



UNIVERSIDAD
DE LA REPÚBLICA
URUGUAY

Biología, Preferencia e Interacciones de *Orius insidiosus*, Depredador de *Frankliniella occidentalis* en Pimiento

Ing. Agr.(Mag.) María Eugenia Lorenzo
Larregui

Doctorado en Ciencias Agrarias opción
Ciencias Vegetales

diciembre 2020

Tesis aprobada por el tribunal integrado por Dr. Enrique Morelli, Dr. Santiago Dogliotti y Dr. Tomás Cabello, el 17 de diciembre de 2020. Autor/a: Ing. Agr. Mag. María Eugenia Lorenzo. Director/a Dr. César Basso, Co-director/a Dr. Olivier Bonato.

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, expresar mi especial agradecimiento a mis orientadores Dr. César Basso y Dr. Olivier Bonato no habría podido terminar mi doctorado sin su ayuda, apoyo, orientación y estímulo. Por su revisión cuidadosa y constructiva de la tesis, los comentarios, las correcciones y las sugerencias que fueron ciertamente útiles.

A los integrantes del Comité de Seguimiento Dr. Martín Bolazzi y Dr. Matías Arim por el tiempo dedicado a mi trabajo, y las revisiones. A los integrantes del tribunal por su disposición a revisar, corregir y realizar aportes para la mejora de mi trabajo.

También debo agradecer enormemente a la Estación Experimental de la Facultad de Agronomía en Salto por el apoyo técnico y por la acción de las personas con las que compartí mi trabajo diario.

A mis compañeros y amigos de entomología por su invaluable ayuda, siempre han sido un gran apoyo cuando las cosas se vuelven un poco desalentadoras.

¡Y finalmente, debo mi más profundo agradecimiento a mi familia, que siempre me han apoyado!!!! por su constante amor.

TABLA DE CONTENIDO

	página
PÁGINA DE APROBACIÓN	II
AGRADECIMIENTOS	III
RESUMEN	VI
SUMMARY	VII
1 <u>INTRODUCCIÓN GENERAL</u>	1
1.1 ANTECEDENTES Y JUSTIFICACIÓN.....	1
1.2 MARCO CONCEPTUAL	6
1.3 INTERACCIONES TRITRÓFICAS	6
1.4 SEÑALES QUÍMICAS ENTRE LOS ORGANISMOS.....	7
1.5 DEFENSAS DE LAS PLANTAS.....	7
1.6 COMUNIDAD DE ENEMIGOS NATURALES	8
1.7 SISTEMA DE ESTUDIO	9
1.8 HIPÓTESIS	10
1.9 OBJETIVOS GENERAL Y ESPECÍFICOS	10
2 <u>EFFECTO DE DOS SUSTRATOS DE OVIPOSICIÓN - ALIMENTACIÓN DE <i>ORIU</i> <i>INSIDIOSUS</i> Y <i>ORIU</i> <i>TRISTICOLOR</i> (HEMIPTERA: ANTHOCORIDAE)</u>	11
3 <u>PREFERENCIA DE <i>ORIU</i> <i>INSIDIOSUS</i> Y <i>ORIU</i> <i>TRISTICOLOR</i> (HEMIPTERA: ANTHOCORIDAE) POR SUS PLANTAS HOSPEDERAS EN EXPERIMENTOS DE OLFATOMETRÍA Y DE LIBRE ELECCIÓN</u>	20
4 <u>COMPATIBILIDAD ENTRE <i>ORIU</i> <i>INSIDIOSUS</i> (HEMIPTERA: ANTHOCORIDAE) Y <i>AMBLyseius swirskii</i> (ACARINA: PHYTOSEIIDAE) EN EL CONTROL DE <i>FRANKLINIella OCCIDENTALIS</i> (THYSANOPTERA: THRIPIDAE) EN PIMIENTO</u>	28
4.1 INTRODUCCIÓN.....	31
4.2 MATERIALES Y MÉTODOS	33
4.2.1 Insectos y plantas experimentales	33
4.2.2 Unidad experimental y condiciones de los experimentos	34
4.2.3 Efecto del género de <i>O. insidiosus</i> en la depredación de <i>A. swirskii</i> y <i>F. occidentalis</i>	34
4.2.4 Efecto de diferentes densidades de <i>F. occidentalis</i> o de <i>A. swirskii</i> sobre la depredación por parte de <i>O. insidiosus</i>	35
4.2.5 Cambio de presa por parte de <i>Orius insidiosus</i>	35

4.3	ANÁLISIS ESTADÍSTICO	36
4.4	RESULTADOS	36
4.4.1	Efecto del género (macho-hembra) de <i>O. insidiosus</i> en la depredación de <i>A. swirskii</i> y <i>F. occidentalis</i>	36
4.4.2	Efecto de diferentes densidades de <i>F. occidentalis</i> o <i>A. swirskii</i> en la depredación por <i>O. insidiosus</i>	37
4.4.3	Cambio de presa por <i>O. insidiosus</i>	38
4.5	DISCUSIÓN.....	39
4.6	BIBLIOGRAFÍA	42
5	<u>DISCUSIÓN GENERAL, CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS</u>	48
5.1	DISCUSIÓN GENERAL	48
5.2	CONCLUSIONES.....	52
5.3	PERSPECTIVAS	52
6	<u>BIBLIOGRAFÍA</u>	54

RESUMEN

El programa de control biológico en el cultivo de pimiento en invernadero en Uruguay, se basa en liberaciones de *Orius insidiosus* y *Amblyseius swirskii* dirigidas al control de *Frankliniella occidentalis* y *Bemisia tabaci*, respectivamente. A pesar de que *O. insidiosus* es reportado como un eficiente depredador de trips, en nuestras condiciones no logra establecerse y controlar a esta plaga. Por ser zoofitófago, las plantas hospedantes de sus presas tienen efecto en su preferencia de oviposición y en el desempeño de su descendencia. Por ello, el primer objetivo de este estudio fue evaluar la aptitud de los frutos de pimiento como sustrato de oviposición-alimentación, en comparación con las vainas de poroto (sustrato utilizado para su multiplicación). El estudio de las variables biológicas de *O. insidiosus* (duración de desarrollo, supervivencia, fertilidad y longevidad) demostró que los frutos de pimiento fueron más apropiados que las vainas de poroto, descartándose el efecto de antibiosis. Como *O. tristicolor* está presente en la región, se incorporó al estudio a fin de determinar si existían diferencias a nivel de especie y si era capaz de colaborar con *O. insidiosus* en el control de dicha plaga. Como segundo objetivo se evaluó si existían estímulos olfativos desde otras plantas hospederas que llevaran a un comportamiento de abandono del cultivo (no-preferencia o antixenosis). En experimentos de olfatometría y de libre elección, comparando dos tipos de pimiento (Blocky y Lamuyo), maíz y frutilla, se comprobó que ambas especies de *Orius* poseían mayor preferencia por las plantas de frutilla que por las de pimiento. Ello explicaría el bajo establecimiento sobre pimiento. El tercer objetivo fue estudiar la compatibilidad de *A. swirskii* y *O. insidiosus* en el control de trips, en especial, la existencia de depredación intragremial. En condiciones de laboratorio se confirmó que *O. insidiosus* ejerce dicho fenómeno sobre *A. swirskii*, lo que aconseja prudencia si se los libera en forma conjunta. Sería conveniente realizar nuevos estudios a nivel de invernadero y en la disposición espacial de los cultivos en los predios, que permitieran consolidar al control biológico como herramienta clave del manejo sustentable de plagas del cultivo de pimiento.

Palabras clave: antibiosis, antixenosis, depredación intragremial, *amblyseius swirskii*, antocóridos

BIOLOGY, PREFERENCE AND INTERACTIONS OF *ORIOUS INSIDIOSUS*, PREDATOR OF *FRANKLINIELLA OCCIDENTALIS* IN PEPPER

SUMMARY

The biological control program in greenhouse pepper cultivation in Uruguay is based on releases of *Orius insidiosus* and *Amblyseius swirskii* for the control of *Frankliniella occidentalis* and *Bemisia tabaci*, respectively. Despite the fact that *O. insidiosus* is reported as efficient thrips predator, in our conditions it can not establish and control this pest. Being zoophytophagous, the host plants of their prey have an effect on their oviposition preference and the performance of offspring. For this reason, the first objective of this study was evaluate the aptitude of pepper fruits as oviposition-feeding substrate, in comparison with bean pods (substrate used for their multiplication). The study of the biological variables of *O. insidiosus* (duration of development, survival, fertility and longevity) showed that pepper fruits were more appropriate than bean pods, ruling out the effect of antibiosis. As *O. tristicolor* is present in the region, was incorporated into the study in order to determine if there were differences at the species level and if it was capable of collaborating with *O. insidiosus* in the control of this pest. As a second objective, was evaluated if there were olfactory stimuli from other host plants that led to a behavior of abandonment of the culture (non-preference or antixenosis). In olfactometry and free choice experiments, comparing two types of pepper (Blocky and Lamuyo), corn and strawberry, it was found that both *Orius* species had a higher preference for strawberry plants than for pepper plants. This would explain the low establishment on pepper. The third objective was to study the compatibility of *A. swirskii* and *O. insidiosus* in the control of thrips, especially, the existence intra-guild predation. Under laboratory conditions it was confirmed that *O. insidiosus* exerts this phenomenon on *A. swirskii*, which advises caution if they are released together. It would be convenient to carry out new studies at the greenhouse level and in the spatial ordering of the crops, which allow the consolidation of biological control as a key tool for the sustainable management of pests of the pepper crop.

Keywords: antibiosis, antixenosis, intragremial predation, *amblyseius swirskii*, anthochorids

1 INTRODUCCIÓN GENERAL

1.1 ANTECEDENTES Y JUSTIFICACIÓN

El pimiento, *Capsicum annun* L., es una planta herbácea perenne de la familia Solanácea, segundo cultivo hortícola en importancia en el mundo, después del tomate (Rubaztky y Yamaguchi, 1997). El pimiento es susceptible a varias plagas que pueden reducir la calidad de la fruta y el rendimiento (Weintraub, 2007, Brødsgaard y Albajes, 1999). Entre los principales insectos plaga se encuentran las moscas blancas, trips, ácaro blanco y pulgones (Albajes *et al.*, 1999). Una de las plagas más importantes a nivel mundial es el trips occidental de las flores, *Frankliniella occidentalis* Pergande (Thysanoptera: Thripidae) (Reitz, 2009) que, debido a su alto potencial reproductivo y amplio rango de distribución geográfica, puede alcanzar rápidamente grandes poblaciones que se dispersan en diversos cultivos (Castresana *et al.*, 2008), a campo o en invernadero (Lewis, 1997).

Los daños provocados por *F. occidentalis* se traducen en importantes pérdidas económicas (Lewis, 1997), tanto si ellos son directos provocados por su alimentación y oviposición en frutos, como indirectos, por ser el principal vector del Tospovirus, virus de la peste negra del tomate (TSWV, Tomato Spotted Wilt Virus) (Whitfield *et al.*, 2005, Quiroz *et al.*, 2001, Ullman *et al.*, 1997). Si bien este virus afecta a varios cultivos hortícolas, los mayores ataques se registran en pimiento, probablemente debido a la no existencia de cultivares resistentes (Rubio *et al.*, 2014). Los perjuicios de este virus representan un problema sanitario muy importante para aquellos productores que pretenden conducir sus cultivos con baja utilización de agroquímicos, dado que un pequeño número de trips infectados puede contagiar a un gran número de plantas de manera irreversible, obligando a aumentar la frecuencia de los controles sanitarios (Maris *et al.*, 2003, De Jager *et al.*, 1995).

El manejo de los cultivos mediante la aplicación de insecticidas sintéticos es la táctica convencional en la lucha contra las plagas. Ello se debe a la relativa facilidad de uso y su efecto inmediato. Sin embargo, los insecticidas químicos generan efectos

nocivos, como la selección de poblaciones de plagas resistentes y el impacto ambiental negativo (Castresana *et al.*, 2008). En el caso particular de *F. occidentalis*, la utilización de insecticidas se ha mostrado poco eficaz, por su baja sensibilidad a los principales grupos de insecticidas (Bielza, 2008) y su localización en lugares ocultos de las plantas (Bielza, 2008, Brødsgaard, 2004). En efecto, los trips generalmente prefieren vivir en áreas cerradas, como las flores, debajo del cáliz de la fruta y en las hojas recién abiertas, lo que los hace difícil de alcanzar por los insecticidas (Bielza, 2008, Brødsgaard, 2004).

Estas condiciones señalarían a la utilización del control biológico como la táctica más promisorio de manejo de este insecto (van Driesche *et al.*, 1998, van Lenteren y Loomans, 1998, van Driesche y Bellows, 1996). Ello es así, por su carácter amigable con la salud humana y el ambiente (Barret *et al.*, 2018, van Lenteren *et al.*, 2018). Como ejemplo, en Europa el control de plagas en cultivos protegidos ha mostrado un avance notable en los últimos diez años, a través del reemplazo del control químico por el control biológico (van der Blom, 2017, Heimpel y Mills, 2017, Sanchez *et al.*, 2014). Es común que en dichos programas de control biológico se recurra a la utilización simultánea de varios enemigos naturales (Brødsgaard, 2004, Shipp y Ramakers, 2004). Tal es el caso del pimiento, donde existe un complejo sistema de múltiples plagas y se recurre a varios enemigos naturales, entre ellos, diferentes depredadores generalistas. Es así que, para el control de trips, además de patógenos y parasitoides, los ácaros fitoseidos del género *Amblyseius* y los antocóridos del género *Orius* sean actualmente los agentes de control más empleados (Bouagga *et al.*, 2017, Funderburk *et al.*, 2000). Ello se ha reflejado en que estos depredadores sean los más comercializados en Europa y Estados Unidos para el control de *F. occidentalis* en cultivos bajo invernadero (van der Blom *et al.*, 2009). Dentro del género *Orius*, *O. laevigatus* (Fieber) es la especie más utilizado en Europa y *O. insidiosus* (Say) en América (Brødsgaard 2004, Shipp y Ramakers, 2004).

De estas dos especies, solo *O. insidiosus* ha sido reportada en nuestro país (Carpintero, 2002). Se caracteriza por su hábito depredador tanto en estado ninfal como adulto y alimentarse en diversos hábitats de trips, ácaros, pulgones y moscas blancas (Calvo *et al.*, 2009, Arnó *et al.*, 2008, Messelink *et al.*, 2006, Nomikou *et al.*,

2002), siendo los primeros su presa principal (Jung *et al.*, 2011, Chow *et al.*, 2010, Ramachandran *et al.*, 2001). Este antócorido también se alimenta de la savia de las plantas vasculares (Corey *et al.*, 1998, Coll, 1996), por lo que se lo conoce como zoofitófago (Seagraves y Lundgren, 2010), y es capaz de consumir polen, lo que le permite sobrevivir en momentos de escasez de presas (Corey *et al.*, 1998).

Desde 2014, *O. insidiosus* es utilizado en cultivos hortícolas de pimiento bajo invernadero en Uruguay, dentro de programas de manejo de plagas que incluyen control biológico. Este depredador es liberado en combinación con *Amblyseius swirskii* Athias-Henriot (Acari: Phytoseiidae), un ácaro depredador destinado principalmente a controlar la mosca blanca del tabaco, *Bemisia tabaci* Gennadius (Hemíptera: Aleyrodidae). Dicho ácaro, si bien se alimenta en forma secundaria de trips, como sucede en otros países como España, no realiza un control suficiente de esta plaga como para reducir el riesgo de infecciones por TSWV (Belda y Calvo, 2006, Lacasa y Contreras, 1993) y la combinación con *Orius* spp. es recomendada (Sanchez *et al.*, 2014).

La vigorosa adopción inicial de la herramienta del control biológico en pimiento por parte de productores hortícolas en Uruguay ha dado paso a una etapa de estancamiento en la expansión del área, fruto de la no correcta resolución de los problemas sanitarios del cultivo. En efecto, si bien las moscas blancas son bien controladas por *A. swirskii*, en muchos casos los trips siguen provocando daños al cultivo. La causa más probable de esta situación radica en que la chinche *O. insidiosus* no logra establecerse y actuar satisfactoriamente para controlar los trips. Este resultado contrasta con experiencias similares en otras partes del mundo y compromete las posibilidades de continuar aplicando estos métodos biológicos en nuestro país.

Cabe aclarar que, en Europa, donde se han logrado muy buenos resultados en el control de los trips en pimiento, se recurre a la utilización de otra especie, *O. laevigatus* (Bouagga *et al.*, 2017, Urbaneja *et al.*, 2003). También, las variedades de pimiento utilizados en la mayoría de las regiones del mundo son del tipo Blocky, mientras en Uruguay son del tipo Lamuyo. Asimismo, en Uruguay, a diferencia de lo que sucede en esas experiencias exitosas, los invernaderos no están cerrados con una barrera física o mallas permanentes que puedan evitar la salida de los depredadores antes de

establecerse en el cultivo. *Orius* spp. es un agente de control polífago que presenta una gran movilidad fruto de la capacidad de vuelo de sus adultos, por lo que puede trasladarse fácilmente de un lugar a otro y así localizar nuevas presas. El sistema hortícola en Uruguay presenta una gran diversidad de cultivos (maíz, frutilla, sorgo, etc.) plantados simultáneamente, que pueden atraer a estos depredadores. Factores que podrían estar afectando el establecimiento y la colonización de *O. insidiosus* en el cultivo de pimiento en nuestro país.

En la búsqueda de las claves que permitan explicar la situación, los estudios llevados adelante se dirigieron a conocer el complejo *O. insidiosus* - *A. swirskii* - *F. occidentalis* - planta del pimiento. Se partió de la base que las relaciones ecológicas surgidas de esas interacciones eran un factor relevante en el éxito del control biológico de plagas en el cultivo. En muchos de estos estudios se incorporó otra especie, *Orius tristicolor* (White) (Ribeiro y Castiglioni, 2008, Carpintero, 2002), dado que es común encontrarla en forma abundante en nuestro país, sobre todo en cultivos de maíz (*Zea mays* L., Poaceae) y frutilla (*Fragaria* sp., Rosaceae) próximos a los invernaderos de pimiento. Se buscó de este modo determinar si la especie de *Orius* era un factor también a considerar, y si esta especie podría llegar a colaborar con *O. insidiosus* en el control de los trips si se la utilizara.

En primer lugar, se estudió la influencia de las plantas hospederas de sus presas en las variables biológicas de los depredadores. Como se dijo, las especies de *Orius* son insectos zoofitófagos, al punto que son capaces de completar su desarrollo en alimentos de origen vegetal (Cocuzza *et al.*, 1997, Kiman y Yeargan, 1985). No obstante, ello, las plantas tienen un efecto dramático en varios componentes de su *fitness*, relacionado con la preferencia de oviposición de los adultos y el desarrollo de su descendencia (Coll, 1998).

Los insectos al alimentarse en sus plantas hospederas pueden activar múltiples mecanismos de defensa de parte de ellas (Wu y Baldwin, 2009, Howe y Jander, 2008). Un tipo de resistencia es el llamado mecanismo de antibiosis, por el cual las plantas afectan el crecimiento, desarrollo o supervivencia del insecto (Painter, 1951). Otro mecanismo de defensa es la antixenosis o no-preferencia, la cual permite a las plantas no compatibilizar con el insecto, evitando que éste las utilice para oviposición,

alimento o refugio. De este modo, este mecanismo afecta en forma adversa el comportamiento del insecto, no permitiéndole utilizar ciertas plantas como hospederas (Painter, 1951). Ejemplo de ello es que las hembras de *Orius* prefieren oviponer en algunos vegetales y no en otros (Lundgren *et al.*, 2008, Lundgren y Fergen 2006). Por un lado, porque sus posturas son endofíticas y las características anatómicas de las plantas hospederas de sus presas como sitios de oviposición son críticos. Por otra parte, junto con estímulos visuales, gustativos y táctiles, los compuestos volátiles juegan un papel fundamental en el proceso de reconocimiento y aceptación del hospedero. En base a ello, se estudió si existía un efecto de antixenosis que llevara a *O. insidiosus* a no seleccionar a la planta de pimiento como hospedera.

Otra de las claves en el éxito del control biológico, es el conocimiento de las relaciones que se establecen en el complejo de enemigos naturales que coinciden espacio-temporalmente en los cultivos (Weidenmann y Wilson, 1996). En base a ello, estudiamos la compatibilidad entre *A. swirskii* y *O. insidiosus* en el control de *F. occidentalis*. Las interacciones múltiples de enemigos naturales pueden llevar a diferentes resultados que conduzcan tanto a incrementar la supresión de las plagas a las cuales están asociados o a reducir el efecto de control, debido a interacciones negativas tales como interferencia, canibalismo, comportamiento de evasión y depredación intragremial (DIG) (Prasad y Snyder, 2006, Snyder y Wise, 1999). La DIG es una interacción muy extendida entre agentes de control biológico que ocurre cuando dos especies comparten un mismo recurso (presa extragremial) y por lo tanto compiten por él, y también existe entre ellos una interacción trófica (depredación o parasitismo) (Rosenheim *et al.*, 1995). En este caso, *A. swirskii* y *O. insidiosus* pueden interaccionar entre ellos y su uso conjunto podría ser aditivo, sinérgicamente positivo o negativo sobre el control de los trips (Rosenheim *et al.*, 1995).

Por lo que es necesario realizar estudios que proporcionen información para responder a estas interrogantes y que ayuden a afianzar el control biológico de plagas en los invernaderos hortícolas.

1.2 MARCO CONCEPTUAL

1.3 INTERACCIONES TRITRÓFICAS

Las plantas y los insectos herbívoros constituyen aproximadamente la mitad de la biodiversidad macroscópica del mundo y representan una de las interacciones dominantes y más complejas en los ecosistemas terrestres (Strong *et al.*, 1984). Estos ecosistemas se caracterizan por una gran diversidad de especies y una correspondiente diversidad de interacciones entre estas (Dicke, 2004). Sin embargo, los estudios sobre ecología han estado históricamente dirigidos principalmente a las interacciones entre sólo dos niveles tróficos; las plantas y el herbívoro o el depredador y la presa (Dicke, 2004). No obstante, estas interacciones no pueden entenderse completamente sin incorporar en estos estudios al tercer nivel trófico; el de los enemigos naturales de los herbívoros, como son los depredadores y parasitoides (Price, 1980). Los enemigos naturales afectan desde una posición superior de la cadena trófica a los niveles inferiores de ésta, afectando a la estructura y dinámica de las comunidades de herbívoros (a través de las interacciones depredador-presa o parasitoide-huésped). En consecuencia, estas interacciones pueden influir en el desarrollo o en la abundancia de las plantas (Schmitz *et al.*, 2000). Del mismo modo, también las plantas pueden mediar efectos que transcurren desde abajo hacia arriba en la red alimentaria, influenciando así la diversidad y la dinámica de poblaciones de niveles tróficos superiores (Hunter y Price, 1992). Además, los depredadores y parasitoides también pueden ser atacados por insectos hiperparasitoides, un cuarto nivel trófico que, a su vez, puede ser atacado por sus propios hiperparasitoides facultativos (Brodeur, 2012). De forma frecuente, puede presentarse también depredación intragremio entre los enemigos naturales, que ocurre cuando se mata y consume entre posibles competidores y tiene el potencial de afectar la distribución, abundancia y evolución de las especies involucradas (Polis *et al.*, 1989, Holt y Polis, 1997).

Se pone de manifiesto la necesidad de realizar estudios con un enfoque multitrófico, integrando conocimientos en ecología en campos aplicados, como puede

ser la agricultura sostenible (Vaello, 2019). Hay que destacar que el tercer nivel trófico es la base del control biológico, donde los depredadores y parasitoides son los encargados de mantener a las plagas de herbívoros bajo control.

1.4 SEÑALES QUÍMICAS ENTRE LOS ORGANISMOS

Todos los organismos dentro de un ecosistema están interconectados unos con otros por medio de cadenas alimentarias y redes tróficas (Hunter y Price, 1992), y la comunicación entre ellos es facilitada fundamentalmente por señales químicas presentes en el medio ambiente (Turlings y Wäckers, 2004, Karban y Baldwin, 1998, Vet y Dicke, 1992). Estas interacciones ocurren frecuentemente entre organismos sobre y bajo el suelo, y son mediadas principalmente por compuestos químicos, procedentes de las plantas y de los propios insectos, los cuales pueden afectar positiva o negativamente a los receptores o a los emisores de estas señales químicas (van der Putten *et al.*, 2001).

1.5 DEFENSAS DE LAS PLANTAS

En la naturaleza, las plantas interactúan con una gran variedad de organismos, algunos de los cuales son dañinos (patógenos o insectos herbívoros) mientras que otros son benéficos (depredadores, parasitoides, entomopatógenos, micorrizas, polinizadores) (Pieterse y Dicke, 2007). Las plantas han desarrollado estrategias de defensa altamente sofisticadas para defenderse de los organismos dañinos, como son los herbívoros plaga y los patógenos. Estas defensas pueden ser: 1) constitutivas, lo que significa que están presentes en todo momento, independiente de la presencia o ausencia de herbívoros o 2) defensas inducidas, que aparecen en respuesta al ataque o daño de los herbívoros (Kessler y Baldwin, 2002). Estas últimas pueden ser directas o indirectas, y desempeñan un papel crucial en la protección de las plantas contra los herbívoros plagas (Schoonhoven *et al.*, 2005).

Las defensas directas son cualquier rasgo vegetal físico (espinas, tricomas) o químico (metabolitos primarios o secundarios) que afectan la vulnerabilidad o el rendimiento del insecto herbívoro atacante (Dicke y van Loon, 2000). Se inducen a

través de la herbivoría y se caracterizan por su modo de operación. Por su parte, las defensas indirectas tienen como objetivo reducir la presión de las plagas atrayendo enemigos naturales y promoviendo su eficiencia (Karban, 2011). Una forma es mediante la emisión de compuestos volátiles que atraen a los enemigos naturales de niveles tróficos más altos hacia la planta dañada (Vet y Dicke, 1992).

El resultado actual de la coevolución entre los vegetales y los insectos fitófagos es la existencia de insectos más o menos especializados y vegetales más o menos resistentes. Los insectos fitófagos al alimentarse en sus plantas hospederas, pueden activar múltiples mecanismos de defensa (Wu y Baldwin, 2009, Howe y Jander, 2008). Tres mecanismos según Painter (1951) explican la resistencia vegetal. Por un lado, la antibiosis, por el cual las plantas afectan el crecimiento, desarrollo o supervivencia del mismo, por la presencia de factores aleloquímicos o nutricionales. Otro tipo de resistencia contra los insectos es el llamado mecanismo de antixenosis o no-preferencia, que permite a las plantas no compatibilizar con el insecto, evitando que éste la utilice para oviposición, alimento o refugio. Dicho mecanismo afecta en forma adversa el comportamiento del insecto no permitiéndole parasitar ciertos genotipos de sus hospedantes. Por último, el mecanismo de tolerancia, es un mecanismo de resistencia por el cual la planta demuestra una cierta capacidad para crecer y reproducirse o para reparar en cierta medida los daños, a pesar de soportar una población de insectos aproximadamente igual a aquella que causaría daños a un hospedante susceptible.

La naturaleza coevolutiva y dinámica de las interacciones bióticas, en las que las respuestas de un jugador se han seleccionado para contrarrestar las respuestas del otro, hace que estas respuestas sean muy difíciles de estudiar (Baldwin y Preston, 1999).

1.6 COMUNIDAD DE ENEMIGOS NATURALES

La comunidad no es sólo una colección de especies diferentes que viven en el mismo ecosistema, sino que es un sistema integral de especies que dependen unas de otras y que debido a ello están interaccionando constantemente (Aquilino *et al.*, 2005).

Las interacciones entre los seres vivos de una comunidad se manifiestan a través de diversos tipos de relaciones, incluyendo la competencia (intra o/y interespecífica), la depredación, el mutualismo o el parasitismo. Los recursos son siempre limitados y hay que competir por ellos (Byrnes *et al.*, 2005).

Un rasgo fundamental de la supervivencia es la competencia con los individuos de su misma especie (intraespecífica) y contra los de especies afines (interespecífica), es decir contra las especies que le disputan el alimento, sitio de oviposición u otros recursos. Cada especie representa y ocupa un nicho ecológico único, definido como lo que cada especie hace durante toda su vida, sus relaciones con el ecosistema, sus interacciones y sus estrategias de supervivencia y reproducción (Byrnes *et al.*, 2005)

1.7 SISTEMA DE ESTUDIO

El sistema de estudio se centra en los diferentes niveles tróficos: la planta, el herbívoro y el agente controlador.

Primer nivel trófico: el cultivo de pimiento, *Capsicum annum* L. (Solanácea) de gran importancia económica en los invernaderos en nuestro país después de tomate (MGAP-DIEA, 2019).

Segundo nivel trófico: los herbívoros plaga. El trips de las flores, *F. occidentalis*, considerado un insecto polífago en todo el mundo y una de las plagas principales del pimiento en nuestro país. Se alimenta del tejido celular de la hoja o del polen de las plantas (Janssen *et al.*, 2003) y además causan daños indirectos como vectores de tospovirus (Belliere *et al.*, 2005).

Tercer nivel trófico: los enemigos naturales. Por un lado, la chinche depredadora *O. insidiosus* utilizada en numerosos países para el control biológico de trips en diversos cultivos hortícolas protegidos (Chow *et al.*, 2010, Belda y Calvo, 2006). Tanto las ninfas como los adultos son depredadores polípagos que pueden alimentarse de un amplio rango de presas (Arnó *et al.*, 2008). Por otro lado, el ácaro *A. swirskii*, que empezó a comercializarse en nuestro país en 2013 y se utiliza como agente de control de mosca blanca y trips. Este depredador mata principalmente larvas de primer estadio de *F. occidentalis* (Wimmer *et al.*, 2008), pero es más eficaz que otros ácaros fitoseidos

comercialmente disponibles para el control de trips en pepinos (Messelink *et al.*, 2006), pimientos (van Houten *et al.*, 2005) y rosas (Pijnakker y Ramakers, 2008).

1.8 HIPÓTESIS

La baja eficacia de *O. insidiosus* en el control de trips en el cultivo de pimiento se debe a un efecto negativo en las interacciones entre los integrantes de la asociación *O. insidiosus* - *A. swirskii* - *F. occidentalis* - planta del pimiento.

1.9 OBJETIVOS GENERAL Y ESPECÍFICOS

Objetivo general

Estudiar las interacciones más importantes del sistema depredadores-fitófago-planta hospedera que involucran al cultivo de pimiento y su entorno en Uruguay, que puedan explicar las fallas en la aplicación del método del control biológico contra una de las plagas principales de dicho cultivo.

Objetivos específicos:

1. Evaluar el efecto de la planta hospedera de sus presas sobre las variables biológicas de *O. insidiosus* y *O. tristicolor* bajo condiciones de laboratorio en dos sustratos de oviposición – alimentación (vainas de poroto y frutos de pimiento).
2. Determinar la preferencia de *O. insidiosus* y *O. tristicolor* por la planta de pimiento tipo Blocky y Lamuyo, frutilla y maíz en condiciones de olfatometría y experimentos de libre elección.
3. Comprobar si existe depredación intragremial en la asociación *O. insidiosus* - *A. swirskii* - *F. occidentalis* en su relación con el pimiento, y sus posibles efectos en el control de dicha plaga.

Los objetivos específicos 1, 2 y 3 serán tratados en los capítulos 3, 4 y 5.

2 **EFFECTO DE DOS SUSTRATOS DE OVIPOSICIÓN - ALIMENTACIÓN DE *ORIOUS INSIDIOSUS* Y *ORIOUS TRISTICOLOR* (HEMIPTERA: ANTHOCORIDAE)**

Orius insidiosus (Say) es reconocido a nivel mundial como un eficiente controlador de trips, particularmente en invernaderos de pimiento (van de Veire y Degheele, 1992). Sin embargo, cuando se lo libera en nuestro país no logra colonizar el cultivo de pimiento y controlar la población de trips. Este antocorido es reportado como depredador, tanto de los estados inmaduros como del estado adulto de dicha plaga (Chow *et al.*, 2010, Ramachandran *et al.*, 2001), así como de áfidos, pulgones, psílidos y otros artrópodos (Jung *et al.*, 2011, Funderburk *et al.*, 2000). Además, se alimenta de la savia y el polen de las plantas (Corey *et al.*, 1998, van den Meiracker y Ramakers, 1991), por lo que son conocidos como zoofitófagos y considerados especies generalistas (Seagraves y Lundgren 2010). Es por ello que las plantas hospederas de sus presas tienen efecto en varios componentes de la aptitud de *O. insidiosus* y esto se relaciona con la preferencia de oviposición y el desempeño de su descendencia (Coll, 1998). Se planteó entonces, si los frutos de pimiento como sustrato de oviposición – alimentación podrían afectar los parámetros de la historia de vida de los depredadores, aspecto en el que la planta difiere en su idoneidad para el crecimiento, supervivencia y reproducción del insecto. Los resultados obtenidos en el marco de este estudio fueron objeto de la publicación del siguiente artículo científico: Effect of two oviposition feeding substrates on *Orius insidiosus* and *Orius tristicolor* (Hemíptera: Anthocoridae).

Effect of two oviposition feeding substrates on *Orius insidiosus* and *Orius tristicolor* (Hemiptera: Anthocoridae)

María E. Lorenzo^{1,*}, Leticia Bao², Luciana Mendez¹, Gabriela Grille², Olivier Bonato³, and Cesar Basso²

Abstract

Western flower thrips, *Frankliniella occidentalis* (Pergande) (Thysanoptera: Thripidae), is one of the most significant pests of commercial vegetables, fruits, and ornamental crops worldwide, causing both direct and indirect damage. Chemical control is the most common methodology for dealing with *F. occidentalis*, but this pest lays its eggs inside plant tissues, and adults and larvae feed in concealed locations, which can make chemical control of this pest difficult. As an alternative to chemical control, research attention has been focused on biological control through inoculative augmentation using anthocorid flower bugs of the genus *Orius* (Hemiptera: Anthocoridae). Although *Orius insidiosus* (Say) (Hemiptera: Anthocoridae) is an effective predator used worldwide for suppressing populations of western flower thrips, its use on pepper crops in Uruguay (Salto) has not achieved favorable results to date. Taking into account that *O. insidiosus* can supplement its diet by feeding on pollen and plant tissues, the aim of this study was to assess the effects of pepper fruits compared to bean pods, a vegetable substrate widely used for multiplying this predator, on the duration of the embryonic and nymph developmental stages, survival, fertility, and longevity of this species. Since *Orius tristicolor* (White) (Hemiptera: Anthocoridae) is present also in the horticultural region of Salto, this species was incorporated into the study in order to evaluate if significant differences exist between these 2 species. When biological parameters were measured, pepper fruits proved to be a more appropriate substrate than bean for the 2 *Orius* species studied. We reject the hypothesis that an antibiosis effect would explain the difficulties for the establishment of *O. insidiosus* in the greenhouses of Salto. These results show the need to examine other factors contributing to low establishment of these predatory bugs in greenhouses in Uruguay.

Key Words: biological control; omnivory; plant-feeding predators; pepper; *Frankliniella occidentalis*; oviposition substrates

Resumen

El trips occidental de las flores, *Frankliniella occidentalis* (Pergande) (Thysanoptera: Thripidae), es una de las plagas más importantes de hortalizas comerciales, frutas y cultivos ornamentales en todo el mundo, causando daño tanto directo como indirecto. El control químico es la metodología más común para el control de *F. occidentalis*, pero esta plaga pone sus huevos dentro de los tejidos vegetales y los adultos y las larvas se alimentan en lugares ocultos, lo que puede dificultar el control químico de esta plaga. Como una alternativa al control químico, mucha de la atención de la investigación se ha enfocado en el control biológico a través del aumento inoculativo usando insectos antocoridos del género *Orius* (Hemiptera: Anthocoridae). Aunque *Orius insidiosus* (Say) (Hemiptera: Anthocoridae) es un depredador eficaz utilizado en todo el mundo para suprimir poblaciones de trips occidental de las flores, su uso en cultivos de pimiento en Uruguay (Salto) no ha dado buenos resultados hasta la fecha. Teniendo en cuenta que *O. insidiosus* puede complementar su dieta alimentándose de polen y de tejidos vegetales, el objetivo de este estudio fue evaluar los efectos de los frutos de pimiento, en comparación con las vainas de frijol (un sustrato vegetal ampliamente utilizado para multiplicar este depredador), en la duración de las etapas de desarrollo embrionario y ninfal, supervivencia, fertilidad y longevidad de esta especie. Como *Orius tristicolor* (White) (Hemiptera: Anthocoridae) está presente también en la región horticola de Salto, esta especie se incorporó al estudio para evaluar si existían diferencias significativas entre estas dos especies. Cuando se midieron los parámetros biológicos, los frutos de pimiento probaron ser un sustrato más apropiado para las dos especies de *Orius* estudiadas que las vainas de frijol. Rechazamos la hipótesis de que un efecto de antibiosis explicaría las dificultades para el establecimiento de *O. insidiosus* en los invernaderos de Salto. Estos resultados muestran la necesidad de examinar otros factores que contribuyen al bajo establecimiento de estos insectos depredadores dentro de los invernaderos en Uruguay.

Palabras Clave: control biológico; omnívoro; depredadores que se alimentan plantas; pimiento; *Frankliniella occidentalis*; sustrato de oviposición

Western flower thrips, *Frankliniella occidentalis* (Pergande) (Thysanoptera: Thripidae), possess a variety of biological factors that have made it one of the most significant pests affecting commercial

vegetables, fruits, and ornamental crops worldwide; these factors include small size, short generation time, 6 developmental stages, strong reproductive ability, serious crop plant damage, and vector-

¹Universidad de la República, Facultad de Agronomía, Departamento de Protección Vegetal, Unidad de Entomología, Salto, 50000, Uruguay; E-mail: meugeniorenzo@gmail.com (M. E. L.), lmendezds@gmail.com (L. M.)

²Universidad de la República, Facultad de Agronomía, Departamento de Protección Vegetal, Unidad de Entomología, Montevideo, 12900, Uruguay; E-mail: baoleticia@gmail.com (L. B.), ggrille@vera.com.uy (G. G.), cbasso.bis@gmail.com (C. B.)

³Université de Montpellier, IRD-Cirad, Interactions Plantes Microorganismes Environnement, Montpellier, France; E-mail: olivier.bonato@ird.fr (O. B.)

*Corresponding author; E-mail: meugeniorenzo@gmail.com

ing of significant plant viruses (Kirk & Terry 2003). Direct or cosmetic damage results from feeding and oviposition on plant leaves, flowers, and fruits of more than 200 vegetables and ornamental crops (Lewis 1997; Reitz 2009). Indirect damage is caused by virus transmission, of which the tomato spotted wilt virus is the most important from an economic point of view (De Jager et al. 1995; Maris et al. 2003). In addition to feeding on pollen and plant tissues, adult *F. occidentalis* individuals can supplement their diet with high-protein resources by feeding on other herbivores, such as spider mite eggs (Trichilo & Leigh 1986) and thrips larvae (van Rijn et al. 1995). These omnivorous habits may provide *F. occidentalis* with a competitive advantage over other pests in greenhouses, given that a variety of food resources such as pollen and prey are available. Those ecosystem attributes (as well as a warm, protected environment) predispose *F. occidentalis* to permanent establishment and spread, especially in greenhouse crops (Morse & Hoddle 2006).

The most common methodology for dealing with *F. occidentalis* is chemical control, especially in virus-sensitive crops, where a large number of specific treatments are carried out to control thrips. However, it is difficult to control *F. occidentalis* with chemicals because this species lay their eggs inside plant tissues, and the adults and larvae feed in concealed locations, such as flower buds, which protect the pest from insecticides (Jensen 2000; Brødsgaard 2004). Furthermore, in recent yr, failures in the chemical control of this species have been reported because of the emergence of different levels of resistance to various insecticides, including organochlorines, organophosphates, carbamates, pyrethroids, and spinosad (Jensen 2000; Bielza 2008). These resistance phenomena are facilitated by the short generation time, high fertility, and the presence of haploid males in which the resistance genes can be rapidly selected (next generation) when the parents are exposed to pesticide treatments (Espinosa et al. 2002).

As an alternative to chemical control, research attention has been focused on biological control through inoculative augmentation (i.e., deliberate introductions of mass-reared natural enemies into cropping systems with most of the control being provided later by the offspring of the released organism) (van Driesche & Bellows 1996). In this control method, the quality of the organisms released can determine, among other factors, the success of biological control (van Lenteren 1991). The artificial breeding conditions of natural enemies, compared with those of the habitat where they will be released, could influence their later effectiveness. Quality control of the released natural enemies must be carried out to avoid failures in the control of the pests because of the process of their mass production (Bigler 1989, 1994).

Phytoseiid mites of the genus *Amblyseius* (Mesostigmata: Phytoseiidae) or anthocorid flower bugs of the genus *Orius* have been used for the biological control of *F. occidentalis* (Ramakers 1995). In particular, *O. insidiosus* was shown to be an effective predator that suppressed populations of western flower thrips in field peppers grown during a period when thrips were rapidly colonizing and developing in the flowers (van de Veire & Degheele 1992; Funderburk et al. 2000; Viglianchino 2013). This anthocorid preys on both larval and adult thrips (Ramachandran et al. 2001; Chowet et al. 2010), as well as on aphids, psyllids, mite larvae, flies, and other arthropods (Funderburk et al. 2000; Junget et al. 2011).

Anthocorids also may feed on the sap of vascular plants (van den Meiracker & Ramakers 1991; Coll & Ridgeway 1995; Naranjo & Gibson 1996; Corey et al. 1998). They also may consume pollen; however, they are considered omnivorous. The chemical properties of plants and prey differ greatly, and their relative nutritional values for

the omnivore are likely to be a major determinant on the proportion of plant and prey consumption by *O. insidiosus* in the continuum between herbivorous to predaceous habits (Coll & Izralevich 1997). The interactions between plant-prey-omnivore influence the behavioral (plant selected for oviposition) and physiological (plants differ in their suitability for the insect's growth, survival, and reproduction) aspects (Coll 1996).

As a consequence, plant hosts may have a dramatic effect on several components of *O. insidiosus* fitness, mostly related to the preference for oviposition in adults and the performance of the offspring (Coll 1998). Physical and chemical factors, including plant volatiles, the texture and thickness of the plant tissue, or even the combination of both, influence selection of oviposition substrates (Richards & Schmidt 1996). *Orius* spp. females lay their eggs inside plant tissues; therefore, the preference of females for a given substrate depends on the ease of ovipositor insertion, or even the appropriateness of different plants or specific plant tissues for development of the eggs (Coll 1996). It is known that plants have different defense mechanisms for protection from insects which can affect their fertility, longevity, growth, or oviposition (Painter 1951). The preference-performance hypothesis predicts that insects will use plants that provide higher offspring fitness (Balagawi et al. 2013; Clark et al. 2011).

Since 2011 in Uruguay, *O. insidiosus* has been used for pest control in *Capsicum annuum* L. (Solanaceae) pepper crops in greenhouses in the horticultural region of Salto. This predator is released as part of a strategy of biological control through inoculative augmentation, which also includes the predator mite *Amblyseius swirskii* Athias-Henriot (Mesostigmata: Phytoseiidae). However, the populations of *O. insidiosus* showed a low rate of increase in those crops into which it was released in Salto, even though its prey, *F. occidentalis*, is easily available. This leads to significant damage to the crops caused by thrips, and interest in the reasons why population growth of this predator has failed under these crop conditions. After studies carried out in the Entomology Laboratory of the Faculty of Agronomy of Uruguay, poor quality of the released predators was disregarded as a cause of their low establishment in the crops. The lots of *O. insidiosus* supplied by Brometan Company SA (Buenos Aires, Argentina) were tested, and the criteria defined by the International Organization for Biological Control (IOBC) were fulfilled, i.e., a sex-ratio $\geq 45\%$ of females ($n = 100$) and a fertility ≥ 30 eggs per female in 14 d (van Lenteren 2003).

As a first step to answer this question, the effect of the host plant on the biological parameters of *O. insidiosus* (duration of embryonic and nymphal stages, survival, fertility, and longevity) was determined. Because *O. tristicolor* also is abundant in the horticultural region of Salto (Carpintero 2002; Ribeiro & Castiglioni 2008), this species was incorporated into the study in order to evaluate if differences between these 2 *Orius* species existed.

In the current study, fruits of the variety of pepper most widely planted in Salto ('Bilano' variety, 'Lamuyo' type) were used, and their effects were compared with those caused by bean pods *Phaseolus vulgaris* L. (Fabaceae), a feeding-oviposition substrate widely used for breeding *Orius* spp. in laboratory (Castañe & Zalom 1994; Richards & Schmidt 1996; Mendes et al. 2005).

Materials and Methods

INSECT COLONIES AND EXPERIMENTAL CONDITIONS

Specimens of *O. insidiosus*, *O. tristicolor*, and *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae) used in the experiments were mass-reared in the Faculty of Agronomy (Salto, Uruguay) Entomology Lab-

oratory. Colonies of *O. insidiosus* were established from individuals coming from Argentina, purchased from the Brometan Company SA (Buenos Aires, Argentina) that distributes *O. insidiosus* to the horticultural growers in Salto. Individuals of *O. tristicolor* were collected from corn *Zea mays* L., sorghum *Sorghum* spp. (both Poaceae), and strawberry *Fragaria* sp. (Rosaceae) in fields located in the vicinity of the city of Salto, Uruguay (31.3500°S, 57.8833°W).

Colonies were reared in the laboratory for at least 1 yr before their use in the experiments. The anthocoridae were fed with *E. kuehniella* eggs, an excellent protein source for these predators (Mendes et al. 2002; Zambrano 2009; Sobhy et al. 2010). The colonies were kept under controlled conditions, i.e., 25 ± 1 °C, $65 \pm 10\%$ RH, and a 16:8 h (L:D) photoperiod, according to the protocol described by Mendes and Bueno (2001). Rearing was carried out in glass boxes (35 cm L $\times$ 20 cm W $\times$ 14 cm H) containing corrugated paper or vermiculite, a source of water (wetted cotton) and food (*E. kuehniella* eggs) ad libitum. Females and males from each of the 2 *Orius* species were put in each box; the substrate for oviposition was either green bean (*P. vulgaris*) pods, about 15 cm long (Castañé & Zalom 1994; Richards & Schmidt 1996; Mendes et al. 2005) or recently set pepper fruits (*Capsicum annuum*) (about 1 cm long), determined from previous studies. Boxes were placed in controlled climate chambers with the following conditions: 25 ± 1 °C, $70 \pm 10\%$ RH, and a 16:8 h (L:D) photoperiod.

DURATION OF THE EMBRYONIC AND POST-EMBRYONIC DEVELOPMENT

In order to obtain cohorts of *O. insidiosus* and *O. tristicolor*, 117 females and 39 males were extracted from the offspring of each species. They were then distributed in arenas constituting of plastic boxes (Biriden, Montevideo, Uruguay) (20 cm in diam) covered with polyethylene extendible film (Naka SA, Montevideo, Uruguay). As oviposition substrate, 4 pods of *P. vulgaris* (about 15 cm long) or 7 peppers (about 1 cm long) were placed in each box. Thirteen boxes were used for each species, and 9 males and 3 females were introduced into each of them. After 24 h, adults were removed, and the eggs laid in the pods and pepper fruits were counted under a stereoscopic microscope (Nikon SMZ 1B-X35, Nikon Corporation, Montevideo, Uruguay) in each box. Pods and peppers were gathered into 7 groups of 30 eggs each. Each group was considered a replication, and the pods and peppers from each replication were put in plastic boxes (Biriden, Montevideo, Uruguay) (20 cm in diam) covered with polyethylene extendible film (Naka SA, Montevideo, Uruguay) and kept until the nymphs hatched, following the procedure reported by Avellaneda et al. (2016).

To determine the duration of embryonic development, the number of eggs and first-stage nymphs present in each replication were counted every 24 h until no new nymphs were found. In order to calculate the duration of the nymphal developmental stage, the nymphs found daily were collected from the arenas, and were separated in order to prevent cannibalism or mutual interference, as reported for *Orius* species in the absence of food or under a high density of individuals (van den Meiracker 1999). They were placed in Petri dishes (about 5 cm in diam) containing cotton wetted with distilled water, white filter paper (0.5 cm²), and *E. kuehniella* eggs ad libitum as prey. Each box was covered with polyethylene extensive film with high transparency in order to avoid escapes.

The duration of each nymphal stage was registered daily until adult emergence; the exuviae from the ecdysis was extracted using a fine paint brush. The sex-ratio was then determined by observing the abdominal region of adults (Ferragut & González 1994) under a stereoscopic microscope (Nikon SMZ 1B-X35, Nikon Corporation, Montevideo, Uruguay).

SURVIVAL OF EGGS AND NYMPHS

The eggs (laid on bean pods and pepper fruits) were monitored and observed daily in order to determine the percentage of eggs hatched and the survival rate of embryos. Hatched eggs can be differentiated because of the opening of the operculum that remains suspended from the egg. After hatching of the eggs, nymphs were individualized and observed daily in order to record the change of stage and determine nymphal survival; the exuviae from the ecdysis was extracted. This process was carried out until the last exuviae from the imaginal molting (nymph V) was obtained. A stereoscopic microscope (Nikon SMZ 1B-X35, Nikon Corporation, Montevideo, Uruguay) was used for observing the morphological changes of the nymphs.

LONGEVITY AND FERTILITY OF FEMALES

Petri dishes (5 cm in diam) were used as experimental units. They contained white sulphite paper (0.5 cm²), *E. kuehniella* eggs as food ad libitum, and cotton that was wetted daily with distilled water in order to keep the humidity elevated. In each box, a section of pod from *P. vulgaris* (about 3 cm long) or a pepper fruit (about 1 cm long) was placed as an oviposition substrate. Seventeen couples of anthocoridae from each species, ≤ 24 h old, were selected and introduced into an experimental unit. Bean pod sections and pepper fruits were removed daily and replaced by fresh ones until the death of the female. In case the male died before the female, he was quickly replaced (Avellaneda et al. 2016).

For each ovipositing female, the number of eggs laid was registered daily, and the periods of pre-oviposition, oviposition, and post-oviposition were determined, as well as the total fertility (total number of eggs per female), and the daily fertility (daily number of eggs per female). Longevity was calculated including all the females, even if no longer ovipositing.

STATISTICAL ANALYSIS

A 2-way ANOVA with *Orius* species and host plant as 2 different factors was used to check the effect of oviposition-feeding substrate on the duration of the pre-imaginal development stages, the total duration of the development (egg to adult), pre-oviposition, oviposition, and post-oviposition periods, fertility, and longevity of *O. insidiosus* and *O. tristicolor* females. Before running the ANOVA programs ($P < 0.05$), the normality of experimental errors as well as the homoscedasticity were checked. When the ANOVA reflected a significant difference, means were separated using the Tukey test. For data of embryonic and post-embryonic stages survival, the interaction between species and host plant was analyzed using a GLM (binomial distribution, and species and host plant as factors). All the statistical analyses were performed using the R Core Development Team statistical program (2014).

Results

DURATION OF THE EMBRYONIC AND POST-EMBRYONIC DEVELOPMENT

Both *O. insidiosus* and *O. tristicolor* showed a shorter duration of the embryonic stage on bean pods than on pepper fruits ($F = 257$; $df = 3$; $P < 0.001$). Comparison between the 2 species indicated that *O. insidiosus* needed less time than *O. tristicolor* to complete the egg stage on both oviposition substrates ($P < 0.05$) (Table 1). An effect of the species ($F = 104$; $df = 1$; $P < 0.001$), the host plant ($F = 663$; $df = 1$; $P <$

Table 1. Duration (d) (mean $\pm$ confidence interval) of the egg stage, the stages of nymphal development, and the total for the pre-imaginal period of *Orius insidiosus* and *Orius tristicolor* on bean pods and pepper fruits under controlled conditions: 25 $\pm$ 1 °C, 65 $\pm$ 10% RH, and a 16:8 h (L:D) photoperiod.

Developmental stage	<i>Orius insidiosus</i>		<i>Orius tristicolor</i>	
	Oviposition substrate		Oviposition substrate	
	Bean pod	Pepper fruit	Bean pod	Pepper fruit
Egg	4.37 $\pm$ 0.09 a	6.07 $\pm$ 0.13 b	4.92 $\pm$ 0.13 c	6.92 $\pm$ 0.16 d
Nymph I	2.25 $\pm$ 0.09 a	2.73 $\pm$ 0.08 b	2.30 $\pm$ 0.09 a	1.82 $\pm$ 0.09 c
Nymph II	2.22 $\pm$ 0.08 b	2.95 $\pm$ 0.10 c	2.49 $\pm$ 0.11 a	2.48 $\pm$ 0.11 a
Nymph III	2.33 $\pm$ 0.10 a	2.34 $\pm$ 0.09 a	2.14 $\pm$ 0.07 a	3.15 $\pm$ 0.19 b
Nymph IV	2.14 $\pm$ 0.06 a	2.34 $\pm$ 0.09 b	2.17 $\pm$ 0.07 ab	3.05 $\pm$ 0.16 c
Nymph V	1.22 $\pm$ 0.08 a	2.10 $\pm$ 0.10 b	1.88 $\pm$ 0.11 c	4.18 $\pm$ 0.19 d
Egg + nymph	14.52 $\pm$ 1.77 a	18.53 $\pm$ 0.19 b	15.95 $\pm$ 0.21 c	21.58 $\pm$ 0.43 d

Different letters in a row indicate significant differences (ANOVA + SNK, $P = 0.05$).

0.001), and the plant-species interaction ($F = 4.17$; $df = 1$; $P < 0.001$) on the duration of embryonic development was found.

Despite the fact that the 2 species reached the adult stage on both substrates, the duration of the pre-imaginal development in both species was lower on bean pods than on pepper fruits. Simultaneously, *O. insidiosus* needed less time to develop from egg to adult on both substrates than *O. tristicolor* ($F = 413$; $df = 3$; $P < 0.001$).

When each nymphal stage was separately analyzed, the duration of the development of *O. insidiosus* was shorter on bean pods than on pepper fruits for almost all the nymphal stages ($P < 0.001$), except for the third stage in which no differences were detected ($P = 0.087$). Similarly, the duration of the development of *O. tristicolor* was shorter on bean pods than on pepper fruits for almost all the stages ($P < 0.001$), except for the second stage in which the duration did not vary depending on the oviposition-feeding substrate ($P = 0.854$). When comparing both species, the duration of the development of *O. insidiosus* overall was shorter than that of *O. tristicolor* for both substrates ($P < 0.001$), except for the first stage on pepper fruits, when the opposite happened ($P < 0.001$). In this same stage on bean pods, no differences were detected ($P = 0.472$). No differences between species were observed for the third nymphal stage on bean pods ($P = 0.070$).

SURVIVAL OF EGGS AND NYMPHS

The oviposition substrate affected the egg survival of both species, and survival was greater on pepper fruits than on bean pods ($P = 0.001$; χ^2 calculated = 17.52; χ^2 theoretical = 7.81; $df = 3$; $\alpha = 0.05$). The survival rate of embryonic *O. insidiosus* on pepper fruits was 61.9% and 47.6% on bean pods (calculated value = 0.219 > critical value = 0.120), whereas the survival rate of embryonic *O. tristicolor* on pepper fruits was 63.0% and 49.0% on beans (calculated value = 0.114 > critical value = 0.105). No significant differences between species were detected when compared for embryonic survival on either bean pods (calculated value = 0.014 < critical value = 0.136) or pepper fruits (calculated value = 0.014 < critical value = 0.132) (Table 2). An effect of the plant ($P = 0.001$; $\chi^2 = 11.21$) on embryonic survival was found, but there is no effect of the species ($P = 0.001$; $\chi^2 = 2.75$).

The substrate also influenced nymphal survival rate of both species (χ^2 calculated = 48.04; χ^2 theoretical = 7.81; $df = 3$; $\alpha = 0.05$; $P < 0.001$). In both cases, survival was higher on pepper fruits than on bean pods. When the 2 species were compared, nymphal survival rate on bean pods was greater for *O. tristicolor* (75.7%) than for *O. insidiosus* (60.0%) (calculated value = 0.157 > critical value = 0.126), whereas on pepper fruits, no differences between species were detected (calculated value

= 0.052 < critical value = 0.098) (Table 2). An effect of the host plant on nymphal survival ($P = 0.001$; $\chi^2 = 6.99$) was observed, but there was no effect of the species ($P = 0.001$; $\chi^2 = 0.52$).

LONGEVITY AND FERTILITY OF FEMALES

The pre-oviposition period was not altered by the substrate in any of the species studied: *O. insidiosus* on pepper fruits compared to bean pods ($P = 0.175$) and *O. tristicolor* on pepper fruits compared to bean pods ($P = 0.864$) (Table 3).

The oviposition period was longer on pepper fruits than on bean pods for both species. When the 2 species were compared, the oviposition period on bean pods was longer for *O. tristicolor* than for *O. insidiosus* ($F = 14.09$; $df = 3$; $P = 0.0001$). Similarly, on pepper fruits, the oviposition period was longer for *O. tristicolor* than for *O. insidiosus* ($F = 14.09$; $df = 3$; $P = 0.005$). The post-oviposition period was not affected by substrate in any of the species considered ($F = 0.38$; $df = 3$; $P = 0.766$) (Table 3).

Longevity was significantly affected by the oviposition-feeding substrate ($F = 9.24$; $df = 3$; $P < 0.001$), but only for *O. tristicolor* where this period was longer on pepper fruits than on bean pods ($P = 0.008$). *Orius tristicolor* showed greater longevity than *O. insidiosus* on both substrates ($P = 0.049$) (Table 3).

Total fertility was affected only by the oviposition-feeding substrate for *O. tristicolor* ($F = 11.67$; $df = 3$; $P < 0.001$), with a higher number of eggs per female on pepper fruits than on bean pods ($P = 0.024$). *Orius tristicolor* laid a higher number of eggs per female than *O. insidiosus* on both substrates (Table 3).

Daily fertility of *O. insidiosus* females on bean pods and pepper fruits was stabilized after 19 and 15 d, respectively, without significant differences between substrates (Figs. 1 & 3). On the other hand, cumulated daily fertility of *O. tristicolor* females on these 2 substrates was stabilized after 12 and 16 d, respectively, being higher on bean pods (Figs. 2 & 4).

Table 2. Survival rate (%) in egg and nymphal stages of *Orius insidiosus* and *Orius tristicolor* on 2 oviposition substrates (bean pods and pepper fruits) under controlled conditions: 25 $\pm$ 1 °C, 65 $\pm$ 10% RH, and a 16:8 h (L:D) photoperiod.

Developmental stage	% survival			
	<i>Orius insidiosus</i>		<i>Orius tristicolor</i>	
	Bean pod	Pepper fruit	Bean pod	Pepper fruit
Egg	47.6 a	61.9 bc	49.0 ab	63.3 c
Nymph	60.0 a	81.9 bc	75.7 b	87.1 c

Different letters in a row indicate significant differences (χ^2 , $P = 0.05$).

Table 3. Pre-, post-, and oviposition periods (d), longevity of females (d), and total fertility (eggs per female). (Mean $\pm$ confidence interval) of *Orius insidiosus* and *Orius tristicolor* on 2 oviposition-feeding substrates (bean pods and pepper fruits) under controlled conditions: 25 $\pm$ 1 °C, 65 $\pm$ 10% RH, and a 16:8 h (L:D) photoperiod.

	<i>Orius insidiosus</i>				
	Pre-oviposition	Oviposition	Post-oviposition	Longevity	Total fertility (eggs per female)
Bean pods	3.2 $\pm$ 0.8 a	8.4 $\pm$ 2.1 a	4.3 $\pm$ 1.4 a	15.6 $\pm$ 2.1 c	25.8 $\pm$ 7.4 c
Pepper fruits	2.8 $\pm$ 0.2 ab	11.6 $\pm$ 1.0 b	6.0 $\pm$ 0.6 a	17.4 $\pm$ 0.9 bc	36.8 $\pm$ 9.0 bc

	<i>Orius tristicolor</i>				
	Pre-oviposition	Oviposition (d)	Post-oviposition	Longevity	Total fertility (eggs per female)
Bean pods	2.4 $\pm$ 0.2 b	12.5 $\pm$ 0.9 b	4.9 $\pm$ 0.6 a	18.1 $\pm$ 0.9 b	46.0 $\pm$ 6.0 b
Pepper fruits	2.3 $\pm$ 0.2 b	15.0 $\pm$ 1.2 c	6.9 $\pm$ 0.5 a	20.9 $\pm$ 1.2 a	59.9 $\pm$ 10.1 a

Different letters in a column indicate significant differences (ANOVA + SNK, $P = 0.05$).

An effect of the species ($F = 107.7$; $df = 1$; $P < 0.001$), and of the plant-species interaction ($F = 103$; $df = 1$; $P < 0.001$) on the longevity and fecundity of the females was found, but an effect of the host plant ($P = 0.82$) on these variables was not observed.

Discussion

The duration of the egg development of *O. insidiosus* on bean pods observed in the current study was similar to that reported by van den Meiracker (1999) (4.6 d) and Tommasini et al. (2004) (4.2 d), who studied this species on the same vegetable substrate. Our findings were similar to data reported for *O. tristicolor* by Askari and Stern (1972) (5 d) at 25.5 °C on petioles from bean leaves; however, the findings were different than that reported by Avellaneda et al. (2016) when they evaluated *O. insidiosus* on bean pods. Care must be taken when comparing results from different authors because of the influence exerted by the different experimental methods used, the variability in the populations of predators used in each study, or the previous history of the offspring from which adults used for the oviposition were extracted (Iranipour et al. 2009; Avellaneda et al. 2016).

The physical effect of the oviposition substrate may have been influenced by the fact that both *Orius* species completed their embryonic development more rapidly on bean pods than on pepper fruits. Eggs are inserted into vegetable tissues, so the time for egg development may be affected by the ease of insertion of the ovipositor, or perhaps the appropriateness of the different plants or sections of plants for the development of the eggs (Coll 1996).

The egg survival values observed were close to those reported for *O. insidiosus* by Richards and Schmidt (1996) and Tommasini et al.

(2004), who obtained 56% and 63% of eggs hatched in bean pods, respectively. Little information is available about the biology of *O. tristicolor* on the same 2 substrates. It must be taken into account that the principal role of the substrate is to provide water and the appropriate conditions to avoid egg desiccation, and to allow complete egg development (van den Meiracker 1999). According to Nolasco (2008), after 3 d at 20 to 25 °C, bean pods lose 60% of their humidity. Therefore, the lower viability of eggs laid on bean pod compared to pepper fruits may be related to the rapid dehydration of bean after being cut. Perhaps the viability of the eggs obtained in our study would be different if whole pods were used on bank plants as refuge for *Orius* species. The humidity variations in the oviposition substrate also may be the principal factor affecting the survival of nymphs, because the *E. kuehniella* eggs cannot provide the moisture needed (Schmidt et al. 1995). The lack of humidity is the principal cause of mortality in the immature stages of *O. insidiosus* (Schmidt et al. 1998).

Tommasini et al. (2004) and Avellaneda et al. (2016) obtained a total time of immature development of *O. insidiosus* on bean pods similar to that we observed in the current study, when this species was fed with *F. occidentalis* adults (14.1 d) or with *E. kuehniella* eggs (15 d). In contrast, for *O. tristicolor*, Pinto et al. (2004) and Hokkanen et al. (2002) reported higher values on bean pods than those found in the current study, with a duration from egg to adult of 33.3 and 32 d at 26 °C, respectively, when this species was fed with *F. occidentalis* and *Tetranychus urticae* Koch (Acarina: Tetranychidae).

Mendes et al. (2005) pointed out that females exposed to more tender tissues (rather than stiffer tissues) showed a lower pre-oviposition time. In our case, the beginning of the oviposition of females of the 2 species was similar for both substrates, which would indicate that no effect of substrate could be detected.

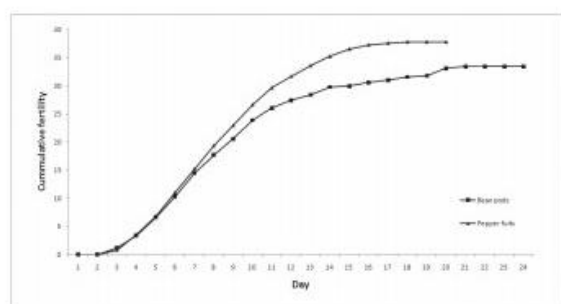


Fig. 1. Cumulative daily fertility for *Orius insidiosus* females on 2 oviposition substrates: bean pods and pepper fruits.

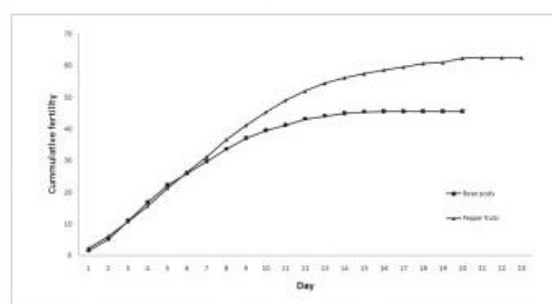


Fig. 2. Cumulative daily fertility for *Orius tristicolor* females on 2 oviposition substrates: bean pods and pepper fruits.

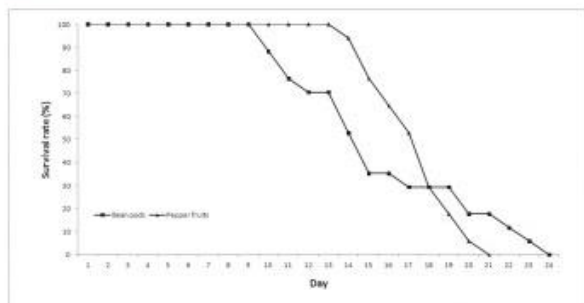


Fig. 3. Survival curves (in %) of *Orius insidiosus* females on 2 oviposition substrates under controlled conditions ($25 \pm 1^\circ\text{C}$, $65 \pm 10\%$ RH, and a 16:8 h [L:D] photoperiod): bean pods and pepper fruits.

A significant influence of the substrate on the oviposition period was observed for both species. In the case of *O. insidiosus* on bean pods, this period was similar to that reported by Avellaneda et al. (2016) (9.21 d), whereas Mendes et al. (2005) reported more extended periods when this species was bred on the same substrate and fed with *E. kuehniella* eggs (27.8 d). Our results suggest that both structures and plant sections (bean pods or pepper fruits) are accepted by *O. insidiosus* and *O. tristicolor* females for oviposition despite the detected differences.

Differences in fertility and longevity between both substrates and between the 2 species could be related to the physico-chemical composition of the plant, as perceived by the predator during the oviposition activity (Richards & Schmidt 1996), and to the physical structure and internal anatomy of the plants. These plant conditions not only have direct implications on the females, but also on the ability of their offspring to use the same plant as a food resource (Lundgren et al. 2008). The complex tri-trophic relationship between the predators of the genus *Orius* and the plant has been evidenced, because the plant, apart from being an oviposition substrate, also is used as a source of water and nutrients by these predators, which are phytophagous to a certain extent during their immature stages (Coll 1996; Cocuzza et al. 1997; Corey et al. 1998). Although other factors may affect the biological characteristics of *Orius* species, such as temperature, photoperiod, and the type of prey (Argolo et al. 2002; Mendes et al. 2002), the nutritional quality and the temperature are the most influential factors (Iranipour et al. 2009). In our study, temperature and photoperiod conditions were common for all individuals; therefore, the only variable that would explain the observed differences is the vegetable substrate.

The fact that pepper fruits proved to be an appropriate substrate for the expression of the biological characteristics of the *Orius* species studied in a controlled environment allows for discarding an antibiosis effect that would explain the difficulties for establishing *O. insidiosus* in the greenhouses in Salto, Uruguay. Furthermore, pepper fruits allowed for maximizing most of the biological characteristics studies when they were compared with the values observed on bean pods.

These results present the need to evaluate other factors that may be affecting the establishment of *Orius* species in greenhouses. According to Urbaneja et al. (2003), the speed of installation of these predators can be determined by several factors that may affect the moment of release: the genetic species or variety, the food or prey available, environmental conditions, chemical residues, and interspecific relationships that may arise with other arthropods. Taking these factors into account, it is important to emphasize that the pepper hybrids used in Uruguay are the Lamuyo type, which are different from those

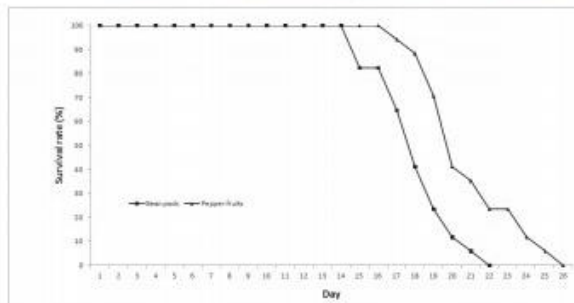


Fig. 4. Survival curves (in %) of *Orius tristicolor* females on 2 oviposition substrates under controlled conditions ($25 \pm 1^\circ\text{C}$, $65 \pm 10\%$ RH, and a 16:8 h [L:D] photoperiod): bean pods and pepper fruits.

planted in most of the regions of the world where *Orius* species are successfully used for the control of thrips on pepper (the Blocky type).

In Uruguay, greenhouses are not closed with a physical barrier or an insect-proof net that could prevent the exit of predators before they can be established. *Orius* species have great mobility, to which we must add the flight capacity of adults, so that they can easily move from one place to another and thus locate new prey. In addition, it is a polyphagous control agent that can be used in a wide range of crops. The horticultural system in Uruguay presents a great diversity of crops (corn, strawberry, sorghum, etc.) that may attract predators to them.

On the other hand, greenhouses do not have supplementary lighting to avoid reproductive diapause that could be affecting populations and interfering with their effectiveness as biological control agents. *Orius* females, in conditions of short d and low temperatures, enter reproductive diapause; this behavior was verified in *O. insidiosus*, *O. laevigatus* (Tommasini & Nicoli 1995), and *O. tristicolor* (Gillespie & Quiring 1993; van den Meiracker 1994). *Orius insidiosus* in temperate regions, and with photoperiods less than 13 h and mean temperature of 25°C , enters into reproductive diapause (van den Meiracker 1994). This factor could limit its use as a natural enemy in winter conditions.

Determining a suitable flowering banker plant system for *O. insidiosus* could improve opportunities for using the predator to control thrips by providing a source of supplementary food in the form of pollen (Frank 2010; Huang et al. 2011). Setting such a system in the greenhouse would allow *O. insidiosus* to establish and increase its population, offering growers the option of preventative introductions. An effective banker plant should provide a location for feeding and reproduction, as well as allowing nymphs to reach the adult stage quickly, ensuring a high survival rate, and supporting population growth. The Black Pearl ornamental pepper is currently used as a banker plant by some commercial growers, because it has been shown to support *O. insidiosus* in the absence of prey (Wong & Frank 2012, 2013). Studies by Wong and Frank (2012, 2013) indicate that pollen from Black Pearl peppers may result in larger populations of *O. insidiosus* by increasing the longevity of the predator when prey are absent, reduce development time, and increase likelihood of survival to adult.

The failure of *O. insidiosus* to establish itself in some greenhouses also could be attributed to the use of several insecticides. Currently, growers still use pesticides to reduce pest numbers before natural enemies are released, or when pest numbers reach economically damaging levels. Despite the potential effectiveness of biological control, many crop protection practices are primarily based on broad spectrum chemical pesticides that are noxious to beneficial arthropods (Desneux et al. 2007). Pesticides could induce multiple lethal and sublethal effects in individuals (Desneux et al. 2007), and these effects could have

an important impact on the population dynamics of natural enemies (Stark & Banks 2003). Sublethal effects could impair the physiology (e.g., neurophysiology, development, longevity, fecundity, and sex-ratio) and the behavior (e.g., mobility, orientation, feeding, host searching, oviposition, and mating) of natural enemies (Arnó & Gabarra 2011; Stara et al. 2011).

Furthermore, it would be interesting to study the compatibility of *O. insidiosus* and *A. swirskii*, which also is released in the same pepper greenhouses, as was studied on rose by Chow et al. (2010). In fact, intraguild predation, with *Orius* acting as an intraguild predator and *Amblyseius* as an intraguild prey, may be affected by different factors (Lucas 2005). However, *A. swirskii* is used in greenhouses for pepper without problems, controlling the populations of *F. occidentalis*, but *Orius* spp. are not established and do not colonize well in greenhouse crops; therefore, it is expected that intraguild predation should not be regarded as totally or partially responsible for this lack. Finally, it is necessary to check for the existence of antixenosis or no-preference, a phenomenon that results in the insect avoiding the plant for oviposition, feeding, or shelter (Painter 1951). This mechanism, which adversely affects the behavior of a given insect, impeding it to interact with certain genotypes of its hosts, also could be responsible for the fact that *O. insidiosus* individuals mass-released on pepper crops in Salto could only scarcely be recovered over the growing cycle of those crops.

Acknowledgments

We are grateful to the authorities of the Estación Experimental de la Facultad de Agronomía (EEFAS), and to the colleagues from the Department of Vegetal Protection in EEFAS and the Entomology unit in Montevideo for their collaboration during the entire study period. This study was supported by a grant from the Agencia Nacional de Investigación e Innovación (ANII/INNOVAGRO) that funded a project titled: "Contribution to the biological control of pests of horticulture in the region of Salto."

References Cited

- Argolo VM, Bueno VH, Silveira LC. 2002. Influência do fotoperíodo na reprodução e longevidade de *Orius insidiosus* (Say) (Heteroptera: Anthracoridae). *Neotropical Entomology* 3: 257–261.
- Arnó J, Gabarra R. 2011. Side effects of selected insecticides on the *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae) predators *Macrolophus pygmaeus* and *Nesidiocoris tenuis* (Hemiptera: Miridae). *Journal of Pest Science* 84: 513–520.
- Askari A, Stern VM. 1972. Biology and feeding habits of *Orius tristicolor* (Hemiptera: Anthracoridae). *Annals of the Entomological Society of America* 65: 96–100.
- Avellaneda JA, Cantor F, Rodríguez D. 2016. Life table of *Orius insidiosus* (Hemiptera: Anthracoridae) feeding on *Sitotroga cerealella* (Lepidoptera: Gelechiidae) eggs. *Revista Facultad Nacional Agronomía* 69: 7773–7782.
- Balagawi S, Drew RA, Clarke AR. 2013. Simultaneous tests of the preference-performance and phylogenetic conservatism hypotheses: is either theory useful? *Arthropod-Plant Interactions* 7: 299–313.
- Bielza P. 2008. Insecticide resistance management strategies against the western flower thrips, *Frankliniella occidentalis*. *Pest Management Science* 64: 1131–1138.
- Bigler F. 1989. Quality assessment and control in entomophagous insects used for biological control. *Journal of Applied Entomology* 108: 390–400.
- Bigler F. 1994. Quality control in *Trichogramma* production, pp. 93–111. In: Wajnberg E, Hassan SA [eds.], *Biological Control with Egg Parasitoids*. CAB International, Wallingford, United Kingdom.
- Brødsgaard HF. 2004. Biological control of thrips on ornamental crops, pp. 253–264. In: Heinz KM, van Driesche RG, Parrella MP [eds.], *Biocontrol in Protected Culture*. Ball Publishing, Batavia, Illinois, USA.
- Carpintero DL. 2002. Catalogue of the Neotropical Anthracoridae (Heteroptera). *Revista Sociedad Entomológica Argentina* 61: 25–44.
- Castanheira C, Zalom FG. 1994. Artificial oviposition substrate for rearing *Orius insidiosus* (Hemiptera, Anthracoridae). *Biological Control* 4: 88–91.
- Chow A, Chau A, Heinz KM. 2010. Compatibility of *Amblyseius* (Typhlodromips) *swirskii* (Athias-Henriot) (Acari: Phytoseiidae) and *Orius insidiosus* (Hemiptera: Anthracoridae) for biological control of *Frankliniella occidentalis* (Thysanoptera: Thripidae) on roses. *Biological Control* 53: 188–196.
- Clark KE, Hartley SE, Johnson SN. 2011. Does mother know best? The preference-performance hypothesis and parent-offspring conflict in aboveground-belowground herbivore life cycles. *Ecological Entomology* 36: 117–124.
- Cocuzza GE, De Clercq P, van de Veire M, De Cock A, Degheele D, Vacante V. 1997. Reproduction of *Orius laevis* and *Orius albidipennis* on pollen and *Ephesia kuehniella* eggs. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 82: 101–104.
- Coll M. 1996. Feeding and ovipositing on plants by an omnivorous insect predator. *Oecologia* 105: 214–220.
- Coll M. 1998. Living and feeding on plants in predatory Heteroptera, pp. 89–130. In: Coll M, Ruberson JR [eds.], *Predatory Heteroptera: Their Ecology and Use in Biological Control*. Entomological Society of America, Lanham, Maryland, USA.
- Coll M, Izralevich S. 1997. When predators also feed on plants: effects of competition and plant quality on omnivore-prey population dynamics. *Annals of the Entomological Society of America* 90: 155–161.
- Coll M, Ridgeway RL. 1995. Functional and numerical responses of *Orius insidiosus* (Heteroptera: Anthracoridae) to its prey in different vegetable crops. *Annals of the Entomological Society of America* 88: 732–738.
- Corey D, Kamhampati S, Wilde GE. 1998. Electrophoretic analysis of *Orius insidiosus* (Hemiptera: Anthracoridae) feeding habits in field corn. *Journal of the Kansas Entomological Society* 71: 11–17.
- De Jager CM, But RPT, Klinkhamer PGL, De Jong TJ, Wolff K, van der Meijden E. 1995. Genetic variation in chrysanthemum for resistance to *Frankliniella occidentalis*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 77: 277–287.
- Desnoux N, Decourtye A, Delpuech JM. 2007. The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. *Annual Review of Entomology* 52: 81–106.
- Espinosa PJ, Fuentes JF, Contreras J, Bielza P, Lacasa A. 2002. Método de cría en masa de *Frankliniella occidentalis* (Pergande). *Boletín Sanidad Vegetal Plagas* 28: 385–390.
- Ferragut F, González J. 1994. Diagnóstico y distribución de especies de *Orius* peninsulares Wolff 1811 (Heteroptera, Anthracoridae). *Boletín de Sanidad Vegetal Plagas* 20: 89–101.
- Frank SD. 2010. Biological control of arthropod pests using banker plant systems: past progress and future directions. *Biological Control* 52: 8–16.
- Funderburk J, Stavisky J, Olson S. 2000. Predation of *Frankliniella occidentalis* (Thysanoptera: Thripidae) in field peppers by *Orius insidiosus* (Hemiptera: Anthracoridae). *Environmental Entomology* 29: 376–382.
- Gillespie DR, Quiring DMJ. 1993. Extending seasonal limits on biological control. *Bulletin IOBC/WPRS* 16: 43–45.
- Hokkanen HMT, Babendreier D, Bigler F, Burgio G, Kuske S, van Lenteren JC, Loomans AJM, Menzler-Hokkanen I, van Rijn PCJ, Thomas MB, Tommasini MG, Zeng QQ. 2002. Evaluating Environmental Risks of Biological Control Introductions into Europe. Final report of project EU-FAIR-CT 97-1405 (ERBIC), Commission of European Communities, Brussels, Belgium.
- Huang N, Enkegaard A, Osborne LS, Ramakers PMJ, Messelink G, Pijnakker J, Murphy G. 2011. The banker plant method in biological control. *Critical Reviews in Plant Sciences* 30: 259–278.
- Iranipour S, Farzmand A, Saber M, Mashhad JM. 2009. Demography and life history of the egg parasitoid, *Trichogramma brassicae*, on two moths *Anagasta kuehniella* and *Plodia interpunctella* in the laboratory. *Journal of Insect Science* 9: 1–8.
- Jensen SE [ed.]. 2000. *Insecticide Resistance in the Western Flower Thrips, Frankliniella occidentalis*. Roskilde University, Roskilde, Denmark.
- Jung S, Yasunaga T, Lee S. 2011. Taxonomic review of the genus *Orius* (Heteroptera: Anthracoridae) in the Korean Peninsula. *Journal of Asia-Pacific Entomology* 14: 64–74.
- Kirk WDJ, Terry LI. 2003. The spread of the western flower thrips *Frankliniella occidentalis* (Pergande). *Agricultural and Forest Entomology* 5: 301–310.
- Lewis T [ed.]. 1997. *Thrips as Crop Pests*, 1st edition. CAB International, Wallingford, United Kingdom.
- Lucas E. 2005. Intraguild predation among aphidophagous predators. *European Journal of Entomology* 102: 351–364.
- Lundgren JG, Fergen JK, Riedell WE. 2008. The influence of plant anatomy on oviposition and reproductive success of the omnivorous bug *Orius insidiosus*. *Animal Behaviour* 75: 1495–1502.
- Maris PC, Joosten NN, Peters D, Goldbach RW. 2003. Thrips resistance in pepper and its consequence for the acquisition and inoculation of tomato spotted wilt virus by the western flower thrips. *Phytopathology* 93: 96–101.

- Mendes SM, Bueno VHP. 2001. Biología de *Orius insidiosus* (Say) (Hemiptera: Anthocoridae) alimentado con *Caliothrips phaseoli* (Hood) (Thysanoptera: Thripidae). *Neotropical Entomology* 30: 423–428.
- Mendes SM, Bueno VHP, Argolo VL, Silvera LC. 2002. Type of prey influences biology and consumption rate of *Orius insidiosus* (Say) (Hemiptera, Anthocoridae). *Revista Brasileira de Entomologia* 46: 99–103.
- Mendes SM, Bueno VHP, Carvalho LM. 2005. Adequabilidade de diferentes substratos à oviposição do predador *Orius insidiosus* (Say) (Hemiptera: Anthocoridae). *Neotropical Entomology* 34: 415–421.
- Morse JG, Hoddle MS. 2006. Invasion biology of thrips. *Annual Review of Entomology* 51: 67–89.
- Naranjo SE, Gibson RL. 1996. Phytophagy in predaceous heteroptera: effects on life history and population dynamics, pp. 57–93. In Alomar O, Wiedenmann RN [eds.], *Zoophytophagous Heteroptera: Implications for Life History and Integrated Pest Management*. Thomas Say Publications in Entomology. Entomological Society of America, Lanham, Maryland, USA.
- Nolasco MY. 2008. Desarrollo de un método de cría de *Orius insidiosus* en Zamorano. Honduras. [online] <https://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/5495/1/CPA-2008-T052.pdf> (last accessed 8 Mar 2019).
- Painter RH [ed.]. 1951. *Insect resistance in crop plants*. Macmillan Publishers, New York, USA.
- Pinto VM, Ramírez Alarcón S, Marbán-Mendoza N, Cabrera J. 2004. Producción de *Orius tristicolor* y la repuesta funcional de su F5 como agente de control biológico. *Entomología Mexicana Conference*, Jul 2004. ResearchGate 3: 365–369.
- R Core Development Team. 2014. R: a language and environment for statistical computing. R Core Development Team, Vienna, Austria.
- Ramachandran S, Funderburk J, Stavisky J, Olson S. 2001. Population abundance and movement of *Frankliniella* species and *Orius insidiosus* in field pepper. *Agricultural and Forest Entomology* 3: 1–10.
- Ramakers PMJ. 1995. Biological control using oligophagous predators, pp. 225–229. In Parker BL, Skinner M, Lewis T [eds.], *Thrips Biology and Management*. Plenum Press, New York, USA.
- Reitz SR. 2009. Biology and ecology of the western flower thrips (Thysanoptera: Thripidae): the making of a pest. *Florida Entomologist* 92: 7–13.
- Ribeiro A, Castiglioni E. 2008. Caracterización de las poblaciones de enemigos naturales de *Piezodorus guildinii* (Westwood) (Hemiptera: Pentatomidae). *Agrociencia* (Uruguay) 12: 48–56.
- Richards PC, Schmidt JM. 1996. The suitability of some natural and artificial substrates as oviposition sites for the insidious flower bug, *Orius insidiosus*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 80: 325–333.
- Schmidt JM, Richards PC, Nadel H, Ferguson G. 1995. A rearing method for the production of large numbers of the insidious flower bug, *Orius insidiosus* (Say) (Hemiptera: Anthocoridae). *The Canadian Entomologist* 127: 445–447.
- Schmidt JM, Taylor JR, Rosenheim JA. 1998. Cannibalism and intraguild predation in the predatory Heteroptera, pp. 133–169. In Coll M, Roberson JR [eds.], *Predatory Heteroptera: Their Ecology and Use in Biological Control*. Entomological Society of America, Lanham, Maryland, USA.
- Sobhy IS, Sarhan AA, Shoukry AA, El-Kady GA, Mandour NS, Reitz SR. 2010. Development, consumption rates and reproductive biology of *Orius albidipennis* reared on various prey. *Biological Control* 55: 753–765.
- Stara J, Ourednickova J, Kocourek F. 2011. Laboratory evaluation of the side effects of insecticides on *Aphidius colemani* (Hymenoptera: Aphididae), *Aphidoletes aphidimyza* (Diptera: Cecidomyiidae), and *Neoseiulus cucumeris* (Acari: Phytoseiidae). *Journal of Pest Science* 84: 25–31.
- Stark JD, Banks JE. 2003. Population-level effects of pesticides and other toxicants on arthropods. *Annual Review of Entomology* 48: 505–519.
- Tommasini MG, Nicoli G. 1995. Evaluation of *Orius* spp. as biological control agents of thrips pests. Initial experiments on the existence of diapause in *Orius laevigatus*. Mededelingen Faculteit Landbouwwetenschappen Rijksuniversiteit Gent 60: 901–907.
- Tommasini MG, van Lenteren JC, Burgio G. 2004. Biological traits and predation capacity of four *Orius* species on two prey species. *Bulletin of Insectology* 57: 79–93.
- Trichilo PJ, Leigh TF. 1986. Predation on spider mite eggs by the western flower thrips, *Frankliniella occidentalis* (Thysanoptera: Thripidae), an opportunist in a cotton agroecosystem. *Ecological Entomology* 15: 821–825.
- Urbaneja A, León FJ, Gimenez A, Arán E, van der Blom J. 2003. Interacción de *Neoseiulus* (*Amblyseius*) *cucumeris* (Oudemans) (Aca.: Phytoseiidae) en la instalación de *Orius laevigatus* (Fieber) (Hem.: Anthocoridae) en invernaderos de pimiento. *Boletín Sanidad Vegetal Plagas* 29: 347–357.
- van de Veire M, Degheele D. 1992. Biological control of the western flower thrips, *Frankliniella occidentalis* (Pergande) (Thysanoptera: Thripidae), in glasshouse sweet peppers with *Orius* spp. (Hemiptera: Anthocoridae). A comparative between *O. niger* (Wolff) and *O. insidiosus* (Say). *Biocontrol Science and Technology* 2: 281–283.
- van den Meiracker RA. 1994. Induction and termination of diapause in *Orius* predatory bugs. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 73: 127–137.
- van den Meiracker RA. 1999. Biocontrol of western flower thrips by heteropterans bugs. PhD Thesis. Institute for Biodiversity and Ecosystem Dynamics, Faculty of Science, University of Amsterdam, Amsterdam, The Netherlands.
- van den Meiracker RA, Ramakers PMJ. 1991. Biological control of the western flower thrips, *Frankliniella occidentalis*, in sweet pepper, with the anthocorid predator, *Orius insidiosus*. Mededelingen van de Faculteit Landbouwwetenschappen Rijksuniversiteit Gent 56: 241–249.
- van Driesche RG, Bellows Jr TS [eds.]. 1996. *Biological Control*. Chapman Hall, New York, USA.
- van Lenteren JC. 1991. Quality control of natural enemies: hope or illusion, pp. 1–14. In Bigler F [ed.], *Quality Control of Mass Reared Arthropods*. Proceedings of the 5th Workshop of the IOBC Working Group. Wageningen, The Netherlands.
- van Lenteren JC. 2003. Commercial availability of biological control agents, pp. 167–179. In van Lenteren JC [ed.], *Quality Control and Production of Biological Control Agents: Theory and Testing Procedures*. CAB International, Wallingford, United Kingdom.
- van Rijn PCJ, Mollema C, Steenhuis-Broers GM. 1995. Comparative life history studies of *Frankliniella occidentalis* and *Thrips tabaci* (Thysanoptera: Thripidae) on cucumber. *Bulletin of Entomological Research* 85: 285–297.
- Vigilanchino LE. 2013. Control integrado de *Frankliniella occidentalis* (Pergande) (Thysanoptera: Thripidae) con insecticidas y liberaciones de *Orius insidiosus* (Say) (Hemiptera: Anthocoridae) sobre pimiento en invernadero. Master's Thesis. Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Litoral, Esperanza, Argentina. [online] <http://bibliotecavirtual.unl.edu.ar:8080/tesis/bitstream/handle/11185/482/Tesis.pdf> (last accessed 24 Feb 2019).
- Wong SK, Frank SD. 2012. Influence of banker plants and spiders on biological control by *Orius insidiosus* (Heteroptera: Anthocoridae). *Biological Control* 63: 181–187.
- Wong SK, Frank SD. 2013. Pollen increases fitness and abundance of *Orius insidiosus* Say (Heteroptera: Anthocoridae) on banker plants. *Biological Control* 64: 45–50.
- Zambrano JA. 2009. Evaluación de cuatro raciones de huevos de *Sitotroga cerealella* como alimento de ninfas de *Orius insidiosus* (Say) (Hemiptera: Anthocoridae) y dos sustratos vegetales (*Ipomoea batata* y *Bidens pilosa*) para la oviposición de adultos en condiciones de laboratorio. Thesis Ingeniero Agrónomo. Universidad de Zamorano, Honduras. [online] <https://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/413/1/T2861.pdf> (last accessed 23 Feb 2019).

3 **PREFERENCIA DE *ORIOUS INSIDIOSUS* Y *ORIOUS TRISTICOLOR* (HEMIPTERA: ANTHOCORIDAE) POR SUS PLANTAS HOSPEDERAS EN EXPERIMENTOS DE OLFATOMETRÍA Y DE LIBRE ELECCIÓN**

Estudios anteriores permitieron descartar que las dificultades de establecimiento y efectividad de *O. insidiosus* en los invernaderos de pimiento se debieran a un efecto de antibiosis. Se planteó entonces, evaluar si el fenómeno de antixenosis o no-preferencia con relación a la planta de pimiento pudiera ser la posible causa del bajo establecimiento y multiplicación del depredador en el cultivo. Los invernaderos utilizados en nuestro país son abiertos y están rodeados de otras plantas hospederas de sus presas y los antocóridos seleccionan los sustratos de oviposición – alimentación por señales visuales y químicas (volátiles) (Griffin y Yeargan, 2002, Richards y Schmidt, 1996). Se propuso, estudiar la preferencia de *O. insidiosus* y *O. tristicolor* a través de experimentos de olfatometria y libre elección por dos de sus plantas hospederas en la zona de cultivo (frutilla y maíz) y dos tipos de pimiento (Blocky y Lamuyo). Los resultados obtenidos en el marco de este estudio fueron objeto de la publicación del siguiente artículo científico: Preference of *Orius insidiosus* and *Orius tristicolor* (Hemiptera: Anthocoridae) for host plants in olfactometry and free-choice experiments.

Preference of *Orius insidiosus* and *Orius tristicolor* (Hemiptera: Anthocoridae) for host plants in olfactometry and free-choice experiments

María E. Lorenzo^{1,*}, Leticia Bao², Luciana Mendez¹, Gabriela Grille², Olivier Bonato³, and César Basso²

Abstract

The western flower thrips, *Frankliniella occidentalis* (Pergande) (Thysanoptera: Thripidae), is a key pest of sweet pepper cultivation, where it causes feeding damage, excretes phytotoxic substances, and transmits important viruses. Control with chemical insecticides often is ineffective because endophytic oviposition and the cryptic habits of the pest provide protection. In Uruguay, the biological control program of this pest in sweet pepper crops is at risk due to the low settlement rate and high dispersal of releases of predator *Orius insidiosus* (Say) (Hemiptera: Anthocoridae). Previous studies have ruled out an antibiosis effect as the cause of dispersal; therefore, we hypothesized antixenosis (non-preference) for the sweet pepper plants as the cause of poor biological control by *O. insidiosus*. The effect of olfactory stimuli from different structures of strawberry, corn, and sweet pepper plants (lamuyo and blocky type) on the behavior of *O. insidiosus* was evaluated in olfactometry and free-choice cage experiments. Since *Orius tristicolor* (White) (Hemiptera: Anthocoridae) occurs naturally in the area, it was included also in the study with the aim of assessing whether there are differences in behavior between the species. *Orius tristicolor* may act as a complementary biocontrol agent or competitor on sweet pepper. Y-tube experiments showed no preference for plant volatiles in any combination, and response to volatile stimuli generally was poor. However, in the free-choice cage experiment, females of both species of *Orius* preferred the flowering strawberry plants over the flowering sweet pepper plants, which could explain the low establishment of *O. insidiosus* when released on pepper with neighboring strawberry fields. Given that horticultural greenhouses in Uruguay and in many other countries are open, this information can be very useful in designing the spatial and temporal management of different crops on a production field, which enhances the effectiveness of these predatory species.

Key Words: thrips; antixenosis; plant volatile; sweet pepper; strawberry

Resumen

El trips occidental de las flores, *Frankliniella occidentalis* (Pergande) (Thysanoptera: Thripidae), es una plaga clave para el cultivo de pimiento dulce, donde causa daños al alimentarse, excreta sustancias fitotóxicas y transmite importantes virus. El control con insecticidas químicos no resulta efectivo, debido que la oviposición endofítica y los hábitos crípticos le brindan protección. En Uruguay, el programa de control biológico de esta plaga en el cultivo de pimiento dulce está en riesgo debido a la baja tasa de establecimiento y la alta dispersión de las liberaciones del depredador *Orius insidiosus* (Say) (Hemiptera: Anthocoridae). Estudios previos permiten descartar un efecto de antibiosis como causa de la dispersión, por lo cual se planteó como hipótesis la existencia de antixenosis o no preferencia por la planta de pimiento dulce como la causa de un control biológico deficiente por parte de *O. insidiosus*. Se evaluó el efecto de estímulos olfativos provenientes de diferentes estructuras de plantas de frutilla, maíz y pimiento dulce (tipo lamuyo y californiano) sobre el comportamiento de *O. insidiosus* en experimentos de olfactometría, y de libre elección en microparcela. Dado que *Orius tristicolor* (White) (Hemiptera: Anthocoridae) también está presente en el área, se incluyó en el estudio con el objetivo de evaluar si existen diferencias en el comportamiento entre ambas especies. *Orius tristicolor* podría actuar como un agente controlador complementario o competidor en pimiento dulce. Los experimentos con tubo en Y no mostraron preferencia por los compuestos volátiles de las plantas en ninguna combinación, y la respuesta a los estímulos volátiles en general fue pobre. Sin embargo, en el experimento de libre elección en microparcela, las hembras de ambas especies de *Orius* prefirieron las plantas con flores de frutilla sobre las plantas con flores de pimiento dulce, lo que podría explicar el bajo establecimiento de *O. insidiosus* cuando se libera en pimiento dulce con los campos de frutilla cercanos. Dado que los invernaderos hortícolas en Uruguay y en muchos otros países están abiertos, esta información puede ser muy útil para diseñar el manejo espacial y temporal de diferentes cultivos en un campo de producción, lo que mejora la efectividad de estas especies depredadoras.

Palabras Claves: trips; antixenosis; volátiles de planta; pimiento dulce; frutilla

Western flower thrips, *Frankliniella occidentalis* (Pergande) (Thysanoptera: Thripidae), is considered one of the most important pests of greenhouse crops (Gillespie & Vernon 1990; Salguero Navas et al. 1991; Bitterlich & McDonald 1993), limiting the productivity of these

¹Universidad de la República, Facultad de Agronomía, Departamento de Protección Vegetal, Unidad de Entomología, Salto, 50000, Uruguay; E-mail: meugenialorenzo@gmail.com (M. E. L.), lmendezds@gmail.com (L. M.)

²Universidad de la República, Facultad de Agronomía, Departamento de Protección Vegetal, Unidad de Entomología, Montevideo, 12900, Uruguay; E-mail: baoleticia@gmail.com (L. B.), cbasso.bis@gmail.com (C. B.), ggrille@vera.com.uy (G. G.)

³Université de Montpellier, IRD – Cirad, Interactions Plantes Microorganismes Environnement, Montpellier, France; E-mail: olivier.bonato@ird.fr (O. B.)

*Corresponding author; E-mail: meugenialorenzo@gmail.com

crops worldwide. In several countries in South America, it is designated as one of the most limiting pest insects of sweet pepper crops (*Capsicum annuum* L.; Solanaceae) in greenhouses (Carrizo 1998). Adults and immature stages of this species cause damage to plants by puncturing and then sucking the cellular content of plant tissues (Hunter & Ullman 1989), producing white surface lesions in the epidermis. In addition, they secrete phytotoxic substances when they feed, causing deformation of the foliage in all plant structures and organs (Bosco et al. 2008; Castresana et al. 2008). They also can cause indirect damage by transmitting viruses such as tomato spotted wilt virus (tomato black plague virus) and impatiens necrotic spot virus (Whitfield et al. 2005). Tomato spotted wilt virus is one of the viruses that causes major damage to a wide range of crops (Fanigliulo et al. 2014) and *F. occidentalis* is one of the most efficient species in its transmission (Whitfield et al. 2005). Tomato spotted wilt virus has a wide host range and worldwide distribution (Sherwood et al. 2000). This virus may lead to major economic losses on tomato, lettuce, pepper, eggplant, french beans, broad beans, celery, and different ornamental plants (Roselló et al. 1996). Insecticide applications are not effective in controlling thrips in these systems because females place their eggs under the epidermis of plant leaves, and both immature and adult stages have cryptic habits that give them some protection against toxic substances (Hansen et al. 2003; Helyer & Brobyn 2008). Frequent applications of chemical controls harm the complex of their natural enemies, promote the rapid development of resistance (Castresana et al. 2008), and generate risks to human health from acute and chronic exposure (Damalas & Eleftherohorinos 2011).

As an alternative to chemical control, the use of generalist natural enemies in sweet pepper crops is used widely and has been proven successful (van Lenteren et al. 2018). The release of the predator *Amblyseius swirskii* (Athias-Henriot) (Acari: Phytoseiidae) together with *Orius insidiosus* (Say) (Hemiptera: Anthoridae) may manage the pepper pests *Bemisia tabaci* Gennadius (Hemiptera: Aleyrodidae) and *Frankliniella occidentalis* (Pergande) (Thysanoptera: Thripidae) successfully (Funderburk et al. 2000; Chow et al. 2010; Calvo et al. 2014).

In Uruguay, the incidence of *F. occidentalis* affects more than 80% of the sweet pepper production area, with significant losses in production (Maeso et al. 2013). Additional damage is caused by the tobacco whitefly, *B. tabaci*, which in combination have traditionally forced growers to apply chemical insecticides repeatedly on the sweet pepper crop with little effect. In the current decade, biological control in protected horticultural crops has made great progress in Uruguay, where the release of *A. swirskii* has reduced the incidence of *B. tabaci* on sweet peppers (Buenahora & Basso 2015). At the same time, the release of *O. insidiosus* in numerous greenhouses reached a low settlement rate and did not result in a reduction in the populations of *F. occidentalis* and their crop damage. These results contrast with the statements of Funderburk et al. (2000) indicating that *O. insidiosus* is effective in suppressing populations of thrips in field sweet pepper crops. It is even indicated that *O. insidiosus* remains in that crop for up to 6 mo after having eliminated *F. occidentalis* (van den Meiracker & Ramakers 1991). Uruguay is part of the distribution area of *O. insidiosus* (Bentancourt & Scatoni 2001; Carpintero 2002), but not of *Orius laevigatus* (Fieber) (Hemiptera: Anthoridae), which is the most widely used species in Europe for biological control of thrips with successful results in sweet pepper (Jacas et al. 2008; van Lenteren 2012). In Europe, the varieties of sweet pepper planted belong preferably to the blocky type, unlike Uruguay, where all varieties are of the lamuyo type (*Orius* works well in both types of sweet pepper).

Studies conducted by Lorenzo et al. (2019) made it possible to rule out that settlement and effectiveness difficulties of *O. insidiosus* in the pepper greenhouses in Uruguay were due to an antibiosis effect. Discounting that the low settlement of *O. insidiosus* is associated with

the use of chemical insecticides for the control of other pests because there was a strict control of the products used for these purposes, it was hypothesized that an effect of antixenosis or non-preference was operating in relation to the sweet pepper plant. It should be noted also that the greenhouses used in Uruguay are open and are surrounded by 2 other common hosts of *O. insidiosus* (strawberry and corn) which are cultivated simultaneously with sweet pepper crops and coincide in their period of flowering in the field.

It is known that the olfactory system allows insects to distinguish the specific volatile compounds emitted by plants (Visser 1986; Bernays & Chapman 1994). These chemical compounds are useful cues for the insect to locate and recognize the plant as a suitable host, which are used to act as inhibitors or stimulants for feeding or oviposition (Campbell et al. 1986; Smith & Boyko 2006). The preferred behavior of females for oviposition derives from particular chemical, physical, and nutritional characteristics of plants (Lundgren & Fergen 2006; Lundgren et al. 2008). In this way, antixenosis or non-preference allows certain genotypes of plants to be incompatible with a specific insect, preventing insect establishment, feeding, or oviposition (Painter 1951). Anthocorids display this behavior, which allows them to select the oviposition substrates by physical and chemical factors (Richards & Schmidt 1996; Griffin & Yeagan 2002). It should be considered that *Orius*, although being highly appreciated as entomophagous, lay their eggs inside plant tissues (Lundgren & Fergen 2006; Lundgren et al. 2008) and may even complete their development on certain foods of plant origin (Cocuzza et al. 1997). In recent studies, the phytophagous feeding behavior of *O. laevigatus* on sweet pepper was shown to trigger defensive responses in the plant. Plant induced defenses may contribute to the repellence or attraction of pests or natural enemies. Specifically, *O. laevigatus*-punctured sweet pepper plants induced repellency for the whitefly *B. tabaci* and the thrips *F. occidentalis* (Bouagga et al. 2018).

Based on the above, the study of preference or non-preference (antixenosis) for possible hosts may help explain the possible causes of low settlement and reproduction of *O. insidiosus* on sweet pepper. At the same time, it was of interest to compare the behavior of this species with *O. tristicolor*, which is normally found in corn (*Zea mays* L.; Poaceae) and strawberry (*Fragaria* sp.; Rosaceae) crops (Carpintero 2002; Ribeiro & Castiglioni 2008) near the sweet pepper greenhouses. As with *O. insidiosus*, it is common to find *O. tristicolor* in corn panicles due to the abundance of pollen, and in the styles of female flowers near stigmas (Corey et al. 1998), and in strawberry associated with flowers (Saini et al. 2003). Therefore, knowing the behavior of *O. tristicolor* in the cultivation of sweet pepper will let us know if it can be released together with *O. insidiosus* and contribute to the control of thrips in this crop.

In view of these questions, the purpose of this study was to characterize the preference of *O. insidiosus* and *O. tristicolor* for 3 of their host plants. Preference for cultivated varieties of sweet pepper, strawberry, and corn were evaluated under Y-tube olfactometer conditions and in free-choice experiments.

Materials and Methods

PLANT MATERIAL AND INSECTS

Studies were carried out in the laboratory and in a greenhouse of Plant Protection-Entomology at the Experimental Station of the School of Agronomy, Universidad de la República in Salto, Uruguay. *Orius insidiosus* and *O. tristicolor* were obtained from the field and maintained in our laboratory at $25 \pm 1^\circ\text{C}$, $65 \pm 10\%$ RH, fed with eggs of *Ephestia*

kuehniella Zeller (Lepidoptera: Pyralidae) ad libitum with bean pods (*Phaseolus vulgaris* L.; Fabaceae) as an oviposition substrate (Castanfié & Zalom 1994; Richards & Schmidt 1996; Mendes et al. 2005). For the experiments, a photoperiod of 16:8 h (L:D) was used pursuant to Richards & Schmidt (1996).

The plants used for tests were propagated in the Station at the School of Agronomy, Universidad de la República in Salto, Uruguay. The cultivation conditions were optimized in order to obtain good production of flowers (Corey et al. 1998; Saini et al. 2003). Five liter pots (Media Grow, Montevideo, Uruguay) were used with a sterile substrate (Plagron allmix, Bertels, Netherlands) that is a mix of the types of peat which contain various types of fiber and perlite, along with localized and automated irrigation. Plants were propagated from seed and fertilized based on optimal rates for the region (MGAP 2016). The plants evaluated were sweet pepper (*Capsicum annuum*) lamuyo type (cultivar 'Bilano' by Syngenta) and blocky type (cultivar 'Physol' by Agritec), strawberry (*Fragaria × ananassa* Duch [Rosaceae], cultivar 'Guapa' by INIA), and corn (*Zea mays*, cultivar 'IPB 2650' by IPB seeds).

Y-TUBE EXPERIMENTS

A glass Y-tube olfactometer was used, with an internal diameter of 0.5 cm, which is a modified version of the one developed by Sabelis & van de Baan (1983), applying the methodology proposed by Koschier et al. (2000). The olfactometer consisted of a central chamber (long arm 12 cm) from which 2 arms of choice are derived (6 cm). At the far ends of the Y-shaped glass tube, PVC tubes (10 cm) were connected that contain either the presumed odor-emitting plants or clean air. The apparatus also contained an activated carbon filter, a pump for air circulation, and a rotameter for the measurement of air flow. The airflow in each arm of the olfactometer was calibrated to 0.5 m per s (VelociCalc® Air Velocity Meter 9545-A, TSI, Shoreview, Minnesota, USA). Through this system it is possible to observe and subsequently record the movement of each insect within the central chamber and in the arms of the Y olfactometer. The tests were conducted in a climate-controlled room at 25 ± 2 °C and $65 \pm 5\%$ RH.

The response of adult females of *O. insidiosus* and *O. tristicolor* was evaluated to stimuli from different structures of foliage and flowers (Visser & Piron 1998; Drukler et al. 2000; López-Ávila & Rincón 2006; Yoneya et al. 2009, 2010; Bosa et al. 2011), with an approximate weight of 1 g each (Reid & Lampman 1989). Whole leaves and flowers were used, washed with water and weighed. The materials were used in individual experiments for 30 min and were not used for more than 2 h altogether. The stimuli compared were strawberry, sweet pepper, or corn leaves versus control (clean air); strawberry, sweet pepper, or corn flowers versus control (clean air); or sweet pepper flower versus strawberry flower. For sweet pepper, both blocky and lamuyo type sweet peppers, foliage, and flowers were tested versus control (clean air).

In each test, a single female of *O. insidiosus* or *O. tristicolor* was placed in the central part of the olfactometer main chamber with the help of a fine tip brush to avoid damaging the insect. The chamber was then sealed with cotton. The experiment was carried out with 40 females of the 2 species of *Orius* less than 72 h old. The females were placed individually in plastic containers without food for a period of 8 to 10 h before the test. Forty females were evaluated ($n = 40$) in each experiment, 20 predators per d.

The initial choice of the insect was recorded, and a response was considered positive when, within 10 min, the insect remained inside 1 of the olfactometer arms after moving past the center of the glass tube (Pivnick et al. 1990; Peraza 2011). Upon reaching the Y-junction

in the glass tube, the *Orius* could choose between the air flow coming from either arm. When it reached the far end of an arm, the choice was noted, and the insect was removed from the tube. If the insect did not enter the decision zone within the established period, the test was recorded as null.

All treatments were evaluated in a darkened space to focus the experiment on the volatile substances generated by the plants introduced into the Y-tube 5 min before the start of each test. Between tests, the olfactometer was cleaned with 70% acetone to remove possible traces of contaminants or pheromones. The acetone was left to evaporate for 1 min at ambient conditions. In addition, to avoid any bias, the sources of odors were alternately switched to the other arm of the olfactometer after every 5 females tested, and the plant material was replaced after every 10 females.

CHOICE-TEST EXPERIMENTS

Antixenosis (non-preference) was evaluated by the free host selection test following the methodology of Castro et al. (2001). The study was carried out in a research greenhouse made of polyethylene (Naka SA, Montevideo, Uruguay) measuring 10 × 5 m, under controlled conditions of temperature and humidity (22–26 °C, 60–70% RH). The sweet pepper and strawberry plants were kept in plastic pots 20 cm in diam and 10 cm deep (Biriden, Montevideo, Uruguay) until sprouting of first flowers.

A micro-plot of 4 m², covered with a non-woven polypropylene mesh (MC Agryl P 17) (Naka SA, Montevideo, Uruguay) was placed inside the greenhouse to prevent dispersal of the insects. Twelve-wk old sweet pepper plants (30 cm high) and 11-wk old strawberry plants (25 cm high) were arranged alternatively with 20 cm distance between them, with 6 rows and 6 columns (36 plants). In the center of each plot, 72 females (two 1–5 d old *Orius* per plant) of each species of *Orius* to be evaluated (*O. insidiosus* or *O. tristicolor*) were released. Separate experiments were performed for each species of *Orius*, and the insects were allowed free choice of the host plants. In a second pair of experiments, both species of insects was tested regarding their preference for lamuyo or blocky type sweet pepper plants using the same procedure described above. At 24 h after release, the number of females present per plant was counted. Each experiment attempted to simulate the cultivation conditions in the area, matching time of transplantation, flowering, and release of natural enemies as would occur in the field.

STATISTICAL ANALYSIS

In both experimental designs, olfactometer and micro-plot, the preference for a plant or plant organ, was analyzed using a Chi-square goodness of fit test corrected for continuity (Yates-correction). The null hypothesis was that *Orius* spp. distribution was 50:50 across the 2 arms of the olfactometer and on the 2-plant species (sweet pepper and strawberry) or pepper cultivar (lamuyo and blocky). Analyses were performed using the R version 3.3.2 (R Core Team 2016).

Results

Y-TUBE EXPERIMENTS

Females of *O. insidiosus* preferred stimuli from strawberry flowers compared to those from sweet pepper flowers ($\chi^2 = 5.565$; $P = 0.018$), while females of *O. tristicolor* preferred the stimuli originated in the sweet pepper leaves over the control (pure air) ($\chi^2 = 9.520$; $P = 0.002$). In the other combinations tested, no differences were found in the response to odor stimuli (Tables 1, 2).

Table 1. Olfactory response of females of *Orius insidiosus* and *Orius tristicolor* to stimuli from foliage and flower of strawberry, corn, and pepper plants (in the arm [+]), when offered against clean air (in the arm [-]) of a Y-tube olfactometer.

Source smell on the arm (+)	n (+)	n (-)	n (0)	% (+)	χ^2	P
<i>Orius insidiosus</i>						
Strawberry foliage	6	12	22	15	2.778	0.096
Corn foliage	9	15	16	22.5	2.083	0.148
Pepper foliage	7	13	20	17.5	2.500	0.114
Strawberry flower	18	12	10	45	1.667	0.197
Corn flower	10	17	13	25	2.667	0.102
Pepper flower	12	16	12	30	0.276	0.599
<i>Orius tristicolor</i>						
Strawberry foliage	7	13	20	17.5	2.500	0.114
Corn foliage	10	14	16	25	0.750	0.386
Pepper foliage	16	5	8	40	9.520	0.002
Strawberry flower	14	14	12	35	0.071	0.789
Corn flower	19	12	9	47.5	2.323	0.128
Pepper flower	14	15	11	35	0.069	0.790

n (+, -) = number of predators that reached the end of the (+) or (-) arm of the Y-tube; n (0) = number of predators that did not respond within a 10 min test; % (+) = percentage of individuals that reached the end of the arm (+); P = critical level.

Females of *O. insidiosus* showed no preference between blocky or lamuyo type sweet pepper foliage ($\chi^2 = 0.320$; $P = 0.572$), and the same result was obtained when evaluating blocky sweet pepper flower compared to lamuyo sweet pepper flower ($\chi^2 = 3.769$; $P = 0.052$; $\alpha = 0.05$), although the value obtained is at the limit, being almost significant (Table 3). The females of *O. tristicolor* also did not show a preference for blocky or lamuyo type sweet peppers, either in foliage ($\chi^2 = 0.077$; $P = 0.782$) or flower ($\chi^2 = 1.796$; $P = 0.181$) (Table 3).

CHOICE TESTS EXPERIMENTS

After 24 h of being released, females of both species preferred strawberry plants over sweet pepper plants (*O. insidiosus*, $\chi^2 = 4.721$, $p = 0.030$; *O. tristicolor*, $\chi^2 = 4.321$; $p = 0.038$) (Table 4).

The females of the two species of *Orius* did not show a different preference between lamuyo or blocky type sweet pepper plants (*O. insidiosus* - $\chi^2 = 0.450$; $P = 0.371$; *O. tristicolor* - $\chi^2 = 1.389$, $P = 0.239$) (Table 4).

Discussion

In the process of colonization of a host, the behavior of females, including those belonging to Anthocoridae, usually includes a sequence of patterns consisting of orientation, landing, and recognition under different selection pressures. Currently, the mechanisms *Orius* spp. employ to locate their host in complex mixed-vegetation habitats re-

main poorly understood. All steps involve different senses and occur at varying distances from the plant surface; because olfactory and visual cues are perceptible at distance, they play a determinant role in plant location by foraging insects (Schoonhoven et al. 1998).

It is worth emphasizing the importance of visual search cues in Hemiptera, such as aphid and whitefly (Pickett et al. 1992; Isaacs et al. 1999). Ohno & Takemoto (1997) and Furihata et al. (2019) established that *Orius* spp. responded to different colors of traps, when they demonstrated that blue sticky traps were more effective for monitoring studies than white or yellow ones. Studies by Patt et al. (2011) showed that visual stimuli improve olfactory responses to the volatile compounds of the host plant. In fact, to initiate the process of colonization of a host, an olfactory stimulus may not be sufficient to generate a search for resources and oviposition (Visser 1986; Bernays & Chapman 1994; Finch & Collier 2000; Awmack & Leather 2002). The low response rate obtained in the Y-tube bioassays was due possibly to insufficient olfactory stimulation. In general, when a high percentage of test insects do not show a response in the Y tubes, the species does not respond to odor stimuli (this is not the case with *Orius* spp.) or the olfactory stimulus is not sufficient to induce search behaviors (Drukker et al. 2000; Bernardo 2015; Ardanuy et al. 2016).

It also should be noted that the size of the leaf or flower offered (amount of plant material = 1 g) as a source of odor may not have been sufficient. This could explain why the females of *O. insidiosus* showed no preference for the foliage and flowers of sweet pepper, strawberry, or corn in relation to fresh air (control). Another aspect to consider is that cutting leaves or using structures and not whole plants could

Table 2. Olfactory response of females of *Orius insidiosus* and *Orius tristicolor* to stimuli from strawberry flowers (on the arm [+]), when offered against pepper flowers (on the arm [-]) of an olfactometer of Y-tube.

Source smell on the arm (+)	n (+)	n (-)	n (0)	% (+)	χ^2	P
<i>Orius insidiosus</i>						
Strawberry flower	16	7	17	40	5.565	0.018
<i>Orius tristicolor</i>						
Strawberry flower	14	9	17	35	1.391	0.238

n (+, -) = number of predators that reached the end of the (+) or (-) arm of the Y tube; n (0) = number of predators that did not respond within a 10 min test; % (+) = percentage of individuals that reach the end of the arm (+); P = critical level.

Table 3. Olfactory response of females of *Orius insidiosus* and *Orius tristicolor* to stimuli from foliage pepper type blocky (on the arm [+]) when offered against foliage pepper type lamuyo (on the arm [-]) or flower pepper type blocky (on the arm [+]) when offered against flower pepper type lamuyo (on the arm [-]) of an olfactometer of Y-tube.

Source smell on the arm (+)	n (+)	n (-)	n (0)	% (+)	χ^2	P
<i>Orius insidiosus</i>						
Foliage pepper type blocky	13	11	13	32.5	0.320	0.572
Flower pepper type blocky	17	9	11	42.5	3.769	0.052
<i>Orius tristicolor</i>						
Foliage pepper type lamuyo	14	12	14	35	0.077	0.782
Flower pepper type lamuyo	15	11	15	37.5	1.796	0.181

n (+, -) = number of predators that reached the end of the (+) or (-) arm of the Y tube; n(0) = number of predators that did not respond within a 10 min test; % (+) = percentage of individuals that reach the end of the arm (+); P = critical level.

affect the chemical composition and influence the behavior of the species observed (Madadi et al. 2008). Cut plants may have different odor profiles; the volatile flowers, undamaged leaves, and leaves attacked by herbivores often exhibit different emission patterns from each other (Dudareva & Negre 2005), i.e., each plant structure has a specific odor profile (Karlsson et al. 2009).

The release of volatile defense compounds by plant substrates should not be ruled out either, because it has been reported that in other species of Solanaceae, such as tomatoes, substances derived from sesquiterpenes can repel insects (Frelichowski & Juvik 2005; Álvarez Gil 2015). Recent results by Bouagga et al. (2018) indicate that *O. laevigatus* punctures in the sweet pepper plants induced the release of an altered blend of volatiles and activation of the jasmonate acid and salicylic acid signaling pathways. These results highlight a potential tritrophic interaction in which the predator is able to induce defensive responses in the plant that reduces feeding by the pest.

In free-choice experiments, the difference found in the preference of females of *O. insidiosus* and *O. tristicolor* for the volatiles emitted by flowering strawberry plants compared to those of flowering sweet pepper plants would confirm that the females use chemical and olfactory cues to recognize their plant host, and that these cues favored strawberry. In the case of strawberry, volatile compounds have been studied widely in fruits; however, there are no studies that evaluate the aromatic differences between the organs of the plant or the whole plant at different phenological stages (Pérez-Rubio 1994). It should be considered that in polyphagous insects, the developmental stage of the host plant can determine the preference, where the main hosts emit a set of very similar volatiles, but both host and non-host plants are more attractive to many species during the flowering stage (Rajapakse 2006). The positive response behavior to the volatile emitted by plants in the flowering stage may be dependent on the response of the anthocorids to this stage of the plant where they feed on pollen and oviposit. It is known that females, during the search for hosts for oviposition, seek to ensure that the plant guarantees the best development of immature stages (Schoonhoven et al. 2005; Carroll et al. 2006), a principle known as "mother knows best" (Singer et al. 1988;

Schoonhoven et al. 2005). As various authors indicated, sweet pepper produces numerous volatile compounds and at least 14 of them are released during flowering and fructification (Addesso et al. 2011), phenological stages when sweet pepper plants are highly attractive to *Orius* spp. adults. The principal compound emitted during these stages is (E)-beta-ocimene (Addesso et al. 2011). This monoterpene has been reported to affect the behavior of adults of some species Coleoptera (Magalhães et al. 2012). Other volatile compounds from *Capsicum* spp. also induce behavioral or electrophysiological activity in different species (Muñiz et al. 2014).

Although the results of this study arise from experiments under controlled conditions in a laboratory or greenhouse, they can be considered useful for informing the management of these predators in the field. These results suggest that females of *Orius* would be able to discriminate between different host plants, and that in particular both *O. insidiosus* and *O. tristicolor* show greater preference for strawberry crops than sweet pepper crops, which could explain the low rate of establishment of the *Orius* females in the sweet pepper crop when they are released on it. It should be noted that in Uruguay, unlike in other horticultural areas, greenhouses are not closed and sweet pepper often is surrounded by other crops, including strawberry. The evaluated host plants coincide with each other in their period of cultivation and flowering in the field. Sweet pepper under greenhouse (113 ha in the country) and strawberry under micro or macro tunnel (55 ha in the country) are produced from Mar to Dec and coincide in their flowering periods (MGAP 2016). The first pepper and strawberry blossoms coincide with the end of com cultivation, and it is very common to find com in the surroundings of the greenhouses with the presence of *Orius*. Although these results contrast with those stated by van den Meiracker & Ramakers (1991) and Funderburk et al. (2000), where these authors described the establishment and effectiveness of *O. insidiosus* to control *F. occidentalis* on sweet pepper, they do not indicate whether the greenhouses in these systems were closed or open, or whether there were crops in the vicinity of the sweet peppers that could have interfered with predator establishment.

It should be reiterated that, as evidenced by Lorenzo et al. (2019), there is no effect of sweet pepper antibiosis on *O. insidiosus*; therefore,

Table 4. Response of females *Orius insidiosus* and *Orius tristicolor* to sweet pepper plant type blocky and type lamuyo, and strawberry plant in the free-choice test.

	Sweet pepper plant type lamuyo	Strawberry plant	χ^2	P
Female <i>O. insidiosus</i> choice rate (n = 72)	33	51	4.721	0.030
Female <i>O. tristicolor</i> choice rate (n = 72)	30	47	4.321	0.038
	Sweet pepper plant type lamuyo	Sweet pepper plant type blocky		
Female <i>O. insidiosus</i> choice rate (n = 72)	25	30	0.450	0.371
Female <i>O. tristicolor</i> choice rate (n = 72)	20	29	1.389	0.239

if there were no other repellent stimuli present it would remain and reproduce on the sweet pepper crop. The type of sweet pepper grown in Uruguay (lamuyo) did not have an influence on this non-preference either, because no differences were observed in preference for lamuyo or blocky sweet peppers. Although females of the species *O. tricolor* were attracted to stimuli from sweet pepper foliage as opposed to pure air, they also were attracted to strawberry plants in the micro-plot test, which could explain their absence on sweet pepper crops while still being found in other hosts surrounding pepper greenhouses.

As a complement, a tool to improve the establishment and colonization by *Orius* could be banker plants located inside the greenhouse. Native species with good flowering and good acceptance by *Orius* should be investigated. Determining a suitable flowering banker plant could improve opportunities for using the predator to control thrips by providing a source of supplementary food in the form of pollen (Huang et al. 2011).

Given that the horticultural greenhouses in Uruguay and in many other countries are open, these results regarding *Orius* preference for different crops may be very useful to aid in the design of spatial and temporal management of different horticultural crops on a production field in order to enhance the effectiveness of these predatory species.

Acknowledgments

We wish to thank the National Research and Innovation Institute and the Experimental Station of the School of Agronomy, University of the Republic in Salto, Uruguay, which provided their facilities and economic support for the study.

References Cited

- Addesso KM, McAuslane HJ, Albhorn HT. 2011. Attraction of pepper weevil to volatiles from damaged pepper plants. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 138: 1–11.
- Álvarez Gil M. 2015. Resistencia de insectos en tomate (*Solanum* spp.). *Cultivos Tropicales* 36: 100–110.
- Arduany A, Albajes R, Turlings TC. 2016. Innate and learned prey-searching behavior in a generalist predator. *Journal of Chemical Ecology* 42: 497–507.
- Awmack CS, Leather SR. 2002. Host plant quality and fecundity in herbivorous insects. *Annual Review of Entomology* 47: 817–844.
- Bentan Court CM, Scatoni IB. 2001. *Enemigos naturales. Manual ilustrado para la agricultura y la forestación*. Universidad de la República (Uruguay). Facultad de Agronomía, PREDEG-GTZ, Montevideo, Uruguay.
- Bernardo A. 2015. Alternative food and learning as a promising strategy for biological control. M.Sc. thesis, Federal University of Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, Brazil.
- Bernays E, Chapman R. 1994. Behavior: the process of host-plant selection, pp. 95–165. In: Bernays E, Chapman R [eds.], *Host Plant Selection by Phytophagous Insects*. Chapman & Hall, New York, USA.
- Bitterlich I, McDonald LS. 1993. The prevalence of tomato spotted wilt virus in weeds and crops in southwestern British Columbia. *Canadian Plant Disease Survey* 73: 137–142.
- Bosa CF, Clavijo A, Karlsson FM, Cotes AM, Witzgall P. 2011. Respuesta de *Tecia solanivora* (Lepidoptera: Gelechiidae) a compuestos volátiles de papa, *Solanum tuberosum*. *Revista Colombiana de Entomología* 37: 1–7.
- Bosco L, Giacometto E, Tavella L. 2008. Colonization and predation of thrips (Thysanoptera: Thripidae) by *Orius* spp. (Heteroptera: Anthocoridae) in sweet pepper greenhouses in Northwest Italy. *Biological Control* 44: 331–340.
- Bouagga S, Urbaneja A, Rambla JL, Granell A, Pérez-Hedo M. 2018. *Orius laevis* strengthens its role as a biological control agent by inducing plant defenses. *Journal of Pest Science* 91: 55–64.
- Buenahora J, Basso C. 2015. Utilización de *Amblyseius swirskii*, un enemigo natural clave para el manejo integrado de plagas en el cultivo de pimiento en invernadero. In: 4tas. Jornadas de Enfermedades y Plagas en Cultivos Bajo Cubierta. Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales de la Universidad Nacional de La Plata, La Plata, Argentina.
- Calvo FJ, Knapp M, van Houten YM, Hoogerbrugge H, Belda JE. 2014. *Amblyseius swirskii*: what made this predatory mite such a successful biocontrol agent? *Experimental and Applied Acarology* 65: 419–433.
- Campbell BC, Jones CK, Dreyer DL. 1986. Discriminative behavioral responses by aphids to various plant matrix polysaccharides. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 41: 17–24.
- Carpintero DL. 2002. Catalogue of the Neotropical Anthocoridae (Heteroptera). *Revista Sociedad Entomológica Argentina* 61: 25–44.
- Carrizo PL. 1998. Hospederos naturales para trips vectores de peste negra: propuesta de calificación de riesgo. *Boletín de Sanidad Vegetal Plagas* 24: 155–166.
- Carroll M, Schmeltz E, Meagher R, Teal P. 2006. Attraction of *Spodoptera frugiperda* larvae to volatiles from herbivore-damaged maize seedlings. *Journal of Chemical Ecology* 32: 1911–1924.
- Castañé C, Zalom FG. 1994. Artificial oviposition substrate for rearing *Orius insidiosus* (Hemiptera, Anthocoridae). *Biological Control* 4: 88–91.
- Castresana J, Gagliano E, Puhl L, Bado S, Vianna L, Castresana M. 2008. Atracción del trips *Frankliniella occidentalis* (Pergande) (Thysanoptera: Thripidae) con trampas de luz en el cultivo de *Gerbera jamesonii* (G.). *Idesia* 26: 51–56.
- Castro AM, Ramos S, Vasicek A, Worland A, Giménez D, Clúa A, Suárez E. 2001. Identification of wheat chromosomes involved with different types of resistance against greenbug and Russian wheat aphid (*Diuraphis noxia* Mordvilko). *Euphytica* 118: 321–330.
- Chow A, Chau A, Heinz KM. 2010. Compatibility of *Amblyseius* (Typhlodromi) *swirskii* (Athias-Henriot) (Acar: Phytoseiidae) and *Orius insidiosus* (Hemiptera: Anthocoridae) for biological control of *Frankliniella occidentalis* (Thysanoptera: Thripidae) on roses. *Biological Control* 53: 188–196.
- Cocuzza GE, De Clercq P, van de Veire M, De Cock A, Degheele D, Vacante V. 1997. Reproduction of *Orius laevis* and *Orius albidipennis* on pollen and *Ephestia kuehniella* eggs. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 82: 101–104.
- Corey D, Kamhampati S, Wilde GE. 1998. Electrophoretic analysis of *Orius insidiosus* (Hemiptera: Anthocoridae) feeding habits in field corn. *Journal of the Kansas Entomological Society* 71: 11–17.
- Damalas CA, Eleftherohorinos IG. 2011. Pesticide exposure, safety issues, and risk assessment indicators. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 8: 1402–1419.
- Dudareva N, Negre F. 2005. Practical applications of research into the regulation of plant volatile emission. *Current Opinion in Plant Biology* 8: 113–118.
- Fanigliulo A, Viggiano A, Gualco A, Crescenzi A. 2014. Control of viral diseases transmitted in a persistent manner by thrips in pepper (tomato spotted wilt virus). *Communications in Agricultural Applied Biological Science* 79: 433–437.
- Finch S, Collier R. 2000. Host-plant selection by insects – a theory based on ‘appropriate’/‘inappropriate’ landings by pest insects of cruciferous plants. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 96: 91–102.
- Frelchowskij JE, Juvik AJ. 2005. Inheritance of sesquiterpene carboxylic acid synthesis in crosses of *Lycopersicon hirsutum* with insect-susceptible tomatoes. *Plant Breeding* 124: 277–281.
- Funderburk J, Stavisky J, Olsen S. 2000. Predation of *Frankliniella occidentalis* (Thysanoptera: Thripidae) in field peppers by *Orius insidiosus* (Hemiptera: Anthocoridae). *Environmental Entomology* 29: 376–382.
- Furihata S, Tabuchi K, Okudera S, Takahashi A, Hinomoto N, Shimoda M, Yamaguchi T. 2019. An efficient method for monitoring predatory minute pirate bugs *Orius* spp. (Hemiptera: Anthocoridae) populations using blue-colored sticky traps. *Environmental Entomology* 48: 1–8.
- Gillespie DR, Vernon RS. 1990. Trap catch of western flower thrips (Thysanoptera: Thripidae) as affected by color and height of sticky card traps in mature greenhouse cucumber crops. *Journal of Economic Entomology* 83: 971–975.
- Griffin ML, Yeargan KV. 2002. Oviposition site selection by the spotted lady beetle *Coleomegilla maculata* (Coleoptera: Coccinellidae): choices among plant species. *Environmental Entomology* 31: 107–111.
- Hansen EA, Funderburk JE, Reitz SR, Ramachandran S, Eger JE, McAuslane H. 2003. Within-plant distribution of *Frankliniella* species (Thysanoptera: Thripidae) and *Orius insidiosus* (Heteroptera: Anthocoridae) in field pepper. *Environmental Entomology* 32: 1035–1044.
- Helyer NL, Brobyn PJ. 2008. Chemical control of western flower thrips (*Frankliniella occidentalis* Pergande). *Annals of Applied Biology* 121: 219–231.
- Huang N, Enkegaard A, Osborne LS, Ramakers PMJ, Messelink G, Pijnakker J, Murphy G. 2011. The banker plant method in biological control. *Critical Reviews in Plant Sciences* 30: 259–278.
- Hunter WB, Ullman DE. 1989. Analysis of mouthpart movements during feeding of *Frankliniella occidentalis* (Pergande) and *F. schultzei* Trybom (Thysanoptera: Thripidae). *International Journal of Insect Morphology and Embryology* 18: 161–171.

- Isaacs R, Willis MA, Byrne DN. 1999. Modulation of whitefly takeoff and flight orientation by wind speed and visual cues. *Physiological Entomology* 24: 311–318.
- Jacas J, Urbaneja A, García Mari F. 2008. Artrópodos depredadores, pp. 39–56. In Jacas J, Urbaneja A [eds.], *Control Biológico de Plagas Agrícolas*. Phytoma, Valencia, Spain.
- Karlsson MF, Birgersson G, Cotes Prado AM. 2009. Plant odor analysis of potato: response of guatemalan moth to above- and belowground potato volatiles. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 57: 5903–5909.
- Koschier EH, de Kogel WJ, Visser JH. 2000. Assessing the attractiveness of volatile plant compounds to western flower thrips (*Frankliniella occidentalis* Pergande). *Journal of Chemical Ecology* 26: 2643–2655.
- López Ávila A, Rincón DF. 2006. Diseño de un olfatómetro de flujo de aire para medir respuestas olfativas de insectos de tamaño mediano y pequeño. *Revista Corpoica — Ciencia y Tecnología Agropecuaria* 7: 61–65.
- Lorenzo ME, Bao L, Mendez L, Grille G, Bonato O, Basso C. 2019. Effect of two oviposition feeding substrates on *Orius insidiosus* and *Orius tristicolor* (Hemiptera: Anthocoridae). *Florida Entomologist* 102: 395–402.
- Lundgren JG, Fergen JK. 2006. The oviposition behavior of the predator *Orius insidiosus*: acceptability and preference for different plants. *BioControl* 51: 217–227.
- Lundgren JG, Fergen JK, Riedell WE. 2008. The influence of plant anatomy on oviposition and reproductive success of the omnivorous bug, *Orius insidiosus*. *Animal Behaviour* 75: 1495–1502.
- Madadi H, Enkegaard A, Brødsgaard HF, Kharrazi-Pakdel A, Ashouri A, Mohaghegh-Neishabouri J. 2008. *Orius albidipennis*: intraguild predation of and prey preference for *Neoseiulus cucumeris* on different host plants. *Entomologica Fennica* 19: 32–40.
- Maeso D, Paullier J, González P, Arboleya J, Alfredo Fernández A, Walasek W. 2013. Seguimiento de “peste negra” en morrón: experimentos en la zona sur de Uruguay. *INIA Serie Actividades de Difusión* 723: 1–44.
- Magalhães DM, Borges M, Laumann RA, Sujii ER, Mayon P, Caulfield JC, Midega CAO, Khan ZR, Pickett JA, Birkett MA, Blassoli Moraes MC. 2012. Semiochemicals from herbivory induced cotton plants enhance the foraging behavior of the cotton boll weevil, *Anthonomus grandis*. *Journal of Chemical Ecology* 38: 1528–1538.
- Mendes SM, Bueno VHP, Carvalho LM. 2005. Adequabilidade de diferentes substratos à oviposição do predador *Orius insidiosus* (Say) (Hemiptera: Anthocoridae). *Neotropical Entomology* 34: 415–421.
- MGAP. 2016. Encuestas Hortícolas 2015-2016 — Zonas Sur y Litoral Norte. <https://www.gub.uy/ministerio-ganaderia-agricultura-pesca/datos-y-estadisticas/estadisticas/encuestas-hortícolas-2015-2016-zonas-sur-litoral-norte-344> (last accessed 28 Jul 2020).
- Mulliz M, Cibrián J, Hidalgo C, Bautista N, Vaquera H, Aldama C. 2014. Volatile compounds attract the pepper (*Capsicum* spp.) weevil (*Anthonomus eugenii* Cano) and synergize its aggregation pheromone. *Agrociencia* 48: 819–832.
- Ohno K, Takemoto H. 1997. Species composition and seasonal occurrence of *Orius* spp. (Heteroptera: Anthocoridae), predaceous natural enemies of *Thrips palmi* (Thysanoptera: Thripidae), in eggplant fields and surrounding habitats. *Journal of Applied Entomology and Zoology* 32: 27–35.
- Painter RH. 1951. *Insect Resistance to Crop Plants*. The McMillan Co., New York, USA.
- Patt JM, Meikle WG, Mafra-Neto A, Setamou M, Mangan R, Yang C. 2011. Multimodal cues drive host-plant assessment in Asian citrus psyllid (*Diaphorina citri*). *Environmental Entomology* 40: 1494–1502.
- Peraza AR. 2011. Preferencia de hospedero y parámetros de desarrollo de *Copitarsia decolora* sobre plantas seleccionadas para la diversificación del cultivo de uchuva (*Physalis peruviana*). bdigital.unal.edu.co/8426/ (last accessed 28 Jul 2020).
- Pérez Rubio AG. 1994. Composición aromática y biogénesis de compuestos volátiles en fresa (*Fragaria ananassa* Duch.) var. Chandler. Doctoral thesis. Universidad de Sevilla, Seville, Spain.
- Pickett J, Wadhams L, Woodcock C, Hardie J. 1992. The chemical ecology of aphids. *Annual Review of Entomology* 37: 67–90.
- Pivnick K, Jarvis B, Slater G, Gillot C, Underhill E. 1990. Attraction of the diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae) to volatiles of oriental mustard: the influence of age, sex, and prior exposure to mates and host plants. *Environmental Entomology* 19: 704–709.
- Rajapakse CNK, Walter GH, Moore CJ, Hull CD, Cribb BW. 2006. Host recognition by a polyphagous lepidopteran (*Helicoverpa armigera*): primary host plants, host produced volatiles and neurosensory stimulation. *Physiological Entomology* 31: 270–277.
- R Core Team. 2016. R: a language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
- Reid CD, Lampman RL. 1989. Olfactory responses of *Orius insidiosus* (Hemiptera: Anthocoridae) to volatiles of corn silks. *Journal of Chemical Ecology* 15: 1109–1111.
- Ribeiro A, Castiglioni E. 2008. Caracterización de las poblaciones de enemigos naturales de *Piezodorus guildinii* (Westwood) (Hemiptera: Pentatomidae). *Agrociencia* 12: 48–56.
- Richards PC, Schmidt JM. 1996. The suitability of some natural and artificial substrates as oviposition sites for the insidious flower bug, *Orius insidiosus*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 80: 325–333.
- Roselló S, Díaz MJ, Nuez F. 1996. Viral diseases causing economic losses to the tomato crop. I. the tomato spotted wilt virus - a review. *Scientia Horticulturae* 67: 117–150.
- Sabelis MW, van de Baan HE. 1983. Location of distant spider mite colonies by phytoseiid predators: demonstration of specific kairomones emitted by *Tetranychus urticae* and *Panonychus ulmi*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 33: 303–314.
- Saini E, Cervantes V, Alvarado L. 2003. Efecto de la temperatura, la dieta y el hacinamiento sobre la fecundidad, fertilidad y longevidad de *Orius insidiosus* (Say) (Hemiptera: Anthocoridae) predador del trips en cultivos protegidos. *Revista de Investigaciones Agropecuarias* 2: 21–32.
- Salguero Navas VE, Funderburk JE, Olson SM, Beshear RJ. 1991. Damage to tomato fruit by the western flower thrips (Thysanoptera: Thripidae). *Journal of Entomological Science* 26: 436–442.
- Schoonhoven LM, Jermy T, van Loon J. 1998. Host-plant selection: how to find a host plant, pp. 121–153. In Schoonhoven LM, Jermy T, van Loon J [eds.], *Insect-Plant Biology*. Chapman & Hall, London, United Kingdom.
- Schoonhoven LM, van Loon JJA, Dicke M. 2005. *Insect-Plant Biology*. Oxford University Press, Oxford, United Kingdom.
- Sherwood J, German TL, Moyer JW, Ullman DE, Whitfield AE. 2000. Tomato spotted wilt, pp. 1030–1031. In: Maloy OC, Murray TD [eds.], *Encyclopedia of Plant Pathology*. John Wiley & Sons, New York, USA.
- Singer MC, Ng D, Thomas CD. 1988. Heritability of oviposition preference and its relationship to offspring performance within a single insect population. *Evolution* 42: 977–985.
- Smith CM, Boyko EV. 2006. The molecular bases of plant resistance and defense responses to aphid feeding: current status. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 122: 1–16.
- van den Meiracker RAF, Ramakers PMJ. 1991. Biological control of the western flower thrips, *Frankliniella occidentalis*, on sweet pepper with the anthocorid predator *Orius insidiosus*. Mededelingen van de Faculteit Landbouwwetenschappen, Rijksuniversiteit Gent 56: 241–249.
- van Lenteren JC. 2012. The state of commercial augmentative biological control: plenty of natural enemies, but a frustrating lack of uptake. *Biocontrol* 57: 1–20.
- van Lenteren JC, Bolkmans K, Köhl J, Ravensberg WJ, Urbaneja A. 2018. Biological control using invertebrates and microorganisms: plenty of new opportunities. *BioControl* 63: 39–59.
- Visser JH. 1986. Host odor perception in phytophagous insect. *Annual Review of Entomology* 31: 121–144.
- Visser JH, Piron PGM. 1998. An open Y-track olfactometer for recording of aphid behavioural responses to plant odours. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 9: 41–46.
- Whitfield AE, Ullman DE, German TL. 2005. Toxopovirus-thrips interactions. *Annual Review of Phytopathology* 43: 459–489.
- Yoneya K, Kugimiya S, Takabayashi J. 2009. Do adult leaf beetles (*Plagioderia versicolora*) discriminate between odors from intact and leaf-beetle-infested willow shoots? *Journal of Plant Interactions* 4: 125–129.
- Yoneya K, Ozawa R, Takabayashi J. 2010. Specialist leaf beetle larvae use volatiles from willow leaves infested by conspecifics for reaggregation in a tree. *Journal of Chemical Ecology* 36: 671–679.

4 **COMPATIBILIDAD ENTRE *ORIUS INSIDIOSUS* (HEMIPTERA: ANTHOCORIDAE) Y *AMBLYSEIUS SWIRSKII* (ACARINA: PHYTOSEIIDAE) EN EL CONTROL DE *FRANKLINIELLA OCCIDENTALIS* (THYSANOPTERA: THRIPIDAE) EN PIMIENTO**

En invernaderos es común que los programas de control biológico de plagas recurran a la utilización simultánea de varios enemigos naturales (Shipp y Ramakers, 2004). Si entre los agentes de biocontrol surgen interacciones negativas en lugar de efectos complementarios, la adición de especies puede liberar a las poblaciones de herbívoros de la presión de la depredación o el parasitismo (Rosenheim *et al.*, 1999). Una interacción muy extendida en las poblaciones de enemigos naturales es la depredación intragremial, cuya intensidad y resultado puede estar influenciada por varios factores (Rosenheim *et al.*, 1995). El bajo establecimiento de *Orius insidiosus* en los invernaderos de pimiento podría estar influido por su compatibilidad con *Amblyseius swirskii* en el control de *F. occidentalis*. Para ello se estudió, en condiciones de laboratorio, el complejo *A. swirskii*-*O. insidiosus*-*F. occidentalis*, y si el fenómeno de depredación intra-gremio podría afectar la depredación de los trips. Estos estudios se presentan a continuación.

RESUMEN

Los programas de control biológico, especialmente en invernadero, recurren cada vez más a la liberación simultánea de varios enemigos naturales contra las plagas. En nuestro país, el manejo de plagas en pimiento se basa en la liberación de *Orius insidiosus* y *Amblyseius swirskii*, dirigidos al control de *Frankliniella occidentalis* y *Bemisia tabaci*. La liberación de *O. insidiosus* se enfoca principalmente en el control de los trips, pero una vez establecido puede contribuir al control de las moscas blancas. Complementariamente, *A. swirskii* es liberado para controlar moscas blancas, pero también puede preda trips. Sin embargo, los depredadores zoofitófagos no solo se alimentan de plagas o alimentos provistos de plantas, sino también de otros enemigos naturales con los cuales comparten presas (depredación intragremio). De aquí que, la liberación combinada de depredadores generalistas podría dar como respuesta un resultado negativo en el control biológico de la plaga objetivo. Por lo tanto, resultó importante evaluar la compatibilidad entre *O. insidiosus* y *A. swirskii* como depredadores de *F. occidentalis*. Para ello en pruebas de laboratorio se estudió: (1) el efecto de la densidad y la composición de las presas sobre su depredación por *O. insidiosus*, (2) el cambio de presas por parte de *O. insidiosus* y (3) el efecto del género de *O. insidiosus* en la preferencia de presas. Se encontró que si las densidades relativas de *F. occidentalis* y *A. swirskii* variaban, *O. insidiosus* siempre cambiaba a la presa más abundante. Machos y hembras de *O. insidiosus* prefirieron ninfas de *F. occidentalis* sobre *A. swirskii*, y las hembras mataron más presas que los machos. Dado que *O. insidiosus* se alimentó de *A. swirskii*, es aconsejable una postura de precaución al combinar antocóridos y ácaros fitoseidos para el control de *F. occidentalis*. Serían necesarios estudios a nivel de invernadero a fin de esclarecer cuál es el efecto final de utilizar ambos depredadores en forma conjunta.

Palabras clave: antocóridos, predación intragremial, control biológico, cambio de presa, preferencia

SUMMARY

Biological control programs, especially in the greenhouse, increasingly resort to the simultaneous release of several natural enemies against pests. In our country, pest management in peppers is based on the release of *Orius insidiosus* and *Amblyseius swirskii*, aimed at controlling *Frankliniella occidentalis* and *Bemisia tabaci*. The release of *O. insidiosus* is mainly focused on the control of thrips, but once established it can contribute to the control of whiteflies. Additionally, *A. swirskii* is released to control whiteflies, but it can also prey thrips. However, zoophytophagic predators not only feed on pests or plant food, but also on other natural enemies with which they share prey (intra-guild predation). Hence, the combined release of generalist predators could give a negative result in the biological control of the target pest. Therefore, it was important to evaluate the compatibility between *O. insidiosus* and *A. swirskii* as predators of *F. occidentalis*. For this, in laboratory tests, the following were studied: (1) the effect of the density and the composition of the prey on their predation by *O. insidiosus*, (2) the change of prey by *O. insidiosus* and (3) the effect of the genus of *O. insidiosus* in prey preference. It was found that if the relative densities of *F. occidentalis* and *A. swirskii* varied, *O. insidiosus* always changed to the most abundant prey. Male and female *O. insidiosus* preferred nymphs of *F. occidentalis* over *A. swirskii*, and females killed more prey than males. Since *O. insidiosus* fed on *A. swirskii*, a cautious stance is advisable when combining anthocorids and phytoseid mites for the control of *F. occidentalis*. Studies at the greenhouse level would be necessary in order to clarify the final effect of using both predators together.

Keywords: anthocorids, intraguild predation, biological control, change of prey, preference

4.1 INTRODUCCIÓN

La aplicación de programas de Manejo Integrado de Plagas está cobrando cada vez más importancia a nivel mundial, como un enfoque que combina numerosas técnicas sanitarias con el objetivo de evitar daños económicos causados por las plagas (Viglianchino, 2013). La piedra angular de estos programas es el control biológico (van Lenteren, 2009), el cual es ampliamente utilizado en numerosos países y en muchas situaciones, pero se ha desarrollado especialmente en cultivos protegidos por el alto costo por superficie de estas producciones (van Lenteren y Bueno, 2003). En estos cultivos los agentes de control se introducen periódicamente una o más veces al año, con la finalidad que se multipliquen en los cultivos, pero sin establecerse de forma permanente (Jacas y Urbaneja, 2008). En su implementación, cada vez más se procede a liberar simultáneamente varias especies de depredadores generalistas contra plagas comunes (van Lenteren *et al.*, 2018, Calvo *et al.*, 2009, Shipp y Ramakers, 2004). Generalmente se trata de depredadores zoofitófagos, por lo cual se nutren de alimentos provistos por las plantas, pero también de otros enemigos naturales (Rosenheim *et al.*, 1999, Rosenheim *et al.*, 1995).

El modelo de complementariedad de especies sugiere que la mortalidad de herbívoros que resulta de la acción combinada de diferentes especies de enemigos naturales es igual (aditivo) o superior (sinérgico) a la suma de la mortalidad causada por cada especie de enemigo natural (Snyder *et al.*, 2005). Sin embargo, las interacciones negativas entre los enemigos naturales, como la depredación intragremial, el hiperparasitismo facultativo o el comportamiento de interferencia, pueden tener efectos sobre la supresión de los herbívoros (Schmitz, 2007, Rosenheim, 2007). Si entre los agentes de control surgen interacciones negativas, en lugar de efectos complementarios, la adición de especies puede liberar a los fitófagos de la presión de la depredación o el parasitismo (Rosenheim *et al.*, 1999). Estos escenarios, en los que las interacciones negativas entre los enemigos naturales aumentan a medida que aumenta la diversidad, han afectado los esfuerzos de control biológico, al forzar a los practicantes a decidir entre la liberación de una sola especie superior de enemigos naturales o múltiples especies contra un herbívoro plaga (Bellows y Hassel, 1999). La depredación intragremial está muy extendida en las poblaciones de enemigos naturales

y se produce cuando un depredador intragremial puede afectar negativamente a otro, bien al alimentarse de él o compitiendo por el recurso compartido (presa extragremial) (Rosenheim *et al.*, 1995). Puede ser unidireccional, con una especie funcionando como el depredador superior (es decir, intragremio) y el otro como el depredador intermedio (es decir, presa intragremio) o mutuo, donde cada depredador tiene la capacidad de consumir al otro (Holt y Polis, 1997, Polis *et al.*, 1989). Por lo tanto, la liberación combinada de depredadores generalistas podría dar un resultado negativo en el control biológico de la plaga objetivo (Rosenheim y Harmon, 2006, Janssen *et al.*, 2003).

En Uruguay, desde 2013 numerosos productores comerciales llevan adelante un manejo de las plagas del cultivo de pimiento bajo invernadero basado en la liberación de dos depredadores, el ácaro *Amblyseius swirskii* (Athias) (Acarina: Phytoseiidae) utilizado contra la mosca blanca del tabaco, *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae), y la chinche *Orius insidiosus* (Say) (Hemiptera: Anthocoridae) para el control del trips occidental de las flores, *Frankliniella occidentalis* (Pergande) (Thysanoptera: Thripidae). Dicho manejo se plantea como alternativo al tradicional basado únicamente en la aplicación de insecticidas químicos y sigue lineamientos de las prácticas habituales en países europeos (Urbaneja *et al.*, 2003) y en Estados Unidos (Reitz *et al.*, 2003).

Frankliniella occidentalis es una plaga grave, vector de enfermedades (TSWV, *Tomato spotted wilt virus*) y causante de importantes daños por alimentación y oviposición (Reitz, 2009). Su control con insecticidas químicos es difícil, ya que ponen sus huevos dentro de los tejidos de la planta, y tanto los adultos como las larvas se alimentan en lugares protegidos, como botones florales, que resguardan a la plaga de la acción de los insecticidas (Brødsgaard, 2004). *Orius insidiosus* se alimenta de larvas y adultos de trips (Simone *et al.*, 2001); mientras que *A. swirskii* mata principalmente huevos y ninfas de mosca blanca, pero también puede depredar larvas de primer estadio de trips (Wimmer *et al.*, 2008). Algunos reportes indican que *Orius* spp. podría alimentarse además de ácaros (Urbaneja *et al.*, 2003, Lara *et al.*, 2002). Por tanto, si bien el carácter generalista de *Orius* spp. puede ser una ventaja cuando se considera el control de las plagas de invernadero, también puede ser una fuente de preocupación,

debido a la posibilidad de interferencia con otros enemigos naturales (Cloutier y Jonhson, 1993). Tal es el caso de *A. swirskii* (Chow *et al.*, 2010).

En función de ello, surgió como tema de estudio la compatibilidad de *A. swirskii* y *O. insidiosus* cuando se los emplea para el control de *F. occidentalis*, para conocer si su interacción incrementa o reduce la supresión de la plaga. Un segundo objetivo fue determinar cómo la disponibilidad de presas puede afectar la tendencia de *O. insidiosus* a matar a *A. swirskii*. Para ello, se varió la abundancia de *F. occidentalis* en experimentos bajo condiciones controladas.

4.2 MATERIALES Y MÉTODOS

4.2.1 Insectos y plantas experimentales

Las colonias del trips occidental de las flores, *F. occidentalis*, se establecieron a partir de individuos colectados en hojas y flores de pimiento (*Capsicum annum* L., Solanaceae) en la región hortícola de Salto (S 31°23' - W 57°58'), Uruguay.

Los trips se multiplicaron en el laboratorio de Entomología en la Estación Experimental de la Facultad de Agronomía en Salto (EEFAS) de la Universidad de la República, siguiendo el protocolo descrito por Espinosa *et al.* (2002) y Steiner y Goodwin (1998). Como sustrato vegetal se utilizaron plantas de poroto (*Phaseolus vulgaris* L., Fabaceae), dispuestas en cámaras de crecimiento con condiciones controladas (25 ± 1 ° C, $60 \pm 5\%$ HR, 16: 8h L: D). Cuando aparecieron las primeras hojas, se les cortó el pecíolo y se las colocó en pequeños vasos conteniendo agua. Los vasos se dispusieron en recipientes de vidrio (35 × 20 × 14 cm) con tapa ventiladas cubiertas con malla fina. Se formaron cohortes sincronizados de trips mediante la colocación de adultos en dichas hojas y su transferencia a nuevas hojas luego de transcurridas 24 horas. Estas hojas de poroto conteniendo la oviposición de los trips fueron colocadas en cajas similares a las descritas anteriormente y mantenidas durante 6-7 días hasta la aparición del segundo estadio ninfal, o hasta los 13-14 días en que aparecieron los adultos. Estos dos estados fueron los utilizados en los experimentos.

Individuos ofrecidos comercialmente de *A. swirskii* y *O. insidiosus* fueron obtenidos de la empresa Brometan de Argentina. El ácaro *A. swirskii* fue multiplicado sobre hojas de pimiento, alimentado con huevos y ninfas de *B. tabaci* colectados en

cultivos de pimiento en la región hortícola de Salto. El antocórido *O. insidiosus* se crió utilizando vainas frescas de poroto como sustratos de oviposición y huevos de la polilla de la harina, *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae) como presa, disponibles a partir de una unidad de producción disponible en la Facultad de Agronomía. Cada una de las colonias se colocó en recipientes de vidrio (35 × 20 × 14 cm) cubiertos con film extensible de polietileno de baja densidad (LLDPE) con alta transparencia, en cámara climatizada a $25 \pm 1^\circ\text{C}$, $60 \pm 5\%$ HR, 16: 8h (L: D).

Las plantas de pimiento (cvar Bilano tipo Lamuyo) y de poroto Caupí (*Vigna unguiculata* L. Walp.), crecieron individualmente en macetas plásticas de 20 cm de diámetro y 10 cm de profundidad, bajo condiciones controladas (25°C y 70 % HR) con riego, en un invernadero de polietileno del Departamento de Protección Vegetal-Entomología en EEFAS, hasta que alcanzaron un tamaño adecuado para los experimentos (20-30 cm de altura).

4.2.2 **Unidad experimental y condiciones de los experimentos**

Los experimentos con depredadores y trips fueron realizados en una unidad experimental que incluyó un disco de hoja de pimiento (6 cm de diámetro) dispuesto sobre papel de filtro humedecido con agua destilada. Dicha unidad se colocó en placas de Petri de 9,5 cm de diámetro x 1,5 cm de profundidad, ventiladas a través de un orificio en la tapa cubierto con malla (20 x 10 hilos por cm^2). Durante los experimentos, que fueron de 24 horas de duración, las placas se mantuvieron a $25 \pm 1^\circ\text{C}$, $60 \pm 5\%$ HR, 16: 8h (L: D). Las hembras adultas de *O. insidiosus* fueron privadas de alimentación durante las 24 horas previas a su utilización.

4.2.3 **Efecto del género de *O. insidiosus* en la depredación de *A. swirskii* y *F. occidentalis***

Para evaluar posibles diferencias en la depredación de *F. occidentalis* y *A. swirskii* por parte de machos y hembras de *O. insidiosus*, se colocaron 10 adultos de *F. occidentalis* y 10 adultos de *A. swirskii* con un macho o una hembra de *O. insidiosus* en las unidades experimentales antes descriptas. Se realizaron 12 repeticiones para

cada género de *O. insidiosus*. Trascurridas 24 horas de la introducción de los antocóridos se contabilizó el número de presas muertas. Para estimar la mortalidad de la presa debido a la manipulación o la posible depredación de *F. occidentalis* por parte de *A. swirskii* se realizaron 12 repeticiones sin la presencia de *O. insidiosus*.

4.2.4 **Efecto de diferentes densidades de *F. occidentalis* o de *A. swirskii* sobre la depredación por parte de *O. insidiosus***

Se evaluó la capacidad de depredación de *O. insidiosus* sobre individuos del segundo estadio ninfal (6-7 días de vida) y adultos de *F. occidentalis* (13-14 días de vida), y adultos de *A. swirskii*, siguiendo el protocolo descrito por Chow et al. (2010). En la unidad experimental ya descrita se probaron tres densidades: 5, 10 y 20 presas (trips o ácaros) /placa. Aproximadamente una hora luego de colocadas las presas, se introdujo una única hembra adulta de *O. insidiosus*. Para evitar escapes, cada placa fue sellada con su tapa y papel film. A las 24 horas se contabilizó el número de presas muertas en el interior de las placas.

La mortalidad debido a la manipulación fue estimada a partir de 10 repeticiones para cada tipo de presa (segundo estadio o adultos de trips) usando 20 presas por placa sin *O. insidiosus*. Todas las manipulaciones se realizaron con un pincel de punta fina.

4.2.5 **Cambio de presa por parte de *Orius insidiosus***

Siguiendo el protocolo establecido por Chow et al. (2010) se evaluó el cambio de presa de hembras de *O. insidiosus* ofreciéndoles dos combinaciones de presas: 5 *F. occidentalis* y 15 *A. swirskii* (relación 1:3), 10 *F. occidentalis* y 10 *A. swirskii* (relación 1:1), 15 *F. occidentalis* y 5 *A. swirskii* (relación 3:1). Se repitió este experimento con individuos de segundo estadio ninfal y adultos de *F. occidentalis*. En todos los casos se utilizaron adultos de *A. swirskii*. Se completaron 10 repeticiones para cada relación.

Para ello, en primer lugar, se transfirió a cada placa el número requerido de trips, posteriormente se incorporaron los ácaros y finalmente una hembra de *O. insidiosus*. A las 24 horas de la introducción de los antocóridos se contabilizó el número de presas muertas.

Los controles consistieron en depositar en forma conjunta en las unidades experimentales 20 *F. occidentalis*: 20 *A. swirskii* sin *O. insidiosus*. Este experimento se realizó con individuos de segundo estadio ninfal y con adultos de *F. occidentalis*. En todos los casos se utilizaron adultos de *A. swirskii*. Se realizaron 10 repeticiones de cada situación.

4.3 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Todos los recuentos y proporciones se verificaron para determinar la normalidad y la homogeneidad de varianza (homocedasticidad). Para los experimentos con diferentes densidades de presa, cambio de presas y de elección con ambos géneros de *O. insidiosus*, se realizó un ANOVA de dos vías con "tipo de presa" y "densidad de presas" como factores para detectar diferencias significativas en el número total de presas muertas y las recuperadas entre los tratamientos. Un ANOVA unidireccional se realizó para comparar números de presas muertas y recuperadas en los controles. La prueba de diferencia honestamente significativa (HSD) de Tukey se utilizó para determinar diferencias significativas entre pares de valores medios después de las pruebas paramétricas.

4.4 RESULTADOS

4.4.1 Efecto del género (macho-hembra) de *O. insidiosus* en la depredación de *A. swirskii* y *F. occidentalis*

El número medio de presas muertas por hembras de *O. insidiosus* fue alrededor de un 30% mayor que las presas muertas por los machos para los dos tipos de presa ($p = 0,023$). El número de trips y ácaros muertos por los machos de *O. insidiosus* no fueron diferentes entre sí ($p = 0,756$), mientras que las hembras mataron más trips que ácaros ($p = 0,038$) (Figura 5.1).

La mortalidad de *A. swirskii* y *F. occidentalis* en las placas de control fue menor al 10% de cada tipo de presa y no varió entre los dos tipos de presas ($p = 0,842$).

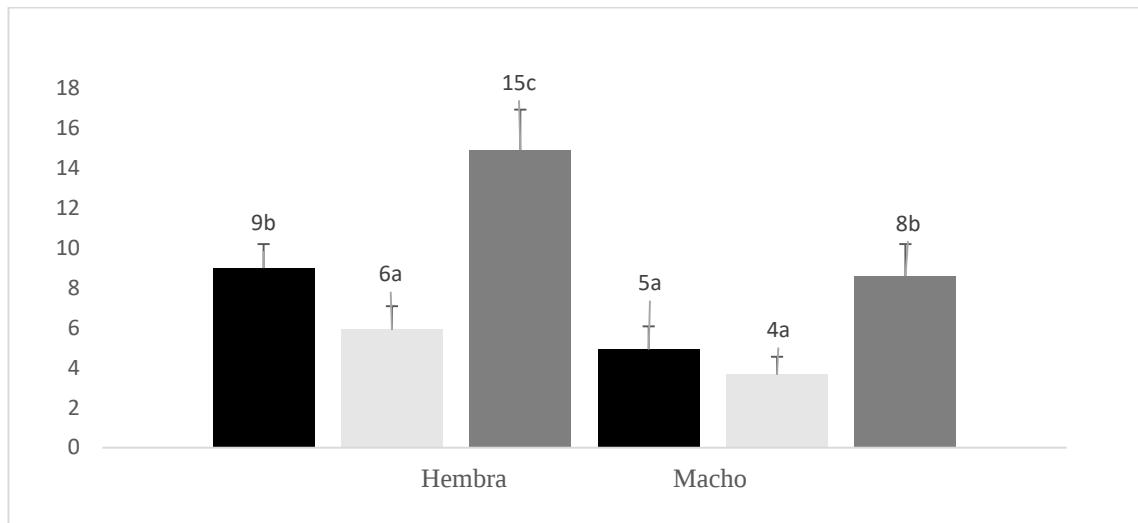


Figura 5.1. Número medio de presas muertas (+SEM) de *A. swirskii* y *F. occidentalis* adultos por hembras y machos de *O. insidiosus*: Negro-*F. occidentalis*, Gris claro-*A. swirskii*, Gris oscuro-Presa total

4.4.2 Efecto de diferentes densidades de *F. occidentalis* o *A. swirskii* en la depredación por *O. insidiosus*

La depredación se vio afectada por el tipo de presa ($p = 0,013$) y la densidad de la presa ($p = 0,023$). No existió interacción entre el tipo de presa y la densidad ($p = 0,475$). La depredación de *O. insidiosus* se incrementó con la densidad de la presa (Figura 5.2). La mortalidad de las presas provocada por el depredador fue mayor que la registrada en los testigos ($p = 0,019$). En éstos, la mortalidad tanto de los trips como de los ácaros fue menor al 5% de la presa disponible y no varió con el tipo de presa ($p = 0,152$).

La depredación de *F. occidentalis* por hembra de *O. insidiosus* aumentó con la densidad de las presas ($p = 0,047$), al igual que la depredación de adultos de *A. swirskii* ($p = 0,032$). No se encontraron diferencias entre adultos de *F. occidentalis* y adultos de *A. swirskii* muertos por hembra de *O. insidiosus* ($p = 0,613$) a densidades de presas similares. Por su parte, la depredación sobre las ninfas de *F. occidentalis* fue mayor a la ocurrida sobre los adultos de *F. occidentalis* y de *A. swirskii* ($p = 0,035$), que no se diferenciaron entre sí.

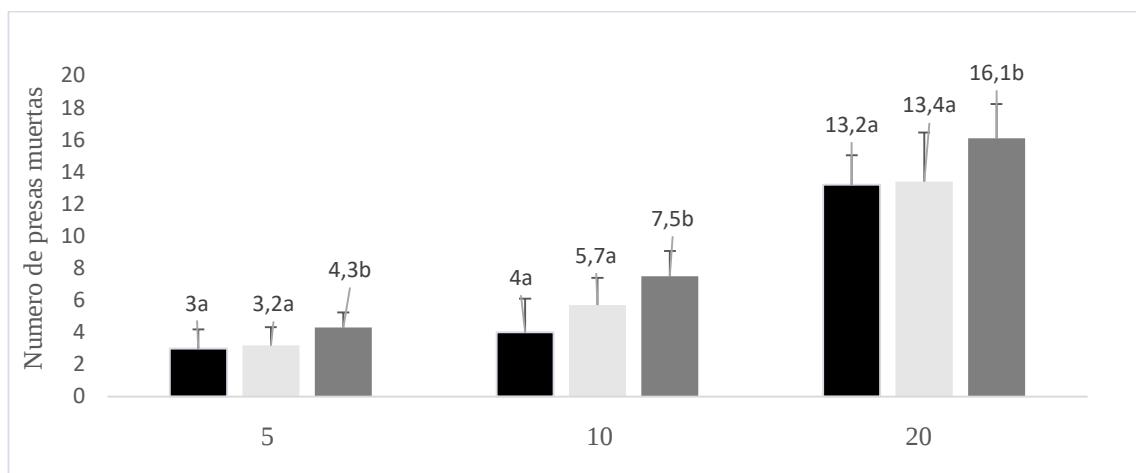


Figura 5.2. Número medio de presas muertas de *A. swirskii* (adulto) y *F. occidentalis* (2 estadio, adulto) (+SEM) por una hembra de *O. insidiosus* expuesta a tres densidades de presa 5, 10 y 20 de cada tipo: Negro-adulto de *A. swirskii*, Gris claro-adulto *F. occidentalis*, Gris oscuro-ninfa *F. occidentalis*

4.4.3 Cambio de presa por *O. insidiosus*

La depredación total de *O. insidiosus* se vio influenciada por el tipo de presa, la cantidad de presas y la relación numérica entre las presas. Las hembras de *O. insidiosus* optaron por el tipo de presa más abundante ($p = 0,038$), aumentando el consumo cuando existió mayor número de presas disponibles ($p = 0,045$). Cuando adultos de *A. swirskii* y adultos de *F. occidentalis* estuvieron disponibles en igual número, las hembras de *O. insidiosus* no mostraron preferencia por un tipo de presa ($p = 0,811$) (Figura 5.3). Sin embargo, cuando adultos de *A. swirskii* y el segundo estadio ninfal de *F. occidentalis* estuvieron disponibles en cantidades iguales, las hembras de *O. insidiosus* mataron el doble de trips que de ácaros ($p = 0,013$) (Figura 5.4).

El número total de presas muertas fue influenciado por la relación numérica entre las presas ($p = 0,015$). En todas las combinaciones la presa más abundante fue la preferida (Figuras 5.3 y 5.4).

La mortalidad de presas fue muy baja en los tratamientos control y no varió con el tipo de presa o la relación numérica entre ellas. No fue diferente el número de presas muertas de *A. swirskii* y de adultos o del segundo estadio ninfal de *F. occidentalis* en las placas control para cada una de las combinaciones de presas ($p = 0,620$) y la mortalidad promedio varió del 4 al 8%.

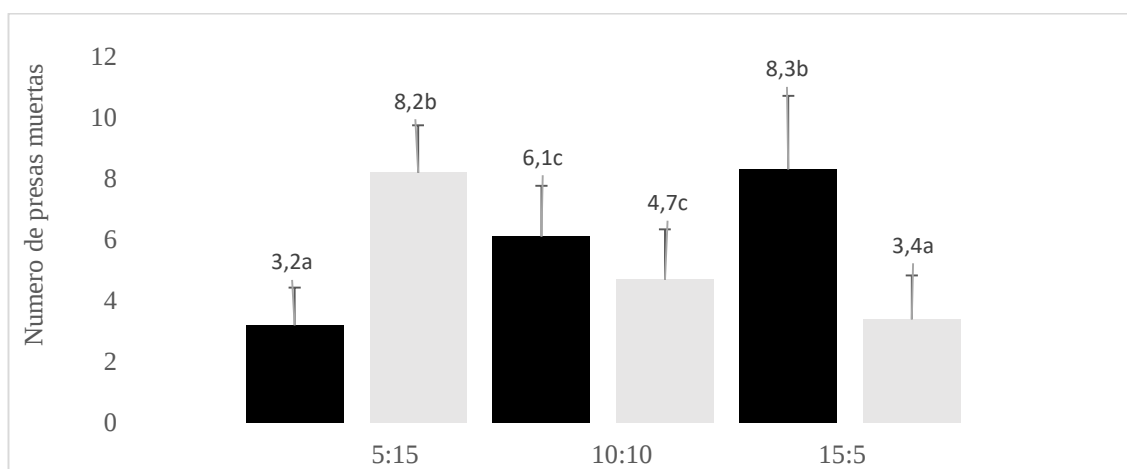


Figura 5.3. Número medio de adultos de *F. occidentalis* y adultos de *A. swirskii* muertos (+SEM) por una hembra de *O. insidiosus* expuesta a diferentes relaciones numéricas entre las presas: Negro- adultos *F. occidentalis*, Gris- adultos *A. swirskii*

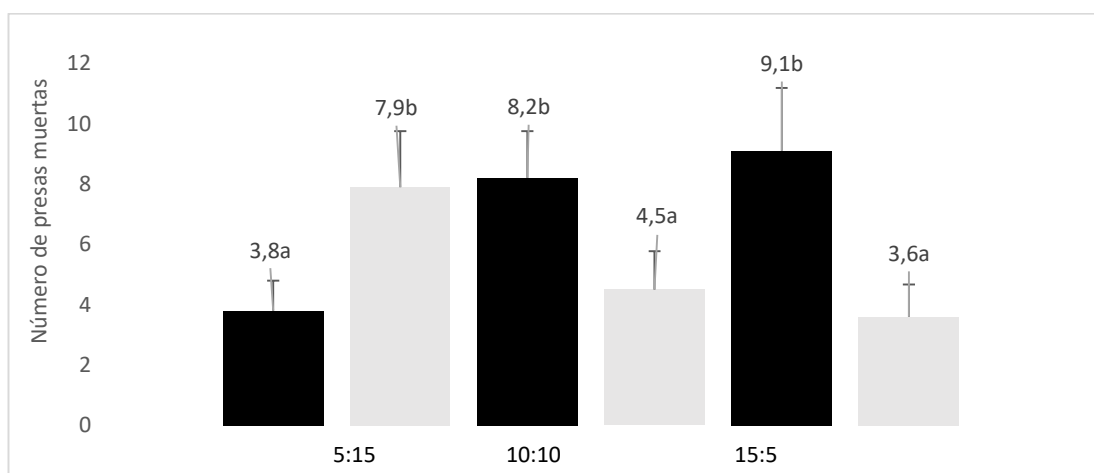


Figura 5.4. Número medio de ninfas de *F. occidentalis* y adultos de *A. swirskii* muertos (+SEM) por una hembra de *O. insidiosus* expuesta a diferentes relaciones numéricas entre las presas: Negro- ninfas *F. occidentalis*, Gris- adultos *A. swirskii*

4.5 DISCUSIÓN

Investigaciones que cuantifican los beneficios de combinar especies de *Orius* y ácaros depredadores para el control de *F. occidentalis* en cultivos de invernadero son pocos y sus resultados varían desde que no hay diferencias entre la liberación de un solo agente comparado a la liberación de ambos (Chow *et al.*, 2010, Madadi *et al.*, 2009, Chow *et al.*, 2008, Skirvin *et al.*, 2006), a una mayor reducción del número de

trips si se utilizan ambos agentes simultáneamente (Sörensson y Nedstam, 1993, Ramakers, 1993).

En nuestro estudio, el modelo de depredación intragremial, que incluye un depredador superior (depredador IG), un consumidor intermedio (presa IG) y un recurso compartido (Holt y Husel, 2007), quedó confirmado en la interacción *O. insidiosus* - *A. swirskii* - *F. occidentalis* sobre una hoja de pimiento. Es así que *Orius insidiosus* mató al acaro *A. swirskii* cuando estuvo disponible solo o en presencia de *F. occidentalis*. Cuando el número de ambas presas fue igual, *O. insidiosus* prefirió al segundo estado ninfal de *F. occidentalis* frente a *A. swirskii* y no mostró diferencias entre presas cuando se trató de adultos de *F. occidentalis* frente a *A. swirskii*.

Nuestros datos mostraron que la depredación total y relativa de *F. occidentalis* y/o *A. swirskii* por *O. insidiosus* dependía de los tipos y del número de presas disponibles. Cuando el número de individuos de los distintos tipos de presas fue diferente, la preferencia en todos los casos fue por la presa más abundante. De ese modo, cuando *A. swirskii* fue la más abundante, esa presa fue preferida por *O. insidiosus* frente a *F. occidentalis*, lo que indicaría la posibilidad para *O. insidiosus* de sustituir la presa objetivo, alimentándose del otro depredador cuando los trips son poco abundantes. Al mismo tiempo, cuando *A. swirskii* está presente en el cultivo, sería necesario un incremento importante de los trips antes de que *O. insidiosus* los prefiriera. Se reafirma lo afirmado por van Baalen et al. (2001), sobre que el cambio de presa puede mejorar el control biológico al mantener a los depredadores sobre presas alternativas cuando las plagas objetivo son raras, pero también, puede reducir el control al distraer a los depredadores de atacar a las plagas objetivo sobre todo cuando no son abundantes.

Estos resultados demuestran la necesidad de la precaución al combinar antocóridos y ácaros fitoseidos para el control de *F. occidentalis*. Encontramos patrones similares de cambio de presa para *O. insidiosus* probados en combinaciones de *A. degenerans* y *F. occidentalis* (Chow et al., 2008) y de *A. swirskii* y *F. occidentalis* (Chow et al., 2010) ambas sobre rosas en invernadero. Esta situación también está documentada para otras especies de *Orius* contra ácaros, como *O.*

majusculus (Brødsgaard y Enkegaard 2005), *O. laevigatus* (Urbaneja *et al.*, 2003, Lara *et al.*, 2002, Wittmann y Leather, 1997) y *O. tristicolor* (Cloutier y Johnson, 1993).

El confinamiento de los dos depredadores en una pequeña placa refleja en parte la realidad. Es necesario tener cautela cuando se utilizan resultados experimentales de laboratorio a pequeña escala para predecir posibles interacciones en invernadero (Madadi *et al.*, 2008). Las confrontaciones entre *O. insidiosus* y *A. swirskii* son más probables en una placa experimental que en plantas enteras en invernadero. Además, varios factores pueden influir en la intensidad y el resultado de la depredación intragremial, como la movilidad de las presas, la estrategia de depredación, la especificidad de alimentación, el tamaño relativo de las presas y la presencia de presas extragremio (Madadi *et al.*, 2009, Madadi *et al.*, 2008, Lucas, 2005, Polis *et al.*, 1989).

Si bien se ha dedicado mucha atención a la influencia de la densidad y distribución de las presas en el comportamiento de alimentación de los depredadores (Luck, 1985), éstos también pueden estar influenciados por las características de las plantas hospederas de sus presas (Rapusas *et al.*, 1996). Shipp y Whitfield (1991) demostraron que la gran cantidad de tricomas en hojas de pepino en comparación con hojas de pimiento interfirieron en el patrón de búsqueda de *A. cucumeris* (Oudemans). Además, cortar hojas puede afectar la erección del tricoma y la composición química de las hojas, lo que a su vez puede influir en las especies observadas (Madadi *et al.*, 2008).

Sería necesario realizar estudios a nivel de invernadero a fin de esclarecer cuál es el efecto final de utilizar ambos depredadores en forma conjunta sobre la eficacia de control sobre los trips. De acuerdo con Brodeur *et al.* (2002), la depredación intragremial por depredadores generalistas es menos importante en invernaderos que en agroecosistemas anuales o perennes; debido a que los cultivos de invernadero se consideran como ecosistemas simples con baja biodiversidad (Enkegaard y Brødsgaard, 2006). Por lo tanto, se requerirían más investigaciones para comprender mejor las interacciones de cambio entre antocóridos, ácaros depredadores y trips en entornos vegetales complejos y cómo estas interacciones afectarían la supresión de las poblaciones de trips. Mientras tanto, la necesidad de precaución cuando se combinan

especies de *Orius* y *Amblyseius* para el control de *F. occidentalis* debería ser mantenida.

4.6 BIBLIOGRAFÍA

- Bellows TS, Hassell MP. 1999. Theories and mechanisms of natural population regulation. En Bellows TS, Fisher TW (Eds.). Handbook of Biological Control: Principles and Applications of Biological Control. Netherlands, Academic Publishers. 17–44.
- Brodeur J, Cloutier C, Gillespie D. 2002. Higher-order predators in greenhouse systems. IOBC/WPRS Bulletin 25: 33-36.
- Brødsgaard HF. 2004. Biological control of thrips on ornamental crops. En Heinz KM, van Driessche RG, Parella MP (Eds.). Biocontrol in protected culture. Batavia, Ball Publishing. 253-264.
- Brødsgaard HF, Enkegaard A. 2005. Intraguild predation between *Orius majusculus* (Reuter) (Hemiptera: Anthocoridae) and *Iphiseius degenerans* Berlese (Acarina: Phytoseiidae). IOBC-WPRS Bulletin 28(1): 19-22.
- Calvo FJ, Bolckmans K, Belda JE. 2009. Development of a biological control-based Integrated Pest Management method for *Bemisia tabaci* for protected sweet pepper crops. Entomologia Experimentalis et Applicata 133 (1): 9-18. doi.org/10.1111/j.1570-7458.2009.00896.x
- Chambers RJ, Long S, Helyer BL. 1993. Effectiveness of *Orius laevigatus* (Hem.: Anthocoridae) for the control of *Frankliniella occidentalis* on cucumber and pepper in the United Kingdom. Biocontrol Science and Technology 3: 295-307. doi.org/10.1080/09583159309355284
- Chow A, Chau A, Heinz KM. 2010. Compatibility of *Amblyseius* (*Typhlodromips*) *swirskii* (Athias–Henriot) (Acari: Phytoseiidae) and *Orius insidiosus* (Hemiptera: Anthocoridae) for biological control of *Frankliniella occidentalis* (Thysanoptera: Thripidae) on roses. Biological Control 53: 188-196. doi: 10.1016/j.biocontrol.2009.12.008

- Chow A, Chau A, Heinz KM. 2008. Compatibility of *Orius insidiosus* (Hemiptera: Anthocoridae) with *Amblyseius* (Iphiseius) *degenerans* (Acari: Phytoseiidae) for control of *Frankliniella occidentalis* (Thysanopera: Thripidae) on greenhouse roses. *Biological Control* 44: 259–270. doi 10.1016/j.biocontrol.2007.11.002
- Cloutier C, Johnson SG. 1993. Predation by *Orius tristicolor* (Hemiptera: Anthocoridae) on *Phytoseiulus persimilis* (Acarina: Phytoseiidae): testing for compatibility between biocontrol agents. *Environmental Entomology* 22: 477-482. DOI:10.1093/EE/22.2.477
- Eilenberg J, Enkegaard A, Vestergaard S, Jensen B. 2000. Biocontrol of pests on plant crops in Denmark: present status and future potential. *Biocontrol Science of Technology* 10: 703-716. doi: 10.1080/09583150020011681
- Enkegaard A, Brødsgaard HF. 2006. Biocontrol in protected crops: is lack of biodiversity a limiting factor? En Eilenberg J, Hokkanen HMT (Eds.). *Ecological and societal approach to biological control*. The Netherlands, Springer, Dordrecht. 91-122.
- Espinosa PJ, Fuentes JF, Contreras J, Bielza P, Lacasa A. 2002. Método de cría en masa de *Frankliniella occidentalis* (Pergande). *Boletín Sanidad Vegetal Plagas* 28: 385-390.
- Gabarra R, Arnó J, Riudavets J. 2008. Tomate. En: Jacas J, Urbaneja A. (Eds.). *Phytoma Valencia, España*. 410-422.
- Holt RD, Huxel GR. 2007. Alternative prey and the dynamics of intraguild predation: theoretical perspectives. *Ecology* 88: 2706 - 2712. doi: 10.1890/06-1525.1
- Holt RD, Polis GA. 1997. A Theoretical Framework for Intraguild Predation. *The American Naturalist* 149(4): 745-764.
- Jacas JA, Urbaneja A. 2008. *Control Biológico de Plagas Agrícolas*. (Eds.). *Phytoma Valencia, España*. 496p.
- Janssen A, Willense E, van del Hammen T. 2003. Poor host plant quality causes omnivores to consume predator eggs. *Journal of Animal Ecology* 72: 478-483. doi.org/10.1046/j.1365-2656.2003.00717.x

- Lara L, van der Blom J, Urbaneja A. 2002. Instalación, distribución y eficacia de *Orius laevigatus* (Fiebre) y *Orius albidipennis* (Reuter) (Hemiptera: Anthocoridae) en invernaderos de pimiento en Almería. Boletín Sanidad Vegetal Plagas 28: 253-263.
- Lucas E. 2005. Intraguild predation among aphidophagous predators. European Journal of Entomology 102: 351-364. doi: 10.14411/eje.2005.052
- Luck RF. 1985. Principles of arthropod predation. En Huffaker CB, Rabb RL (Eds.). New York, Ecological Entomology. Wiley & Sons. 497-529.
- Madadi H, Enkegaard A, Brødsgaard HF, Kharrazi-Pakdel A, Ashouri A, Mohaghegh-Neishabouri J. 2009. Interactions between *Orius albidipennis* (Heteroptera: Anthocoridae) and *Neoseiulus cucumeris* (Acari: Phytoseiidae): Effects of host plants under microcosm condition. Biological Control 50: 137-142. doi: 10.1016/j.biocontrol.2009.03.015
- Madadi H, Enkegaard A, Brødsgaard HF, Kharrazi-Pakdel A, Ashouri A, Mohaghegh-Neishabouri J. 2008. *Orius albidipennis*: intraguild predation of and prey preference for *Neoseiulus cucumeris* on different host plants. Entomologica Fennica 19: 32-40.
- Messelink GJ, Van Steenpaal SEF, Ramakers PMJ. 2006. Evaluation of phytoseiid predators for control of western flower thrips on greenhouse cucumber. Biocontrol 51(6):753-768. doi.org/10.1007/s10526-006-9013-9
- Meyling NV, Enkegaard A, Brødsgaard HF. 2004. Intraguild predation by *Anthocoris nemorum* (Heteroptera: Anthocoridae) on aphid parasitoid *Aphidius colemani* (Hymenoptera: Braconidae). Biocontrol Science and Technology. 14: 627-630. doi.org/10.1080/09583150410001683583
- Murdoch WW, Chesson J, Chesson PL. 1985. Biological Control in Theory and Practice. The American Naturalist 125 (3): 344-366. doi: 10.1086/284347
- Murdoch WW. 1969. Switching in general predators: experiments on predator specificity and stability of prey populations. Ecological Monographs 39: 335-354. doi: 10.2307/1942352

- Polis GN, Myers CN, Holt RD. 1989. The ecology and evolution of intraguild predation: potential competitors that eat each other. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematic*. 20: 297-330.
- Ramakers PMJ. 1993. Coexistence of two thrips predators, the anthocorid *Orius insidiosus* and the phytoseiid *Amblyseius cucumeris* on sweet pepper. *IOBC/WPRS Bulletin* 16: 133-136.
- Rapusas HR, Bottrell DG, Coll M. 1996. Intraspecific variations in chemical attraction of rice to insect predators. *Biological Control* 6: 394-400.
- Reitz SR. 2009. Biology and ecology of the western flower thrips (Thysanoptera: Thripidae): the making of a pest. *Florida Entomology* 92(1): 7-13.
- Reitz SR, Yearby EL, Funderburk JE, Stavisky J, Momol MT, Olson SM. 2003. Integrated management tactics for *Frankliniella thrips* (Thysanoptera: Thripidae) in field-grown pepper. *Journal of Economic Entomology* 96: 1201-1214. doi: 10.1653/024.092.0102
- Rosenheim J.A. Intraguild predation: new theoretical and empirical perspectives. 2007. *Ecology* 88: 2679-2680. doi.org/10.1890/07-0790.1
- Rosenheim J.A y Harmon JP. 2006. The influence of intraguild predation on the suppression of a shared prey population: an empirical reassessment. En J. Brodeur y G. Boivin (Eds.). *Trophic and Guild Interactions in Biological Control*, Springer, New York. 1-20.
- Rosenheim JA, Limburg DD, Colfer RG. 1999. Impact of generalist predators on a biological control agent, *Chrysoperla carnea*: direct observations. *Ecological Applications* 9: 409-417. doi: 10.2307/2641128
- Rosenheim JA, Kaya HK, Ehler LE, Marois JJ, Jaffee BN. 1995: Intraguild predation among biological-control agents: theory and evidence. *Biological Control* 5, 303-335.
- Schmitz OJ. 2007. Predator diversity and trophic interactions. *Ecology* 88: 2415-2426. doi.org/10.1890/06-0937.1.
- Shipp JL, Ramakers P. 2004. Biological control of thrips on vegetable crops. En Heinz K, Van Driesche R, Parrella M. (Eds.). *Biocontrol in Protected Culture*. Ball Publishing, Batavia. 265-276.

- Shipp JL, Whitfield GH. 1991. Functional response of the predatory mite *Amblyseius cucumeris* (Acari: Phytoseiidae) on western flower thrips *Frankliniella occidentalis* (Thysanoptera: Thripidae). *Environmental Entomology* 20(2): 694-699. doi.org/10.1093/ee/20.2.694
- Simone M, Mendes E, Vanda H. 2001. Biología de *Orius insidiosus* (Say) (Hemiptera: Anthocoridae) Alimentado con *Caliothrips phaseoli* (Hood) (Thysanoptera: Thripidae). [En línea] 7 de setiembre de 2019. <http://www.scielo.br/pdf/ne/v30n3/a14v30n3.pdf>
- Skirvin DJ, Kravar-Garde L, Reynolds K, Jones J, Reynolds JJ, de Courcy Williams ME. 2006. The influence of pollen on combining predators to control *Frankliniella occidentalis* in ornamental chrysanthemum crops. *Biocontrol Science and Technology* 16: 99-105.
- Snyder WE, Chang G, Prasad R. 2005. Biodiversity and successful conservation biological control: is there a relationship? En Barbosa P, Castellano I (Eds.) *Ecology of predator prey interactions*. Oxford University Press, Oxford. 324-343.
- Sörensson A, Nedstam B. 1993. Effect of *Amblyseius cucumeris* and *Orius insidiosus* on *Frankliniella occidentalis* in ornamentals. *IOBC/WPRS Bulletin* 16: 129-132.
- Steiner M, Goodwin S. 1998. Methods for collecting and rearing thrips (Thysanoptera) and their natural enemies. *Australian Journal of Entomology* 37: 101- 106. doi: 10.1111/j.1440-6055.1998.tb01554.x
- Urbaneja A, León FJ, Giménez A, Arán E, van der Blom J. 2003. Interacción de *Neoseiulus (Amblyseius) cucumeris* (Oudemans) (Aca.: Phytoseiidae) en la instalación de *Orius laevigatus* (Fieber) (Hem.: Anthocoridae) en invernaderos de pimiento. *Boletín Sanidad Vegetal Plagas* 29: 347-357.
- van Baalen M, Krivan V, van Rijn PCJ, Sabelis MW. 2001. Alternative food, switching predators, and the persistence of predator-prey systems. *American Naturalist* 157: 512-524.
- van den Meiracker, Ramakers PMJ. 1991. Biological control of the western flower thrips *Frankliniella occidentalis*, in sweet pepper, with the anthocorid predator

- Orius insidiosus*. Mededelingen Faculteit Landbouwwetenschappen Rijksuniversiteit Gent 56/2a: 241-249.
- van Lenteren JC. 2009. Controle de qualidade de agentes de controle biológico produzidos massalmente. En Bueno VHP (Ed.). Controle biológico de pragas: produção massal e controle de qualidade. Lavras, Editora UFLA. 311-337.
- van Lenteren JC, Bueno VHP. 2003. Augmentative biological control of arthropods in Latin America. Biocontrol 48: 123-139. doi: 10.1023/A:1022645210394
- van Lenteren JC, Bolckmans K, Kohl J, Ravensberg WJ, Urbaneja A. 2018. Biological control using invertebrates and microorganisms: plenty of new opportunities. BioControl 63: 39-59. doi: 10.1007/s10526-017-9801-4
- Viglianichino LE. 2013. Control integrado de *Frankliniella occidentalis* (Pergande) (Thysanoptera: Thripidae) con insecticidas y liberaciones de *Orius insidiosus* (Say) (Hemiptera: Anthocoridae) sobre pimiento en invernadero. Tesis de maestría para obtener el grado de M.Sc. en Cultivos Intensivos. Santa Fé, Argentina. Facultad de Ciencias Agrarias. [En línea]. 2 setiembre 2020. <http://intrabalc.inta.gob.ar/dbtw-wpd/images/Viglianichino-L-E-2013.pdf>
- Wimmer D, Hoffmann D, Schausberger P. 2008. Prey suitability of western flower thrips, *Frankliniella occidentalis*, and onion thrips, *Thrips tabaci*, for the predatory mite *Amblyseius swirskii*. Biocontrol Science and Technology 18: 541-550. doi.org/10.1080/09583150802029784
- Wittmann EJ, Leather SR. 1997. Compatibility of *Orius laevigatus* Fieber (Hemiptera: Anthocoridae) with *Neoseiulus* (Amblyseius) *cucumeris* Oudemans (Acari: Phytoseiidae) and *Iphiseius* (Amblyseius) *degenerans* Berlese (Acari: Phytoseiidae) in the biocontrol of *Frankliniella occidentalis* Pergande (Thysanoptera: Thripidae). Experimental and Applied Acarology 21: 523-538.

5 **DISCUSIÓN GENERAL, CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS**

5.1 **DISCUSIÓN GENERAL**

En numerosos países los sistemas de producción agrícolas intensivos basan la protección contra las plagas en la utilización casi exclusiva de insecticidas químicos. Es sabido que el empleo masivo de insecticidas poco selectivos y persistentes, ha generado graves problemas que dificultan la puesta en práctica de una agricultura sustentable (Román, 2017). Por ello, uno de los objetivos en el contexto actual de la lucha contra las plagas, es la disminución en el empleo de insecticidas químicos y la promoción de otros métodos de control. Entre ellos, el control biológico de plagas es un instrumento incorporable al manejo de plagas. Actualmente el control biológico es una práctica en expansión. Hasta 2006, y en los poco más de 100 años de la introducción de *Novius cardinales* (Mulsant) en California, que permitió validar los procedimientos de utilización de enemigos naturales (van Driesche y Bellows, 1996, DeBach, 1974), se habían realizado más de 5.000 introducciones de unas 2.000 especies de enemigos naturales exóticos, en 196 países, con más de 150 agentes de control biológico disponibles comercialmente (van Lenteren *et al.*, 2018, van Lenteren *et al.*, 2006). En una revisión preliminar realizada recientemente se mencionan 715 especies de parasitoides, 436 especies de artrópodos depredadores y 204 patógenos relacionadas con el biocontrol en América Latina y el Caribe (van Lenteren *et al.*, 2020).

La implementación de una alternativa de control biológico va siempre ligada a un manejo integral de la plaga, donde se va evaluando la efectividad del método y reduciendo las aplicaciones de productos químicos. La clave de todo manejo integral es conocer la biología de la plaga a controlar y del agente de control biológico a introducir; comprender sus ciclos de desarrollo para poder utilizar adecuadamente este método de control (Román, 2017).

Durante los últimos años se han desarrollado con éxito programas de manejo de plagas basados en el aumento de depredadores zoofitófagos en invernaderos (van der Blom, 2007). En pimiento, la liberación de *A. swirskii* y *Orius* spp. ha proporcionado un control de dos plagas claves del cultivo, el trips occidental de las

flores, *F. occidentalis*, y la mosca blanca del tabaco, *B. tabaci* (Viglianchino, 2013, Belda y Calvo, 2006). Estos son los agentes de control más comercializados en el mundo, por su eficacia y porque son capaces de sobrevivir mucho tiempo sin alimento (Robledo *et al.*, 2009).

Nuestro país no ha quedado fuera de esta realidad. En 2013 se produjo un cambio en el manejo de plagas en los cultivos de pimiento bajo invernadero, basado en la utilización de dos agentes de control biológico: el ácaro *A. swirskii* y el antocorido *O. insidiosus* destinados al control de *B. tabaci* y *F. occidentalis*. Los resultados obtenidos con *A. swirskii* han sido sumamente auspiciosos, dado que ha logrado instalarse muy bien y controlar de forma eficaz las poblaciones de mosca blanca, con una reducción importante en la utilización de productos de síntesis. No han sido así los resultados con *O. insidiosus*, el cual no ha logrado establecerse en el cultivo de pimiento y controlar las poblaciones de trips (Basso y Cibils, 2020, Basso *et al.*, 2020).

Los depredadores omnívoros, incluido *O. insidiosus*, son conocidos por suplementar su dieta carnívora alimentándose de las plantas hospederas de sus presas, al consumir savia, polen y néctar (Lundgren *et al.*, 2008, Armer *et al.*, 1998, Cocuzza *et al.*, 1997). Además, las interacciones entre plantas-presas-omnívoros influyen en el aspecto conductual en el que se seleccionan las plantas para la oviposición, y en el aspecto fisiológico en el que las plantas difieren en su idoneidad para el crecimiento, supervivencia y reproducción del insecto (Coll, 1996). Tanto factores químicos como físicos influyen como atractivos para las hembras al momento de seleccionar un sustrato de oviposición, involucrando los volátiles de la planta y la textura y el grosor del tejido, o incluso la combinación de ambos tipos de factores (Richards y Schmid, 1996). Dado que las hembras de *Orius* spp. ponen sus huevos dentro de los tejidos de la planta, la preferencia de las hembras por determinados sustratos está también influenciada por las facilidades de inserción del ovipositor, de los huevos o incluso la idoneidad de las diferentes plantas o secciones de las mismas para su desarrollo (Coll, 1996). Se sabe que las plantas ponen de manifiesto distintos mecanismos de defensas a fin de protegerse del insecto, afectando la fertilidad, longevidad, crecimiento u oviposición de éstos (antibiosis) (Painter, 1951).

Los resultados de la tesis permitieron demostrar que las hembras de *O. insidiosus* aceptaron los frutos de pimiento como sustrato para oviposición y desarrollo, cuando se los comparó con vainas de poroto, sustrato en los cuales se lo multiplica comercialmente. Se descartó de ese modo la existencia de un efecto de antibiosis que explicara las dificultades de este depredador de establecerse y colonizar el cultivo de pimiento.

Otro factor que podría estar interviniendo es la gran diversidad de cultivos (pimiento, tomate, maíz, frutilla, etc.) que presenta el sistema hortícola en Uruguay en forma simultánea. En ese escenario, los depredadores liberados en el pimiento podrían verse atraídos por otras plantas hospederas de sus presas. Sumado a ello, los invernaderos son abiertos, no existiendo cerramientos o barreras físicas que impidan su dispersión fuera del mismo. Las especies de *Orius* spp. se caracterizan por presentar gran movilidad, con alta capacidad de vuelo de los adultos (Viglianichino, 2013), por lo que pueden desplazarse fácilmente de un lugar a otro y así localizar nuevos hospederos. Además, se trata de un agente de control muy polífago capaz de ser atraído por una amplia gama de cultivos (Navarro Viedman *et al.*, 2006).

Nuestros estudios de olfatometría y libre elección verificaron la existencia de antixenosis o no preferencia, fenómeno que hace que el insecto evite una planta ya sea para la oviposición, alimentación o refugio (Painter, 1951). Así, las hembras adultas de *O. insidiosus* mostraron preferencia por los estímulos olfativos provenientes de las plantas de frutilla sobre las plantas de pimiento, ambas en floración. Reportes de otros autores indican que *O. insidiosus* muestra claras preferencias para algunas plantas como sustratos de oviposición (Lundgren y Fergen, 2006, Coll, 1996) y las especies de plantas son incluso más importantes para la selección del sitio de oviposición que la disponibilidad de presas (Seagraves y Lundgren, 2010). Se realizaron los mismos estudios con *O. tristicolor*, especie que coloniza naturalmente el área hortícola tomada como referencia para realizar estos estudios. Los resultados fueron similares que con *O. insidiosus*, descartando que pudiera jugar un rol complementario con éste en el control biológico de *F. occidentalis*.

Como otra fuente de explicación de la baja eficacia de *O. insidiosus*, se tuvo en cuenta la compatibilidad de este agente de control con el otro enemigo natural, *A.*

swirskii, incluido en el programa de control biológico en el cultivo de pimiento bajo invernadero en Uruguay. El uso de diferentes enemigos naturales para el control de diversas especies plagas resulta en la creación de complejas redes alimentarias artificiales en cultivos hortícolas (Bouagga, 2018). Esto implica que, las densidades de las plagas no solo son manejadas por sus enemigos naturales, sino también por interacciones directas e indirectas con otras plagas y otros enemigos naturales; así, tales interacciones pueden afectar al control biológico (Janssen *et al.*, 1998). La depredación intragremial (DIG) está muy extendida en las poblaciones de enemigos naturales y se produce cuando un depredador intragremial puede afectar negativamente a otro, bien al alimentarse de él o compitiendo por el recurso compartido (presa extragremial) (Rosenheim *et al.*, 1995). Puede ser unidireccional, con una especie funcionando como el depredador superior (es decir, intragremio) y el otro funcionando como el depredador intermedio (es decir, presa intragremio) o mutuo, donde cada depredador tiene la capacidad de consumir al otro (Holt y Polis, 1997, Polis *et al.*, 1989).

Se pudo confirmar el modelo de depredación intragremial en la interacción *O. insidiosus* - *A. swirskii* - *F. occidentalis* sobre una hoja de pimiento en cajas experimentales. Nuestros resultados en condiciones experimentales revelan una DIG aparentemente unidireccional, donde *A. swirskii* es presa intragremio de *O. insidiosus* cuando se agrega como alimento compartido adultos o ninfas del trips *F. occidentalis*.

Aunque, muchos estudios de DIG unidireccional entre los enemigos naturales utilizados para el control de plagas en invernadero, no han reconocido efectos significativos de la DIG en el control biológico (Yano, 2005). La posible coexistencia entre los antocoridos y los ácaros podría ser resuelta en condiciones de invernadero mediante la disponibilidad de una dieta mixta (diversidad de presas) y un aumento en la densidad de las plantas que pueden ofrecer refugio y evitar posibles interacciones entre los depredadores (Bouagga, 2018).

Dado que las plagas provocan importantes pérdidas en los cultivos hortícolas bajo invernadero, comprender el funcionamiento de las interacciones entre la planta, las especies plaga y los enemigos naturales es la base para promover métodos de control más eficaces y respetuosos con el medio ambiente que los insecticidas

químicos, permitiendo el desarrollo de una agricultura sustentable. Los resultados obtenidos enfatizan una vez más la importancia de realizar estudios locales para determinar los agentes de control a ser utilizados en el control de insectos plagas en cultivos locales.

5.2 CONCLUSIONES

- 1) Los depredadores zoófagos *O. insidiosus* y *O. tristicolor* cuando están confinados no presentan antibiosis frente a frutos de pimiento.
- 2) *Orius insidiosus* y *O. tristicolor* presentan antixenosis hacia la planta de pimiento, que se traduce en una mayor preferencia por plantas de frutilla (ambos cultivos en floración) cuando está en su proximidad. Este bajo establecimiento en pimiento podría estar explicando su baja eficacia en el control de *F. occidentalis* en dicho cultivo.
- 3) Existe depredación intragremial entre *O. insidiosus* y *A. swirskii*, que obliga a ser prudentes si se los libera simultáneamente para el control del trips *F. occidentalis* en pimiento en Uruguay.

5.3 PERSPECTIVAS

Sería conveniente continuar los estudios en el sistema depredadores (*O. insidiosus*, *A. swirskii*) - *F. occidentalis* - planta de pimiento, centrados en los volátiles florales de frutilla, a fin de identificar y utilizar los compuestos químicos que estimulan la selección de esa planta hospedera (atracción, retención) por parte de las hembras de *O. insidiosus*.

Se deberían realizar evaluaciones en condiciones de invernadero a fin de configurar una estrategia de diversificación que involucre también el uso de plantas trampa o plantas banco asociadas al sistema productivo que puedan servir de refugio. El uso de atrayentes químicos de enemigos naturales en las áreas de concentración de las plagas reduciría el tiempo de búsqueda de los depredadores y evitaría la migración del depredador en el caso de baja densidad de presas o presencia de plantas hospederas más atractivas en el exterior.

También sería necesaria la realización de estudios a nivel de invernadero a fin de esclarecer la intensidad de la DIG, donde *A. swirskii* es presa intragremio de *O. insidiosus*, y cuál es el efecto final de utilizar ambos depredadores en forma conjunta. La posible coexistencia entre los antocoridos y los ácaros podría ser estudiada en condiciones de invernadero suministrándoles una dieta mixta (diversidad de presas) y un aumento en la densidad de las plantas, que podrían ofrecerles refugio que contribuyan a evitar posibles interacciones entre los depredadores.

Dado que los invernaderos hortícolas en Uruguay son abiertos, la dimensión a nivel predial debería ser incorporada, investigando sobre el manejo espacial y temporal de diferentes cultivos hortícolas, con el fin de mejorar la eficacia de estas especies depredadoras.

El sector productivo hortícola es uno de los más dinámicos de nuestra agricultura. Se trata de una producción intensiva que favorece la proliferación de plagas. Debido a la creciente demanda por parte de los consumidores de productos sin residuos químicos y prácticas agrícolas respetuosas del ambiente, se incrementa la necesidad de una agricultura sostenible, y por lo tanto de bajo impacto ambiental. El control biológico se instala como la herramienta principal en el control de plagas en estos cultivos, en la búsqueda de productos inocuos, diferenciados y de más valor.

6 **BIBLIOGRAFÍA**

- Albajes R, Gullino ML, van Lenteren JC, Elad Y. 1999. Integrated pest and disease management in greenhouse crops. Dordrecht, Kluwer Publishers. 545p.
- Aquilino KM, Cardinale BJ, Ives AR. 2005. Reciprocal effects of host plant and natural enemy diversity on herbivore suppression: an empirical study of a model tritrophic system. *Oikos* 108: 275-282. doi.org/10.1111/j.0030-1299.2005.13418.x
- Armer CA, Wiedenmann RN, Bush DR. 1998. Plant feeding site selection on soybean by the facultatively phytophagous predator *Orius insidiosus*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 86:109-118. doi.org/10.1046/j.1570-7458.1998.00271.x
- Arnó J, Roig J, Riudavets J. 2008. Evaluation of *Orius majusculus* and *O. laevigatus* as predators of *Bemisia tabaci* and estimation of their prey preference. *Biological Control* 44: 1-6. doi.org/10.1016/j.biocontrol.2007.10.009
- Baldwin IT, Preston CA. 1999. The eco-physiological complexity of plant responses to insect herbivores. *Planta* 208: 137-145. doi: 10.1007/s004250050543
- Barret BIP, Moran VC, Bigler F, van Lenteren JC. 2018. The status of biological control and recommendations for improving uptake for the future. *BioControl* 63: 155-167.
- Basso C, Cibils X. 2020. Foundations and developments of pest management in Uruguay. *Agrociencia* 24(2):1-28. doi: 10.31285/AGRO.24.409
- Basso C, Ribeiro A, Cibils X, Chiaravalle W, Punschke K. 2020. Biological control in Uruguay. En van Lenteren JC, Bueno VHP, Luna MG, Colmenarez YC (Eds.). *Biological control in Latin America and the Caribbean*. Boston: CABI. 476-485.
- Belda JE, Calvo J. 2006. Eficacia de *Amblyseius swirskii* Athias-Henriot (Acari: Phytoseiidae) en el control biológico de *Bemisia tabaci* (Genn.) (Hom.: Aleyrodidae) y *Frankliniella occidentalis* (Pergande) (Thys.: Thripidae) en

- pimiento en condiciones de semicampo. Boletín de Sanidad Vegetal Plagas 32: 283-296.
- Belliure B, Janssen A, Sabelis MW. 2005. Herbivore benefits from vectoring plant virus through reduction of period of vulnerability to predation. *Oecologia* 156(4):797-806. doi: 10.1007/s00442-008-1027-9
- Bielza P. 2008. Insecticide resistance management strategies against the western flower thrips, *Frankliniella occidentalis*. *Pest Management Science* 64:1131-1138. doi:10.1002/ps.1620
- Bouagga S. 2018. Enhancing Pest Management in Sweet Pepper by the Exploitation of Zoophytophagy. PhD Thesis. Doctorate School of Jaume I University. España. 250 p.
- Bouagga S, Urbaneja A, Rambla JL, Flors V, Granell A, Jaques JA, Pérez-Hedo M. 2017. Zoophytophagous mirids provide pest control by inducing direct defences, antixenosis and attraction to parasitoids in sweet pepper plants. *Pest Management Science* 74(6):1286-1296. doi 10.1002/ps.4838
- Brodeur J. 2012. Host specificity in biological control: insights from opportunistic pathogens. *Evolutionary Applications* 5(5): 470- 480. doi: 10.1111/j.1752-4571.2012.00273.x
- Brødsgaard HF. 2004. Biological control of thrips on ornamental crops. En Heinz KM, van Driessche RG and Parella MP (Eds.). *Biocontrol in protected culture*. Batavia: Ball Publishing. 253-26.
- Brødsgaard HF, Albajes R. 1999. Insect and mite pests. En van Lenteren JC, Elad Y (Eds.). *Integrated pest and disease management in greenhouse crops*. The Netherlands: Kluwer Academic Publishers, Dordrecht. 48–69.
- Byrnes J, Stachowicz J, Hultgren K, Randall A, Olyarnik S, Thornber C. 2005. Predator diversity strengthens trophic cascades in kelp forests by modifying herbivore behavior. *Ecology Letters*: 61-71. doi.org/10.1111/j.1461-0248.2005.00842.x
- Calvo FJ, Bolckmans K, Belda JE. 2009. Development of a biological control-based integrated pest management method for *Bemisia tabaci* for protected sweet

- pepper crops. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 133: 9-18.
doi.org/10.1111/j.1570-7458.2009.00896.x
- Carpintero DL. 2002. Catalogue of the Neotropical Anthocoridae (Heteroptera). *Revista Sociedad Entomológica Argentina* 61: 25- 44.
doi.org/10.11646/zootaxa.2311.1.3
- Castresana J, Gagliano E, Puhl L, Bado S, Vianna L, Castresana M. 2008. Atracción del trips *Frankliniella occidentalis* (Pergande) (Thysanoptera: Thripidae) con trampas de luz en cultivo de *Gerbera jamesoni* (G.) Idesia, Chile 26 (3): 51-56. doi.org/10.4067/S0718-34292008000300006
- Chow A, Chau A, Heinz KM. 2010. Compatibility of *Amblyseius* (Typhlodromips) *swirskii* (Athias-Henriot) (Acari: Phytoseiidae) and *Orius insidiosus* (Hemiptera: Anthocoridae) for biological control of *Frankliniella occidentalis* (Thysanoptera: Thripidae) on roses. *Biological Control* 53: 188-196.
doi: 10.1016/j.biocontrol.2009.12.008
- Cocuzza GE, De Clercq P, Lizzio S, van der Veire M, Tirry L, Degheele D, Vacante V. 1997. Life tables and predation activity of *Orius laevigatus* and *O. albidipennis* at three constant temperatures. *Entomologica Experimentalis et Applicata* 85:189-198. doi: 10.1023/A:1003127310860
- Coll M. 1998. Living and feeding on plants in predatory Heteroptera. En Coll M, Ruberson JR (Eds.). *Predatory Heteroptera: Their Ecology and Use in Biological Control*. Maryland: Entomological Society of America, Lanham. 89- 130.
- Coll M. 1996. Feeding and ovipositing on plants by an omnivorous insect predator. *Oecologia* 105: 214- 220.
- Corey D, Kamhampati S, Wilde GE. 1998. Electrophoretic analysis of *Orius insidiosus* (Hemiptera: Anthocoridae) feeding habits in field corn. *Journal of the Kansas Entomological Society* 71: 11-17. doi.org/10.1016/j.biocontrol.2010.06.013
- DeBach P. 1974. *Biological Control by Natural Enemies*. London: Cambridge University Press. 334p.

- De Jager CM, Butôt RPT, Klinkhamer PGL, de Jong TJ, Wolff K, van der Meijden E. 1995. Genetic variation in chrysanthemum for resistance to *Frankliniella occidentalis*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 77: 277- 287.
- Dicke M. 2004. Tritrophic interactions. En Caminera J (Ed.). *Encyclopedia of Entomology*. Klumer Academic Publishers. Dordrecht. 11p.
- Dicke M; van Loon JJA. 2000. Multitrophic effects of herbivore-induced plant volatiles in an evolutionary context. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 97:237-249. doi: 10.1023/A:1004111624780
- Fiedler AK, Landis DA. 2007. Attractiveness of Michigan native plants to arthropod natural enemies and herbivores. *Environmental Entomology* 36: 751-765. doi.org/10.1093/ee/36.4.751
- Funderburk JE, Stavisky J, Olsen S. 2000. Predation of *Frankliniella occidentalis* (Thysanoptera: Thripidae) in field peppers by *Orius insidiosus* (Hemiptera: Anthocoridae). *Environmental Entomology* 29: 376-382. doi: 10.1093/ee/29.2.376
- Granval N, Gracia O. 1999. El género Tospovirus y su importancia en la horticultura. *Avances en Horticultura* 4(1): 1-22.
- Heimpel GE, Mills NJ. 2017. *Biological Control: Ecology and Applications*. Cambridge University Press, United Kingdom.
- Hobbs HA, Black LL, Story RN, Vlverde RA, Bond WP, Gatti JM, Schaeffer DO, Johnson RR. 1993. Transmission of tomato Spotted Wilt virus from pepper and three weed host by *Frankliniella fusca*. *Plant Disease Journal* 77: 797-799.
- Holt RD, Polis GA. 1997. A Theoretical Framework for Intraguild Predation. *The American Naturalist* 149(4): 745-764.
- Howe GA, Jander G. 2008. Plant immunity to insect herbivores. *Annual Review of Plant Biology* 59:41-66. doi: 10.1146/annurev.arplant.59.032607.092825.
- Huang N, Enkegaard A, Osborne LS, Ramakers PMJ, Messelink GJ, Pijnakker J, Murphy G. 2011. The Banker Plant Method in Biological Control. *Critical Reviews in Plant Science* 30:259-278. doi.org/10.1080/07352689.2011.572055

- Hunter MD, Price PW. 1992. Playing Chute and Ladders: Heterogeneity and the relative roles of bottom-up and top-down forces in natural communities. *Ecology* 73(3): 724-732. doi.org/10.2307/1940152
- Janssen A, Willense E, van del Hammen T. 2003. Poor host plant quality causes omnivores to consume predator eggs. *Journal of Animal Ecology* 72: 478-483. doi.org/10.1046/j.1365-2656.2003.00717.x
- Janssen A, Bruin J, Jacobs G, Schraag R, Sabelis MW. 1998. Predators use volatiles to avoid prey patches with conspecifics. *Journal of Animal Ecology* 66: 223-232. doi.org/10.2307/6024
- Jung S, Yasunaga T, Lee S. 2011. Taxonomic review of the genus *Orius* (Heteroptera: Anthocoridae) in the Korean Peninsula. *Journal of Asia-Pacific Entomology* 14: 64-74. doi: 10.1016/j.aspen.2010.11.014
- Kant MR, Jonckheere W, Knecht B, Lemos F, Liu J, Schimmel BCJ, Villarroel CA, Ataide LMS, Dermauw W, Glas JJ, Egas M, Janssen A, Van Leeuwen T, Schuurink RC, Sabelis MW, Alba JM. 2015. Mechanisms and ecological consequences of plant defence induction and suppression in herbivore communities. *Annals of Botany* 115(7): 1015–1051. doi: 10.1093/aob/mcv054
- Karban R. 2011. The ecology and evolution of induced resistance against herbivores. *Functional Ecology* 25: 339-345. doi.org/10.1111/j.1365-2435.2010.01789.x
- Karban R, Baldwin IT. 1998. Induced Responses to Herbivory. *Trends in Ecology & Evolution* 13: 83. https://doi.org/10.1016/S0169-5347(97)01267-6
- Kessler A, Baldwin I. T. Plant responses to insect herbivory: the emerging molecular analysis. 2002. *Annual Review of Plant Biology* 53: 299-328. doi: 10.1146/annurev.arplant.53.100301.135207
- Khan ZR, James DG, Midega CAO, Pickett JA. 2008. Chemical ecology and conservation biological control. *Biological Control* 45:210- 224. doi: 10.1016/j.biocontrol.2007.11.009
- Kiman ZB, Yeagan KV. 1985. Development and Reproduction of the Predator *Orius insidiosus* (Hemiptera: Anthocoridae) Reared on Diets of Selected Plant

- Material and Arthropod Prey. *Annals of the Entomological Society of America* 78: 464-467. doi.org/10.1093/aesa/78.4.464
- Lacasa A, Contreras J. 1993. Comportamiento de *Frankliniella occidentalis* en la transmisión del virus del bronceado del tomate: planteamientos para su control. *Phytoma, Spain* 50: 33-39.
- Lara L, van der Blom J, Urbaneja A. 2002. Instalación, distribución y eficacia de *Orius laevigatus* (Fiebre) y *Orius albidipennis* (Reuter) (Hemiptera: Anthocoridae) en invernaderos de pimiento en Almería. *Boletín Sanidad Vegetal Plagas* 28: 253-263.
- Lewis T. 1997. *Thrips as Crop Pests*, first edition. CAB International, Wallingford, United Kingdom.
- Lundgren JG, Fergen JK, Riedell WE. 2008. The influence of plant anatomy on oviposition and reproductive success of the omnivorous bug *Orius insidiosus*. *Animal Behaviour* 75:1495-1502. doi: 10.1016/j.anbehav.2007.09.029
- Lundgren JG, Fergen JK. 2006. The oviposition behavior of the predator *Orius insidiosus*: acceptability and preference for different plants. *Bio Control* 51: 217-227. doi: 10.1007/s10526-005-0609-2
- Maris PC, Joosten NN, Peters D, Goldbach RW. 2003. Thrips resistance in pepper and its consequence for the acquisition and inoculation of tomato spotted wilt virus by the western flower thrips. *Phytopathology* 93:96-101. doi: 10.1094/PHYTO.2003.93.1.96
- Messelink GJ, van Steenpaal SEF, Ramakers PMJ. 2006. Evaluation of phytoseiid predators for control of western flower thrips on greenhouse cucumber. *BioControl* 51: 753-768. doi.org/10.1007/s10526-006-9013-9
- MGAP-DIEA (Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca-Dirección de Investigaciones Económicas Agropecuarias). 2019. [En línea]. 27 julio 2020. <https://www.gub.uy/ministerio-ganaderia-agricultura-pesca/comunicacion/publicaciones/anuario-opypa-2019>
- Navarro Viedman M, Acebedo Vaz M, Rodríguez M, Alcazar Alba D, Belda Suarez JE. 2006. *Organismos para el control biológico de plagas en cultivos de la provincia de Almería-España* 2º ed: Fundación Cajamar. 231 p.

- Nomikou M, Janssen A, Schraag R, Sabelis MW. 2002. Phytoseiid predators suppress populations of *Bemisia tabaci* on cucumber plants with alternative food. *Experimental and Applied Acarology* 27: 57-68. doi: 10.1023/A:1021559421344
- Painter RH. 1951. Insect resistance to crop plants. New York, The Mc Millan Co. 151p.
- Pickett JA, Wadhams LJ, Woodcock CM, Hardie J. 1992. The chemical ecology of aphids. *Annual Review of Entomology* 37: 67-90. doi.org/10.1146/annurev.en.37.010192.000435
- Pieterse CMJ, Dicke M. 2007. Plant interactions with microbes and insects: from molecular mechanisms to ecology. *Trends in Plant Science* 12(12):564-569. doi: 10.1016/j.tplants.2007.09.004
- Pijnakker J, Ramakers P. 2008. Predatory mites for biocontrol of Western Flower Thrips, *Frankliniella occidentalis* (Pergande), in cut roses. *IOBC/wprs Bulletin* 32:171-174.
- Polis GN, Myers CN, Holt RD. 1989. The ecology and evolution of intraguild predation: potential competitors that eat each other. *Annual Review Ecology and Systematics* 20: 297-330.
- Prasad RP, Snyder WE. 2006. Polyphagy complicates conservation biological control that targets generalist predators. *Journal of Applied Ecology* 43(2): 343-352. doi.org/10.1111/j.1365-2664.2006.01129.x
- Price PW, Bouton CE, Gross P, McPherson BA, Thompson JN, Weis AE. 1980. Interactions Among Three Trophic Levels: Influence of Plants on Interactions Between Insect Herbivores and Natural Enemies. *Annual Review of Ecology and Systematics* 11(1): 41-65. doi: 10.1146/annurev.es.11.110180.000353
- Quiroz C, Larraín P, Sepúlveda P. 2001. Abundancia Estacional de Insectos Vectores de Virosis en dos Ecosistemas de Pimiento (*Capsicum annum* L.) de la Región de Coquimbo, Chile. *Agricultura técnica (Chile)* 65(1):3-19. doi.org/10.4067/S0365-28072005000100001
- Ramachandran S, Funderburk J, Stavisky J, Olson S. 2001. Population abundance and movement of *Frankliniella* species and *Orius insidiosus* in field pepper.

- Agricultural and Forest Entomology 3: 1-10. doi.org/10.1046/j.1461-9563.2001.00097.x
- Reitz SR. 2009. Biology and ecology of the western flower thrips (Thysanoptera: Thripidae) the making of a pest. Florida Entomologist 92 (1): 7-13. doi.org/10.1653/024.092.0102
- Ribeiro A, Castiglioni E. 2008. Caracterización de las poblaciones de enemigos naturales de *Piezodorus guildinii* (Westwood) (Hemiptera: Pentatomidae). Agrociencia(Uruguay) 12: 48-56.
- Richards PC, Schmidt JM. 1996. The suitability of some natural and artificial substrates as oviposition sites for the insidious flower bug, *Orius insidiosus*. Entomología Experimentalis et Applicata 80: 325-333. doi.org/10.1111/j.1570-7458.1996.tb00945.x
- Robledo A, van der Blom J, Sánchez JA, Torres S. 2009. Control biológico en invernaderos hortícolas. Almería: Coexphal-FAECA. 176p.
- Román LR. 2017. Contribuciones para la optimización del manejo de *Orius laevigatus* y *Anthocoris nemarales* (Hemiptera: Anthocoridae) como agentes de control biológico de plagas. Tesis de doctorado. Universidad de la Rioja, España. 189p. [En línea]. 24 junio 2020. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=122751>
- Rosenheim JA, Kaya HK, Ehler LE, Marois JJ, Jaffee BN. 1995. Intraguild predation among biological-control agents: theory and evidence. Biological Control 5: 303-335.
- Rubaztky VE, Yamaguchi M. 1977. Aquatic Vegetables. En Rubaztky VE, Yamaguchi M. (Eds.). World Vegetable, Principle, Production and Nutritive Values, 2nd Edn. Chapman and Hall International Thompson Publishing USA. 704-722.
- Rubio L, Amaral J, González-Arcos M, Arruabarrena A, Maeso D. 2014. Situación actual del virus de la "peste negra" en los cultivos de pimiento del norte del país. Serie Actividades de Difusión 740: 2-13. En: INIA Salto Grande; Programa Nacional Producción Hortícola. Avances de investigación protección vegetal en tomate y morrón.

- Sanchez C, Gallego JR, Manuel G, Cabello T. 2014. Intensive biological control in Spanish greenhouses: problems of the success. *International Scholarly and Scientific Research & Innovation* 8: 1123-1127.
- Schmitz OJ, Krivan V, Ovadia O. 2000. Trophic cascades: the primacy of trait-mediated indirect interactions. *The American Naturalist* 155(2):141-153 doi: 10.1086/30331
- Schoonhoven LM, van Loon JJA, Dicke M. 2005. *Insect-Plant Biology*, Ed 2. Oxford, University Press. 421p.
- Seagraves MP, Lundgren JG. 2010. Oviposition response by *Orius insidiosus* (Hemiptera: Anthocoridae) to plant quality and prey availability. *Biological Control* 55: 174-177. doi.org/10.1016/j.biocontrol.2010.06.013
- Shipp JL, Ramakers PMJ. 2004. Biological control of thrips on vegetable crops. En K.M. Heinz KM, van Driesche RG, Parrella P (Eds.). *Biocontrol in Protected Culture*. Batavia: Ball Publishing. 265-276.
- Snyder WE, Wise DH. 1999. Predator interference and the establishment of generalist predator populations for biocontrol. *Biological Control* 15: 283-292.
- Strong DR, Lawton JH, Southwood TRE. 1984. *Insects on Plants*: Cambridge: Harvard University Press. 313p.
- Turlings T, Wäckers FL. 2004. Recruitment of predators and parasitoids by herbivore-injured plants. *Advances in insect chemical ecology* 2: 21-75. doi: 10.1017/CBO9780511542664.003
- Ullman DE, Shirwood JL, German TL. 1997. Thrips as vectors of plant pathogens. En: Lewis T. (Ed.). *Thrips as crop pests*. Wallingford: CAB, International. 539-565.
- Urbaneja A, León FJ, Giménez A, Arán E, van der Blom J. 2003. Interacción de *Neoseiulus* (Amblyseius) *cucumberis* (Oudemans) (Aca.: Phytoseiidae) en la instalación de *Orius laevigatus* (Fieber) (Hem.: Anthocoridae) en invernaderos de pimiento. *Boletín Sanidad Vegetal Plagas* 29: 347-357.
- Vaello T. 2019. Interacciones multitróficas en el cultivo de pimiento. Tesis de doctorado. Universidad de Alicante, España. Facultad de Ciencias. 68p.

- van den Meiracker RA, Ramakers PMJ. 1991. Biological control of the western flower thrips, *Frankliniella occidentalis*, in sweet pepper, with the anthocorid predator, *Orius insidiosus*. Mededelingen van de Faculteit Lanbouwwetenschappen Rijksuniversiteit Gent 56: 241-249.
- van der Blom J. 2017. Control Biológico en cultivos hortícolas en Almería: balance después de 10 años. Boletín de la SEEA 2: 34-38.
- van der Blom J. 2007. Control de plagas en hortícolas protegidas: Almería, el año de la transición. Horticultura 200: 36-43.
- van der Blom J, Robledo A, Sánchez JA, Torres S. 2009. Consequences of the wide scale implementation of biological control in greenhouse horticulture in Almería, Spain. IOBC/WPRS Bull. 49:9-13.
- van der Putten WH, Vet LEM, Harvey JA, Wackers FL. 2001. Linking above- and belowground multitrophic interactions of plants, herbivores, pathogens, and their antagonists. Trends Ecology & Evolution 16: 547-554. doi: 10.1016/S0169-5347(01)02265-0
- van Driesche RG, Heinz KM, van Lenteren JC, Loomans A, Wick R, Smith T, Lopes P, Sanderson JP, Daughtrey M, Brownbridge M. 1998. Western flower thrips greenhouses A review of its biological control and other methods. Floral Facts, University of Massachusetts, Amherst, MA, 1-31.
- van Driesche RG, Bellows TS. 1996. Biological Control. New York: Chapman and Hall. 539p.
- van Houten YM, Ostlie ML, Hoogerbrugge H, Bolckmans K. 2005. Biological Control of western flower thrips on sweet pepper using the predatory mites *Amblyseius cucumeris*, *Iphiseius degenerans*, *A. andersoni* and *A. swirskii*. IOBC/ wprs Bulletin 28: 283-286.
- van Lenteren JC, Bueno VHP, Luna MG, Colmenarez YC. 2020. Biological control in Latin America and the Caribbean: Information, Sources, Organizations, Types and Approaches in Biological control. En van Lenteren JC, Bueno VHP, Luna MG, Colmenarez YC (Eds.). Biological control in Latin America and the Caribbean. Boston: CABI. 30-49.

- van Lenteren JC, Bolckmans K, Kohl J, Ravensberg WJ, Urbaneja A. 2018. Biological control using invertebrates and microorganisms: plenty of new opportunities. *BioControl* 63: 39-59. doi: 10.1007/s10526-017-9801-4
- van Lenteren JC, Bale J, Bigler F, Hokkanen HMT, Loomans AJM. 2006. Assessing risk of releasing exotic biological control agents of arthropods pests. *Annual Review of Entomology* 51:609-634. doi: 10.1146/annurev.ento.51.110104.151129
- van Lenteren JC, Loomans AJM. 1998. Is there a natural enemy good enough for biological control of thrips? Brighton crop protection conference: pests and diseases British crop protection council, Farnham, 401-408.
- Vet LEM, Dicke M. 1992. Ecology of Infochemical Use by Natural Enemies in a Tritrophic Context. *Annual Review of Entomology* 37: 141-172. doi.org/10.1146/annurev.en.37.010192.001041
- Viglianchino LE. 2013. Control integrado de *Frankliniella occidentalis* (Pergande) (Thysanoptera: Thripidae) con insecticidas y liberaciones de *Orius insidiosus* (Say) (Hemiptera: Anthocoridae) sobre pimiento en invernadero. Tesis de maestría para obtener el grado de M.Sc. en Cultivos Intensivos. Santa Fé, Argentina. Facultad de Ciencias Agrarias. [En línea]. 2 setiembre 2020. <http://intrabalc.inta.gob.ar/dbtw-wpd/images/Viglianchino-L-E-2013.pdf>
- Walling LL. 2000. The myriad plant responses to herbivores. *Journal of Plant Growth Regulation* 19: 195-216. doi: 10.1007/s003440000026
- Weidenmann RN, Wilson LT. 1996. Zoophytophagous Heteroptera summary and future research needs. En Alomar O, Wiedenmann RN (Eds.). *Zoophytophagous Heteroptera implications for life history and integrated pest management*. Lanham: Entomological Society of America.
- Weintraub PG. 2007. Integrated control of pests in tropical and subtropical sweet pepper production. *Review Pest Management Science*. 63(8):753-760. doi.org/10.1002/ps.1366
- Whitfield A, Ullman D, German T. 2005. Tospovirus-thrips interactions. *Annual Review Phytopathology* 43: 459-489. doi.org/10.1146/annurev.phyto.43.040204.140017

- Wimmer D, Hoffmann D, Schausberger P. 2008. Prey suitability of western flower thrips, *Frankliniella occidentalis*, and onion thrips, *Thrips tabaci*, for the predatory mite *Amblyseius swirskii*. *Biocontrol Science and Technology* 18: 533-542. doi.org/10.1080/09583150802029784
- Wittmann EJ, Leather SR. 1997. Compatibility of *Orius laevigatus* Fieber (Hemiptera: Anthocoridae) with *Neoseiulus* (Amblyseius) *cucumeris* Oudemans (Acari: Phytoseiidae) and *Iphiseius* (Amblyseius) *degenerans* Berlese (Acari: Phytoseiidae) in the biocontrol of *Frankliniella occidentalis* Pergande (Thysanoptera: Thripidae). *Experimental and Applied Acarology* 21: 523-538.
- Wu J, Baldwin IT. 2009. Herbivory-induced signaling in plants: perception and action. *Plant, Cell and Environment* 1-14. doi: 10.1111/j.1365-3040.2009.01943.x
- Yano E. 2005. Effects of intraguild predation and interspecific competition among biological control agents in augmentative biological control in greenhouses. In Hoddle M.S. (Ed.). *Second International Symposium on Biological Control of Arthropods*, September 12-16, Davos, CH. USDA Forest Service. 523-530.