

SURVIVORSHIP AND DEVELOPMENT OF IMMATURE *Harmonia axyridis* Pallas (COLEOPTERA: COCCINELLIDAE) EXPOSED TO DIFLUBENZURON

SUPERVIVENCIA Y DESARROLLO DE *Harmonia axyridis* Pallas (COLEOPTERA: COCCINELLIDAE) INMADUROS EXPUESTOS A DIFLUBENZURON

Esau Ruiz-Sánchez^{1*}, Lorenza Caamal-Eb¹, Jairo Cristóbal-Alejo¹,
Ricardo Munguía-Rosales², Alfonso Pérez-Gutiérrez¹

¹Instituto Tecnológico de Conkal. Km. 16.3 antigua carretera Mérida-Motul. 97345, Conkal, Yucatán, México (esau_ruiz@hotmail.com). ²Comité Estatal de Sanidad Vegetal del Estado de Yucatán. Calle 19 # 443, Colonia Ciudad Industrial. 97288, Mérida, Yucatán, México.

ABSTRACT

The multicolored Asian lady beetle, *Harmonia axyridis* Pallas (Coleoptera: Coccinellidae), is a voracious predator of soft-bodied insects that has been widely used for biological control. In this work, we examined the effects of diflubenzuron, an insect growth regulator (IGR), on a young population of *H. axyridis* under laboratory conditions in order to evaluate the risk of using this IGR in integrated pest management programs. Larval and pupal stages of *H. axyridis* were dipped 3 s in diflubenzuron dilutions (50, 100 or 200 mg L⁻¹) or pure distilled water (control). The percentage of survival and the number of days from immature stage treated to adult emergence were evaluated. The negative effects were related to the developmental stages of *H. axyridis* and the concentration of diflubenzuron used. All concentrations caused significant effects ($p \leq 0.05$) on survival when first and second-instar larvae were treated. When third-instar larvae were treated, only the highest concentration caused a significant decrease on *H. axyridis* survival. No significant effects on survival were found when fourth-instar larvae and pupae were treated. Developmental time (days) of *H. axyridis* from immature stage treated to adult emergence increased significantly when first and second-instar larvae were treated with 200 mg L⁻¹ of diflubenzuron. Based on these results, the use of diflubenzuron might represent a risk for the population of *H. axyridis* in integrated pest management programs that combine the use of this IGR and predator in pest management strategies.

Key words: *H. axyridis*, diflubenzuron, insect growth regulator, predator.

ABSTRACT

La catarinita asiática, *Harmonia axyridis* Pallas (Coleoptera: Coccinellidae), es un depredador voraz de insectos de cuerpo blando que ha sido ampliamente usado como agente de control biológico. En este estudio, se examinó los efectos del diflubenzuron, como un regulador de crecimiento de insectos (RCI), en una población joven de *H. axyridis* en condiciones de laboratorio para evaluar el riesgo de usar este RCI en programas de manejo integrado de plagas. Larvas de diferentes estadios y pupas de *H. axyridis* se sumergieron 3 s en diluciones de diflubenzuron (50, 100 o 200 mg L⁻¹) o agua pura destilada (testigo). Se evaluó el porcentaje de supervivencia y el número de días desde el estado inmaduro tratado hasta la emergencia de adultos. Los efectos negativos se relacionaron con los estados de desarrollo de *H. axyridis* y la concentración usada de diflubenzuron. Todas las concentraciones tuvieron efectos significativos ($p \leq 0.05$) en la supervivencia cuando se trataron larvas de primer y segundo estadio. En larvas de tercer estadio tratadas, sólo la concentración más alta causó una disminución significativa en la supervivencia de *H. axyridis*. No hubo efectos significativos en la supervivencia cuando se trataron larvas y pupas de cuarto estadio. El tiempo de desarrollo (días) de *H. axyridis* desde la etapa inmadura tratada hasta la emergencia de adultos aumentó significativamente en larvas de primer y segundo estadio tratadas con 200 mg L⁻¹ de diflubenzuron. Con base en estos resultados, el uso de diflubenzuron podría representar un riesgo para la población de *H. axyridis* en los programas de manejo integrado de plagas que combinan el uso de este RCI y el depredador en las estrategias del manejo de plagas.

Palabras clave: *H. axyridis*, diflubenzuron, regulador de crecimiento de insectos, depredador.

*Author for correspondence ♦ Autor responsable.

Received: August, 2009. Approved: January, 2010.

Published as NOTE in *Agrociencia* 44: 373-379. 2010.

INTRODUCTION

Diflubenzuron is a benzoylphenylurea chitin-synthesis-inhibitor classified as insect growth regulator (IGR) that disrupts molting (Grafton-Cardwell *et al.*, 2005). This compound effectively controls immature individuals of many species of insect pests, especially Coleoptera, Diptera and Lepidoptera (Eisler, 1992). Like other IGRs, diflubenzuron plays a critical role in integrated pest management (IPM) programs, as this IGR is an attractive replacement for organophosphorates and carbamates due mostly to its low mammalian toxicity and high selectivity (Grafton-Cardwell *et al.*, 2005). The latter characteristic, however, is questionable as it has been shown that many arthropods are susceptible to diflubenzuron, including some beneficial insects. In studies concerning the effects of this IGR on hymenopteran parasitoids exposed directly it has been shown that this compound can cause significant immature mortality in *Allorhogas pyralophagus* Marsh (Hymenoptera: Brachonidae) and *Eulophus pennicornis* Nees (Hymenoptera: Eulophidae) (Butaye and Degheele, 1995; Legaspi *et al.*, 2000). It has been also shown that diflubenzuron causes deleterious effects on immature stages of some arthropod predators, such as *Aleochara bilineata* Gyll (Coleoptera: Staphylinidae) (Gordon and Cornect, 1986), *Forficula auricularia* Linnaeus (Dermaptera: Forficulidae) (Sauphanor *et al.*, 1993), *Orius laevigatus* Fieber (Heteroptera: Anthocoridae) (Delbeke *et al.*, 1997) and *Podisus maculiventris* Say (Heteroptera: Pentatomidae) (De Clercq *et al.*, 1994).

The multicolored Asian lady beetle, *Harmonia axyridis* Pallas (Coleoptera: Coccinellidae), is a highly effective predator of aphids and other soft-bodied insects and has been extensively utilized as biological control agent (Seo and Youn, 2000). The impact of various IGR on *H. axyridis* has been scarcely studied. Under laboratory conditions, it has been reported that diflubenzuron applied directly to larvae of *H. axyridis* or to its food has low impact on survival (Michaud, 2002a; 2002b). However, these works have been evaluated based on acute toxicity and restricted to a single developmental stage, but little attention has been paid to the susceptibility and developmental effects of this IGR on immature stages. The objective

INTRODUCCIÓN

El diflubenzuron es una benzofenilurea inhibidor de la síntesis de la quitina clasificado como regulador de crecimiento de insectos (RCI) que interrumpe la muda (Grafton-Cardwell *et al.*, 2005). Este compuesto controla efectivamente inmaduros de muchas especies de plagas de insectos, especialmente Coleóptera, Díptera y Lepidóptera (Eisler, 1992). Al igual que otros RCI, el diflubenzuron desempeña una función crítica en el manejo integrado de plagas (MIP), ya que este RCI es un atractivo reemplazo para los organofosforados y carbamatos en gran medida debido a su baja toxicidad mamífera y alta selectividad (Grafton-Cardwell *et al.*, 2005). Sin embargo, esta última característica es cuestionable ya que se ha mostrado que muchos artrópodos son susceptibles al diflubenzuron, incluyendo algunos insectos benéficos. En estudios relacionados con los efectos de este RCI en himenópteros parasitoides expuestos directamente se ha mostrado que este compuesto puede causar una mortalidad significativa en estados inmaduros de *Allorhogas pyralophagus* Marsh (Hymenoptera: Brachonidae) y *Eulophus pennicornis* Nees (Hymenoptera: Eulophidae) (Butaye y Degheele, 1995; Legaspi *et al.*, 2000). Se ha mostrado también que el diflubenzuron causa efectos nocivos en los estados inmaduros de algunos artrópodos depredadores, como la *Aleochara bilineata* Gyll (Coleoptera: Staphylinidae) (Gordon y Cornect, 1986), *Forficula auricularia* Linnaeus (Dermaptera: Forficulidae) (Sauphanor *et al.*, 1993), *Orius laevigatus* Fieber (Heteroptera: Anthocoridae) (Delbeke *et al.*, 1997) y *Podisus maculiventris* Say (Heteroptera: Pentatomidae) (De Clercq *et al.*, 1994).

La catarinita asiática multicolor, *Harmonia axyridis* Pallas (Coleoptera: Coccinellidae), es un depredador altamente eficaz de áfidos y otros insectos de cuerpo blando y se ha usado extensivamente como un agente de control biológico (Seo y Youn, 2000). El impacto de varios RCI en *H. axyridis* ha sido poco estudiado. En condiciones de laboratorio se ha reportado que el diflubenzuron aplicado directamente a las larvas de *H. axyridis* o a su alimento tiene un bajo impacto en la supervivencia (Michaud, 2002a; 2002b). Sin embargo, estos estudios han sido evaluados con base en la toxicidad aguda y se limita a una sola etapa de desarrollo, pero se ha puesto poca atención a la

of this study was to evaluate the effects of diflubenzuron on survivorship and development of immature *H. axyridis* were examined to provide insights into the risk of using this IGR in combination with *H. axyridis* in integrated pest management programs.

MATERIALS AND METHODS

Insects

Adult *H. axyridis* were obtained from the Centro de Reproducción de Organismos Benéficos (CROB; Centre for Reproduction of Beneficial Organisms) located in Mérida, Yucatán, México. Adults were kept individually in 60×15 mm petri dishes at 25 °C and a photoperiod of 14:10 h (light:darkness). To obtain immature individuals for the bioassays, eggs laid by the adults were allowed to hatch and larvae were reared in petri dishes and fed with the following diet: pollen 400 g, royal jelly 3 g, powdered milk 200 g, active dry yeast 50 g, spirulin 5 g, honey 200 mL, distilled water 300 mL.

Treatment

Commercially formulated diflubenzuron (Dimilin® 25 P.H, Uniroyal Chemistry) was evaluated at three concentrations: 50, 100 and 200 mg L⁻¹. For the experiments *H. axyridis* were treated by dipping bioassay as indicated by Tong-Xiang and Tian-Ye (2001). Briefly, diflubenzuron was dissolved in distilled water and larvae or pupae were dipped for 3 s in the dilutions (treatments) or pure distilled water (control) and placed on paper tissue for 2 h to air-dry. Insects were then placed individually in 60×15 mm plastic petri dishes and kept as indicated above. Each treatment had four replications with 20 insects in each replicate. Survival rate was recorded as the percentage of adults that emerged relative to the number of immature individuals treated. Immature developmental time was recorded as the average days for each developmental stage treated until adult emergence.

Data analysis

The experimental design was completely randomized. An analysis of variance and mean comparison (Tukey; $p \leq 0.05$) of survivorship rate and developmental time (d) for each immature stage treated were performed using GraphPad InStat (GraphPad Software Inc., La Jolla, CA, USA).

susceptibilidad y efectos de este RCI en el desarrollo de estados inmaduros. El objetivo de este estudio fue evaluar los efectos del diflubenzuron en la supervivencia y desarrollo de *H. axyridis* inmaduros para proporcionar información sobre el riesgo de usar este RCI en combinación con *H. axyridis* en programas de manejo integrado de plagas

MATERIALES Y MÉTODOS

Insectos

Se obtuvieron *H. axyridis* adultos del Centro de Reproducción de Organismos Benéficos (CROB) ubicado en Mérida, Yucatán, México. Los adultos se mantuvieron individualmente en cajas petri de 60×15 mm a 25 °C y un fotoperiodo de 14:10 h (luz:oscuridad). Para obtener los inmaduros para los bioensayos, a los huevos puestos por los adultos se les permitió eclosionar y las larvas fueron criadas en cajas petri y alimentadas con la dieta siguiente: 400 g de polen, 3 g de jalea real, 200 g de leche en polvo, 50 g de levadura seca activa, 5 g de espirulina, 200 mL de miel, y 300 mL de agua destilada.

Tratamiento

Se evaluó el diflubenzuron comercialmente formulado (Dimilin® 25 P.H, Uniroyal Chemistry) en tres diluciones: 50, 100 y 200 mg L⁻¹. Para los experimentos se trataron *H. axyridis* mediante bioensayos de inmersión, según Tong-Xiang y Tian-Ye (2001). Brevemente, el diflubenzuron se disolvió en agua destilada y las larvas o pupas fueron sumergidas 3 s en diluciones (tratamientos) o agua pura destilada (testigo) y colocadas en hojas de papel por 2 h para secarse al aire. Los insectos fueron colocados individualmente en cajas petri de 60×15 mm y mantenidos como ya se indicó. Cada tratamiento tuvo cuatro repeticiones con 20 insectos en cada repetición. Se registró la tasa de supervivencia como el porcentaje de adultos que surgieron en relación con el número de inmaduros tratados. Se registró el tiempo de desarrollo inmaduro como el promedio de días para cada etapa de desarrollo tratada hasta la emergencia de los adultos.

Análisis de datos

El diseño experimental fue completamente al azar. Se hizo un análisis de varianza y la comparación de medias (Tukey, $p \leq 0.05$) de la tasa de supervivencia y tiempo de desarrollo (d) para cada estado inmaduro tratado, usando GraphPad InStat (GraphPad Software Inc., La Jolla, CA, USA).

RESULTS AND DISCUSSION

Survivorship of *H. axyridis*

The effects of diflubenzuron on survival of immature *H. axyridis* depended on the developmental stage treated and the concentration used (Table 1). A significant decrease ($p \leq 0.05$; $n=4$) in survival was observed when first-instar larvae were treated with all concentrations of this IGR. Survival rate decreased ($p=0.05$; $n=4$) 30, 40 and 46.3 % in the larval groups treated with 50, 100 and 200 mg L⁻¹ of diflubenzuron, relative to the control group (Table 1). When second-instar larvae were treated, survival rate decreased ($p \leq 0.05$; $n=4$) 31.2 and 32.5 % in the larval groups treated with 100 and 200 mg L⁻¹ of diflubenzuron, compared to the control group. Third-instar larvae were less susceptible than the early developmental stages, as survival rate decreased only 16.2 % ($p \leq 0.05$; $n=4$) of 16.2 % on larvae treated with 200 mg L⁻¹ of this IGR, as compared to the control group. No significant effects ($p > 0.05$; $n=4$) on survival rate were observed when fourth-instar larvae or when pupae were treated with any of the concentrations.

Developmental time
of immature *H. axyridis*

Significant increase ($p \leq 0.05$, $n=4$) in developmental time of immature *H. axyridis* was observed when first and second-instar larvae were treated with diflubenzuron 200 mg L⁻¹ (Table 2). No significant effects relative to the control were

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Supervivencia de *H. axyridis*

El efecto del diflubenzuron sobre la supervivencia de *H. axyridis* inmaduros dependió de los estados de desarrollo tratados y las concentraciones usadas (Cuadro 1). Hubo una reducción significativa ($p \leq 0.05$; $n=4$) en la supervivencia cuando larvas de primer estadio fueron tratadas con todas las concentraciones de este RCI. La tasa de supervivencia disminuyó ($p=0.05$; $n=4$) 30, 40, y 46.3 % en los grupos de larvas tratadas con 50, 100 y 200 mg L⁻¹ de diflubenzuron, con respecto al grupo testigo (Cuadro 1). Cuando larvas de segundo estadio fueron tratadas, la tasa de supervivencia disminuyó ($p \leq 0.05$; $n=4$) 31.2, y 32.5 % en los grupos de larvas tratadas con 100 y 200 mg L⁻¹ de diflubenzuron, comparada con el grupo testigo. Las larvas del tercer estadio fueron menos susceptibles que las de los primeros estados de desarrollo, ya que la tasa de supervivencia sólo disminuyó 16.2 % ($p \leq 0.05$; $n=4$) en larvas tratadas con 200 mg L⁻¹ de este RCI respecto al grupo testigo. No hubo efectos significativos ($p > 0.05$; $n=4$) en la tasa de supervivencia cuando se trataron larvas del cuarto estadio o cuando las pupas fueron tratadas con cualquiera de las concentraciones.

Tiempo de desarrollo
de *H. axyridis* inmaduros

Se observó un aumento significativo ($p \leq 0.05$, $n=4$) en el tiempo de desarrollo de *H. axyridis* inmaduros cuando larvas de primer y segundo estadio

Table 1. Mean percentage ($\pm$ SEM) of survival of different developmental stages of immature *H. axyridis* treated with three doses of diflubenzuron.

Cuadro 1. Medias ($\pm$ EMM) del porcentaje de supervivencia de diferentes estados de desarrollo de estados inmaduros de *H. axyridis* tratados con tres dosis de diflubenzuron.

Doses (mg L ⁻¹)	Developmental stage treated				
	First instar	Second instar	Third instar	Fourth instar	Pupa
Control	86.3 $\pm$ 4.7a	87.5 $\pm$ 4.3a	87.5 $\pm$ 1.4 a	98.8 $\pm$ 1.3a	100 $\pm$ 0a
50	56.3 $\pm$ 3.8b	68.8 $\pm$ 1.3ab	80 $\pm$ 2.0ab	96.3 $\pm$ 1.3a	100 $\pm$ 0a
100	46.3 $\pm$ 4.7b	56.3 $\pm$ 6.3b	77.5 $\pm$ 1.4ab	95 $\pm$ 2.0a	98.8 $\pm$ 1.3a
200	40 $\pm$ 10.8b	55 $\pm$ 9.4b	71.3 $\pm$ 4.3b	92.5 $\pm$ 1.4a	98.8 $\pm$ 1.3a
F value	9.58	6.20	6.80	2.89	0.67

Means with a different letter in a column are significantly different ($p \leq 0.05$; $n=4$) ♦ Medias con una letra diferente en una columna son significativamente diferentes ($p \leq 0.05$; $n=4$).

Table 2. Mean days of developmental time ($\pm$ SEM) of immature *H. axyridis* treated on different developmental stages with three doses of diflubenzuron.**Cuadro 2.** Media de los días de tiempo de desarrollo ($\pm$ EMM) de estados inmaduros de *H. axyridis* tratados en diferentes estados de desarrollo con tres dosis de diflubenzuron.

Doses (mg L ⁻¹)	Developmental stage treated				
	First	Second	Third	Fourth	Pupa
Control	19.3 $\pm$ 0.3b	17.0 $\pm$ 0.0b	15.0 $\pm$ 0.0a	11.0 $\pm$ 0.0a	6.3 $\pm$ 0.3a
50	19.0 $\pm$ 0.0b	17.0 $\pm$ 0.0b	15.0 $\pm$ 0.0 a	11.3 $\pm$ 0.3a	6.0 $\pm$ 0.0a
100	19.8 $\pm$ 0.3b	17.3 $\pm$ 0.3ab	15.3 $\pm$ 0.5a	11.3 $\pm$ 0.3a	6.3 $\pm$ 0.3a
200	21.0 $\pm$ 0.41a	17.8 $\pm$ 0.3a	15.8 $\pm$ 1.0a	11.0 $\pm$ 0.0a	6.0 $\pm$ 0.0a
F value	10.90	4.00	0.34	0.67	0.67

Means with different letter in a column are significantly different ($p \leq 0.05$; $n=4$) ❖ Medias con letra diferente en una columna son significativamente diferentes ($p \leq 0.05$; $n=4$).

observed when third and fourth-instar larvae or pupae were treated (Table 2).

Studies on the effects of diflubenzuron on nontarget arthropods have shown different outcomes. Butaye and Degheele (1995) mention that with few exceptions, this IGR has shown no appreciable effects on hymenopteran or dipteran parasitoids. De Clercq *et al.* (1994), however, conclude that the effects depend on the type of exposure, as this IGR caused no deleterious effects through direct or residual contact in some predatory insects, but was highly toxic when ingested.

In our work, it was found that the degree of the effects of diflubenzuron on immature *H. axyridis* treated by immersion depended on the developmental stage treated and the concentration used. In general, first and second-instar larvae were more susceptible than the late immature stages (Table 1). Other authors also point out that diflubenzuron is most toxic to early stages of insects (El-Gazzar *et al.*, 1988; Eisler, 1992). Particularly on *H. axyridis*, the susceptibility to insecticides varies depending on the developmental stage. Adults are often less susceptible than immature stages (Michaud, 2002a, 2002b; Michaud and Grant, 2003). The differential susceptibility might be attributed to higher activity of detoxifying enzymes and less sensitivity on target-sites of the late developmental stages (Cho *et al.*, 2002).

It was observed also that the highest concentration of diflubenzuron tested caused a higher rate of mortality (Table 1) and significantly increased developmental time (Table 2) of immature *H. axyridis*, particularly when first and second-instar

fueron tratadas con diflubenzuron 200 mg L⁻¹ (Cuadro 2). No hubo efectos significativos respecto al grupo testigo cuando larvas o pupas de tercero y cuarto estadio fueron tratadas (Cuadro 2).

Los estudios de los efectos del diflubenzuron en artrópodos que no son plagas han mostrado resultados diferentes. Butaye y Degheele (1995) mencionan que con pocas excepciones, este RCI no ha mostrado efectos apreciables sobre los parasitoides himenópteros o dípteros. Sin embargo, De Clercq *et al.* (1994) concluyen que los efectos dependen del tipo de exposición, ya que este RCI no causó efectos nocivos a través del contacto residual directo en algunos insectos depredadores, aunque fue altamente tóxico cuando se ingería.

En el presente estudio se encontró que el grado de los efectos de diflubenzuron en *H. axyridis* inmaduros tratados por inmersión dependía del estado de desarrollo tratado y la concentración usada. En general, las larvas de primer y segundo estadio fueron más susceptibles que las últimas etapas inmaduras (Cuadro 1). Otros autores también indican que el diflubenzuron es más tóxico para los primeros estados de desarrollo de los insectos (El-Gazzar *et al.*, 1988; Eisler, 1992). En particular, en *H. axyridis*, la susceptibilidad a los insecticidas varía dependiendo del estado de desarrollo. Los adultos son a menudo menos susceptibles que los estados inmaduros (Michaud, 2002a, 2002b; Michaud y Grant, 2003). La susceptibilidad diferencial podría atribuirse a una mayor actividad de enzimas de desintoxicación y menos sensibilidad en sitios de acción de los últimos estadios de desarrollo (Cho *et al.*, 2002).

larvae were treated. Label rates of this IGR for field, vegetable and fruit crops usually range from 50 to 100 mg L⁻¹ (Michaud 2002a; Anonymous, 2007). The impact of these rates on survival, but not in developmental time of immature *H. axyridis*, might be critical in the field for the natural population with mixed developmental stage individuals if repeated applications of this IGR are carried out. In cases where *H. axyridis* is used in inundative biological control strategies, the use of this IGR might represent an important risk for the biological control program success.

Based on this study, diflubenzuron might be used in combination with *H. axyridis* in IPM programs, but the following considerations should be taken into account: 1) applications of this IGR should be carried out only when *H. axyridis* are massively liberated on late developmental stages; 2) rates of diflubenzuron higher than 100 mg L⁻¹ should be avoided to preserve natural occurring or massively liberated *H. axyridis* in agroecosystems. Field evaluations of the effects of diflubenzuron on *H. axyridis* are needed to optimize the use of this specific IGR with this biological control agent.

CONCLUSIONS

The effects of diflubenzuron on immature *H. axyridis* depended on the developmental stage treated and the concentration used. Young larvae were more susceptible to this IGR than the late immature stages. Diflubenzuron at concentration of 200 mg L⁻¹ caused significant mortality and increased the developmental time of immature *H. axyridis*.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors thank the technicians of the Centre for Reproduction of Beneficial Organisms from Mérida, Yucatán, for their assistance with *H. axyridis* rearing and colony keeping.

LITERATURE CITED

- Anonymous. 2007. Diccionario de Especialidades Agroquímicas. Thompson PLM editores. México. 1901 p.
- Butaye, L., and D. Degheele. 1995. Benzoylphenyl ureas effect on growth and development of *Eulophus pennicornis* (Hymenoptera: Eucilidae), a larval ectoparasite of the cabbage moth (Lepidoptera: Noctuidae). J. Econ. Entomol. 88: 600-605.

Se observó también que las concentraciones más altas de diflubenzuron probadas causaron una mayor tasa de mortalidad (Cuadro 1) y aumentó significativamente el tiempo de desarrollo (Cuadro 2) de *H. axyridis* inmaduros, sobre todo cuando se trataron larvas de primer y segundo estadio. Las dosis comerciales de campo de este RCI para cultivos frutales y hortalizas generalmente varían entre 50 a 100 mg L⁻¹ (Michaud, 2002a; Anónimo, 2007). El impacto de tales dosis sobre la supervivencia, pero no en el tiempo de desarrollo de *H. axyridis* inmaduros podría ser crítica en el campo para la población natural con individuos de estados mixtos de desarrollo si se realizan aplicaciones repetidas de este RCI. En los casos donde se utiliza *H. axyridis* en estrategias extensivas de control biológico, el uso de este RCI podría representar un riesgo importante para el éxito del programa de control biológico.

Con base en este estudio, el diflubenzuron podría usarse en combinación con *H. axyridis* en programas MIP, pero se debe tomar en cuenta las siguientes consideraciones: 1) las aplicaciones de este RCI deberían efectuarse sólo cuando *H. axyridis* se libera masivamente en los últimos estados de desarrollo; 2) las dosis de diflubenzuron mayores de 100 mg L⁻¹ debe evitarse para preservar *H. axyridis* que existe naturalmente o que se libera masivamente en los agroecosistemas. Las evaluaciones de campo de los efectos de diflubenzuron en *H. axyridis* son necesarias para optimizar el uso de este RCI específico con este agente de control biológico.

CONCLUSIONES

Los efectos del diflubenzuron en estados inmaduros de *H. axyridis* dependió del estado de desarrollo tratado y de la concentración usada. Las larvas jóvenes fueron más susceptibles a este RCI que las de los últimos estados inmaduros. El diflubenzuron en una concentración de 200 mg L⁻¹ causó una mortalidad significativa y aumentó el tiempo de desarrollo del estado inmaduro de *H. axyridis*.

—Fin de la versión en español—



- Cho, J. R., Y. J. Kim, H. S. Kim, and J. K. Yoo. 2002. Some biochemical evidence on the selective insecticide toxicity between the two aphids, *Aphis citricola* and *Myzus persicae*.

- (Homoptera: Aphididae), and their predator, *Harmonia axyridis* (Coleoptera: Coccinellidae). J. Asia Pac. Entomol. 5: 49-53.
- De Clercq, P., A. De Cock, L. Tirry, E. Viñuela, and D. Degheele. 1994. Toxicity of diflubenzuron and pyriproxyfen to the predatory bug *Podisus maculiventris*. Entomol. Exp. Appl. 74(1): 17-22.
- Delbeke F., P. Vercruysse, L. Tirry, P. De Clercq, and D. Degheele. 1997. Toxicity of diflubenzuron, pyriproxyfen, imidacloprid and diafenthiuron to the predatory bug *Orius laevigatus* (Heteroptera: Anthrenidae). BioControl 42(3): 349-358.
- Eisler, R. 1992. Diflubenzuron hazards to fish, wildlife, and invertebrates: a synoptic review. Biological Report 4, U. S. Fish and Wildlife Service, Patuxent Wildlife Research Center. Laurel, Maryland, USA. 42 p.
- El-Gazzar, L. M., R. S. Patterson, and P. G. Koehler. 1988. Activity of chitin synthesis inhibitors on the cat flea, *Ctenocephalides felis* Bouche. J. Agric. Entomol. 5: 117-120.
- Gordon, R., and M. Cornect. 1986. Toxicity of the insect growth regulator diflubenzuron to the rove beetle *Aleochara bilineata*, a parasitoid and predator of the cabbage maggot *Delia radicum*. Entomol. Exp. Appl. 42(2): 179-185.
- Grafton-Cardwell, E. E., L. D. Godfrey, W. E. Chaney, and W. J. Bentley. 2005. Various novel insecticides are less toxic to humans, more specific to key pests. Calif. Agric. 59(1): 29-34.
- Legaspi, J. C., J. V. French, and B. C. Legaspi Jr. 2000. Toxicity of novel and conventional insecticides on selected beneficial insects. Subtrop. Plant Sci. 52: 23-32.
- Michaud, J. P. 2002a. Non-targets impacts of acaricides on ladybeetles in citrus: a laboratory study. Fla. Entomol. 85: 191-196.
- Michaud, J. P. 2002b. Relative toxicity of six insecticides to *Cycloneda sanguinea* and *Harmonia axyridis* (Coleoptera: Coccinellidae). J. Entomol. Sci. 37: 83-93.
- Michaud, J. P., and A. K. Grant. 2003. Sub-lethal effects of a copper sulfate fungicide on development and reproduction in three coccinellid species. J. Insect Sci. 3: 1-6.
- Sauphanor, B., L. Chabrol, F. Faivre d'Arcier, F. Sureau, and C. Lenfant. 1993. Side effects of diflubenzuron on a pear psylla predator: *Forficula auricularia*. Entomophaga 38(2): 163-174.
- Seo, M. J., and Y. N. Youn. 2000. The asian ladybird, *Harmonia axyridis*, as biological control agents: I. Predacious behavior and feedingability. Korean J. Entomol. 39: 59-71.
- Tong-Xiang, L., and C. Tian-Ye. 2001. Effects of the insect growth regulator fenoxycarb on immature *Chrysoperla rufilabris* (Neuroptera: Chrysopidae). Fla. Entomol. 84(4): 628-633.