillán, Región de Ñuble, Chile.

Insecticidas. Se utilizaron formulaciones comerciales de los insecticidas: Espirotetramato en mezcla con tiacloprid (Movento[®] Smart 240 SC), bifentrina (Talstar[®] 10 EC), pirimicarb (Pirimor[®]) e imidacloprid (Imidacloprid 20 SL Agrospec) (Tabla 1). Estos insecticidas se seleccionaron debido a que se utilizan masivamente contra plagas que podrían constituir presas de *G. legneri*. Las dosificaciones evaluadas corresponden a la recomendación comercial de cada insecticida (1.0) y a 1/2, 1/4, 1/8 y 1/16 de dicha dosificación (Tabla 2).

Insectos. La empresa Biobichos Ltda. de Chillán, Región de Ñuble, Chile proporcionó adultos de *G. Legneri*. Estos se criaron en el laboratorio de Entomología y Acarología Agropecuaria sobre larvas de *Plodia interpunctella* (Hübner) (Lepidoptera: Pyralidae) que también se utilizaron como huésped para el parasitoide durante los bioensayos. La crianza de *P. interpunctella* se llevó a cabo en contenedores de vidrio de 5 l de capacidad ubicados en una cámara bioclimática (Memmert Gmbb, JPS 749, Schwabach, Germany) en condiciones de $26 \pm 5^{\circ}\text{C}$ de temperatura y $65 \pm 5\%$ de humedad relativa (HR).

Tabla 1. Insecticidas Evaluados en Condiciones de Laboratorio Contra *Goniozus legneri*.

Table 1. Insecticides Assessed Under Laboratory Conditions Against *Goniozus legneri*.

Nombre comercial	Ingrediente activo	Concentración Ingrediente activo	Clasificación grupo IRAC*	Clasificación subgrupo IRAC*
Movento® Smart 240 SC	Espirotetramato	120 g l ⁻¹	23. Inhibidor de la acetil CoA carboxilasa	Derivados de los ácidos tetrónico y tetrámico
	Tiacloprid	120 g l ⁻¹	4. Modulador competitivo del receptor nicotínico de la acetilcolina	4A Neonicotinoides
Talstar® 10 EC	Bifentrina	100 g l ⁻¹	3. Modulador del canal de sodio	3A Piretroides, Piretrinas
Pirimor®	Pirimicarb	500 g kg ⁻¹	1. Inhibidor de la acetilcolinesterasa	1A Carbamatos
Imidacloprid 20 SL Agrospec	Imidacloprid	200 g l ⁻¹	4. Modulador competitivo del receptor nicotínico de la acetilcolina	4A Neonicotinoides

*IRAC = "Insecticide Resistance Action Committee". The IRAC mode of action classification online (IRAC International, 2022) (www.irc-online.org).

Tabla 2. Dosificaciones Evaluadas Contra Adultos de *Goniozus legneri*.

Table 2. Dosages Assessed Against Adults of *Goniozus legneri*.

Insecticida	Dosificación (mg l ⁻¹)				
	D1.0*	D1/2	D1/4	D1/8	D1/16
Movento® Smart 240 SC	1.000	500	250	125	62.5
Talstar® 10 EC	80	40	20	10	5
Pirimor®	500	250	125	62.5	31.25
Imidacloprid 20 SL Agrospec	225	112.5	56.25	28.12	14.06

*Dosis (D) mínima recomendada por el fabricante.

Bioensayos.

Aspersión. En este bioensayo se utilizó la metodología de Brunner et al. (2001). Se evaluaron 20 hembras adultas de *G. legneri* de 72 h de edad. Se realizaron cinco repeticiones por tratamiento además de un testigo consistente en exposición a agua destilada. Los adultos de *G. legneri* se anestesiaron previamente en frío por 90 s a -15 ± 2 °C (Todoroki y Numata 2018). Posteriormente, se colocaron en placas Petri plásticas de 60 mm de diámetro con un disco de papel filtro en su interior. Con una torre de Potter (Potter 1952) ajustada a una presión de 6 psi, se asperjaron los adultos con un volumen de 4 ml de cada tratamiento. Los insectos tratados se mantuvieron en la placa Petri a temperatura ambiente (20 ± 2 °C) y cubiertos con tela de tul para evitar su escape y un efecto de cámara letal (Araya et al. 2004). La mortalidad se evaluó a las 24, 48 y 72 h post tratamiento. Se consideró muerto aquel insecto que no reaccionaba o presentaba escasa movilidad al ser estimulados con un pincel número cero (Luna-Cruz et al. 2011). La máxima mortalidad que se aceptó en el testigo fue 20% y los datos de los tratamientos insecticidas se corrigieron con la fórmula de Abbott (1925).

Superficie tratada. Se utilizó el método de bioensayo propuesto por Araya et al. (2004). Mediante el uso de una torre de Potter (Potter 1952) previamente ajustada a una presión de 12 psi, se asperjó 0.5 ml de cada tratamiento sobre el interior de placas Petri plásticas de 60 mm de diámetro. Posteriormente, las placas Petri tratadas se expusieron 40 min a temperatura ambiente (20 ± 2 °C) para que quedara el residuo seco del tratamiento sobre su superficie. Transcurrido este tiempo, hembras de *G. legneri* (72 h de edad) se anestesiaron en frío a -15 ± 2 °C por 90 s (Todoroki y Numata 2018). Posteriormente, se colocaron en grupos de 20 en placas Petri y se cubrieron con una tela de tul para permitir el intercambio gaseoso y evitar su escape. La mortalidad se evaluó a las 24, 48 y 72 h. Se consideró muerto aquel individuo que no reaccionaba o que presentaba poca movilidad al ser estimulados con un pincel número cero (Luna-Cruz et al. 2011). Cada tratamiento tuvo cinco repeticiones. La máxima mortalidad que se aceptó en el testigo fue 20% y esta variable se corrigió en los tratamientos insecticidas con la fórmula de Abbott (1925).

Efectos Subletales. Los efectos subletales se evaluaron con las metodologías de Ferrero et al. (2000) y Brunner et al. (2001). De los parasitoides adultos que sobrevivieron a las 72 h de evaluación de los bioensayos descritos anteriormente, se seleccionaron al azar cinco hembras. Dichas hembras se depositaron individualmente en envases plásticos transparentes de 45 ml junto con una larva de *P. interpunctella* (5to instar), y una solución de agua y miel al 90%:10%. El efecto subletal de los tratamientos se evaluó considerando la proporción de casos de parasitismo exitoso en relación con los de parasitismo fallido, el número de la progenie (F_1) del parasitoide y los adultos desarrollados a partir de la F_1 . Se verificó el potencial de parasitismo por medio de observaciones de las larvas de *P. interpunctella* cada 72 h a partir del inicio de evaluación, clasificando esta información de acuerdo al criterio de Shanower et al. (1992) (Tabla 3). Posteriormente, la progenie de *G. legneri* se determinó de manera visual con el conteo de *G. legneri* en estadios inmaduros. Con esta información se estimó el desarrollo de la generación F_1 con el porcentaje de parasitoides que alcanzaron la fase adulta. En concordancia con las recomendaciones de la Organización Internacional para el Control Biológico (IOBC), los efectos subletales de cada insecticida se clasificaron de acuerdo a la escala propuesta por Hassan et al. (1994) con la fórmula de Souza et al. (2013).

Tabla 3. Criterio de Clasificación de los Efectos Subletales de Acuerdo a los Criterios de Shanower et al. (1992).

Table 3. Classification Criteria for Sublethal Effects According to the Criteria of Shanower et al. (1992).

Observación	Clasificación
Pupa o adulto de <i>P. interpunctella</i>	“Parasitismo fallido”
Larva de <i>P. interpunctella</i> oscurecida o presencia de hongos	“Parasitismo fallido”
Larva, pupa o adulto de descendencia de <i>G. legneri</i>	“Parasitismo exitoso”

Repelencia. Se evaluó la repelencia de *G. legneri* por larvas de *P. interpunctella* tratadas previamente con insecticida. Para estimar este efecto se realizaron 20 repeticiones por cada concentración de insecticida y cada repetición incluyó un testigo sin tratar. La metodología consistió en una arena de selección adaptada de Thuler et al. (2007). Cada repetición estuvo constituida por una arena de selección conformada por siete envases plásticos transparentes de 45 ml de volumen de los cuales seis estaban comunicados a un envase central por tubos plásticos de 2 cm de largo y 8 mm de diámetro (Figura 1). El envase central correspondió a la cámara de ingreso del parasitoide y los seis que rodeaban al central contenían larvas de *P. interpunctella* tratadas con las dosificaciones de insecticidas más un testigo (larva sin tratar), las cuales se ubicaron aleatoriamente en cada repetición para evitar un posible sesgo. En este bioensayo se utilizó la torre de Potter para asperjar cada dosificación de insecticida y el testigo sobre 20 larvas de *P. interpunctella* (5to instar) ubicadas en placas petri de 9 cm de diámetro. Para ello, la torre se ajustó para asperjar 4 ml de cada tratamiento a una presión de 6 psi. Una vez realizada la aplicación de insecticida, las larvas tratadas se posicionaron individualmente en los recipientes exteriores de la arena de selección. Posteriormente, en el envase central de cada arena de selección se ubicó una hembra adulta de *G. legneri* de 72 h de edad y, tras 24 h, se registró la selección del parasitoide sobre *P. interpunctella*.

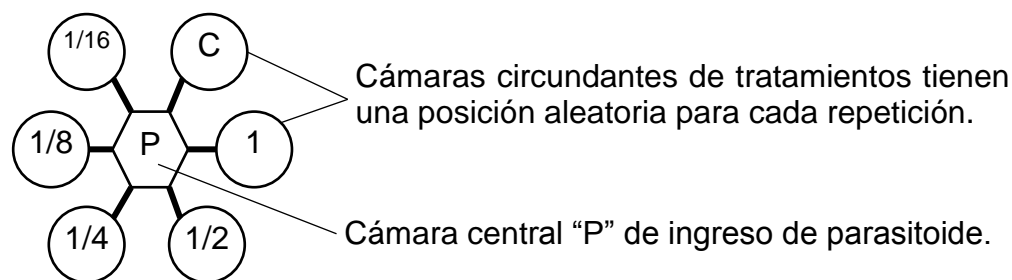


Figura 1. Arena de Selección de Hospederos Adaptada de Thuler et al. (2007).

Figure 1. Host Selection Arena Adapted from Thuler et al. (2007).

Diseño experimental y análisis estadístico. Los datos de mortalidad y efectos subletales de los diferentes bioensayos se analizaron en un diseño experimental completamente al azar. Los datos de mortalidad, cantidad de *P. interpunctella* parasitada, descendencia de *G. legneri* y emergencia de adultos de *G. legneri* se transformaron a raíz cuadrada de arcoseno y se sometieron a un análisis de varianza (ANDEVA) y una prueba de Tukey con un 95% de confianza ($p \leq 0.05$) tras realizar previamente los análisis de supuestos de normalidad y homocedasticidad con los test de Shapiro-Wilks y Levene, respectivamente. En aquellos datos que no cumplieron los supuestos se realizó un análisis no paramétrico de Kruskal-Wallis. La respuesta a cada dosificación de insecticidas se ajustó a un modelo Probit (Finney 1952) para estimar las concentraciones letales 50% (CL₅₀) y 90%(CL₉₀). Se utilizó una prueba de Chi-cuadrado (X^2) para analizar el efecto de los insecticidas en el parasitismo, y en la selección de hospederos tratados. Los análisis estadísticos se llevaron a cabo con el programa estadístico Statistical Analysis System (SAS).

Resultados y Discusión

Aspersión. El tratamiento que ocasionó la menor mortalidad fue espirotetramato en mezcla con tiacloprid, que provocó 12.2% de mortalidad en su dosis más elevada (D1.0, 1000 mg l⁻¹) a las 72 h de evaluación (Figura 2). Pirimicarb igualmente en su dosis más elevada (D1.0, 500 mg l⁻¹) y en el mismo tiempo de evaluación ocasionó una mortalidad de 24.7%. Imidacloprid, por su parte, eliminó un 83.4% de la población de insectos en su mayor concentración (Dosis comercial D1.0, 225 mg l⁻¹) a las 72 h de evaluación. El tratamiento que ocasionó la mayor mortalidad fue bifentrina, que provocó 100% de mortalidad de los parasitoides en las concentraciones más elevadas [40 y 80 mg l⁻¹ (D1/2 y D1.0)] a las 24 h de iniciado el bioensayo.

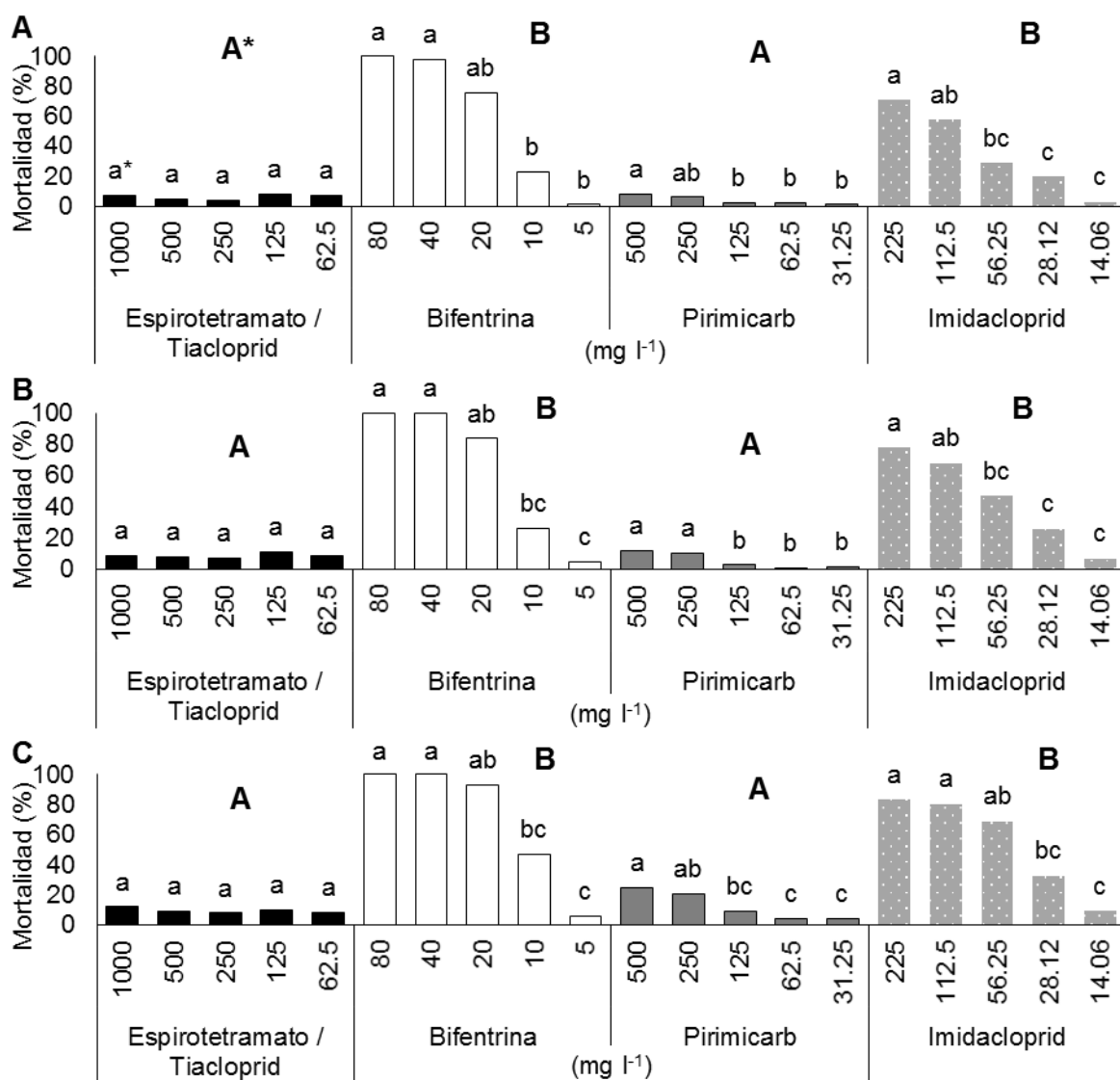


Figura 2. Mortalidad de *G. legneri* a las 24 (A), 48 (B) y 72 (C) h de exposición a diferentes concentraciones de insecticida.

Figure 2. Mortality of *G. legneri* at 24 (A), 48 (B) and 72 (C) h of exposure to different concentrations of insecticide.

*Prueba de Kruskal-Wallis: Valores con una letra diferente presentan diferencias significativas ($p < 0.05$). Letras mayúsculas señalan diferencias entre los tratamientos. Letras minúsculas comparan cada dosificación de un mismo tratamiento.

Al analizar las CL₅₀ y CL₉₀ de cada tratamiento sobre *G. legneri* (Tabla 4) se obtiene que espirotetramato en mezcla con tiacloprid es el compuesto menos tóxico con valores de CL₅₀ y CL₉₀ de 1.15E+12 mg l⁻¹ y 3.23E+21 mg l⁻¹ respectivamente, mientras que bifentrina es el más tóxico con valores de CL₅₀ y CL₉₀ de 9.62 mg l⁻¹ y 18.04 mg l⁻¹ respectivamente. La amplitud de los límites fiduciales de espirotetramato en mezcla con tiacloprid impide indicar diferencias significativas. Por otra parte, los intervalos de confianza de bifentrina demuestran que es significativamente más tóxico que imidacloprid y pirimicarb ya que los límites fiduciales de éstos no se traslaparon (Robertson et al. 2007). La toxicidad relativa al 50% de mortalidad (TR₅₀) indica que bifentrina es 4.9; 217.8 y 1.19E+11 veces más tóxico para *G. legneri* que imidacloprid, pirimicarb y espirotetramato en mezcla con tiacloprid, respectivamente.

Tabla 4. Concentración letal 50% (CL₅₀) y 90% (CL₉₀) de Insecticidas Evaluados en *G. legneri* a las 72 h de Exposición.

Table 4. Lethal Concentration 50% (LC₅₀) and 90% (LC₉₀) of Insecticides Assessed against *G. legneri* at 72 h of Exposure.

Tratamiento	b ^a	CL ₅₀ (LC 95%) ^b (mg l ⁻¹)	CL ₉₀ (LC 95%) ^b (mg l ⁻¹)	Pr>X ^{2c}	TR ₅₀ ^d
Espirotetramato/ Tiacloprid	0.14 ± 0.14	1.15E+12 (1.25E-48 - 1.06E+72)	3.23E+21 (3.51E-39 - 2.97E+81)	0.3316	1.19E+11
Bifentrina	4.69 ± 0.76	9.62 (8.43 - 11.24)	18.04 (14.56 - 26.70)	<0.0001	1.00
Pirimicarb	1.03 ± 0.20	2095 (964.85 - 12200)	37204 (7686 - 1551018)	<0.0001	217.83
Imidacloprid	1.95 ± 0.22	46.93 (37.30 - 58.11)	213.14 (153.65 - 348.40)	<0.0001	4.88

^aValor de pendiente. ^bConcentración letal al 50% y 90% de efectividad con límites fiduciales al 95% de probabilidad. ^cAjuste del modelo a una línea recta. ^dToxicidad relativa al 50% de mortalidad.

La baja toxicidad de espirotetramato se podría deber a su modo de acción, que inhibe la biosíntesis de lípidos durante el crecimiento y el desarrollo de los insectos (Dangi y Lim 2017), siendo especialmente efectivo en fases juveniles de insectos chupadores, lo que no coincide con las hembras adultas de *G. legneri* evaluadas en el presente trabajo. Con respecto a tiacloprid, Moens et al. (2012) han indicado que la susceptibilidad de himenópteros parasitoides a este ingrediente activo varía según la especie evaluada. A su vez, realizaron evaluaciones con tiacloprid sobre *Microplitis mediator* (Haliday) (Hymenoptera: Braconidae) sin encontrar efectos tóxicos directos significativos, lo cual es consistente con lo obtenido en el presente trabajo para *G. legneri* (Figura 2) (Tabla 4). Los resultados obtenidos para bifentrina coinciden con Khan y Alhewairini (2019), quienes evaluaron este insecticida en campo y registraron una disminución en la población de doce familias de parasitoides del orden Hymenoptera. Pirimicarb, se evaluó en el parasitoide de pulgones *Aphidius rhopalosiphi* (De Stefani-Perez) (Hymenoptera: Braconidae), y se obtuvo una mortalidad significativa (91,6 %) 24 h después de realizarse una aspersion directa de este insecticida (Borgemeister et al. 1993), lo cual no concuerda con los resultados obtenidos en este bioensayo. Sin embargo, Moens et al. (2012) indican que, si bien se conoce la toxicidad de pirimicarb en parasitoides de áfidos, ésta varía considerablemente según el tipo de bioensayo y la especie de parasitoide. Imidacloprid se ha evaluado en el parasitoide *Anagrus nilaparvatae* (Pang et Wang) (Hymenoptera: Mymanidae), mostrando una alta toxicidad por contacto (Wang et al. 2008), coincidiendo con los resultados obtenidos en la presente investigación para *G. legneri* (Figura 2) (Tabla 4).

Efectos subletales. Los tratamientos mostraron variaciones en el porcentaje de parasitismo efectuado por *G. legneri* sobre *P. interpunctella* (Figura 3). La prueba de Chi-cuadrado (X^2) indicó que, para los tratamientos de espirotetramato en mezcla con tiacloprid, bifentrina e imidacloprid, existe una mayor proporción de casos de parasitismo exitoso en las dosificaciones bajas que en las más elevadas. Sin embargo, el tratamiento de imidacloprid presentó un significativamente mayor

número de casos de parasitismo fallido ($p < 0.05$) en todas las concentraciones salvo en la menor [14.06 mg l^{-1} (D1/16)], donde no existió diferencia significativa entre casos de parasitismo exitoso o fallido. Pirimicarb mostró un comportamiento diferente a los demás tratamientos al no presentar diferencias significativas ($p > 0.05$) entre los casos de parasitismo exitoso y fallido en cada concentración, salvo en la más elevada (D1.0, 500 mg l^{-1}), donde se registraron significativamente más casos de parasitismo exitoso (76%) que fallido (24%).

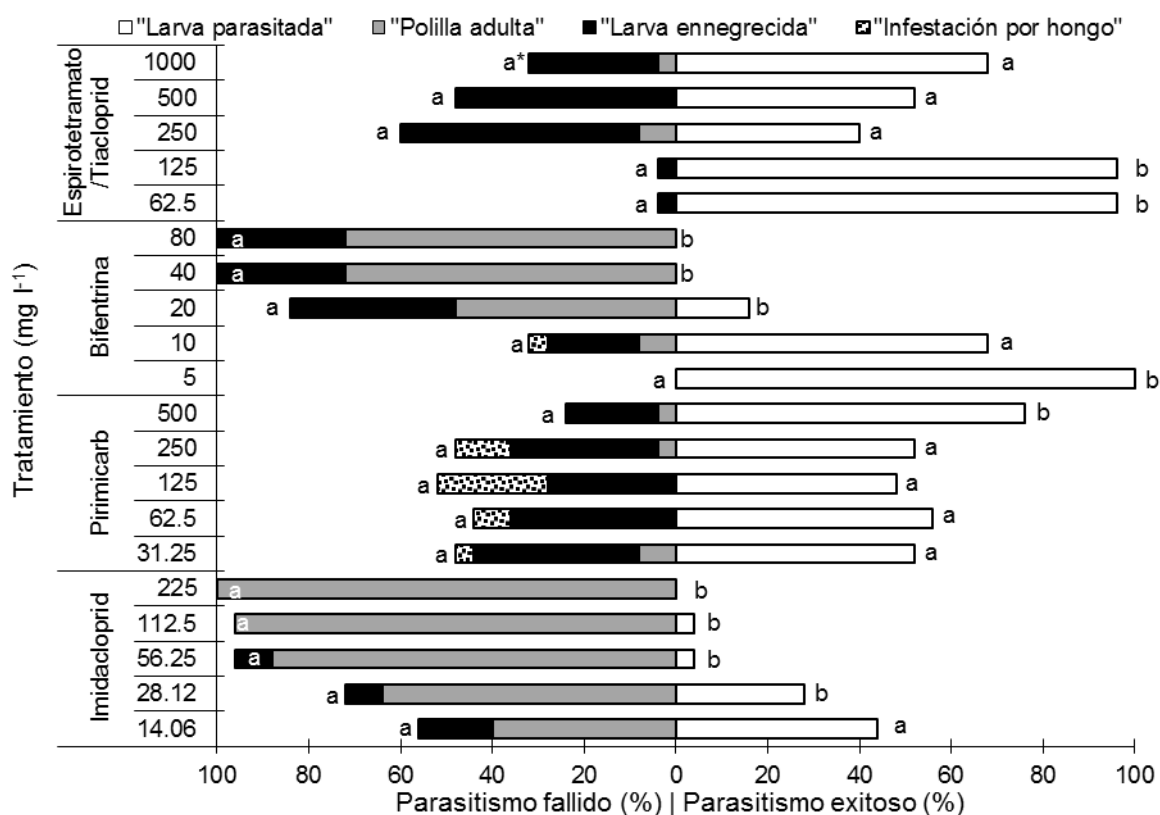


Figura 3. Parasitismo de *G. legneri* expuesto directamente a insecticidas sobre *P. interpunctella*.

Figure 3. Parasitism of *G. legneri* directly exposed to insecticides on *P. interpunctella*.

*Las letras indican los resultados obtenidos de la prueba de Chi-cuadrado (X^2) para cada caso de parasitismo bajo efecto insecticida. Prueba de Chi-cuadrado (X^2): Valores con una letra distinta son significativamente diferentes ($p < 0.05$).

Para el desarrollo de la progenie de *G. legneri*, imidacloprid presentó los mayores efectos subletales al ocasionar una disminución significativa en la cantidad de larvas de *G. legneri* en sus mayores concentraciones (112.5 y 225 mg l⁻¹; D1/2 y D1.0), lo que implicó también una menor cantidad de adultos con respecto a los demás tratamientos (Figura 4).

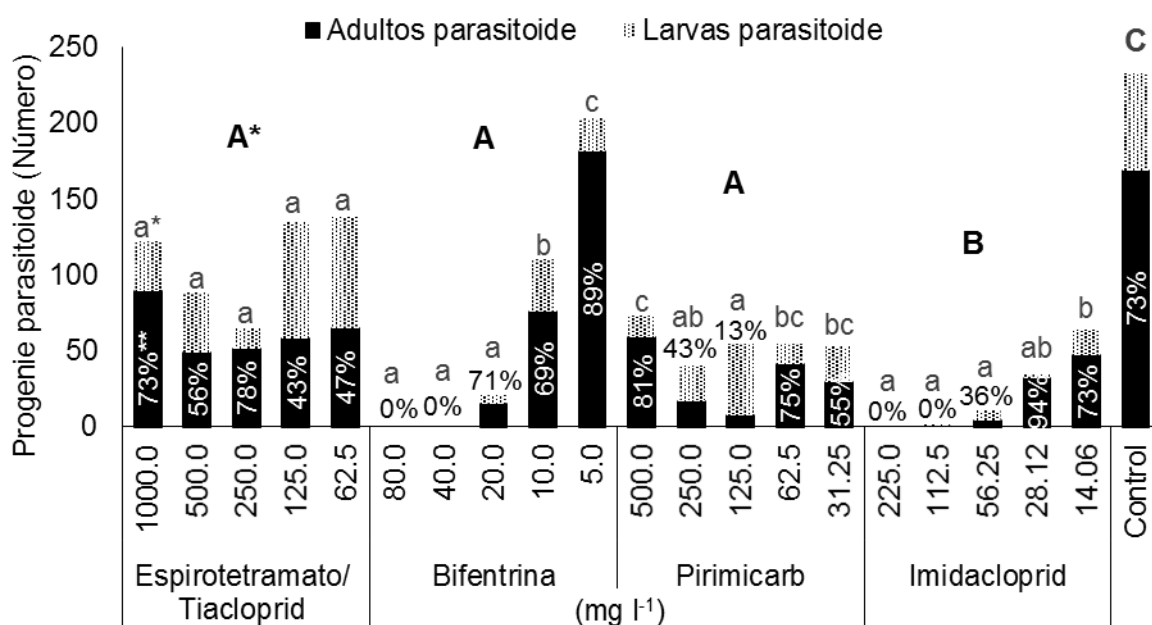


Figura 4. Progenie y porcentaje de conversión a adultos de *G. legneri* expuestos a insecticidas vía aspersion directa.

Figure 4. Progeny and percentage conversion to adults of *G. legneri* exposed to insecticides via direct spray.

*Prueba de Kruskal-Wallis: Valores con una letra diferente presentan diferencias significativas (p<0.05) en el número de parasitoides que completaron su desarrollo. Letras mayúsculas comparan los diferentes tratamientos. Letras minúsculas comparan las dosificaciones de cada tratamiento. **Porcentaje de parasitoides que completaron su desarrollo en adulto.

Espirotetramato en mezcla con tiacloprid presentó menores efectos negativos en el parasitismo sobre *P. interpunctella* (26.7%) lo que permitió clasificarlo como “Inofensivo” según la IOBC (Hassan et al. 1995) (Tabla 5). Además, esta clasificación se mantiene para este tratamiento en la reducción del porcentaje de adultos de *G. legneri* emergidos (18.1%), aunque, no existen diferencias significativas con los demás insecticidas. Los efectos subletales nocivos de imidacloprid se manifestaron en una reducción tanto del parasitismo sobre *P. interpunctella* (83.3%) como en la formación de nuevos parasitoides adultos (43.8%).

Tabebordbar et al. (2020) evaluaron espirotetramato en *Trichogramma evanescens* (Westwood) (Hymenoptera: Trichogrammatidae) obteniendo pocos efectos adversos en la tasa de emergencia de parasitoides, además de obtener una clasificación IOBC de nivel 1 para este insecticida, lo que coincide con los resultados obtenidos para *G. legneri*. Jones et al. (1998) reportaron que bifentrina provoca efectos subletales en los parasitoides *Eretmocerus mundus* (Mercet) y *Eretmocerus tejanus* (Rose y Zolnerowich) (Hymenoptera: Aphelinidae), que se manifiestan en la disminución de la emergencia en sus etapas de desarrollo y aunque se trata de diferentes parasitoides a los evaluados en la presente investigación, se obtiene la misma tendencia para los efectos subletales de bifentrina (Figura 4) (Tabla 5). Pirimicarb se evaluó en *Lysiphlebus fabarum* (Marshall) (Hymenoptera: Braconidae) por Mardani et al. (2016) y observaron efectos subletales adversos en los parámetros reproductivos con un nivel 1 según la clasificación IOBC (“inofensivo”). Este nivel de clasificación solo se obtuvo para el porcentaje de reducción de emergencia de adultos (26.8%) de *G. legneri* (Tabla 5). Los efectos subletales de imidacloprid para el parasitismo de *G. legneri* sobre su presa (Figura 3) (Tabla 5) son consistentes con Jam y Saber (2018), quienes obtuvieron una reducción en la tasa de ataque al hospedero por *L. fabarum* tratado con el mismo insecticida.

Tabla 5. Reducción de Parasitismo sobre *P. interpunctella* y Emergencia de Adultos de *G. legneri* Asperjados con Insecticidas.

Table 5. Reduction of Parasitism on *P. interpunctella* and Emergence of Adults of *G. legneri* Sprayed with Insecticides.

Tratamiento	Parasitismo sobre <i>P. interpunctella</i>			Emergencia de adultos de <i>G. legneri</i>		
	% larvas parasitadas	PR ¹	Clasificación ²	% conversión	PR ¹	Clasificación ²
Control	96.0 ± 0.0 A*	-	-	72.5 ± 0.0 A	-	-
Espirotetra./ Tiacloprid	70.4 ± 11.4 AB	26.7	1	59.4 ± 7.0 A	18.1	1
Bifentrina	36.8 ± 20.1 BC	61.7	2	45.9 ± 19.1 A	36.7	2
Pirimicarb	56.8 ± 5.0 ABC	40.8	2	53.1 ± 12.2 A	26.8	1
Imidacloprid	16.0 ± 8.6 C	83.3	3	40.8 ± 19.1 A	43.8	2

¹PR = "Porcentaje de reducción" de la capacidad de Parasitismo sobre *P. interpunctella* y de Emergencia de adultos de *G. legneri*.²Clasificación propuesta por Hassan et al. (1994) para la reducción en la capacidad benéfica del parasitoide. 1 = Inofensivo; 2 = Levemente nocivo; 3 = Moderadamente nocivo; y 4 = Nocivo.*Prueba de Kruskal-Wallis: Valores con distinta letra presentan diferencias significativas (p<0.05) en cuanto al porcentaje de larvas de *P. interpunctella* parasitadas y al porcentaje de emergencia de adultos de *G. legneri* de cada tratamiento.

Superficie tratada. Los bioensayos de superficie tratada mostraron una menor toxicidad de los insecticidas (Figura 5) en comparación a la obtenida en el bioensayo de aspersión directa. Tanto espirotetramato en mezcla con tiacloprid como el tratamiento de imidacloprid ocasionaron una mortalidad de 13.3% en sus dosis más elevadas (D1.0, 1000 y 225 mg l⁻¹ respectivamente) a las 72 h de exposición. Bifentrina, en su mayor dosis (80 mg l⁻¹), provocó un 52.9% de mortalidad a las 72 h. Pirimicarb, también en su mayor dosis (500 mg l⁻¹) y en el mismo tiempo de evaluación ocasionó la mayor mortalidad eliminando el 67.6% de los parasitoides.

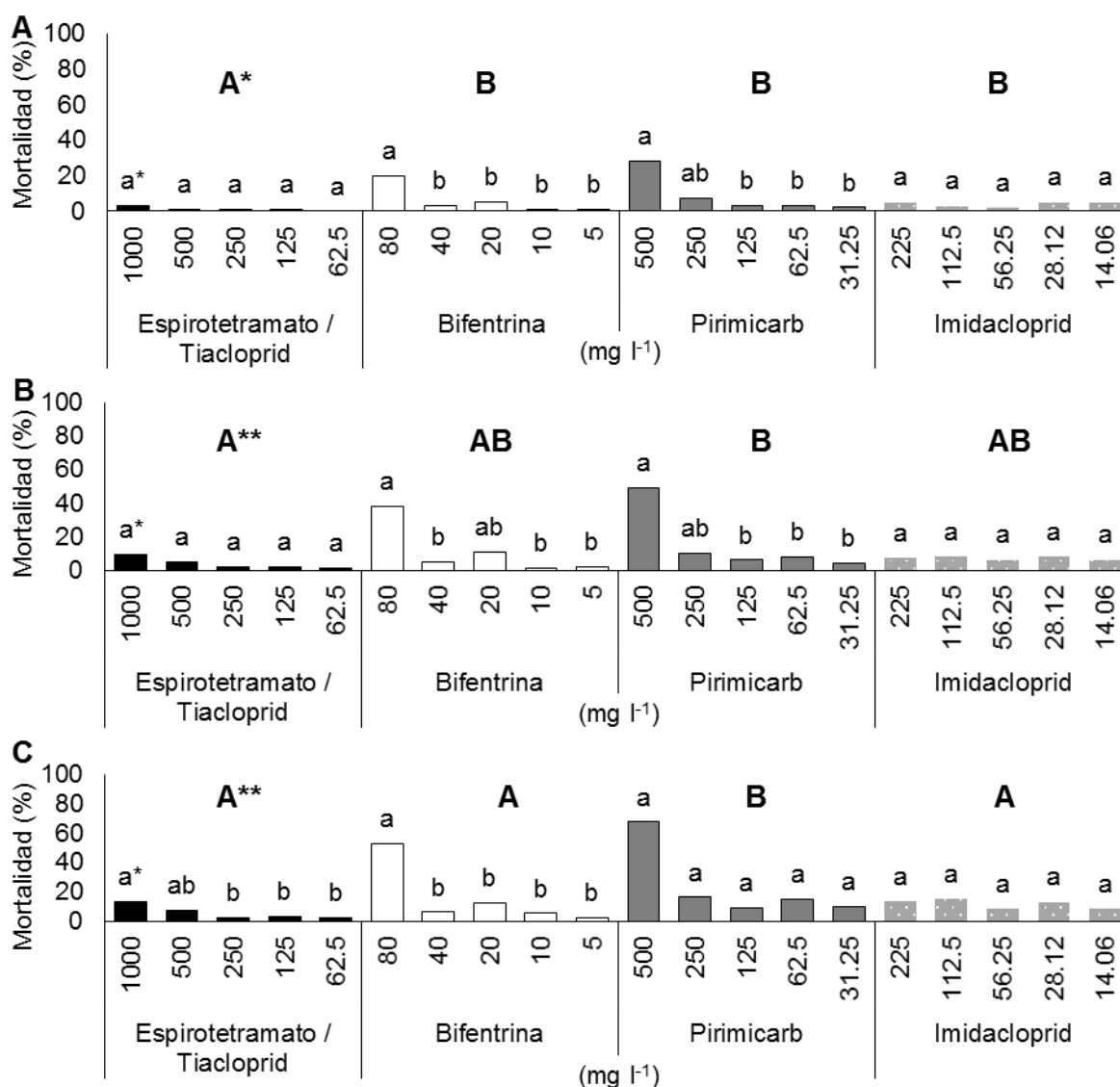


Figura 5. Mortalidad de *G. legneri* a las 24 (A), 48 (B) y 72 (C) h en una superficie tratada con concentraciones de diferentes insecticidas.

Figure 5. Mortality of *G. legneri* at 24 (A), 48 (B) and 72 (C) h on a surface treated with concentrations of different insecticides.

*Prueba de Kruskal-Wallis: Valores con una letra diferente presentan diferencias significativas ($p < 0.05$). ** Prueba de Tukey: Valores con una letra diferente presentan diferencias significativas ($p < 0.05$). Letras mayúsculas señalan diferencias entre los tratamientos. Letras minúsculas comparan cada dosificación de un mismo tratamiento.

El tratamiento que presentó mayor toxicidad fue bifentrina, con un valor de CL₅₀ de 107.3 mg l⁻¹ y CL₉₀ de 585.1 mg l⁻¹, respectivamente (Tabla 6). Sin embargo, no se registraron diferencias significativas entre este insecticida y pirimicarb, aunque ambos tratamientos fueron significativamente más tóxicos que espirotetramato en mezcla con tiaclopid. Imidaclopid fue el compuesto menos tóxico, pero la amplitud de sus límites fiduciales no permite indicar significancia (Robertson et al. 2007). Al analizar la toxicidad relativa al 50% de mortalidad, se obtiene que bifentrina fue 4.8; 217.3 y 274332 veces más tóxico para *G. legneri* que pirimicarb, espirotetramato en mezcla con tiaclopid, e imidaclopid respectivamente.

Tabla 6. Concentración Letal 50% (CL₅₀) y 90% (CL₉₀) de Insecticidas Evaluados en *G. legneri* a las 72 h de Exposición Superficial.

Table 6. Lethal Concentration 50% (LC₅₀) and 90% (LC₉₀) of Insecticides Assessed against *G. legneri* at 72 h of Surface Exposure.

Tratamiento	b ^a	CL ₅₀ (LC 95%) ^b (mg l ⁻¹)	CL ₉₀ (LC 95%) ^b (mg l ⁻¹)	Pr>X ^{2c}	TR ₅₀ ^d
Espirotetramato/ Tiaclopid	0.87 ± 0.25	23336 (4844 - 8797214)	705334 (42429 - 3.51E+10)	0.0005	217.32
Bifentrina	1.74 ± 0.43	107.38 (63.93 - 394.71)	585.18 (213.09 - 11421)	<0.0001	1.00
Pirimicarb	1.35 ± 0.35	514.46 (288.55 - 2257)	4612 (1354 - 221432)	0.0001	4.79
Imidaclopid	0.21 ± 0.22	29457779 (5.55E-10 - 1.56E+24)	3.74E+13 (7.04E-04 - 1.99E+30)	0.3476	274332.08

^aValor de pendiente. ^bConcentración letal al 50% y 90% de efectividad con límites fiduciales al 95% de probabilidad. ^cAjuste del modelo a una línea recta. ^dToxicidad relativa al 50% de mortalidad.

La baja mortalidad y toxicidad obtenida por espirotetramato en *G. legneri* se explica en que, por su modo de acción, tiene pocos efectos letales en insectos adultos (Dangi y Lim 2017). Dangi y Lim (2017) evaluaron espirotetramato sobre *Ooencyrtus nezarae* (Ishii) (Hymenoptera: Encyrtidae) y *Gryon japonicum* (Ashmead) (Hymenoptera: Scelionidae), obteniendo menos toxicidad en ambos parasitoides que

para su hospedero. La toxicidad de bifentrina es consistente con los resultados de Shankarganesh et al. (2013), quienes evaluaron diferentes superficies tratadas con este insecticida obteniendo alta toxicidad en el parasitoide de huevos *Trichogramma chilonis* (Ishii) (Hymenoptera: Trichogrammatidae), por lo que bifentrina fue catalogado como “peligroso”. Además, estos mismos autores obtuvieron que imidacloprid presenta toxicidad elevada contra *Trichogramma* spp. lo cual discrepa con la baja mortalidad y toxicidad para *G. legneri* que se presenta en este estudio (Figura 5) (Tabla 6). Sin embargo, Brunner et al. (2001) señalan que, si bien imidacloprid ha mostrado alta toxicidad al ser aplicado directamente en el parasitoide *Colpoclypeus florus* (Walker) (Hymenoptera: Eulophidae), prácticamente no mostró ningún efecto residual en follaje 24 h después de su aplicación, lo cual concuerda con los resultados de toxicidad presentados por este insecticida para *G. legneri*. Para pirimicarb, la elevada mortalidad de la superficie tratada concuerda con Moens et al. (2012), quienes obtuvieron una mortalidad de 100% de adultos de *M. mediator* tras 24 h de contacto con residuos secos de pirimicarb. Moens et al. (2012) también han señalado que la toxicidad de pirimicarb varía dependiendo del tipo de bioensayo y la especie de parasitoide empleada, lo cual se confirma al considerar la baja mortalidad obtenida para *G. legneri* asperjados directamente con este insecticida.

Efectos subletales. Los resultados muestran una mayor proporción de casos de parasitismo exitoso que de parasitismo fallido (Figura 6). La prueba de Chi-cuadrado (X^2) señaló que, para bifentrina, el parasitismo fue significativamente ($p < 0.05$) más exitoso en las dosis menores (20, 10 y 5 mg l⁻¹). Espirotetramato en mezcla con tiacloprid mostró una tendencia similar, excepto por la dosis más elevada (1000 mg l⁻¹, D1.0), que ocasionó un porcentaje de parasitismo fallido (80%) significativamente superior. Para pirimicarb, la prueba de Chi-cuadrado (X^2) reportó diferencias significativas en los casos de parasitismo exitoso en dosificaciones intermedias (250 y 125 mg l⁻¹ (D1/2 y D1/4)), lo que indica que *G. legneri* no disminuyó su capacidad controladora frente a estas dosis de pirimicarb. Diferente es lo observado en imidacloprid, donde la dosis comercial (225 mg l⁻¹) registró la mayor

proporción de casos de parasitismo exitoso (88%), aunque sin registrarse diferencias en las restantes dosis.

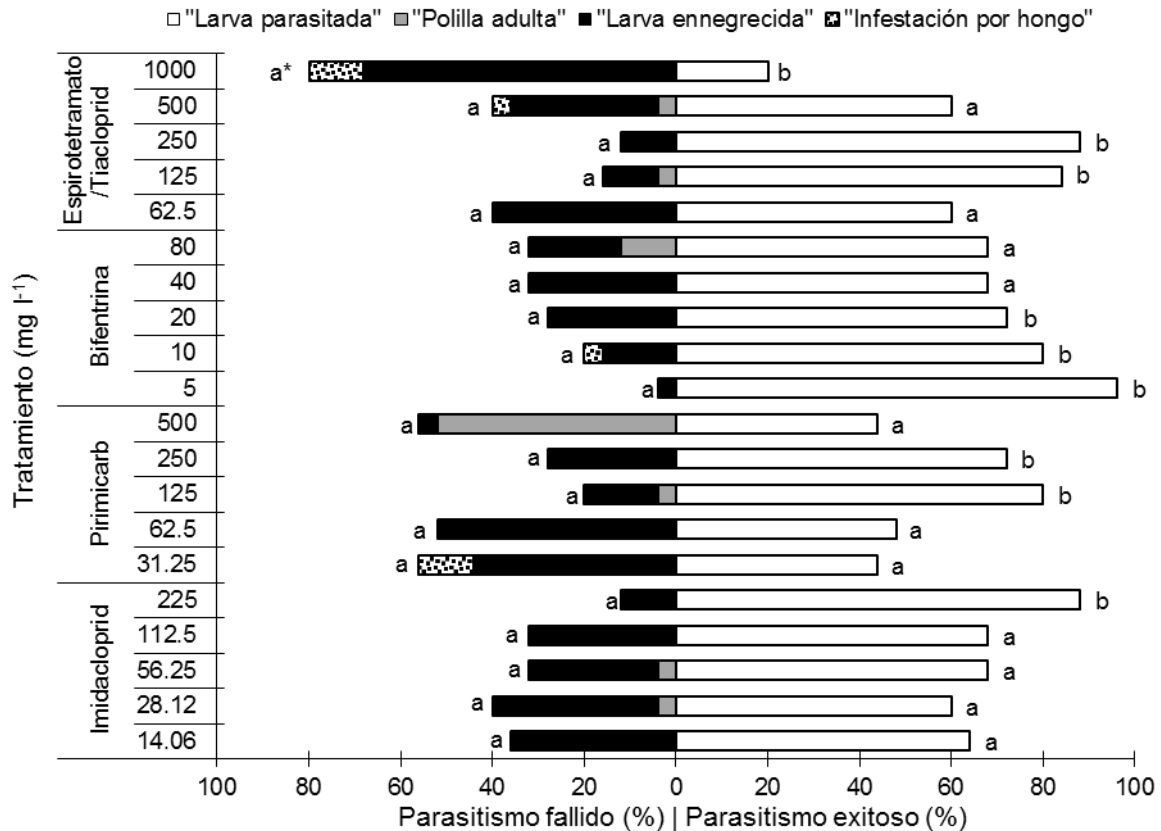


Figura 6. Parasitismo de *G. legneri* expuesto a superficie tratada con insecticidas sobre hospedero *P. interpunctella*.

Figure 6. Parasitism of *G. legneri* exposed to a surface treated with insecticides on the host *P. interpunctella*.

*Las letras indican los resultados obtenidos de la prueba de Chi-cuadrado (X^2) para cada caso de parasitismo bajo efecto de insecticida. Prueba de Chi-cuadrado (X^2): Valores con una letra distinta son significativamente diferentes ($p < 0.05$).

Siguiendo el desarrollo de la progenie de *G. legneri* (Figura 7), se observa que, salvo en el caso del control, donde se obtuvo una cantidad de parasitoides adultos significativamente superior, según la prueba de Kruskal-Wallis no existen diferencias

significativas ($p < 0.05$) en cuanto al número final de *G. legneri* que completaron su desarrollo entre cada tratamiento insecticida. En las dosificaciones de cada tratamiento, la única diferencia significativa se registró en bifentrina, donde la menor concentración de insecticida (D1/16) (5 mg l^{-1}) propició un desarrollo significativamente mayor de larvas de *G. legneri* a adultos.

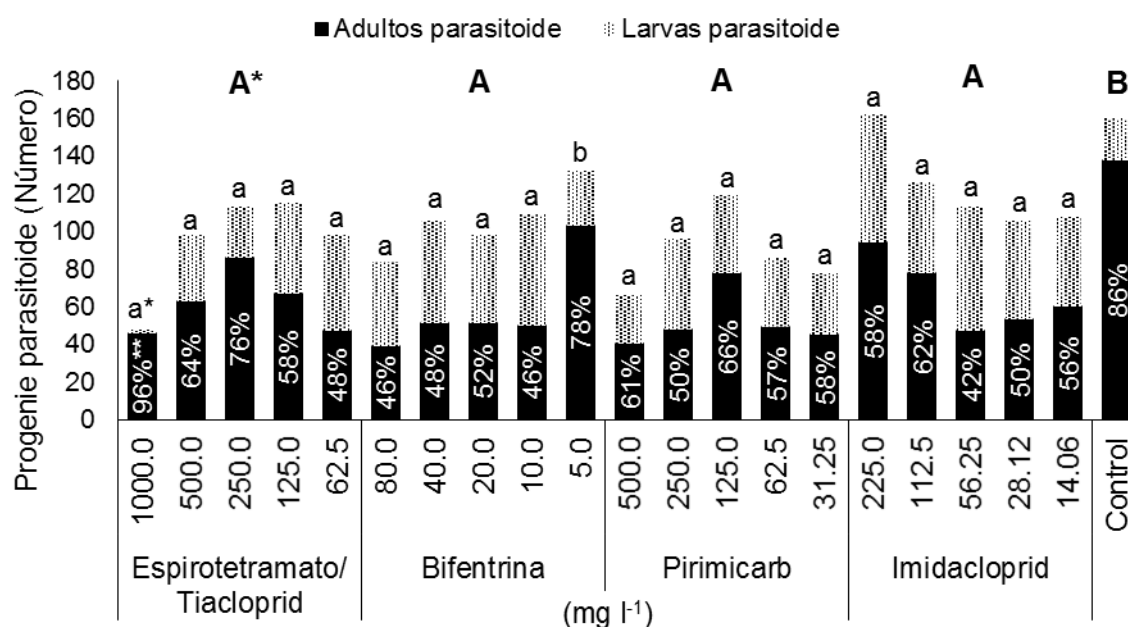


Figura 7. Progenie y porcentaje de conversión a adultos de *G. legneri* expuestos a insecticidas vía superficie tratada.

Figure 7. Progeny and percentage of conversion to adults of *G. legneri* exposed to insecticides via treated surface.

*Prueba de Kruskal-Wallis: Valores con una letra diferente presentan diferencias significativas ($p < 0.05$) en el número de parasitoides que completaron su desarrollo. Letras mayúsculas comparan los diferentes tratamientos con el control. Letras minúsculas comparan las dosificaciones de cada tratamiento.**Porcentaje de parasitoides que completaron su desarrollo en adulto.

Al examinar la reducción de la capacidad de parasitismo y de desarrollo de la progenie de *G. legneri* (Tabla 7), se observa que los insecticidas aplicados como superficie tratada no superan el nivel 2 de clasificación IOBC (“Levemente nocivo”) (Hassan et al. 1994). El mayor porcentaje de reducción de parasitismo de larvas de *P. interpunctella* lo presentó pirimicarb (37.4%), siendo el único insecticida que mostró un efecto negativo significativo ($p < 0.05$) con respecto al control. Sin embargo, la prueba de Tukey no mostró diferencias significativas ($p > 0.05$) entre los diferentes tratamientos de insecticida. El mayor porcentaje de reducción de emergencia de adultos de *G. legneri* lo presentó imidacloprid (38.1%), valor que tampoco mostró diferencias significativas ($p > 0.05$) con los demás insecticidas. Aunque, pirimicarb, bifentrina e imidacloprid si presentaron diferencias significativas ($p < 0.05$) con respecto al porcentaje de conversión de larvas parasitoides en adultos del control, indicando una mayor toxicidad.

El tratamiento de espirotetramato en mezcla con tiacloprid presentó efectos subletales “Levemente nocivos” con una reducción del parasitismo de *G. legneri* (clasificación IOBC de nivel 2) de un 32.2% (Tabla 7), lo cual no coincide con Yang et al. (2022), quienes reportaron efectos de estimulación en el parasitismo, aceleración de búsqueda y localización de hospedero, y aumento en la manipulación del hospedero, en *Encarsia formosa* (Gahan) (Hymenoptera: Aphelinidae) tratada con concentraciones bajas (72.785 mg l^{-1}) de espirotetramato. Además, Yang et al. (2022) reportaron una disminución en la actividad de búsqueda de *E. formosa* al ser tratada a una CL_{50} de $127.629 \text{ mg l}^{-1}$ de espirotetramato, lo cual tampoco es consistente con las altas tasas de parasitismo exitoso encontrados en concentraciones de 125 y 250 mg l^{-1} de este insecticida para *G. legneri* (Figura 6). Los efectos subletales reducidos de bifentrina en el parasitismo de *G. legneri* sobre *P. Interpunctella* (Figura 6) (Tabla 7) coinciden con Faal-Mohammad-Ali et al. (2015), quienes evaluaron al también piretroide fenprotrina en el ectoparásitoide larval *Habrobracon hebetor* (Say) (Hymenoptera: Braconidae) sin obtener disminuciones significativas en la eficiencia de búsqueda de este parasitoide. Pirimicarb obtuvo una clasificación IOBC de nivel 2 (“Levemente nocivo”) en los parámetros subletales

evaluados (Tabla 7), lo cual concuerda con los efectos negativos provocados por este insecticida en los parámetros demográficos de *Diaeretiella rapae* (M'Intosh) (Hymenoptera: Braconidae) reportados por Rezaei et al. (2018). Los efectos subletales de imidacloprid se clasifican como "inofensivos" (clasificación IOBC de nivel 1) para el parasitismo sobre *P. interpunctella* (Tabla 7), lo cual no concuerda con la reducción de las variables de parasitismo (tasa de ataque, tiempo de búsqueda de huésped, oviposición) de *L. fabarum* tratados con imidacloprid (Jam y Saber 2018). Los bajos efectos letales y subletales de imidacloprid aplicado como residuo superficial concuerdan con las observaciones de Brunner et al. (2001), quienes no encontraron efectos residuales de este insecticida en *C. florus* tras 24 h de una aplicación en campo.

Tabla 7. Reducción de Parasitismo sobre *P. interpunctella* y de Emergencia de Adultos de *G. legneri* Sometidos a una Superficie Tratada con Insecticidas.

Table 7. Reduction of Parasitism on *P. interpunctella* and Emergence of Adults of *G. legneri* Subjected to a Surface Treated with Insecticides.

Tratamiento	Parasitismo sobre <i>P. interpunctella</i>			Emergencia de adultos de <i>G. legneri</i>		
	% larvas parasitadas	PR ¹	Clasificación ²	% conversión	PR ¹	Clasificación ²
Control	92.0 ± 0.0 A*	-	-	86.3 ± 0.0 A*	-	-
Espirotetra./ Tiacloprid	62.4 ± 12.1 AB	32.2	2	68.5 ± 8.2 AB	20.6	1
Bifentrina	76.8 ± 5.3 AB	16.5	1	54.1 ± 6.1 B	37.3	2
Pirimicarb	57.6 ± 7.7 B	37.4	2	58.2 ± 2.5 B	32.6	2
Imidacloprid	69.6 ± 4.8 AB	24.4	1	53.4 ± 3.5 B	38.1	2

¹PR = "Porcentaje de reducción" de la capacidad de Parasitismo sobre *P. interpunctella* y de Emergencia de adultos de *G. legneri*.²Clasificación propuesta por Hassan et al. (1994) para la reducción en la capacidad benéfica del parasitoide. 1 = Inofensivo; 2 = Levemente nocivo; 3 = Moderadamente nocivo; y 4 = Nocivo. *Prueba de Tukey: Valores con una letra diferente presentan diferencias significativas (p<0.05) en cuanto al porcentaje de larvas de *P. interpunctella* parasitadas y al porcentaje de emergencia de adultos de *G. legneri* de cada tratamiento.

Repelencia. El bioensayo de selección de larvas de *P. interpunctella* tratadas (Figura 8), permitió observar la repelencia/preferencia de *G. legneri* por hospederos tratados con diferentes dosificaciones de insecticida. La prueba de Chi-cuadrado (X^2) señaló que las diferentes concentraciones de insecticida no influyeron en la selección de hospedero de *G. legneri*, por lo que cada elección efectuada por el parasitoide fue aleatoria.

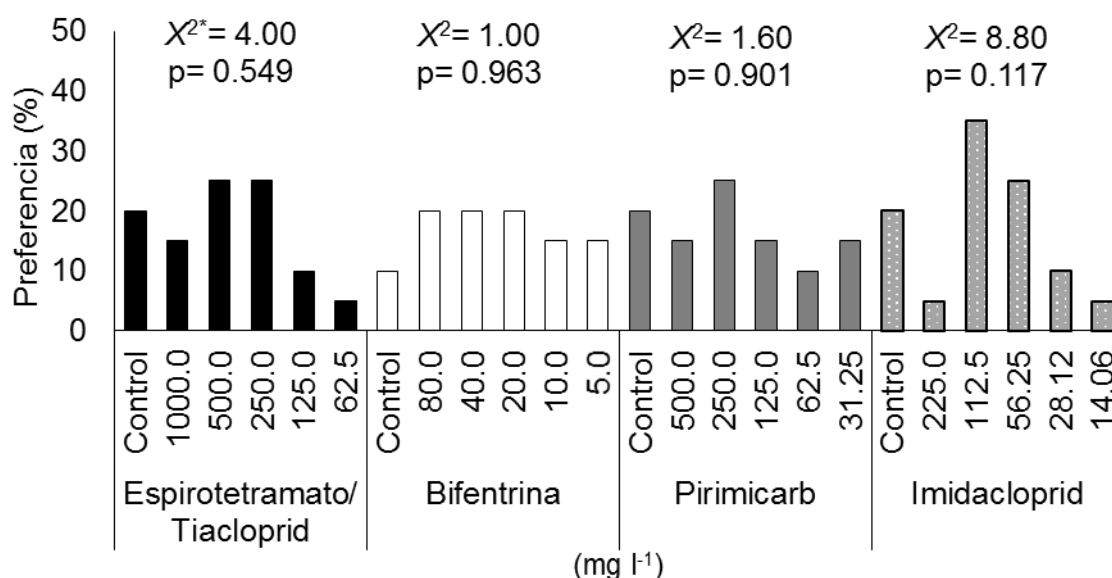


Figura 8. Preferencia de *G. legneri* por larvas de *P. interpunctella* tratadas con dosificaciones de insecticidas y el control.

Figure 8. Preference of *G. legneri* for *P. interpunctella* larvae treated with doses of insecticides and the control.

*Prueba de Chi-cuadrado de Pearson (X^2): En valores de p iguales o superiores a 0.05 ($p \geq 0.05$) la preferencia de *G. legneri* se produce por azar, no habiendo relación entre la elección y la dosis de insecticida.

Lo anterior concuerda con Fernández et al. (2017) y Desneux et al. (2004), quienes tampoco encontraron una respuesta significativa de repelencia o atracción para cada parasitoide tratado con bifentrina o pirimicarb, respectivamente. Para los demás insecticidas existen los antecedentes de Dangi y Lim (2017) y Aminijam (2017),

quienes constataron efectos significativos de repelencia en los parasitoides evaluados con tratamientos de espirotetramato e imidacloprid, lo cual no concuerda con lo obtenido para *G. legneri*.

Conclusión

El presente estudio aporta conocimientos sobre la toxicidad y algunos efectos subletales de insecticidas comerciales en el parasitoide *G. legneri*. De este modo se verifican posibles compatibilidades de uso de diferentes herramientas de control de plagas en un enfoque integrado. La mezcla insecticida de espirotetramato con tiacloprid presenta menores efectos negativos directos y subletales, mostrándose como una posible alternativa para ser utilizado junto al parasitoide en un programa de MIP. Los demás insecticidas tuvieron mayores efectos nocivos. Bifentrina presenta la mayor toxicidad directa sobre *G. legneri*, pirimicarb ocasionó una mayor mortalidad como residuo superficial e Imidacloprid tuvo los mayores efectos subletales negativos sobre los parámetros evaluados.

Agradecimiento

El primer autor agradece a la Agencia Nacional de Investigación y Desarrollo de Chile (ANID) y a la Universidad de Concepción Campus Chillán por la oportunidad y el apoyo otorgados durante su estancia en el Programa de Magíster en Ciencias Agronómicas. Así mismo, se agradece a Biobichos Ltda. por brindar material biológico y técnicas empleados en esta investigación.

Referencias citadas

- Abbott, W. S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. J. Econ. Entomol. 18: 265-267.
- Aminijam, N. 2017. Residual effect of imidacloprid and pymetrozine on orientation behaviour of *Lysiphlebus fabarum* Marshall, a parasitoid of the black bean

- aphid *Aphis fabae* Scopoli. Plant Protection (Scientific Journal of Agriculture) 40: 75-87.
- Araya, M. N., J. E. Araya, y M. A. Guerrero. 2004. Efectos de algunos insecticidas en dosis subletales sobre adultos de *Aphidius ervi* Haliday (Hymenoptera: Aphidiidae). Bol. San. Veg. Plagas 30: 247-254.
- Biondi, A., N. Desneux, G. Siscaro, and L. Zappalà. 2012. Using organic-certified rather than synthetic pesticides may not be safer for biological control agents: selectivity and side effects of 14 pesticides on the predator *Orius laevigatus*. Chemosphere 87: 803-812.
- Borgemeister, C., H. M. Poehling, A. Dinter, and C. Holler. 1993. Effects of insecticides on life-history parameters of the aphid parasitoid *Aphidius rhopalosiphi* [Hym, Aphidiidae]. Entomophaga 38: 245-255.
- Brunner, J. F., J. E. Dunley, M. D. Doerr, and E. H. Beers. 2001. Effect of pesticides on *Colpoclypeus florus* (Hymenoptera: Eulophidae) and *Trichogramma platneri* (Hymenoptera: Trichogrammatidae), parasitoids of leafrollers in Washington. J. Econ. Entomol. 94: 1075-1084.
- Cloyd, R. A. 2012. Indirect effects of pesticides on natural enemies, pp. 127-150. In R. P. Soundararajan [ed.], Pesticides-Advances in Chemical and Botanical Pesticides. IntechOpen, Rijeka, Croatia.
- Dangi, N., and U. T. Lim. 2017. Relative toxicity of spirotetramat to *Riptortus pedestris* (Hemiptera: Alydidae) and its egg parasitoids. J. Econ. Entomol. 110: 2016-2021.
- De Lima e Silva, C., N. Brennan, J. M. Brouwer, D. Commandeur, R. A. Verweij, and C. A. van Gestel. 2017. Comparative toxicity of imidacloprid and thiacloprid to different species of soil invertebrates. Ecotoxicology 26: 555-564.

- Desneux, N., H. Rafalimanana, and L. Kaiser. 2004. Dose-response relationship in lethal and behavioural effects of different insecticides on the parasitic wasp *Aphidius ervi*. *Chemosphere* 54: 619-627.
- Faal-Mohammad-Ali, H., H. Allahyari, and M. Saber. 2015. Sublethal effect of chlorpyrifos and fenprothrin on functional response of *Habrobracon hebetor* (Hym.: Braconidae). *Arch. Phytopathol. Pflanzenschutz* 48: 288-296.
- Fernández, M. D. M., I. Colomer, P. Medina, A. Ferreres, P. Del Estal, and E. Viñuela. 2017. Efficacy of a long-lasting bifenthrin-treated net against horticultural pests and its compatibility with the predatory mite *Amblyseius swirskii* and the parasitic wasp *Eretmocerus mundus*. *Pest Manag. Sci.* 73: 1689-1697.
- Ferrero, A., R. Laumann, M. M. Gutierrez, y T. Stadler. 2000. Evaluación en laboratorio de la toxicidad de insecticidas en *Cydia pomonella* L. (Lepidoptera: Tortricidae) y en su enemigo natural *Goniozus legneri* Gordh (Hymenoptera: Bethyridae). *Bol. Sanid. Veg. Plagas* 26: 559-575.
- Finney, D. J. 1952. Probit analysis: a statistical treatment of the sigmoid response curve. 2th ed. Cambridge university press, Cambridge, UK.
- Gammon, D. W., Z. Liu, A. Chandrasekaran, S. F. El-Naggar, Y. A. Kuryshev, and S. Jackson. 2019. Pyrethroid neurotoxicity studies with bifenthrin indicate a mixed Type I/II mode of action. *Pest. Manag. Sci.* 75: 1190-1197.
- Hajek, A. E., and J. Eilenberg. 2018. Natural enemies: an introduction to biological control. Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- Hassan, S. A., F. Bigler, H. Bogenschütz, E. Boller, J. Brun, J. N. M. Calis, J. Coremans-Pelseneer, C. Duso, A. Grove, U. Heimbach, N. Helyer, H. Hokkanen, G. B. Lewis, F. Mansour, L. Moreth, L. Polgar, L. Samsøe-Petersen, B. Sauphanor, A. Stäubli, G. Sterk, A. Vainio, M. Van de Veire, G.

- Viggiani, and H. Vogt. 1994. Results of the sixth joint pesticide testing programme of the IOBC/WPRS – Working Group “Pesticides and Beneficial Organisms”. *Entomophaga* 39: 107-119.
- IRAC International. 2022. The IRAC mode of action classification online [online]. Insecticide Resistance Action Committee International. <https://irac-online.org/>.
- Jam, N. A., and M. Saber. 2018. Sublethal effects of imidacloprid and pymetrozine on the functional response of the aphid parasitoid, *Lysiphlebus fabarum*. *Entomol. Gen.* 38: 173-190.
- Jones, W. A., M. A. Ciomperlik, and D. A. Wolfenbarger. 1998. Lethal and sublethal effects of insecticides on two parasitoids attacking *Bemisia argentifolii* (Homoptera: Aleyrodidae). *Biol. Control* 11: 70-76.
- Khan, F. R., and S. S. Alhewairini. 2019. Effects of insecticides on natural population of hymenopterous parasitoids in alfalfa (*Medicago sativa* L.) agro-ecosystem. *Pak. J. Agri. Sci.* 56: 1087-1093.
- Lacey, L. A., and T. R. Unruh. 2005. Biological control of codling moth (*Cydia pomonella*, Lepidoptera: Tortricidae) and its role in integrated pest management, with emphasis on entomopathogens. *Vedalia* 12: 33-60.
- Lengai, G. M., J. W. Muthomi, and E. R. Mbega. 2020. Phytochemical activity and role of botanical pesticides in pest management for sustainable agricultural crop production. *Sci. Afr.* 7: e00239.
- Luna-Cruz, A., J. R. Lomeli-Flores, E. Rodríguez-Leyva, L. D. Ortega-Arenas, y A. Huerta-de La Peña. 2011. Toxicidad de cuatro insecticidas sobre *Tamarixia triozae* (Burks) (Hymenoptera: Eulophidae) y su hospedero *Bactericera cockerelli* (Sulc) (Hemiptera: Triozidae). *Acta Zool. Mex.* 27(3): 509-526.

- Mardani, A., Q. Sabahi, A. Rasekh, and A. Almasi. 2016. Lethal and sublethal effects of three insecticides on the aphid parasitoid, *Lysiphlebus fabarum* Marshall (Hymenoptera: Aphidiidae). *Phytoparasitica* 44: 91-98.
- Maroofpour, N., M. Mousavi, M. J. Hejazi, S. Iranipour, H. Hamishehkar, N. Desneux, A. Biondi, and K. Haddi. 2021. Comparative selectivity of nano and commercial formulations of pirimicarb on a target pest, *Brevicoryne brassicae*, and its predator *Chrysoperla carnea*. *Ecotoxicology* 30: 361-372.
- Moens, J., L. Tirry, and P. De Clercq. 2012. Susceptibility of cocooned pupae and adults of the parasitoid *Microplitis mediator* to selected insecticides. *Phytoparasitica* 40: 5-9.
- Potter, C. 1952. An improved laboratory apparatus for applying direct sprays and surface films, with data on the electrostatic charge on atomized spray fluids. *Ann. Appl. Biol.* 39: 1-28.
- Rezaei, N., M. S. Mossadegh, F. Kocheyli, K. T. Jahromi, and A. Kavousi. 2018. Sub-Lethal Effects of Thiamethoxam and Pirimicarb on Life-Table Parameters of *Diaeretiella rapae* (Hymenoptera: Braconidae), Parasitoid of *Lipaphis erysimi* (Hemiptera: Aphididae). *International Journal of Agricultural and Biosystems Engineering* 12: 321-328.
- Robertson, J. L., R. M. Russell, H. K. Preisler, and N. E. Savin. 2007. *Pesticide bioassays with arthropods*. 2nd ed. CRC Press, Boca Raton, Florida.
- Shankarganesh, K., B. Paul, and R. D. Gautam. 2013. Studies on ecological safety of insecticides to egg parasitoids, *Trichogramma chilonis* Ishii and *Trichogramma brasiliensis* (Ashmead). *Natl. Acad. Sci. Lett.* 36: 581-585.

- Shanower, T. G., J. A. Wightman, A. P. Gutierrez, and G. R. Rao. 1992. Larval parasitoids and pathogens of the groundnut leaf miner, *Aproaerema modicella* (Lep.: Gelechiidae), in India. *Entomophaga* 37: 419-427.
- Souza, J. R., G. A. Carvalho, A. P. Moura, M. H. G., Couto, and J. B. Maia. 2013. Impact of insecticides used to control *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) in corn on survival, sex ratio, and reproduction of *Trichogramma pretiosum* Riley offspring. *Chil. J. Agric. Res.* 73: 122-127.
- Tabebordbar, F., P. Shishehbor, M. Ziaee, and F. Sohrabi. 2020. Lethal and sublethal effects of two new insecticides spirotetramat and flupyradifurone in comparison to conventional insecticide deltamethrin on *Trichogramma evanescens* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *J. Asia Pac. Entomol.* 23: 1114-1119.
- Thuler, R. T., H. X. L. Volpe, S. A. De Bortoli, R. M. Goulart, and C. L. T. P. Viana. 2007. Metodologia para avaliação de preferência hospedeira de parasitoides do gênero *Trichogramma* Westood. *Bol. Sanid. Veg.* 33: 333-340.
- Todoroki, Y., and H. Numata. 2018. Factors affecting sequential sex allocation in the parasitoid wasp *Gryon japonicum*. *Entomol. Sci.* 21: 193-197.
- Wang, H. Y., Y. Yang, J. Y. Su, J. L. Shen, C. F. Gao, and Y. C. Zhu. 2008. Assessment of the impact of insecticides on *Anagrus nilaparvatae* (Pang et Wang) (Hymenoptera: Mymanidae), an egg parasitoid of the rice planthopper, *Nilaparvata lugens* (Hemiptera: Delphacidae). *Crop Prot.* 27: 514-522.
- Yang, S. W., M. J. Li, H. P. Shang, Y. H. Liu, X. X Li, Z. X. Jiang, G. H. Chen, and X. M. Zhang. 2022. Effect of sublethal Spirotetramat on host locating and parasitic behavior of *Encarsia formosa* Gahan. *Pest Manag. Sci.* 78: 329-335.

CAPÍTULO III

Toxicidad y Efectos Subletales de Insecticidas Naturales en *Goniozus legneri* Gordh (Hymenoptera: Bethylidae)

Toxicity and Sublethal Effect of Natural Insecticides in *Goniozus legneri* Gordh (Hymenoptera: Bethylidae)

José Leyton¹, Gonzalo Silva¹, Marcela Rodríguez², J.C. Rodríguez³ y Julio S. Bernal⁴.

¹Facultad de Agronomía, Universidad de Concepción, Vicente Méndez 595, Chillán, Chile.

²Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas. Universidad de Concepción, Víctor Lamas 1290, Concepción, Chile.

³Posgrado en Fitosanidad-Entomología y Acarología. Colegio de Postgraduados. Carretera Federal México-Texcoco. Km 36,5 Texcoco. Estado de México, México.

⁴Department of Entomology. Texas A&M University. College Station. USA.

Revista: Bulletin of Insectology

Fecha de envío: En desarrollo.

Palabras índice adicionales: manejo integrado de plagas, control biológico, parasitoides, insecticidas, dosis sublévales

Resumen

Goniozus legneri Gordh es un parasitoide de larvas de coleópteros y lepidópteros y los bioinsecticidas pueden afectar su desempeño como agente de control biológico. El objetivo fue evaluar los efectos letales y subletales de los insecticidas *Bacillus thuringiensis* B., azadiractina, polisulfuro de calcio y piretrinas en concentraciones de 1.0 (dosis comercial), 1/2, 1/4, 1/8 y 1/16 sobre adultos de *G. legneri*. La exposición fue por aspersión directa y por contacto con una superficie tratada. La mortalidad se registró a las 24, 48 y 72 h. Se evaluó el parasitismo sobre *Plodia interpunctella*, su descendencia (F_1) y el efecto repelente. *Bacillus thuringiensis* ocasionó la menor mortalidad (aspersión= 19.2%; residual= 14.5%) y los menores efectos subletales en

todos los parámetros evaluados. Azadiractina tuvo la menor CL_{50} (aspersión $CL_{50} = 14,127 \text{ mg l}^{-1}$; residual $CL_{50} = 3,914 \text{ mg l}^{-1}$) y el mayor efecto subletal en el parasitismo (-67.2%) cuando se aplicó directamente. El polisulfuro de calcio presentó la CL_{50} más alta en aspersión directa ($145,310 \text{ mg l}^{-1}$) y efectos subletales menores en la F_1 del parasitoide (-10.8%) derivado de la exposición a una superficie tratada. Las piretrinas ocasionaron la toxicidad más elevada (100% de mortalidad en la dosis comercial), siendo además el único insecticida que tuvo un efecto atrayente sobre *G. legneri* al ser aplicado sobre su hospedero. Se concluye que *B. thuringiensis*, es la mejor alternativa para uso conjunto con *G. legneri* en un programa MIP.

Abstract

Goniozus legneri Gordh is a parasitoid of Coleopteran and Lepidopteran larvae and bioinsecticides may affect its performance as a biological control agent. The objective was to evaluate the lethal and sublethal effects of insecticides *Bacillus thuringiensis* B., azadirachtin, calcium polysulfide, and pyrethrins at concentrations of 1.0 (commercial dose), 1/2, 1/4, 1/8 and 1/16 on adults of *G. legneri*. Exposure was by direct spray and by contact with a treated surface. Mortality was recorded at 24, 48, and 72 h. Parasitism on *Plodia interpunctella*, its offspring (F_1) and the repellent effect were evaluated. *Bacillus thuringiensis* caused the lowest mortality (spraying= 19.2%; residual= 14.5%) and the least sublethal effects in all the parameters evaluated. Azadirachtin had the lowest LC50 (spray LC50 = 14,127 mg l⁻¹; residual LC50 = 3,914 mg l⁻¹) and the greatest sublethal effect on parasitism (-67.2%) when applied directly. Calcium polysulfide presented the highest LC50 in direct spray (145,310 mg l⁻¹) and minor sublethal effects in the F_1 of the parasitoid (-10.8%) derived from exposure to a treated surface. Pyrethrins caused the highest toxicity (100% mortality in the commercial dose), being also the only insecticide that had an attractive effect on *G. legneri* when applied to its host. It is concluded that *B. thuringiensis* is the best alternative for joint use with *G. legneri* in an IPM program.

Introducción

Las estrategias de protección de cultivos se utilizan para prevenir o reducir las pérdidas ocasionadas en los cultivos por los insectos plaga (Dhaliwal et al. 2015). Sin embargo, el manejo convencional centrado en el uso de insecticidas de amplio espectro ha generado efectos adversos significativos al ambiente y ha propiciado el desarrollo de plagas resistentes (Lacey y Unruh, 2005). Actualmente los esfuerzos se enfocan en la búsqueda de alternativas de bajo riesgo, como el uso de sustancias bioplaguicidas y agentes de control biológico (Oguh et al. 2019). Estas tácticas se pueden integrar armónicamente como parte de un programa de manejo integrado de plagas (MIP).

Los bioinsecticidas son compuestos que se caracterizan por tener baja toxicidad contra organismos no blanco y el ambiente (Hara, 2000). En esta categoría se encuentran formulaciones basadas en microorganismos como *Bacillus thuringiensis* (Berliner), que actúa como toxina estomacal fundamentalmente en larvas de lepidópteros y mosquitos (Chattopadhyay, 2004), preparados como el polisulfuro de calcio, compuesto que presenta actividad fungicida, acaricida e insecticida (Vacacela Ajila et al. 2019) y extractos botánicos, como el aceite de Neem [*Azadirachta indica* (A. Juss) (Meliaceae)], que tiene efecto regulador de crecimiento y disuasivo de alimentación y oviposición (Reddy, 2016) y las piretrinas derivadas de *Tanacetum cinerariifolium* (Trevir.) Sch.Bip. (Asteraceae), que ocasionan hiperexcitación neuronal con descargas sinápticas persistentes (Gupta y Crissmas, 2013).

El control biológico consiste en la supresión del potencial reproductivo de las plagas a través de la acción de depredadores y parasitoides (Hajek y Eilenberg, 2018). Entre estos últimos, *Goniozus legneri* (Gordh) (Hymenoptera: Bethyridae), destaca como enemigo natural de larvas de lepidópteros y coleópteros (Garrido et al. 2005), por lo que presenta potencial para el control de insectos asociados a diversos cultivos y frutales (Ferrero et al. 2000).

Sin embargo, los bioinsecticidas, al igual que los sintéticos, pueden afectar a los enemigos naturales causando efectos tóxicos o subletales en parámetros como la fecundidad, reproducción, tiempo de desarrollo y parasitismo, entre otros (Cloyd,

2012). Por ello, para aportar conocimientos sobre estas estrategias de control de bajo impacto, este trabajo tuvo por objetivo determinar los efectos letales y subletales de los insecticidas *B. thuringiensis*, azadiractina, polisulfuro de calcio y piretrinas en el parasitoide *G. legneri*.

Materiales y Métodos

La investigación se llevó a cabo en el Laboratorio de Entomología y Acarología Agropecuaria de la Facultad de Agronomía de la Universidad de Concepción, Campus Chillán, Región de Ñuble, Chile.

Insecticidas

Se emplearon formulaciones de bioinsecticidas comerciales (Tabla 1). Estos insecticidas se seleccionaron debido a que cuentan con la autorización oficial para el control de plagas en numerosos cultivos. Se evaluaron las siguientes dosificaciones: 1.0 (comercial), 1/2; 1/4; 1/8 y 1/16 de esta concentración (Tabla 2).

Tabla 1. Insecticidas evaluados en condiciones de laboratorio contra *G. legneri*.

Nombre comercial	Ingrediente activo	Concentración Ingrediente activo	Clasificación grupo IRAC*	Clasificación subgrupo IRAC*
DIPEL® WG	<i>Bacillus thuringiensis</i>	64 g kg ⁻¹	11. Disruptores microbianos de las membranas digestivas de insectos	11A <i>Bacillus thuringiensis</i> y las proteínas insecticidas que producen
ACEITE DE NEEM	Azadiractina	10 ml l ⁻¹	UN. Compuestos de modo de acción desconocido o incierto	Azadiractín
POLISUL® 35	Polisulfuro de Calcio	348 g l ⁻¹	UN. Compuestos de modo de acción desconocido o incierto	Azufre de cal
SPEE 3 EW®	Piretrinas	30 g l ⁻¹	3. Moduladores del canal de sodio	3A Piretroides Piretrinas
	Butóxido de piperonilo	150 g l ⁻¹	27 Sinergistas	27A Inhibidor de monooxigenasa dependiente de P450

*IRAC = "Insecticide Resistance Action Committee". The IRAC mode of action classification online (IRAC International, 2022) (www.irc-online.org).

Tabla 2. Dosificaciones evaluadas en laboratorio contra adultos de *G. legneri*.

Insecticida	Dosificación (mg l ⁻¹)				
	D1.0*	D1/2	D1/4	D1/8	D1/16
<i>Bacillus thuringiensis</i>	16600	8320	4160	2082	1040
Azadiractina	10000	5000	2500	1250	625
Polisulfuro de Calcio	50000	25000	12500	6250	3125
Piretrinas	100000	50000	25000	12500	6250

* Dosis comercial (D) mínima recomendada por el fabricante.

Insectos

Se utilizaron adultos de *G. legneri* proporcionados por la empresa Biobichos Ltda. en Chillán, Región de Ñuble, Chile. Estos insectos se reprodujeron en el laboratorio de Entomología y Acarología Agropecuaria en larvas de *Plodia interpunctella* (Hübner) (Lepidoptera: Pyralidae). Esta especie de Lepidoptera también se utilizó como huésped para el parasitoide durante los bioensayos. El manejo de la colonia de *P. interpunctella* se realizó en contenedores de vidrio de 5 l de capacidad localizados en una cámara bioclimática (Memmert Gmbb, JPS 749, Schwabach, Germany) ajustada a $65 \pm 5\%$ de humedad relativa (HR) y $26 \pm 5^\circ\text{C}$ de temperatura.

Bioensayos

Aspersión

Para la aspersión directa de los adultos se utilizó la metodología de Brunner et al. (2001). Para los bioensayos se emplearon 20 hembras adultas de *G. legneri* de 72 h de edad con cinco repeticiones por cada dosis de bioinsecticida más un testigo consistente en agua destilada. Grupos de 20 hembras (72 h de edad) se anestesiaron en frío por 90 s a $-15 \pm 2^\circ\text{C}$ (Todoroki y Numata, 2018) y se colocaron en placas Petri plásticas de 60 mm de diámetro con un disco de papel filtro en su interior. Posteriormente, con una torre de Potter (Potter, 1952), a una presión de 6 psi se asperjaron los parasitoides con 4 ml del insecticida respectivo. Posteriormente, los insectos se confinaron en las placas Petri a temperatura ambiente ($20 \pm 2^\circ\text{C}$)

cubiertas con tela de tul para evitar un potencial efecto fumigante que no se produce en condiciones de campo (Araya et al. 2004). La mortalidad se evaluó a las 24, 48 y 72 h. Se consideró muerto aquel insecto que no reacciona o que presenta escasa movilidad al ser tocado con un pincel número cero, como lo sugiere Luna-Cruz et al. (2011). La mortalidad en el testigo se toleró hasta un 20% y los datos de los tratamientos se corrigieron con la fórmula de Abbott (1925).

Superficie tratada

Se utilizó la metodología de Araya et al. (2004) consistente en asperjar, con una torre de Potter (Potter, 1952) y a una presión de 12 psi, 0.5 ml del insecticida respectivo sobre el interior de placas Petri plásticas de 60 mm. A continuación las placas Petri se dejaron secar a temperatura ambiente ($20 \pm 2^\circ\text{C}$) por 40 min. Posteriormente, en cada placa se depositaron 20 hembras adultas de *G. legneri* de 72 h de edad, previamente anestesiadas en frío a $-15 \pm 2^\circ\text{C}$ por 90 s (Todoroki y Numata, 2018). Finalmente, las placas se cubrieron con tela de tul para permitir el intercambio gaseoso y evitar un efecto de cámara letal. Cada tratamiento tuvo cinco repeticiones y la mortalidad se registró a las 24, 48 y 72 h. Se utilizó el criterio de Luna-Cruz et al. (2011) que considera muertos a los insectos que no reaccionan o que presentan escasa movilidad al ser estimulados con un pincel número cero. Al igual que en el bioensayo anterior, la máxima mortalidad aceptada en el testigo fue de 20% y los datos obtenidos en los tratamientos se corrigieron con la fórmula de Abbott (1925).

Efectos Subletales

Los efectos subletales se evaluaron de acuerdo a Ferrero et al. (2000) y Brunner et al. (2001). De los parasitoides que sobrevivieron a las 72 h de exposición en los bioensayos anteriores, se seleccionaron cinco hembras al azar por repetición y se depositaron individualmente en envases plásticos transparentes de 45 ml que contenían una larva de *P. interpunctella* (5to instar) junto con una solución de agua y miel al 90%:10%. Los efectos subletales se evaluaron cada 72 h. Las variables estimadas fueron proporción de casos de parasitismo exitoso, cantidad de progenie

(F_1) del parasitoide y el número de parasitoides adultos desarrollados a partir de la F_1 . El parasitismo se registró por medio de observaciones de las larvas de *P. interpunctella*, clasificando su estado de acuerdo a Shanower et al. (1992) (Tabla 3). Posteriormente, se determinó el número de la progenie (F_1) y su potencial de desarrollo contabilizando los parasitoides en estadios inmaduros y adultos, obteniendo así el porcentaje de parasitoides que completaron su ciclo de desarrollo. Los efectos subletales de cada insecticida en la reducción de parasitismo y emergencia de *G. legneri* se clasificaron según la escala de Hassan et al. (1994) de acuerdo con la Organización Internacional para el Control Biológico (IOBC). Para ello, se utilizó la fórmula de reducción de capacidad benéfica de Souza et al. (2013).

Tabla 3. Clasificación de los efectos subletales de acuerdo a los criterios de Shanower et al. (1992).

Observación	Clasificación
Pupa o adulto de <i>P. interpunctella</i>	“Parasitismo fallido”
Larva de <i>P. interpunctella</i> oscurecida o presencia de hongos	“Parasitismo fallido”
Larva, pupa o adulto de descendencia de <i>G. legneri</i>	“Parasitismo exitoso”

Repelencia

La repelencia de *G. legneri* por larvas de *P. interpunctella* tratadas con insecticida se evaluó con una arena de selección basada en la metodología de Thuler et al. (2007). Cada tratamiento tuvo 20 repeticiones consistentes en una arena de selección constituida por siete envases plásticos transparentes de 45 ml de capacidad, de los cuales seis estaban comunicados con un envase central por tubos plásticos de 2 cm de largo y 8 mm de diámetro (Figura 1). El envase central se utilizó como entrada para el parasitoide, mientras que los seis envases restantes contenían larvas de *P. interpunctella* asperjadas previamente con las diferentes dosis de insecticida más un testigo. Cada larva de *P. interpunctella* se ubicó de manera aleatoria en cada repetición para evitar un posible sesgo. Las larvas se asperjaron con una torre de

Potter ajustada para aplicar 4 ml de cada tratamiento a una presión de 6 psi. Las aplicaciones se realizaron en 20 larvas de *P. interpunctella* (5to instar) ubicadas sobre placas Petri plásticas de 9 cm de diámetro. Posteriormente, estas larvas se colocaron individualmente en las respectivas cámaras exteriores de la arena de selección y en la cámara central se ubicó una hembra adulta de *G. legneri* de 72 h de edad. Transcurridas 24 h se registró la selección de cada parasitoide.

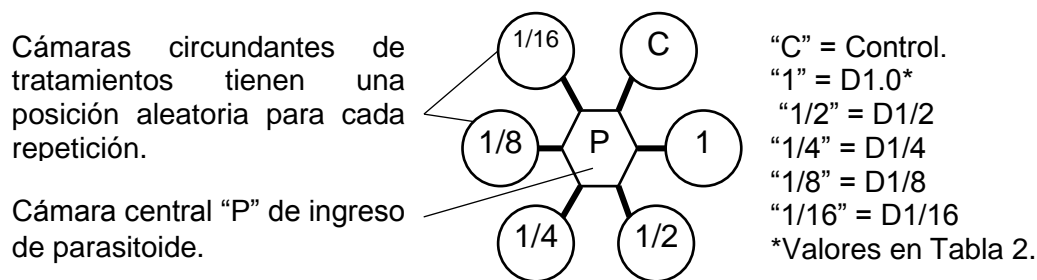


Figura 1. Arena de selección de hospederos adaptada de Thuler et al. (2007).

Diseño experimental y análisis estadístico

Los datos de mortalidad y efectos subletales se analizaron en un diseño completamente al azar. Los datos de mortalidad, número de *P. interpunctella* parasitada y descendencia y emergencia de adultos de *G. legneri* se transformaron a la raíz cuadrada de arcoseno de la tasa de la respuesta y se utilizó un análisis de varianza (ANDEVA) con una prueba de medias de Tukey en un 95% de confianza ($p \leq 0.05$). Previamente se analizaron los los supuestos de normalidad y homocedasticidad con los test de Shapiro-Wilks y Levene, respectivamente. Los datos que no cumplieron los supuestos se sometieron a un análisis no paramétrico de Kruskal-Wallis. La respuesta a cada dosificación de insecticida se ajustó con un modelo Probit (Finney, 1952) para estimar la Concentración Letal 50% (CL₅₀) y 90% (CL₉₀). Para analizar el efecto de los insecticidas en el parasitismo, y en la selección de hospederos tratados, se utilizó una prueba de Chi-cuadrado (χ^2). Los análisis estadísticos se realizaron con el programa estadístico Statistical Analysis System (SAS) (SAS, 1998).

Resultados y Discusión

Aspersión

La menor toxicidad se obtuvo con el tratamiento de *B. thuringiensis*. Este tratamiento, a las 72 h de exposición, produjo 19.2% de mortalidad los parasitoides en su dosis comercial (D1.0, 16600 mg l⁻¹) (Figura 2). El Polisulfuro de calcio, en su mayor concentración (D1.0, 50000 mg l⁻¹) y al mismo tiempo de aplicación, eliminó al 34.7% de la población de parasitoides. Azadiractina, a las 72 h, presentó una mortalidad de 64.2% de parasitoides en su mayor concentración (Dosis comercial = 10000 mg l⁻¹). La mayor toxicidad se obtuvo con el tratamiento de piretrinas que, en todas las concentraciones y tiempos de evaluación, ocasionó un 100% de mortalidad de *G. legneri* (Figura 2).

Al analizar las CL₅₀ y CL₉₀ (Tabla 4) se estima que polisulfuro de calcio fue el insecticida menos tóxico (CL₅₀= 145,310 mg l⁻¹), seguido por *B. thuringiensis* (CL₅₀= 61,031 mg l⁻¹). El compuesto más tóxico fue azadiractina, con una CL₅₀ de 14,127 mg l⁻¹ y una CL₉₀ de 176,854 mg l⁻¹. Sin embargo, considerando que los límites fiduciales de los tratamientos se traslapan, no hay diferencias significativas entre ellos (Robertson et al. 2007). De acuerdo a la TR₅₀, azadiractina fue 4.3 y 10.2 veces más tóxico para *G. legneri* que *B. thuringiensis* y polisulfuro de calcio, respectivamente.

Tabla 4. Concentración letal 50% (CL₅₀) y 90% (CL₉₀) de insecticidas naturales evaluados contra *G. legneri* tras 72 h de exposición directa.

Tratamiento	b ^a	CL ₅₀ (LC 95%) ^b (mg l ⁻¹)	CL ₉₀ (LC 95%) ^b (mg l ⁻¹)	Pr>X ^{2c}	TR ₅₀ ^d
<i>Bacillus thuringiensis</i>	0.83±0.25	61031 (21703 – 3472097)	2118611 (206728 – 3.55E+10)	0.0008	4.32
Azadiractina	1.17±0.35	14127 (6678 – 200226)	176854 (35339 – 1.58E+08)	0.0010	1.00
Polisulfuro de calcio	0.80±0.20	145310 (60777 – 1849831)	5773795 (728458 – 3.78E+09)	<0.0001	10.28

a: Pendiente. b: Concentración letal al 50% y 90% de efectividad con límites fiduciales al 95% de probabilidad. c: Ajuste del modelo a una línea recta. d: Toxicidad relativa al 50% de mortalidad.

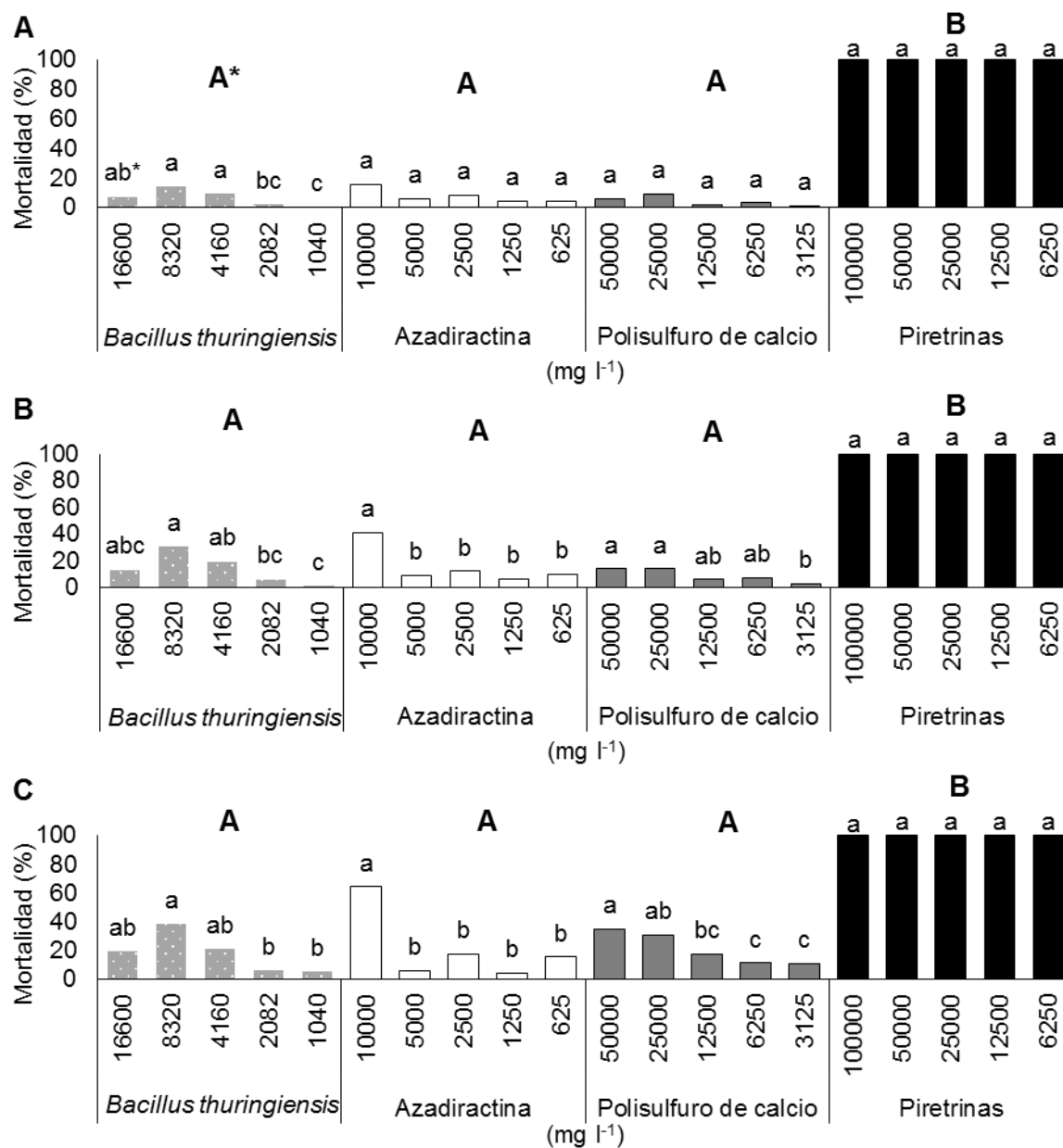


Figura 2. Mortalidad de *G. legneri* a las 24 (A), 48 (B) y 72 (C) h de exposición a diferentes concentraciones de insecticidas naturales.

*Prueba de Kruskal-Wallis: Valores con una letra diferente presentan diferencias significativas ($p < 0.05$). Letras mayúsculas señalan diferencias entre los tratamientos. Letras minúsculas comparan cada dosificación de un mismo tratamiento.

Brunner et al. (2001) obtuvieron un 100% de mortalidad de *T. platneri* asperjado con *B. thuringiensis* en su dosis comercial, lo que no se observó en *G. legneri* en el presente trabajo (Figura 2). Los autores atribuyen este efecto a la formulación del bioinsecticida; además del tamaño pequeño de *T. platneri*. La toxicidad obtenida en el tratamiento de azadiractina sobre *G. legneri* también se ha observado en otros parasitoides. Santos et al. (2015), encontraron una elevada toxicidad de este insecticida en adultos del ectoparasitoide *Tamarixia radiata* (Waterston) (Hymenoptera: Eulophidae). En el caso de polisulfuro de calcio, Cardoso et al. (2021) reportaron que el azufre y el azufre de cal provocaron en el parasitoide *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead) (Hymenoptera: Braconidae) una mortalidad inferior al 10%, calificando estos compuestos como “inocuos”. Este bajo nivel de mortalidad no se observó en *G. legneri* pues su dosis comercial eliminó 34.7% (Figura 2). Aunque, en términos comparativos, el polisulfuro de calcio fue el compuesto menos tóxico al presentar la mayor CL₅₀ (Tabla 4). La alta mortalidad ocasionada por las piretrinas (100%) (Figura 2) puede deberse a que su formulación comercial incluye butóxido de piperonilo (Tabla 1), un sinergista utilizado para potenciar los efectos de la piretrina natural (Tozzi, 1999). Greenhill et al. (2015) estudiaron esta combinación en pupas del parasitoide *Encarsia formosa* (Gahan) (Hymenoptera: Aphelinidae) y obtuvieron alta mortalidad al aplicarse justo antes de la emergencia (72 h), donde solo un 24.4% de los parasitoides tratados emergieron en comparación con un 98.4% del testigo.

Efectos subletales

Los tratamientos ocasionaron variaciones en la actividad controladora de *G. legneri*. La prueba de Chi-cuadrado (X^2) señaló que en el tratamiento a base *B. thuringiensis* presenta la mayor cantidad de casos de parasitismo exitoso en todas las concentraciones evaluadas (Figura 3), lo que implica un bajo efecto negativo sobre la actividad controladora del parasitoide. Para el caso de la azadiractina, tanto en su mayor concentración (10000 mg l⁻¹) como en las intermedias de 2500 y 1250 mg l⁻¹,

presentó una significativamente mayor cantidad de casos de parasitismo fallido ($p < 0.05$). El polisulfuro de calcio propició un mayor desarrollo de *P. interpunctella* (entre 24 y 40% de los casos) en sus mayores concentraciones (50000, 25000 y 12500 mg l^{-1}). Sin embargo no se registró diferencia significativa entre los casos de parasitismo exitoso y fallido. Además, cabe destacar que se observó un ennegrecimiento del hospedero producto del efecto de un patógeno ajeno a los objetivos de la investigación.

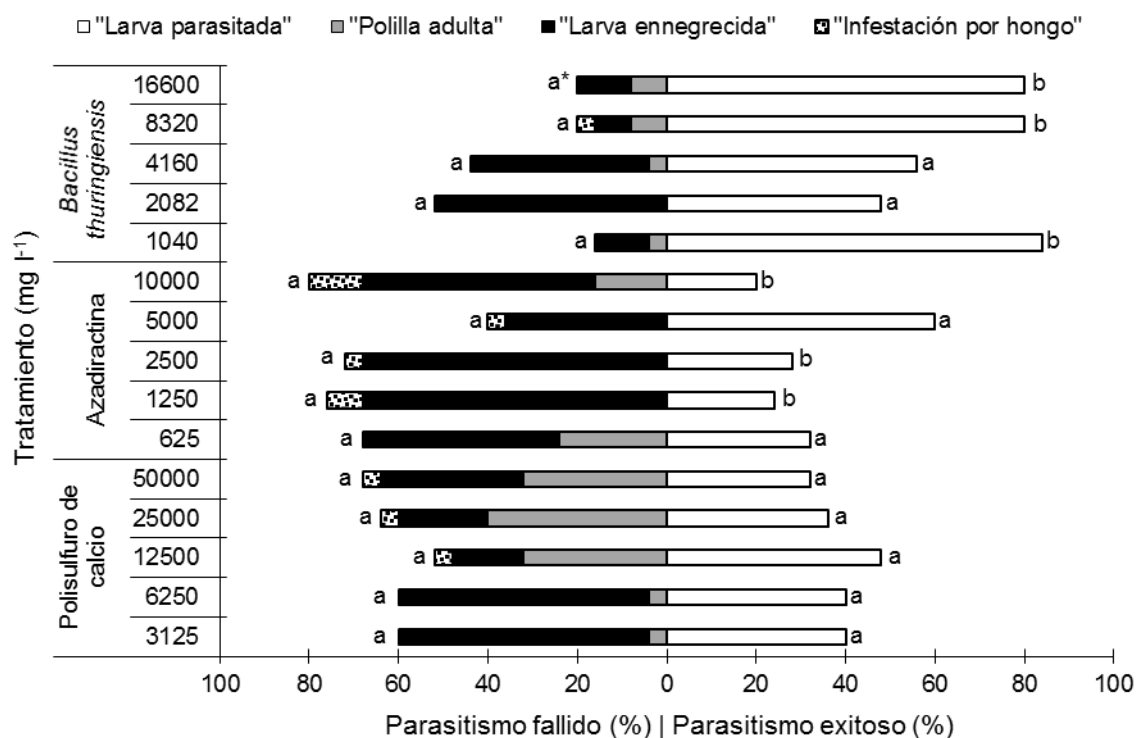


Figura 3. Parasitismo sobre *P. interpunctella* de *G. legneri* expuesto a insecticidas.

*Las letras indican los resultados obtenidos de la prueba de Chi-cuadrado (X^2) para cada caso de parasitismo bajo efecto de insecticida. Prueba de Chi-cuadrado (X^2): Valores con una letra distinta son significativamente diferentes ($p < 0.05$).

En el desarrollo de la progenie del parasitoide (Figura 4), la prueba de Kruskal-Wallis indicó que el tratamiento de *B. thuringiensis* obtuvo una cantidad significativamente

mayor ($p < 0.05$) de progenie de *G. legneri* que completó su desarrollo (entre 40 y 91%). Los tratamientos de azadiractina y polisulfuro de calcio no mostraron diferencias significativas ($p > 0.05$) entre sí, aunque todos los bioinsecticidas evaluados obtuvieron una cantidad significativamente menor ($p < 0.05$) de desarrollo de progenie con respecto al testigo (86% de conversión).

Bacillus thuringiensis ocasionó una reducción en el parasitismo (30.4%) que, según la prueba de Tukey, fue significativamente menor que la provocada por azadiractina y polisulfuro de calcio (67.2 y 60.8% respectivamente). La reducción del parasitismo y emergencia de adultos de *G. legneri* (Tabla 5) permitió clasificar a los tratamientos según la IOBC (Hassan et al. 1995) obteniendo todos una calificación de nivel 2; es decir, que sus efectos son “levemente nocivos”.

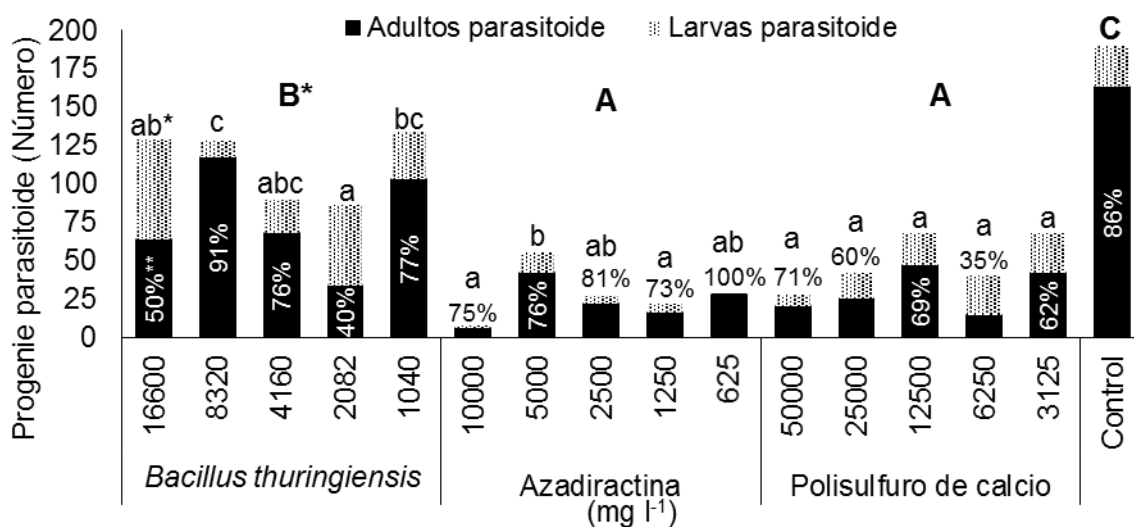


Figura 4. Progenie y porcentaje de conversión a adultos de *G. legneri* expuestos a diferentes insecticidas naturales vía aspersión directa.

*Prueba de Kruskal-Wallis: Valores con una letra diferente presentan diferencias significativas ($p < 0.05$) en el número de parasitoides que completaron su desarrollo. Letras mayúsculas comparan los diferentes tratamientos. Letras minúsculas comparan las dosificaciones de cada tratamiento. **Ratio de parasitoides que completaron su desarrollo en adulto.

Tabla 5. Reducción de parasitismo sobre *P. interpunctella* y de emergencia de adultos de *G. legneri* bajo aspersión directa de diferentes insecticidas naturales.

Tratamiento	Parasitismo sobre <i>P. interpunctella</i>			Emergencia de adultos de <i>G. legneri</i>		
	% larvas parasitadas	PR ¹	Clasificación ²	% conversión	PR ¹	Clasificación ²
Control	100.0 ± 0.0 A*	-	-	85.8 ± 0.0 A**	-	-
<i>Bacillus thuringiensis</i>	69.6 ± 7.3 B	30.4	2	66.6 ± 9.5 AB	22.4	1
Azadiractina	32.8 ± 7.1 C	67.2	2	81.1 ± 4.9 A	5.5	1
Polisulfuro de calcio	39.2 ± 2.7 C	60.8	2	59.4 ± 6.5 B	30.8	2

¹PR = "Porcentaje de reducción" de la capacidad de Parasitismo sobre *P. interpunctella* y de Emergencia de adultos de *G. legneri*. ²Clasificación propuesta por Hassan et al. (1994) para la reducción en la capacidad benéfica del parasitoide. 1 = Inofensivo; 2 = Levemente nocivo; 3 = Moderadamente nocivo; y 4 = Nocivo. *Prueba de Tukey ** Prueba de Kruskal-Wallis: Valores con una letra diferente presentan diferencias significativas (p<0.05) en cuanto al porcentaje de larvas de *P. interpunctella* parasitadas y al porcentaje de emergencia de adultos de *G. legneri* de cada tratamiento.

En relación a los parasitoides que completaron su desarrollo (Tabla 5), azadiractina y *B. thuringiensis* no provocaron una reducción significativa (5.5 y 22.4% respectivamente), por lo que ambos tratamientos obtuvieron una clasificación IOBC de nivel 1 ("Inofensivo"). El polisulfuro de calcio produjo una disminución significativa (30.8%) (p<0.05) de esta variable, obteniendo una clasificación IOBC de nivel 2 ("Levemente nocivo").

Los efectos subletales de *B. thuringiensis*, concuerdan con Salama y Zaki (1985), quienes, al aplicar este insecticida sobre *Trichogramma evanescens* (Westwood) (Hymenoptera: Trichogrammatidae), no encontraron una reducción en su capacidad para parasitar huevos ni efectos deletéreos en el desarrollo de etapas inmaduras del parasitoide o su porcentaje de emergencia, lo cual es coincidente con los reducidos efectos subletales de *B. thuringiensis* sobre el parasitismo y emergencia de adultos

de *G. legneri* (Tabla 5). Los efectos subletales de azadiractina fueron estudiados por Stark et al. (1992) en el parasitoide *Psytallia incise* (Silvestri) (Hymenoptera: Braconidae), obteniendo que su reproducción se vio afectada significativamente de manera negativa, produciendo ocho veces menos descendencia con respecto al control, coincidiendo con la reducción de parasitismo (Figura 3) y de descendencia obtenidos en esta investigación (Figura 4). Además, Reddy (2016) señala que azadiractina presenta actividad disuasiva de oviposición, lo cual concuerda con la baja tasa de parasitismo exitoso registrada (Figura 3). Este autor también destacó el efecto como regulador del crecimiento de azadiractina, lo cual no concuerda con el bajo porcentaje de reducción obtenido en el desarrollo de la descendencia de *G. legneri* (5.5%) (Tabla 5). Sin embargo, el hecho de que este insecticida presente aparentemente menores efectos negativos en la descendencia de *G. legneri* en comparación al parasitismo y actividad controladora de los insectos tratados (Tabla 5) puede explicarse por la baja descendencia obtenida producto del escaso parasitismo registrado con este tratamiento (Figura 3). En polisulfuro de calcio, los resultados obtenidos concuerdan con Thomson et al. (2000), quienes estudiaron los efectos de aplicaciones de azufre en diferentes especies del género *Trichogramma*, obteniendo efectos dañinos sobre adultos y etapas inmaduras, destacando un aumento en la mortalidad y reducción de la capacidad de emergencia de estos parasitoides, lo cual concuerda con lo obtenido para *G. legneri* (Tabla 5).

Exposición a Superficie Tratada

Los resultados de los bioensayos de superficie tratada muestran que *B. thuringiensis* ocasionó la menor mortalidad (14.5%) de *G. legneri* a las 72 h de exposición en su dosis comercial (D1.0, 16600 mg l⁻¹) (Figura 5). En los tratamientos de polisulfuro de calcio y azadiractina se obtuvo 33.7 y 49.3% de mortalidad respectivamente tras 72 h de exposición a la mayor concentración (D1.0) de cada insecticida (50000 y 10000 mg l⁻¹). Por otro lado, las piretrinas ocasionaron una mortalidad que fluctuó entre 27 y 61% en las dosis de 6250, 12500 y 25000 mg l⁻¹ (D1/16, D1/8 y D1/4) tras 72 h de exposición mientras que, en su dosis comercial [100000 mg l⁻¹ (D1.0)], eliminaron al

100% de la población de parasitoides a las 48 h de exposición. Además, a diferencia del tratamiento de piretrinas, azadiractina mostró una mortalidad significativamente mayor en las concentraciones intermedias como 5000 mg l⁻¹ (D1/2) (Figura 5).

Tabla 6. Concentración letal 50% (CL₅₀) y 90% (CL₉₀) de insecticidas evaluados en *G. legneri* a las 72 h de exposición superficial.

Tratamiento	b ^a	CL ₅₀ (LC 95%) ^b (mg l ⁻¹)	CL ₉₀ (LC 95%) ^b (mg l ⁻¹)	Pr>X ^{2c}	TR ₅₀ ^d
<i>Bacillus thuringiensis</i>	0.26±0.21	745686419 (2.87E-14 – 1.94E+31)	5.95E+13 (2.29E-09 – 1.54E+36)	0.2128	195512.95
Azadiractina	0.86±0.30	3914 (1873 – 18753)	120180 (22376 – 1.95E+09)	0.0038	1.00
Polisulfuro de calcio	0.94±0.26	142807 (58722 – 2545104)	3246267 (463160 – 2.99E+09)	0.0002	36.49
Piretrinas	1.71±0.46	10585 (4155 – 17078)	59647 (32939 – 327378)	0.0002	2.70

a: Valor de pendiente. B: Concentración letal al 50% y 90% de efectividad con límites fiduciales al 95% de probabilidad. C Ajuste del modelo a una línea recta. D Toxicidad relativa al 50% de mortalidad.

El tratamiento de *B. thuringiensis* presenta el mayor valor de CL₅₀ (7.46E+08 mg l⁻¹), lo que lo convierte en el insecticida menos tóxico para *G. legneri* (Tabla 6). A su vez, azadiractina es el insecticida más tóxico según su CL₅₀ (3,914 mg l⁻¹), junto con que la TR₅₀ indica que es 2.7, 36.5 y 195,512 veces más tóxico para *G. legneri* que las piretrinas, polisulfuro de calcio y *B. thuringiensis* respectivamente. Los límites fiduciales muestran que azadiractina y piretrina no presentan diferencias significativas (p>0.05) (Robertson et al. 2007), por lo que ambos tratamientos son significativamente más tóxicos que polisulfuro de calcio. Si se considera la CL₉₀ para comparar la toxicidad de los insecticidas, resulta que las piretrinas son el insecticida más tóxico (CL₉₀ = 59,647 mg l⁻¹). Esto se debe a que su línea dosis-Probit (Ldp) tiene mayor pendiente que la de azadiractina, requiriendo de una menor concentración de insecticida para matar al 90% de la población de *G. legneri* (Tabla 6).

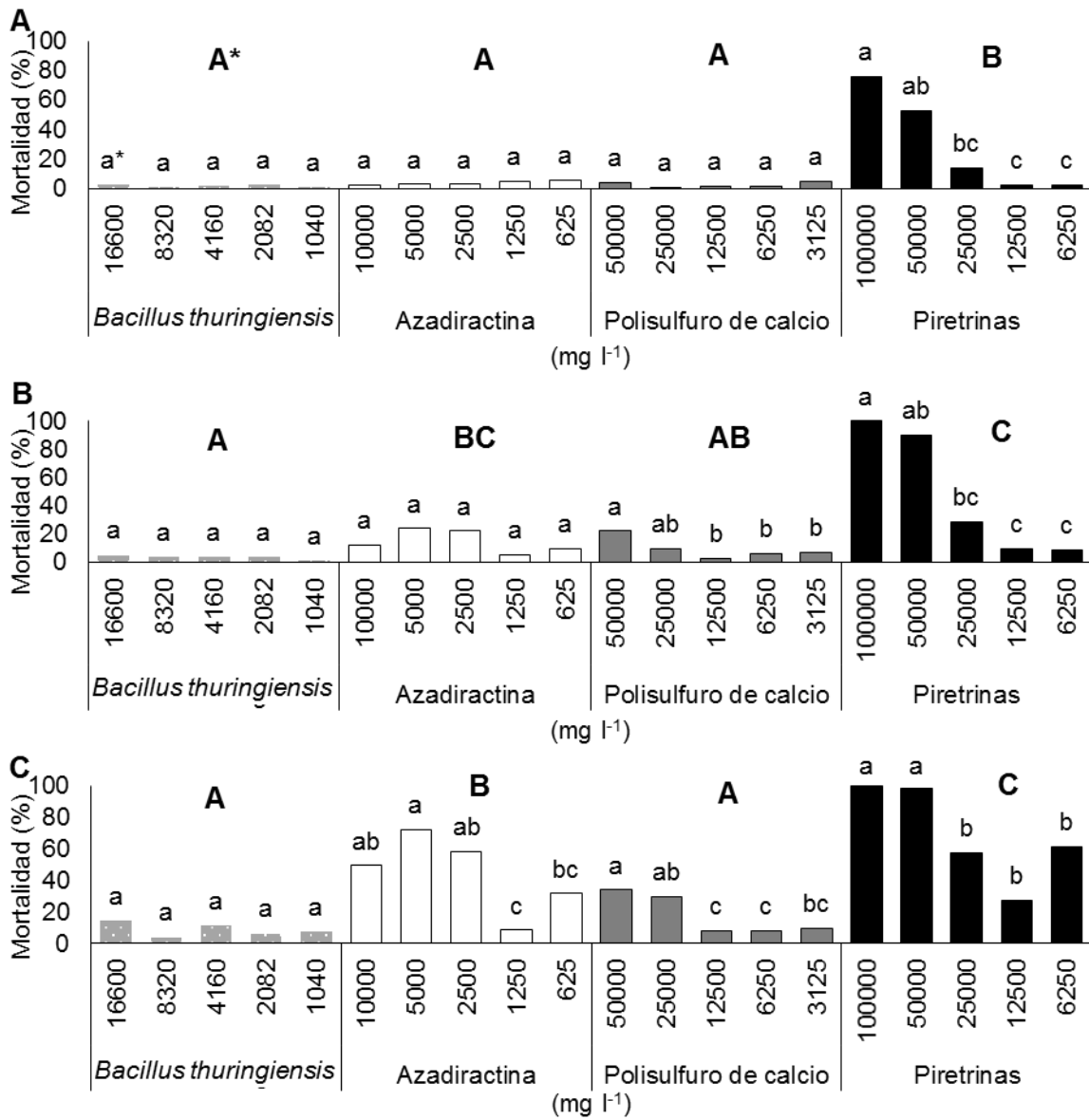


Figura 5. Mortalidad de *G. legneri* a las 24 (A), 48 (B) y 72 (C) h en una superficie tratada con diferentes concentraciones de insecticidas naturales.

*Prueba de Kruskal-Wallis: Valores con una letra diferente presentan diferencias significativas ($p < 0.05$). Letras mayúsculas señalan diferencias entre los tratamientos. Letras minúsculas comparan cada dosificación de un mismo tratamiento.

La baja toxicidad de *B. thuringiensis* (Figura 5) (Tabla 6), coincide con Firake et al. (2017), quienes no observaron toxicidad elevada de este insecticida sobre los parasitoides *H. ebeninus* (1.67 %), *C. glomerata* (1.67 %) y *P. puparum* (5.0 %) tras 72 h de contacto con una superficie tratada. El bajo efecto tóxico de este insecticida se puede explicar en que las toxinas de la bacteria no llegan al sistema digestivo del parasitoide (Biondi et al. 2013) junto con ser estas específicas para larvas de lepidópteros. La elevada toxicidad ocasionada por el tratamiento de azadiractina (Figura 5, Tabla 6) en *G. legneri* es similar a lo obtenido por Firake et al. (2017), quienes encontraron que superficies tratadas con dosis de campo (2 ml l⁻¹) de este insecticida ocasionaron una mortalidad significativa en los parasitoides *Hyposoter ebeninus* (Gravenhorst) (Hymenoptera: Ichneumonidae) (98.3%), *Cotesia glomerata* (Linnaeus) (Hymenoptera: Braconidae) (96.6%) y *Pteromalus puparum* (Linnaeus) (Hymenoptera: Pteromalidae) (88.8%) a las 72 h después de la aplicación. En relación al polisulfuro de calcio, Thomson et al. (2000), realizaron bioensayos de laboratorio y campo con azufre sobre *Trichogramma carverae* (Oatman y Pinto) (Hymenoptera: Trichogrammatidae), obteniendo un aumento significativo en la mortalidad de este parasitoide, lo que concuerda con los efectos letales obtenidos por este insecticida en *G. legneri* en su dosis comercial de 50000 mg l⁻¹ (Figura 5). La elevada toxicidad de las piretrinas (Tabla 6), concuerda con Jansen et al. (2010), quienes las evaluaron en mezcla con el sinergista butóxido de piperonilo, obteniendo una mortalidad de 100% en adultos del parasitoide *Aphidius rhopalosiphi* (DeStefani-Perez) (Hymenoptera: Aphidiinae). Igualmente Hilal et al. (2014) reportan una mortalidad de 100% en *Chelonus oculator* (Panzer) (Hymenoptera: Braconidae) de una formulación botánica comercial de piretro, confirmando la toxicidad de este insecticida en diferentes parasitoides.

Efectos subletales

La actividad controladora de *G. legneri* expuestos a una superficie tratada con bioinsecticidas se analizó con la prueba de Chi-cuadrado (X^2) (Figura 6) obteniéndose que *B. thuringiensis*, azadiractina y polisulfuro de calcio presentan una

mayor proporción de casos de parasitismo exitoso, con respecto a los de parasitismo fallido, principalmente en las menores dosis evaluadas (2082 mg l⁻¹ en *B. thuringiensis* y 625 mg l⁻¹ en azadiractina) o intermedias (12500 mg l⁻¹ en polisulfuro de calcio) lo que indica reducidos efectos subletales en el parasitismo de *G. legneri*. El tratamiento de piretrinas mostró el mayor número de casos de parasitismo fallido en la mayoría de las concentraciones, propiciando el desarrollo de *P. interpunctella* a su fase adulta especialmente en las mayores concentraciones de este insecticida (100000 y 50000 mg l⁻¹) debido a que ocasionó la muerte de los parasitoides poco después de iniciado el bioensayo.

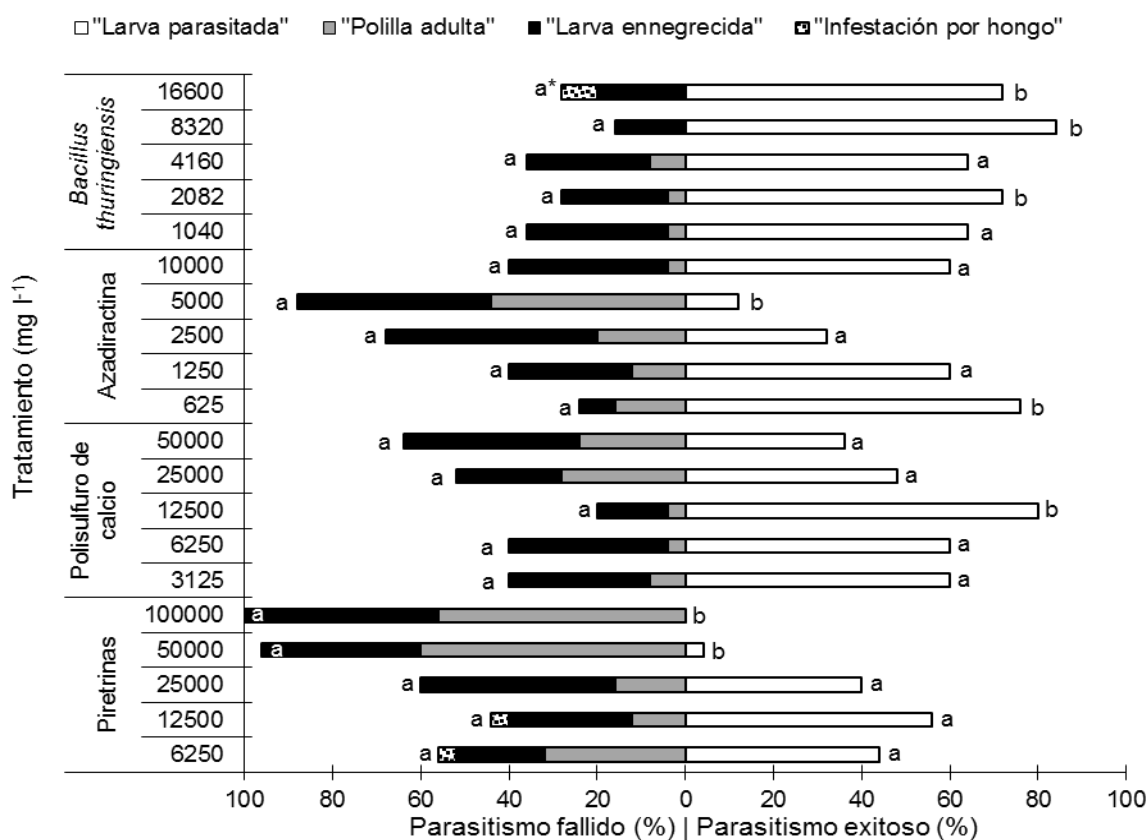


Figura 6. Parasitismo sobre larvas de *P. interpunctella* de *G. legneri* expuesto a una superficie tratada con insecticidas.

*Las letras indican los resultados obtenidos de la prueba de Chi-cuadrado (X²) para cada caso de parasitismo bajo efecto de insecticida. Prueba de Chi-cuadrado (X²): Valores con una letra distinta son significativamente diferentes (p<0.05).

En relación al desarrollo de la progenie del parasitoide (Figura 7), la prueba de Kruskal-Wallis señala que todos los insecticidas evaluados obtuvieron una cantidad de parasitoides adultos F_1 significativamente menor ($p < 0.05$) que el control. Entre los tratamientos insecticidas, *B. thuringiensis* y polisulfuro de calcio obtuvieron una cantidad significativamente mayor de *G. legneri* que alcanzaron la fase adulta ($p < 0.05$), con porcentajes de conversión que fluctuaron entre 48 y 97% para *B. thuringiensis*, y entre 61 y 96% para polisulfuro de calcio. Por su parte, azadiractina y las piretrinas provocaron un desarrollo de parasitoides significativamente menor ($p < 0.05$), obteniendo una conversión larva-adulto entre 43 y 69% para azadiractina, y entre 0 y 76% para los sobrevivientes de las dosis más bajas de piretrinas, lo cual implica un efecto subletal negativo de estos insecticidas sobre el desarrollo de *G. legneri*.

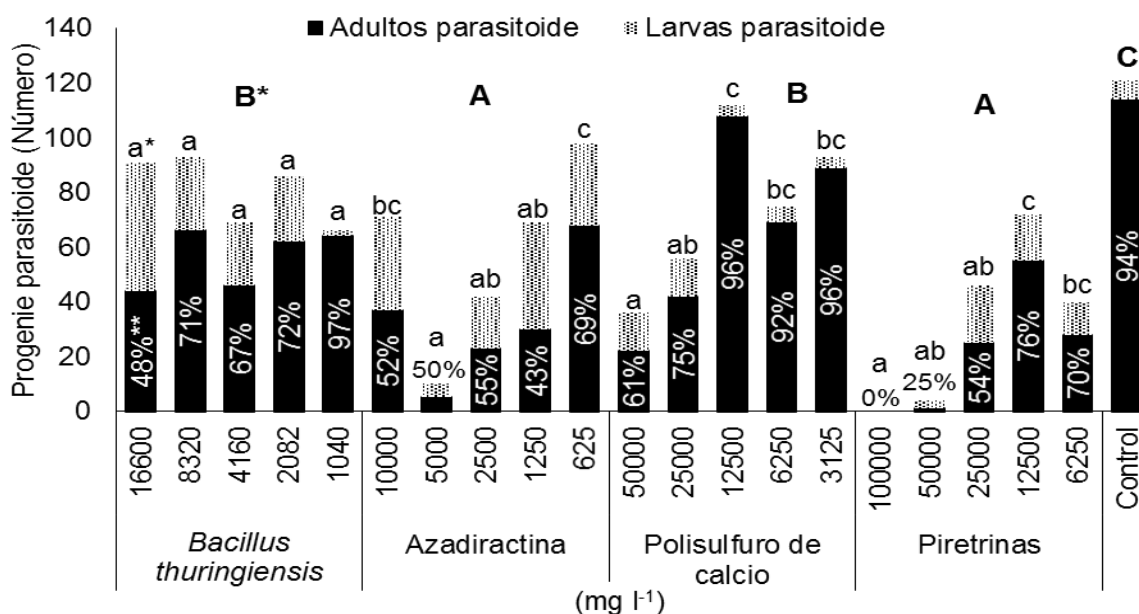


Figura 7. Progenie y porcentaje de conversión a adultos de *G. legneri* expuestos a insecticidas naturales vía superficie tratada.

*Prueba de Kruskal-Wallis: Valores con una letra diferente presentan diferencias significativas ($p < 0.05$) en el número de parasitoides que completaron su desarrollo. Letras mayúsculas comparan los diferentes tratamientos. Letras minúsculas comparan las dosificaciones de cada tratamiento. **Ratio de parasitoides que completaron su desarrollo en adulto.

Al analizar los efectos subletales de cada insecticida en la capacidad de parasitismo de *G. legneri* (Tabla 7), se obtuvo que *B. thuringiensis* no redujo significativamente el parasitismo (28.8%), obteniendo una clasificación IOBC de nivel 1 ("inofensivo") (Hassan et al. 1994) para esta variable. Azadiractina, polisulfuro de calcio y las piretrinas produjeron una reducción en el porcentaje de larvas de *P. interpunctella* parasitadas (52, 43.2 y 71.2 % respectivamente), por lo que fueron catalogados como "Levemente nocivos" (nivel 2 IOBC). En la emergencia de adultos de *G. legneri*, se obtuvo que los tratamientos de *B. thuringiensis* y polisulfuro de calcio no ocasionaron una disminución significativa, 24.6 y 10.8% respectivamente, siendo catalogados como "inofensivos". Por otra parte, azadiractina y las piretrinas, que ocasionaron una disminución significativa (42.7 y 52.1% respectivamente), se clasifican según la IOBC como nivel 2, mostrando efecto subletales negativos en el desarrollo de la prole.

Tabla 7. Reducción de parasitismo sobre *P. interpunctella* y de emergencia de adultos de *G. legneri* sometidos a una superficie tratada con diferentes insecticidas.

Tratamiento	Parasitismo sobre <i>P. interpunctella</i>			Emergencia de adultos de <i>G. legneri</i>		
	% larvas parasitadas	PR ¹	Clasificación ²	% conversión	PR ¹	Clasificación ²
Control	100.0 ± 0.0 A*	-	-	94.2 ± 0.0 A*	-	-
<i>Bacillus thuringiensis</i>	71.2 ± 3.7 B	28.8	1	71.0 ± 7.8 ABC	24.6	1
Azadiractina	48.0 ± 11.5 BC	52	2	54.0 ± 4.3 BC	42.7	2
Polisulfuro de calcio	56.8 ± 7.3 BC	43.2	2	84.1 ± 6.9 AB	10.8	1
Piretrinas	28.8 ± 11.3 C	71.2	2	45.2 ± 14.4 C	52.1	2

¹PR = "Porcentaje de reducción" de la capacidad de Parasitismo sobre *P. interpunctella* y de Emergencia de adultos de *G. legneri*. ²Clasificación propuesta por Hassan et al. (1994) para la reducción en la capacidad benéfica del parasitoide. 1 = Inofensivo; 2 = Levemente nocivo; 3 = Moderadamente nocivo; y 4 = Nocivo. *Prueba de Tukey: Valores con una letra diferente presentan diferencias significativas (p<0.05) en cuanto al porcentaje de larvas de *P. interpunctella* parasitadas y al porcentaje de emergencia de adultos de *G. legneri* de cada tratamiento.

Los resultados de las evaluaciones con *B. thuringiensis* son similares a lo reportado por Biondi et al. (2013), quienes concluyeron que este bioinsecticida es seguro para adultos y pupas de *B. nigricans* al no presentar efectos subletales en el parasitismo o crecimiento poblacional de este parasitoide, obteniendo una clasificación IOBC de nivel 1, coincidiendo con la presente investigación (Tabla 7). Los efectos subletales obtenidos con azadiractina también concuerdan con Biondi et al. (2013), quienes reportaron un retraso en el tiempo de duplicación del tamaño poblacional del parasitoide *Bracon nigricans* (Szépligeti) (Hymenoptera: Braconidae) expuesto a residuos de azadiractina. Lo anterior es consistente con lo obtenido para *G. legneri* en la presente investigación debido a que una menor cantidad de larvas de *P. interpunctella* parasitadas y emergencia de adultos (Tabla 7) tendrá efectos negativos en el crecimiento poblacional del parasitoide. En el caso del polisulfuro de calcio, los efectos subletales negativos sobre el parasitismo de *G. legneri* (Tabla 7) coinciden con Thompson et al. (2000) quienes obtuvieron una reducción en la tasa de parasitismo en diferentes especies de *Trichogramma* tratadas con azufre. Sin embargo, al aplicarse como superficie tratada, los efectos subletales del polisulfuro de calcio en la emergencia de *G. legneri* se reducen hasta obtener una clasificación IOBC de nivel 1 “inofensivo”, lo cual no es consistente con las reducciones en las tasas de emergencia reportadas para *Trichogramma* por estos autores. Finalmente, los efectos subletales de las piretrinas en la emergencia de adultos de *G. legneri* (Tabla 7) muestran similitudes con Greenhill et al. (2015), quienes obtuvieron una baja cantidad (24.4%) de pupas de *E. formosa* tratadas con una formulación comercial de piretrinas más butóxido de piperonilo que lograron completar su desarrollo a fase adulta. Cabe destacar que la disminución en el porcentaje de emergencia obtenido para *G. legneri* (45.2%) (Tabla 7) fue menor que la reportada por estos investigadores para *E. formosa*.

Repelencia

La selección de larvas de *P. interpunctella* tratadas con diferentes concentraciones de insecticida (Figura 8) por *G. legneri*, según la prueba de Chi-cuadrado (X^2), indica que el insecto no fue atraído o repelido significativamente por ninguno de los

hospederos tratados con las diferentes concentraciones de *B. thuringiensis*, azadiractina o polisulfuro de calcio ($p > 0.05$). Es decir, se observó una selección aleatoria por parte de *G. legeri* sin que ningún insecticida influyera en la selección. Diferente es el caso de las larvas de *P. interpunctella* tratadas con piretrinas, donde la prueba de Chi-cuadrado (X^2) indicó una preferencia significativamente mayor ($p < 0.05$) de *G. legeri* por los hospederos tratados con la concentración comercial (100000 mg l⁻¹) de este insecticida, junto con una menor preferencia por las demás concentraciones, particularmente por la dosis D1/8 (12500 mg l⁻¹), que no fue seleccionada por ningún parasitoide. Aunque, cabe destacar que los ataques realizados por *G. legeri* sobre hospederos tratados con la dosis comercial de piretrinas terminaron con la muerte del parasitoide. Este resultado concuerda con lo obtenido en las pruebas de toxicidad, que indican que *G. legeri* es altamente susceptible a las piretrinas.

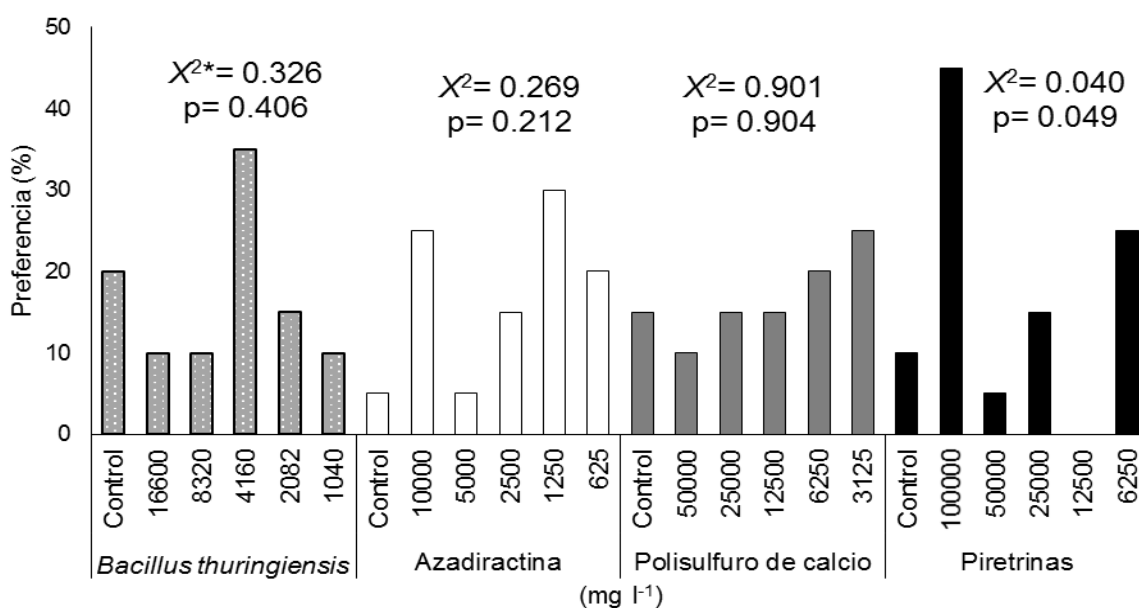


Figura 8. Preferencia de *G. legeri* por larvas de *P. interpunctella* tratadas con dosificaciones de insecticidas naturales y el control.

*Prueba de Chi-cuadrado de Pearson (X^2): En valores iguales o superiores a 0.05 ($p \geq 0.05$) la preferencia de *G. legeri* se produce por azar, no habiendo relación entre la elección y la dosis de insecticida. Valores inferiores a 0.05 ($p < 0.05$) indican que la preferencia está relacionada a la dosis de insecticida.

Resultados de bioensayos de selección se han documentado solo para *B. thuringiensis*. Nascimento et al. (2018) no encontraron efectos de interferencia en la elección de *Trichogramma pretiosum* (Riley) (Hymenoptera: Trichogrammatidae) por huevos de su hospedero con o sin tratamiento con formulaciones de este bioinsecticida. No se encontraron similitudes con otros trabajos para los tratamientos de azadiractina, polisulfuro de calcio ni piretrinas. Hilal et al. (2014) evaluaron insecticidas botánicos basados en azadiractina y piretro, encontrando efectos de repelencia en ambas sustancias en pruebas de olfactometría para el parasitoide *C. oculator*, lo cual no se registró en la presente investigación para *G. legneri*. Para polisulfuro de calcio, no se encontraron antecedentes sobre la repelencia de este compuesto en parasitoides, pero se ha reportado que el azufre individualmente ha mostrado repelencia (Secoy y Smith, 1983). Además, Thompson et al. (2000) obtuvieron reducciones en la aceptabilidad de *T. carverae* por huevos asperjados con azufre, lo cual no coincide con la falta de respuesta de repelencia de *G. legneri* por larvas tratadas con polisulfuro de calcio (Figura 8).

Conclusion

Este trabajo contribuye con información acerca de la toxicidad directa y efectos subletales de diferentes tipos de bioinsecticidas en el parasitoide de plagas agrícolas *G. legneri*, comprobando la compatibilidad de estas herramientas para el control de plagas agrícolas en un enfoque integrado. *Bacillus thuringiensis* presenta menores efectos negativos directos y subletales, por lo que se considera como candidato a ser utilizado junto con *G. legneri* en estrategias de manejo integrado de plagas. Azadiractina ocasiona los mayores efectos subletales negativos sobre el parasitismo, en tanto que las piretrinas presentan elevada toxicidad directa sobre *G. legneri*.

Agradecimientos

El primer autor agradece a la Agencia Nacional de Investigación y Desarrollo de Chile (ANID) y a la Universidad de Concepción Campus Chillán por la oportunidad y el apoyo otorgados durante su estancia en el Programa de Magíster en Ciencias

Agronómicas. Así mismo, se agradece a Biobichos Ltda. por proporcionar material biológico y técnicas empleados en esta investigación.

Referencias citadas

- Abbott, W.S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *J. Econ. Entomol.* 18(1): 265-267.
- Araya, M.N., J.E. Araya y M.A. Guerrero. 2004. Efectos de algunos insecticidas en dosis subletales sobre adultos de *Aphidius ervi* Haliday (Hymenoptera: Aphidiidae). *Bol. San. Veg. Plagas* 30(1): 247-254.
- Biondi, A., L. Zappalà, J.D. Stark and N, Desneux. 2013. Do biopesticides affect the demographic traits of a parasitoid wasp and its biocontrol services through sublethal effects? *PLoS One* 8(9): e76548.
- Brunner, J.F., J.E. Dunley, M.D. Doerr and E.H. Beers. 2001. Effect of pesticides on *Colpoclypeus florus* (Hymenoptera: Eulophidae) and *Trichogramma platneri* (Hymenoptera: Trichogrammatidae), parasitoids of leafrollers in Washington. *J. Econ. Entomol.* 94(5): 1075-1084.
- Cardoso, T.D.N., P. Stupp, M. Rakes, M.B. Martins, J.G. da Silva Filho, A.D. Grützmacher, D.E. Nava, D. Bernardi and M. Botton. 2021. Lethal and Sublethal Toxicity of Pesticides Used in Fruit Growing on the Parasitoid *Diachasmimorpha longicaudata* (Hymenoptera: Braconidae): Implications for Integrated Fruit Fly Management. *J. Econ. Entomol.* 114(6): 2412-2420.
- Chattopadhyay, A., N.B. Bhatnagar and R. Bhatnagar. 2004. Bacterial insecticidal toxins. *Crit. Rev. Microbiol.* 30(1): 33-54.
- Cloyd, R.A. 2012. Indirect effects of pesticides on natural enemies. *In*: R.P. Soundararajan (Ed.). *Pesticides—Advances in Chemical and Botanical Pesticides*. Pp. 127-150. IntechOpen. Rijeka, Croatia.

- Dhaliwal, G.S., V. Jindal and B. Mohindru. 2015. Crop losses due to insect pests: global and Indian scenario. *Indian J. Entomol.* 77(2): 165-168.
- Ferrero, A., R. Laumann, M.M. Gutierrez y T. Stadler. 2000. Evaluación en laboratorio de la toxicidad de insecticidas en *Cydia pomonella* L. (Lepidoptera: Tortricidae) y en su enemigo natural *Goniozus legneri* Gordh (Hymenoptera: Bethyridae). *Bol. Sanid. Veg. Plagas* 26: 559-575.
- Finney, D.J. 1952. Probit analysis: a statistical treatment of the sigmoid response curve (2th. ed.). Cambridge university press. Cambridge. UK.
- Firake, D.M., D.P. Thubru and G.T. Behere. 2017. Eco-toxicological risk and impact of pesticides on important parasitoids of cabbage butterflies in cruciferous ecosystem. *Chemosphere* 168: 372-383.
- Garrido, S., L. Cichón, D. Fernández y C. Azevedo. 2005. Primera cita de la especie *Goniozus legneri* (Hymenoptera: Bethyridae) en el Alto valle de Río Negro, Patagonia Argentina. *Rev. Soc. Entomol. Arg.* 64(1-2): 14-16.
- Greenhill, M., P. Cole and D. Griffin. 2015. Evaluation of Pyrethrum for Use in Integrated Pest Management in Protected Cropping – a Review of Recent Research in Australia. *Acta Hortic.* 1073: 137-142
- Gupta, R.C. and J.W. Crissman. 2013. Agricultural Chemicals. *In*: W.M. Haschek, C.G. Rousseaux, M.A. Wallig, B. Bolon and R. Ochoa (Eds.). *Haschek and Rousseaux's Handbook of Toxicologic Pathology* (3th. ed). Pp. 1349-1372. Academic Press. London, UK.
- Hajek, A.E. and J. Eilenberg. 2018. Natural enemies: an introduction to biological control. Cambridge University Press. Cambridge, UK.
- Hara, A.H. 2000. Finding alternative ways to control alien pests-Part 2: New insecticides introduced to fight old pests. *Hawaii Landscape* 4(1): 5.

- Hassan, S.A., F. Bigler, H. Bogenschütz, E. Boller, J. Brun, J.N.M. Calis, J. Coremans-Pelseneer, C. Duso, A. Grove, U. Heimbach, N. Helyer, H. Hokkanen, G.B. Lewis, F. Mansour, L. Moreth, L. Polgar, L. Samsøe-Petersen, B. Sauphanor, A. Stäubli, G. Sterk, A. Vainio, M. Van de Veire, G. Viggiani and H. Vogt. 1994. Results of the sixth joint pesticide testing programme of the IOBC/WPRS – Working Group “Pesticides and Beneficial Organisms”. *Entomophaga* 39: 107-119.
- Hilal, T., K. Neşet and Z. Cem. 2014. Toxicity and repellent effects of some botanical insecticides on the egg-larval parasitoid *Chelonus oculator* Panzer (Hymenoptera: Braconidae). *Sci. Res. Essays* 9(5): 106-113.
- IRAC International. 2022. The IRAC mode of action classification online [online]. IRAC International. <<https://irac-online.org/mode-of-action/classification-online/>> [Consulta: 02 septiembre 2022].
- Jansen, J.P., T. Defrance and A.M. Warnier. 2010. Effects of organic-farming-compatible insecticides on four aphid natural enemy species. *Pest Manag. Sci.: formerly pesticide science* 66(6): 650-656.
- Lacey, L.A. and T.R. Unruh. 2005. Biological control of codling moth (*Cydia pomonella*, Lepidoptera: Tortricidae) and its role in integrated pest management, with emphasis on entomopathogens. *Vedalia* 12(1): 33-60.
- Luna-Cruz, A., J.R. Lomeli-Flores, E. Rodríguez-Leyva, L.D. Ortega-Arenas y A. Huerta-de La Peña. 2011. Toxicidad de cuatro insecticidas sobre *Tamarixia triozae* (Burks) (Hymenoptera: Eulophidae) y su hospedero *Bactericera cockerelli* (Sulc) (Hemiptera: Triozidae). *Acta Zool. Mex.* 27(3): 509-526.
- Nascimento, P.T., M.A. Fadini, F.H. Valicente and P.E. Ribeiro. 2018. Does *Bacillus thuringiensis* have adverse effects on the host egg location by parasitoid wasps?. *Rev Bras Entomol.* 62(4): 260-266.

- Oguh, C.E., C.O. Okpaka, C.S. Ubani, U. Okekeaji, P.S. Joseph and E.U. Amadi. 2019. Natural pesticides (biopesticides) and uses in pest management-a critical review. *Asian J. Biotechnol. Genet. Eng.* 2(3): 1-18.
- Potter, C. 1952. An improved laboratory apparatus for applying direct sprays and surface films, with data on the electrostatic charge on atomized spray fluids. *Ann. Appl. Biol.* 39(1): 1-28.
- Reddy, P.P. 2016. Biorational pest management. *In: P.P. Reddy (Ed.). Sustainable Crop Protection under Protected Cultivation.* Pp. 99-108. Springer, Singapore.
- Robertson, J.L., R.M. Russell, H.K. Preisler and N.E. Savin. 2007. Pesticide bioassays with arthropods. (2nd ed). CRC Press. Boca Ratón, Florida.
- Salama, H.S. and F.N. Zaki. 1985. Biological effects of *Bacillus thuringiensis* on the egg parasitoid, *Trichogramma evanescens*. *Int. J. Trop. Insect Sci.* 6(2): 145-148.
- Santos, M.S., O.Z. Zanardi, K.S. Pauli, M.R. Forim, P.T. Yamamoto and J.D. Vendramim. 2015. Toxicity of an azadirachtin-based biopesticide on *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae) and its ectoparasitoid *Tamarixia radiata* (Waterston) (Hymenoptera: Eulophidae). *Crop Prot.* 74: 116–123.
- SAS Institute. 1998. Language guide for personal computer release. 6.03 Edition. SAS Institute, Cary, North Carolina, USA.
- Secoy, D.M. and A.E. Smith. 1983. Lineage of lime sulfur as an insecticide and fungicide. *Bulletin of the ESA* 29(2): 18-23.
- Shanower, T.G., J.A. Wightman, A.P. Gutierrez and G.R. Rao. 1992. Larval parasitoids and pathogens of the groundnut leaf miner, *Aproaerema modicella* (Lep.: Gelechiidae), in India. *Entomophaga* 37(3): 419-427.

- Souza, J.R., G.A. Carvalho, A.P. Moura, M.H.G., Couto and J.B. Maia. 2013. Impact of insecticides used to control *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) in corn on survival, sex ratio, and reproduction of *Trichogramma pretiosum* Riley offspring. *Chil. J. Agric. Res.* 73(2): 122-127
- Stark, J.D., T.T. Wong, R.I. Vargas and R.K. Thalmann. 1992. Survival, longevity, and reproduction of tephritid fruit fly parasitoids (Hymenoptera: Braconidae) reared from fruit flies exposed to azadirachtin. *J. Econ. Entomol.* 85(4): 1125-1129.
- Thomson, L.J., D.C. Glenn and A.A. Hoffmann. 2000. Effects of sulfur on *Trichogramma* egg parasitoids in vineyards: measuring toxic effects and establishing release windows. *Aust. J. Exp. Agric.* 40(8): 1165-1171.
- Thuler, R.T., H.X.L. Volpe, S.A. De Bortoli, R.M. Goulart and C.L.T.P. Viana. 2007. Metodologia para avaliação de preferência hospedeira de parasitoides do gênero *Trichogramma* Westwood. *Bol. Sanid. Veg.* 33: 333-340.
- Todoroki, Y. and H. Numata. 2018. Factors affecting sequential sex allocation in the parasitoid wasp *Gryon japonicum*. *Entomol. Sci.* 21(2): 193-197.
- Tozzi, A. 1999. A brief history of the development of piperonyl butoxide as an insecticide synergist. *In: D.G. Jones (Ed.). Piperonyl Butoxide.* Pp. 1-5. Academic Press. London. UK.
- Vacacela Ajila, H.E., E.E. Oliveira, F. Lemos, K. Haddi, F. Colares, P.H. Marques Gonçalves and A. Pallini. 2020. Effects of lime sulfur on *Neoseiulus californicus* and *Phytoseiulus macropilis*, two naturally occurring enemies of the two-spotted spider mite *Tetranychus urticae*. *Pest Manag. Sci.* 76(3): 996-1003.

CONCLUSIONES GENERALES

- 1.- *Bacillus thuringiensis* y la mezcla comercial de espirotetramato con tiacloprid presentan la menor toxicidad contra adultos de *G. legneri*.
- 2.- Bifentrina y las piretrinas en mezcla con butóxido de piperonilo son los insecticidas que ocasionan la mayor toxicidad directa contra adultos de *G. legneri*.
- 3.- *Bacillus thuringiensis* y la mezcla comercial de espirotetramato con tiacloprid provocan los menores efectos subletales negativos en el parasitismo y emergencia de adultos de *G. legneri*.
- 4.- Los insecticidas imidacloprid y azadiractina reducen el parasitismo de *G. legneri*.
- 5.- Los insecticidas sintéticos y naturales evaluados no presentan actividad repelente sobre adultos de *G. legneri*.