

Secondary Metabolite Relationship of Seven Rose (Rosa sp.) Cultivars with the Population Dynamics of Tetranychus urticae Koch (Trombidiformes: Tetranychidae)

Author(s): Ricardo Flores-Canales, Agustín Róbles-Bermudez, Ernesto Cerna-Chávez, Roberto Gómez-Aguilar, Néstor Isiordia-

Aquino y Manuel Campos-Figueroa

Source: Southwestern Entomologist, 39(4):797-804. Published By: Society of Southwestern Entomologists

DOI: http://dx.doi.org/10.3958/059.039.0410

URL: http://www.bioone.org/doi/full/10.3958/059.039.0410

BioOne (www.bioone.org) is a nonprofit, online aggregation of core research in the biological, ecological, and environmental sciences. BioOne provides a sustainable online platform for over 170 journals and books published by nonprofit societies, associations, museums, institutions, and presses.

Your use of this PDF, the BioOne Web site, and all posted and associated content indicates your acceptance of BioOne's Terms of Use, available at www.bioone.org/page/terms of use.

Usage of BioOne content is strictly limited to personal, educational, and non-commercial use. Commercial inquiries or rights and permissions requests should be directed to the individual publisher as copyright holder.

BioOne sees sustainable scholarly publishing as an inherently collaborative enterprise connecting authors, nonprofit publishers, academic institutions, research libraries, and research funders in the common goal of maximizing access to critical research.

Relación de Metabolitos Secundarios de Siete Cultivares de Rosal (Rosa sp.) con la Dinámica Poblacional de Tetranychus urticae Koch (Trombidiformes: Tetranychidae)

Secondary Metabolite Relationship of Seven Rose (Rosa sp.) Cultivars with the Population Dynamics of Tetranychus urticae Koch (Trombidiformes: Tetranychidae)

Ricardo Flores-Canales¹, Agustín Róbles-Bermudez¹, Ernesto Cerna-Chávez², Roberto Gómez-Aguilar¹, Néstor Isiordia-Aquino¹, y Manuel Campos-Figueroa³

Resumen. Las poblaciones acumulativas durante casi dos meses de Tetranychus urticae Koch en cultivares de rosal (Rosa sp.) bajo condiciones de invernadero se presentaron de la siguiente manera (de menor a mayor incidencia): Latin® < Polar Star® < Peokubo® < Leonidas® < Royal Bacara® < Haylander® < Ben Hur®. Sin embargo, al calcular las poblaciones de ácaros-día-hoja se encontró como sigue: Latin® < Peokubo® < Polar Star® < Leonidas® < Roval Bacara® < Havlander® < Ben Hur®. Además, no se encontró correlación alguna con los metabolitos secundarios de terpenos y taninos. Sin embargo, los cultivares Latin® y Peokubo® mostraron correlación negativa con terpenos y taninos. Esto sugiere que los cultivares Ben Hur®, Haylander®, Royal Bacara®, Leonidas® y Polar Star® permiten ampliamente el desarrollo poblacional de ácaros, mientras que los cultivares Latin® y Peokubo® resultaron más tolerantes a T. urticae debido a la presencia de terpenos y taninos. Por otro lado, Abamectina es el ingrediente activo más usado en rosal a razón de 500 ml por hectárea con un costo de US\$120.00 por aplicación con dos aplicaciones quincenales. Asi, el uso de variedades resistentes tiene como resutlado un ahorro de US\$240.00 y un bajo establecimiento del ácaro. Además que se conserva la calidad del rosal para venta local y nacional.

Abstract. Two-month cumulative populations of Tetranychus urticae Koch in greenhouse rose (Rosa sp.) cultivars showed the following incidence (from lower to higher): Latin® < Polar Star® < Peokubo® < Leonidas® < Royal Bacara® < Haylander® < Ben Hur®. However, when populations were calculated as mite/day/leaf (A/D/H) we found the following sequence: Latin® < Peokubo® < Polar Star® < Leonidas® < Royal Bacara® < Haylander® < Ben Hur®. In addition, we did not find correlation between secondary metabolites of tepenes and tannins. However, Latin® and Peokubo® cultivars showed a negative correlation with terpenes and tannins. This suggest that Ben Hur®, Haylander®, Royal Bacara®,

¹Unidad Académica de Agricultura, Universidad Autónoma de Nayarit. Km. 9, carretera Tepic-Compostela; Xalisco, Nayarit. CP 63780. México.

²Departamento de Parasitología Agrícola, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila. CP 25315. México. ³Texas A&M AgriLife Research, Texas A&M University, Weslaco, TX 78596

Leonidas® and Polar Star® cultivars allow broadly the development of *T. urticae*, meanwhile Latin® and Peokubo® cultivars were more tolerant to *T. urticae* because of the presence of terpenes and tannins. On the other hand, Abamectin is the active ingredient most commonly applied in rose cultivars at a rate of 500 ml per hectare at US\$120.00 per application with two applications biweekly. Thus, the resistant varieties resulted in savings of US\$240.00 and low establishment of *T. urticae*. Moreover, it keeps rose quality suitable for local and national markets.

Introducción

El ácaro de dos manchas, Tetranychus urticae Koch, es la principal plaga del cultivo del rosal (Rosa sp.) bajo condiciones de invernadero (Field y Hoy 1986, Van de Vrie 1986), se alimenta directamente del teiido vegetal, reduce el área de actividad fotosintética y causa abscisión en la hoja (Gorman et al. 2001), son vectores de Prunus Necrotic Ring Virus (PNRSV) y Apple Mozaic Virus (APMV) (Manner 1985, Molinari et al. 2006). Un umbral de cinco ácaros por hoja de T. urticae reduce el rendimiento y calidad del tallo floral e impacta la producción del siguiente corte (Landeros et al. 2004). Recientemente se ha descubierto que el control químico de T. urticae en rosal provoca desequilibrio ecológico y desarrolla resistencia a acaricidas después de 10 generaciones (Stumpf et al. 2001). Por otro lado, las plantas desarrollan mecanismos de defensa físicas (tricomas y resinas) y químicas (sustancias tóxicas, disuasorias y repelentes; Cornell y Hawkins 2003), que impiden que los herbívoros se alimenten de la planta hospedera. Existen más de 100,000 metabolitos secundarios en plantas (Dixon 2001), como los terpenos o terpenoides que incluyen a los aceites esenciales, resinas fitoesteroides, piretrinas y saponinas (Croteau et al. 2000) o como los metabolitos secundarios producidos en respuesta al estrés que actúa como un elemento de disuasión contra los herbívoros (Keeling y Bohlman 2006). Se ha encontrado que en algodón y menta, la alta concentración de fenoles permite resistir el ataque de los ácaros (Larson y Berry 1984), en tomate se conocen inhibidores bioquímicos de proteínas y enzimas oxidativas que afectan el desarrollo de esta plaga (Stout et al. 1996). Así como varios reportes de extractos de neem, higuerilla, anonas, quanábana y jitomate y tabaco que contienen metabolitos secundarios eficaces contra adultos del ácaro de dos manchas T. urticae (Chiasson et al. 2001, Aslan et al. 2004, Ocampo y Ocampo 2006, Islam et al. 2008). Lo anterior plantea en esta investigación la evaluación de siete cultivares de rosal tolerantes al ácaro de dos manchas como una posible fuente genética de resistencia y determinar la relación entre el comportamiento poblacional de T. urticae en siete cultivares de rosal con los metabolitos secundarios.

Materiales y Métodos

La investigación se desarrolló en los invernaderos de la unidad académica de agricultura de la Universidad Autónoma de Nayarit, ubicada en el km 9, carretera Tepic – Compostela, Nayarit, México. Siete cultivares de rosal (Fig. 1), se desarrollaron en bolsas de plástico de 5 l con una mezcla de tierra, perlita y la fórmula de fertilización; nitrato de calcio 0.06 g/l de agua, nitrato de potasio 0,3 g/l, nitrato de amonio 0.30 g/l, quelato de fierro 0.04 g/l, ácido fosfórico 0.05 ml/l y ácido nítrico 0.06 ml/l. Al material fertilizado se le añadió el fungicida PCNB® 45% 600 g de ingrediente activo por litro, o bien 0.96 g de ingrediente activo por litro aplicado

al suelo en cada bolsa (Agroquímicos Versa S. A. de C. V., México). Se realizaron análisis de micro y macronutrientes, conductividad eléctrica y pH para homogenizar los tratamientos. También, se colectaron poblaciones de T. urticae provenientes de diferentes cultivos de la región para contar con suficientes individuos, las cuales se establecieron sobre plantas de frijol (Phaseolus vulgaris L.), variedad Lima en una cámara bioclimática Biotronnete® (Carolina Biological Supply Company, Burlington, NC) bajo condiciones de 25 ± 2°C, 60-70% HR, y fotoperiodo de 12:12 h. Se realizó fertilización continua de los rosales hasta alcanzar una altura de 50 a 60 cm y una semana después se infestó de manera uniforme a razón de 100 hembras de T. urticae por planta en cada uno de los siete cultivares de Rosa x hybrida. Después de la infestación, se realizaron dos muestreos semanales que consistieron del recuento de los ácaros en una hoja pentafoliada al azar y con tres observaciones por planta durante 57 días. Se utilizó un diseño completamente al azar de siete tratamientos con cuatro repeticiones. Solo se realizaron dos análisis de metabolitos secundarios, durante el tercer y quinceavo muestreo para determinar la cantidad de terpenos y taninos y correlacionarlo con las poblaciones de ácaros. El análisis químico de la cuantificación de terpenos fue mediante la técnica de extracción soxhlet con hexano (Cruz et al. 1973, Brown 1994, Muñoz et al. 2001). En un dedal de extracción se colocaron 250 ml de hexano, 2 g de muestra (hojas de rosal frescas en fracciones muy pequeñas) del estrato medio y se dejó un tiempo de exposición de 5 horas. Los terpenos se extrajeron del hexano mediante el secado en una mufla y por diferencia de peso se obtuvo la cantidad de terpenos expresada en porcentaje.

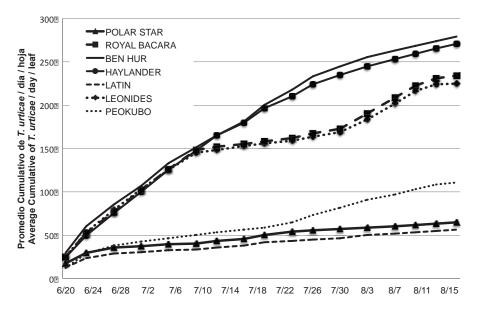


Fig. 1. Promedio acumulativo de *Tetranichus urticae* por día por hoja en siete variedades de rosal.

Fig. 1. Cumulative average of *Tetranichus urticae* per day per leaf of seven rose varieties.

Para determinar la concentración de compuestos fenólicos totales se empleo el método de Stintzing et al. (2005), el cual utiliza el reactivo de Folin y Ciocalteu (Sigma-Aldrich Chemical Co., St Louis, MO). Se secaron las muestras de rosal hasta obtener peso constante, posteriormente se molieron y se pesaron 0.25 q, los que se colocaron en tubos de ensaye y se les adicionó una solución de acetona:agua en proporción de 70:30. Las muestras se mantuvieron en refrigeración a 4°C por 24 horas, posteriormente se centrifugaron a 1000 rev/min por un período de un minuto o hasta que el asentamiento de partículas era visible. El método espectrofotométrico desarrollado por Folin y Ciocalteau (Council of Europe 2007) para la determinación de fenoles totales es el más empleado, por lo que todas las muestras se diluyeron en proporción 1:10 y se aforó a 1 ml (100 μl de muestra y 900 μl de agua destilada). Para la elaboración de la curva se prepararon 25 ml de Folin al 10% (25 ml Folin + 22.5 ml de agua). Se pesaron 1.875 g de carbonato de sodio y se diluyeron en 25 ml de agua para obtener una solución al 25%. La sustancia de referencia fue el ácido tánico, del cual se pesaron 10 mg y diluyeron en 25 ml de agua para una concentración de 0.4 mg/ml. concentraciones empleadas para la curva fueron las siguientes: a) 0.4 (1000 µl AT + 0 μl agua); b) 0.3 (750 μl AT + 250 μl agua); c) 0.2 (500 μl + 500 μl agua); d) 0.1 (250 µl + 750 µl agua); e) 0.05 (125 µl + 875 µl agua), y f) 0 (50 µl agua o muestra). Se realizó un triplicado de las concentraciones para asegurar una mayor certeza en la elaboración de la curva. Se reposó la muestra por 30 min y se tomó 200 μl de la muestra y se colocó en una microplaca para su lectura en el espectrofotómetro Epoch 2 a 765 nm y el programa Gen5 (ambos Biotek®, Winooski, VA) que se utiliza para lectores de microplacas.

El diseño de este experimento fue completamente al azar con cuatro repeticiones. Los resultados obtenidos de las variables ácaros por día por hoja (ADH) acumulativo se analizó mediante el procedimiento PROC MIX con medidas repetidas, y el análisis de ADH calculado (Beers and Hull 1990) fue analizado mediante t-test con separación de medias LSMEANS, ambos a P=0.05. Finalmente, se realizó una regresión lineal entre ADH y los metabolitos secundarios para ver el efecto sobre las poblaciones de T. urticae. Para todos los análisis se utilizó el paquete estadístico SAS (2009).

Resultados y Discusión

La presencia de *T. urticae* en las 17 fechas de muestreo mostró diferencias entre los tratamientos (P < 0.001; $F_{6,27} = 3.16$). Las variedades Polar Star®, Peokubo®, y Latin® no fueron diferentes y presentaron una menor dinámica poblacional del ácaro con promedio por hoja de 2 a 4 ácaros, y fueron diferentes a las otras cuatro variedades. Las variedades Ben Hur®, Haylander®, Royal Bacara®, y Leonidas® presentaron una mayor población con valores de 22 a 26 ácaros en promedio por hoja y no fueron diferentes entre sí.

La Fig. 1 muestra los resultados obtenidos de valores acumulativos de T. urticae por día por hoja. Los datos muestran una diferencia entre las fechas de muestreo P < 0.0001 ($F_{16,37} = 156.79$). Igualmente, hubo una diferencia entre la interacción fecha \times tratamiento P < 0.0001 ($F_{96,336} = 5.16$). Las variedades Latin®, Polar Star®, y Peokubo® mostraron promedios acumulativos de 63, 65, y 110 ácaros/día/hoja (ADH), y no hubo diferencias significativas entre si, pero si mostraron diferencias significativas al resto de los tratamientos. Las variedades Leonidas® y Royal Bacara® resultaron con promedios acumulativos de 224 y 234

ADH, mientras que Haylander® y Ben Hur® tuvieron los valores mayores en promedio: 271 y 279 ADH.

En el Cuadro 2 se muestra la densidad poblacional de T. urticae con base a ADH de acuerdo a Beers y Hull (1990), en donde la densidad media de ácaros = $\frac{1}{2}$ (población inicial + población final) x tiempo calcularon los promedios de ADH por cada una de las variedades de rosal. Hubo una diferencia entre tratamientos (P < 0.002; $F_{1,6} = 3.19$). Los cultivares Latin® y Peokubo® promediaron 1596 y 1710 individuos, y fueron diferentes al resto de los tratamientos. Los cultivares Polar Star®, Leonides®, Royal Bacara®, Haylander®, y Ben Hur® no fueron diferentes y presentaron una densidad poblacional promedio de 2137, 2907, 3163, 3420, y 3904 ácaros por día. Estos datos muestran un claro efecto en la reducción de la población del cultivar Latin® y Peokubo® en comparación a los otros cultivares.

Cuadro 2. Medias de *Tetranichus urticae* por Día por Hoja (A / D / H), Terpenos y Taninos en Siete Variedades de Rosal

Table 2. Average of *Tetranichus urticae* per Day per Leaf (A / D / H), Terpenes and Tannins in Seven Varieties of Rose

| Cultivar® | A/D/H* | Terpenos (%) | Taninos (mg/ml) |
|--------------|---------|-------------------|-------------------|
| Ben Hur | 3,904 b | 0.705 ± 0.207 | 0.789 ± 0.073 |
| Haylander | 3,420 b | 0.152 ± 0.039 | 0.922 ± 0.145 |
| Latin | 1,596 a | 0.630 ± 0.307 | 1.145 ± 0.305 |
| Peokubo | 1,710 a | 0.379 ± 0.476 | 0.641 ± 0.042 |
| Polar Star | 2,137 b | 0.788 ± 0.139 | 1.099 ± 0.603 |
| Royal Bacara | 3,163 b | 0.345 ± 0.189 | 1.046 ± 0.264 |
| Leonides | 2,907 b | 0.167 ± 0.128 | 1.007 ± 0.186 |

^{*}T. urticae por día por hoja (A/D/H) calculado con base a Beers and Hull (1990).

La concentración de terpenos y los ADH resultó en el modelo y = 0.56531 – 1740 (x) y una r² = -0.5136, mostrando que los terpenos impactan en forma negativa en las poblaciones de ácaros. Así, las variedades Polar Star® y Latin® presentaron mayor concentración de taninos y menor promedio de ADH. Aunque Peokubo también tuvo bajas poblaciones de *T. urticae*, los terpenos y taninos fueron también bajos. Se reporta que muchas variedades de rosal presentan de manera natural una gran cantidad de enzimas encargadas de la biosíntesis de terpenos (Gershenzon y Kreis 1999). El proceso de emisión de volátiles implica el aumento de la transcripción de genes relacionados con la defensa y permite a la planta responder más rápido y con más fuerza al ataque de herbívoros (Baldwin et al. 2006, Turlings y Ton 2006). Estos mecanismos de defensa tienen un gran potencial en el desarrollo de métodos más racionales para el control de plagas, como protectores naturales de las plantas (Murray et al. 1999).

Al efectuar una regresión lineal simple entre la concentración de taninos y ADH, se registró el modelo y =0.34885–0.079(x) con una r^2 = -0.4214, donde los taninos también presentan un efecto negativo en la densidad poblacional de *T. urticae*. Al considerar a los taninos como uno de los mecanismos más activos en la protección o defensa de las plantas, los taninos que pertenecen a los compuestos fenólicos, se observó una reducción de la densidad poblacional de *T. urticae*. Al

^{*}T. urticae per day per leaf (A/D/H) calculated on Beers and Hull (1990).

respecto, González et al. (2009) mencionan que los taninos juegan un papel importante contra artrópodos, virus, bacterias y en general microorganismos patógenos como mecanismo de defensa. Estos efectos pueden ser instantáneos como la astringencia (sabor amargo) o efectos tóxicos y antinutricionales (Liener 1983). Estos resultados colocan a los cultivares Ben Hur®, Haylander®, Royal Bacara®, Leonidas® y Polar Star® como variedades que permiten ampliamente el desarrollo poblacional de ácaros, mientras que los cultivares Latin® y Peokubo® resultaron los más tolerantes para el desarrollo de *T. urticae* debido a la presencia de terpenos y taninos.

Actualmente, Abamectina es la molecula mas utilizada en sistemas de producción de rosal a razón de 500 ml por hectárea y su costo asciende a US\$120.00 por aplicación no tomando en cuenta los riesgos a la salud y contaminación al medio ambiente con dos aplicaciones quincenales. El uso de variedades resistentes tiene como resutlado un ahorro de US\$240.00 y un bajo establecimiento del ácaro, además que se conserva la calidad del rosal para venta local y nacional.

Agradecimientos

Al Programa de Mejoramiento al Profesorado (PROMEP), por el apoyo económico para la realización del estudio.

Referencias Citadas

- Aslan, I., H. Ozbek, O. Calmasur, and F. Sahin. 2004. Toxicity of essential oilvapours to two greenhouse pests, *Tetranychus urticae* Koch and Bemesia tabaci Genn. Ind. Crop Prod. 19: 167-173.
- Baldwin, I. T., R. Halitschke, A. Pashhold, C. C. Von Dahl, and C. A. Preston. 2006. Volatile signaling in plant–plant interactions: 'talking trees' in the genomics era. Science 311: 812-815.
- Beers, E. H., and L. A. Hull. 1990. Timing of mite injury affects the bloom and fruit development of apple. J. Econ. Entomol. 83: 547-551.
- Brown, G. D. 1994. Drimendiol, a sesquiterpene from *Drymis winterii*. Phytochemistry 35: 975-977.
- Cornell, H. V., and B. A. Hawkins. 2003. Herbivore response to plant secondary compounds: a test of phytochemical coevolution theory. Amer. Nat. 161: 507-522.
- Croteau, R., T. M. Kutchan, and N. G. Lewis. 2000. Natural products (secondary metabolites), pp.1250-1318. *In* B. Buchanan, W. Gruissem, and R. Jones [eds.], Biochemestry and Molecular Biology of Plants. Vol. 24. Amer. Soc. Plant Physiol. Maryland.
- Cruz, A. M. S., and P. G. Sammes. 1973. Further terpenoids and phenolics of *Drymis winterii*. Phytochemistry 12: 2549-2550.
- Chiasson, H. A., N. Bostanian, and C. Vincent. 2004. Acaricidal properties of a *Chenopodium*-based botanical. J. Econ. Entomol. 97: 1373-1377.
- Council of Europe. 2007. Determination of tannins in herbal drugs, p. A286. *In* European Pharmacopoeia, 6th ed. European Directorate for the Quality of Medicines, Strasbourg, France.
- Dixon, R. A. 2001. Natural products and plant disease resistance. Nature 411: 843-847.

- Field, R. P., and M. A. Hoy. 1986. Evaluation of genetically improved strains of *Metaseilus occidentalis* (Nesbitt) (Acarina: Phytoseiidae) for integrated control of spider mites on roses in greenhouses. Hilgardia 54: 1-31.
- Gershenzon, J., and W. Kreis. 1999. Biosynthesis of monoterpenes, sesquiterpenes, diterpenes, sterols, cardiac glycosides and steroid saponins, pp. 222-299. *In* M. Wink [ed.], Biochemistry of Plant Secondary Metabolism. Ann Plant Rev. Vol 2. Sheffield Academic Press, Sheffield.
- González, G. E., H. R. Rodriguez, y G. C. Aguilar. 2009. Biodegradación de taninos. Cienciacierta 17.
- Gorman, K., F. Hewitt, I. Denholm, and G. J. Devine. 2001. New developments in insecticide resistance in the glasshouse whitefly (*Trialeurodes vaporariorum*) in the two-spotted spider mite (*Tetranychus urticae*) in the UK. Pest Mang Sci. 58: 123-130.
- Islam, M. T., M. M. Haque, N. Naher, and S. Parween. 2008. Effect of plant materials on developmental periods of two spotted spider mite *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). J. Biol. Sci. 16: 121-124.
- Keeling, C. I., and J. Bohlmaan. 2006. Genes, enzymes, and chemicals of terpenoid diversity in the constitutive and induced defense of conifers against insects and pathogens. New. Phytol. 170: 657-675.
- Landeros, J., I. P. Guevara, M. H. Badii, A. E. Flores, and A. Pamanes. 2004. Effect of different densities of the twospotted spider mite *Tetranychus urticae* on CO₂ assimilation, transpiration, and stomatal behavior in rose leaves. Exp. App. Acarol. 32: 187-198.
- Larson, K. C., and R. E. Berry. 1984. Influence of peppermint phenolics and monoterpenes on twospotted spider mite (Acari: Tetranychidae). Environ. Entomol. 13: 282-285.
- Liener, I. E. 1983. Toxic constituents in legumes, pp. 217-257. In S. K. Arora [ed.], Chemistry and Biochemistry of Legumes. Edward Arnold, London.
- Manner, M. 1985. The rose mosaic heat therapy program at Florida Southern College. Proc. Fla. State Hort. Soc. 98: 344-347.
- Molinari, A. M., J. C. Gamundi, E. Peroti, and M. Lago. 2006. Presencia de arañuela en cultivo de soja. INTA EEA Oliveros, Argentina. 33: 81-82.
- Muñoz, O., M. Montes, and T. Wilkomirsky. 2001. Plantas medicinales de uso en Chile, Química y Farmacología. ISBN 956-11-1514-X. Editorial Universitaria, Santiago, Chile. http://books.google.es/books?id=cuviT1SKao8C&printsec=frontcover&hl=es&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false
- Murray, K. D., S. Hasegawa, and A. R. Alford. 1999. Antifeedant activity of citrus limonoids against Colorado potato beetle: comparison of aglycones and glucosides. Entomol. Exp. Appl. 92: 331-334.
- Ocampo, D., y R. Ocampo. 2006. Bioactividad de la familia Annonaceae. Revista Universidad de Caldas 135-155
- SAS. 2009. Statistical Analysis System. SAS Institute, Cary, NC.
- Stintzing, F. C., K. M. Herbach, M. R. Mosshammer, R. Carle, W. Yi, S. Sellappan, C. C. Akoh, R. Bunch, and P. Felker. 2005. Color, betalain pattern, and antioxidant properties of cactus pear (*Opuntia* spp.) clones. J. Agric. Food Chem. 53: 442-451.
- Stout, M. J., K. V. Workman, and S. S. Duffey. 1996. Identity, spatial distribution, and variability of induced chemical responses in tomato plants. Entomol. Exp. Appl. 79: 255-271.

- Stumpf, N., C. P. W. Zebits, W. Kraus, G. D. Moores, and R. Nauen. 2001. Resistance to organophosphates and biochemical genotyping of acetylcholinesterases in *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). Pestic. Biochem. Physiol. 69: 131-142.
- Turlings, T. C. J., and J. Ton. 2006. Exploiting scents of distress: the prospect of manipulating herbivore- induced plant odours to enhance the control of agricultural pests. Curr. Opin. Plant Biol. 9: 421-427.
- Van de Vrie, M. 1986. Greenhouse ornamentals, pp. 273-283. *In* W. Helle and M. Sabelis [eds.], Spider Mites Their Biology, Natural enemies and Control. Vol. 1B. Elsevier, Amsterdam, The Netherlands.