

SUSCEPTIBILIDAD DE *CHrysopa EXTERIOR* NAVÁS A *BEAUVERIA BASSIANA* (BALSAMO) VUILLEMIN (CEPA LBB-1) EN CONDICIONES DE LABORATORIO.

Orisel Estevez Leyva¹, Elina Massó Villalón², Rafael Abreu Avila², Dilaila Baró Bulet³

1. Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal (INISAV), Cuba oestevez@inisav.cu

2. Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal, Cuba.

3. Organopónico del Centro Internacional de Restauración Neurológica (CIREN), Cuba.

RESUMEN

El uso de la Lucha Biológica para el control de plagas que afectan a los cultivos, se ha generalizado en todo el país, debido a sus múltiples ventajas tanto en el ámbito económico, ecológico y social. Dentro de las estrategias de control biológico se emplean diversos medios como el hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin y el depredador *Chrysopa exterior* Navás. Para su utilización conjunta se debe pasar por una etapa previa imprescindible para establecer los posibles efectos negativos de su interacción, mediante bioensayos ecotoxicológicos. Por estas razones el objetivo de este trabajo fue evaluar la susceptibilidad del depredador *C. exterior* en sus fases de desarrollo al hongo entomopatógeno *B. bassiana* en condiciones de laboratorio. Para su realización se utilizaron insectos obtenidos de una cría de laboratorio de *C. exterior* y suspensiones a base de la Cepa LBb-1 a las concentraciones de 1×10^7 y 1×10^8 esporas/ml. Los bioensayos se realizaron bajo condiciones de temperatura y humedad relativa controladas. Los estados preimaginales del entomófago fueron sumergidos en las suspensiones y los adultos fueron asperjados. El parámetro evaluado en los huevos fue su eclosión, en las larvas y los adultos la mortalidad y para los cocones la emersión de los adultos. Se obtuvo que las suspensiones no afectaron ninguna de las fases de desarrollo del insecto. Por lo anterior se determinó que el depredador *C. exterior* no es susceptible a *B. bassiana* por lo que pueden ser utilizados conjuntamente para el control de plagas agrícolas en los sistemas de producción.

Palabras clave: *Chrysopa exterior*, *Beauveria bassiana*, *bioensayos ecotoxicológicos*.

INTRODUCCION

La agricultura del nuevo milenio debe establecer nuevas alternativas de control que produzcan menor impacto y riesgo ambiental; y que permitan reducir significativamente el uso de plaguicidas sintéticos (Hansen y Johnson, 1999; Iannacone y Alvariño, 2002). El final del siglo XX y lo que va del XXI se han caracterizado por un fuerte apoyo a los esfuerzos de la protección del ambiente por varios sectores de todas las sociedades, por lo que el Control Biológico, ha pasado a jugar un papel importante en la reducción de organismos indeseables en el necesario equilibrio ambiental (Speciale, 2007).

El control biológico es, sin duda, una de las herramientas principales que el hombre tiene para reducir las poblaciones de artrópodos plaga en los cultivos agrícolas. Esto se realiza mediante el uso de entomófagos y entomopatógenos, y es considerado como una de las estrategias fitosanitarias de mayor importancia en nuestra agricultura (Massó y Gómez, 2008).

La mayor parte de los insectos depredadores utilizados en programas de control biológico pertenecen a las familias Chrysopidae y Coccinellidae. La familia Chrysopidae es la más importante de todos los depredadores del orden Neuróptera. Actualmente se consideran agentes biológicos decisivos para el control de plagas insectiles, habiéndose difundido su utilización en cultivos comerciales, invernaderos y jardines (Núñez, 1988). Este neuróptero,

llamado comúnmente alas de encaje, mosca de ojos dorados o león de áfidos, es un controlador biológico promisorio en el manejo ecológico e integrado de plagas. Las larvas son depredadores muy voraces que se alimentan de cuerpos blandos de insectos y arácnidos (Fonseca et al. 2000).

El hongo *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin ha sido utilizado exitosamente para controlar plagas en muchas regiones del mundo como parte de las estrategias de manejo integrado de plagas. Por sus características patogénicas para controlar insectos, su factibilidad de reproducción en forma artificial y la rentabilidad de su uso, este hongo representa una alternativa viable al ser utilizado sin perjuicios al medio ambiente y sin efectos tóxicos (Baeteman, 1997).

Se ha demostrado que hay bioplaguicidas que presentan efectos sobre biorreguladores de plagas. El estudio de esto es importante en cuanto a la conservación de la fauna benéfica (Vázquez, 2003). El conocimiento del efecto de los bioplaguicidas sobre la fauna benéfica y en especial sobre sus diferentes estados en desarrollo, permitirá evitar el uso de aquellos con consecuencias negativas y fomentar el uso de los que causen un menor impacto ecotoxicológico (Iannacone y Lamas, 2003). Por estas razones fue necesario evaluar la susceptibilidad del depredador *Chrysopa exterior* en todas sus fases de desarrollo al hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* en condiciones de laboratorio y valorar la posibilidad del uso conjunto de ambos en los sistemas de producción agrícola.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los bioensayos ecotoxicológicos fueron realizados en el Laboratorio de Cría de Artrópodos Benéficos, del Grupo de Trabajo de Tecnologías de Reproducción de Medios Biológicos y Artrópodos Benéficos, perteneciente al Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal (INISAV).

Fue evaluado el efecto del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin sobre el depredador *Chrysopa exterior* Navás. Para ello se realizaron diferentes bioensayos con suspensiones a base de la Cepa LBb-1 a las concentraciones de $1,0 \times 10^7$ e/ml y $1,0 \times 10^8$ e/ml. preparadas por el Laboratorio de Reproducción Bioplaguicidas del INISAV. Se seleccionaron huevos, larvas, pupas y adultos de *C. exterior* del pie de cría del Laboratorio de Cría de Artrópodos Benéficos del INISAV.

Los bioensayos se realizaron bajo condiciones controladas, a una temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$ y $80 \pm 2\%$ de humedad relativa. El método utilizado para los huevos, las larvas y las pupas fue inmersión en la suspensión a base de la Cepa LBb-1 para los tratamientos y en agua destilada para el caso del testigo, durante 5 segundos. Para los bioensayos realizados con adultos el método usado fue aspersión (FAO, 1969). Fueron utilizadas 3 variantes (Tabla 1).

Tabla 1. Variantes.

Testigo	Aspersión o Inmersión en agua destilada.
Tratamiento1	Aspersión o Inmersión en: Suspensión a base de la Cepa LBb-1 a una concentración de $1,0 \times 10^7$ e/ml.
Tratamiento2	Aspersión o Inmersión en: Suspensión a base de la Cepa LBb-1 a una concentración de $1,0 \times 10^8$ e/ml.

Para medir el efecto que ejerce el hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* sobre el desarrollo embrionario de *Chrysopa exterior* se utilizaron huevos desfilamentados de 24 horas de puestos, los mismos fueron seleccionados bajo un estereoscopio, asegurando así su buen estado. Las larvas utilizadas para los bioensayos fueron de primer instar; se escogieron cocones de 48 horas de edad y en los experimentos con adultos se seleccionaron imágnes con una semana de emergidos.

Para todos los estados de desarrollo las evaluaciones se realizaron diariamente; hasta que se observó, en el caso de los huevos el nacimiento de la larva, para determinar el porcentaje de eclosión y el tiempo en que estos eclosionaron. Para las larvas y los adultos se registró la mortalidad y el tiempo al cual murieron, y en ambos casos los muertos fueron colocados en cámara húmeda. Para el caso de los cocones estos se observaron hasta la emergencia de los adultos para medir el porcentaje de emersión. En todas las fases de desarrollo evaluadas se continuó observando el ciclo de vida de los insectos hasta que fue completado.

Se utilizó la escala de toxicidad a enemigos naturales, aplicada por la Organización Internacional para el control Biológico e integrado de los Animales y plantas perjudiciales para los Cultivos (OILB) (Viñuela, 2001) en ensayos residuales de laboratorio, para la comparación con los resultados obtenidos.

Escala de toxicidad a enemigos naturales:

CATEGORIA 1- INOCUO (<30%)

CATEGORIA 2- LIGERAMENTE TOXICO (30-70%)

CATEGORIA 3- MODERADAMENTE TOXICO (80-99%)

CATEGORIA 4- TOXICO (> 99%)

Se realizó análisis de varianza simple (ANOVA) y prueba de significación de Tukey para un nivel de significación del 5% ($\alpha=0,05$). Software utilizado: Stat Soft, Inc. (2003). STATISTICA (data analysis software system), versión 6. www.statsoft.com.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En los resultados obtenidos sobre la fase de huevo con las concentraciones de $1,0 \times 10^7$ e/ml y $1,0 \times 10^8$ e/ml, los porcentajes de eclosión de éstos fueron altos, de un 90 y 85% respectivamente y no mostraron efectos significativos estadísticamente en comparación con el testigo que fue de 90%. El desarrollo embrionario de los huevos de *Chrysopa exterior* con las dos concentraciones utilizadas no se vio afectado; el tiempo de eclosión de los huevos osciló entre los 4 y los 6 días; a los 4 días se inició el nacimiento de las larvas, a los 5 días se produjo la mayor eclosión que continuó hasta los 6 días y no se observaron diferencias estadísticas significativas en el tiempo de eclosión en comparación con el testigo. (Figura 1).

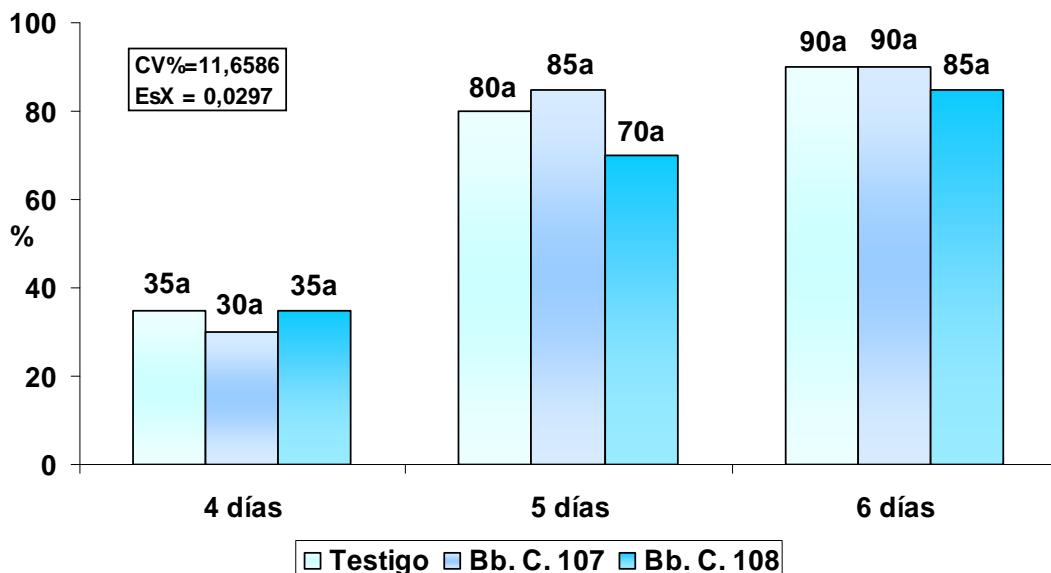


Figura 1. Porcentaje de eclosión de huevos de *Chrysopa exterior* Navás tratados con *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin a diferentes tiempos de exposición o evaluación.

Amorim *et al.*, (2005) realizaron estudios para evaluar el efecto de suspensiones de *Beauveria bassiana* sobre huevos con 24 horas de edad de *Chrysoperla externa* a concentraciones que variaron desde $1,0 \times 10^4$ hasta $1,0 \times 10^8$ conidias/ml. Estos autores determinaron que no hubo efecto sobre la viabilidad de los mismos en ninguna de las concentraciones utilizadas, resultado que coincide con el obtenido en esta investigación. También en estudios realizados para evaluar el efecto de dos extractos botánicos (rotenona y azadiractina) y un insecticida carbámico (cartap) sobre huevos del depredador *Chrysoperla externa* en bioensayos ecotoxicológicos, se obtuvo que ninguno de los tres productos a las dosis máximas utilizadas causaron efectos negativos en el porcentaje de eclosión de huevos (Iannacone y Lamas, 2002) y concuerda con este estudio en el cual no se observaron afectaciones en el desarrollo embrionario del depredador

En los bioensayos realizados con larvas de primer instar de *Chrysopa exterior*, las concentraciones utilizadas provocaron mortalidades de 12 y 20% y se observaron diferencias estadísticas significativas con respecto al testigo que no presentó mortalidad. A las 72 horas de la aplicación del tratamiento 1 se pudo observar que no hubo diferencias significativas con respecto al testigo, no así con el tratamiento 2 que si difirió de ambos. A las 96 horas se observaron diferencias estadísticas significativas entre el testigo y los tratamientos, difiriendo a su vez ellos entre si. (Figura 2).

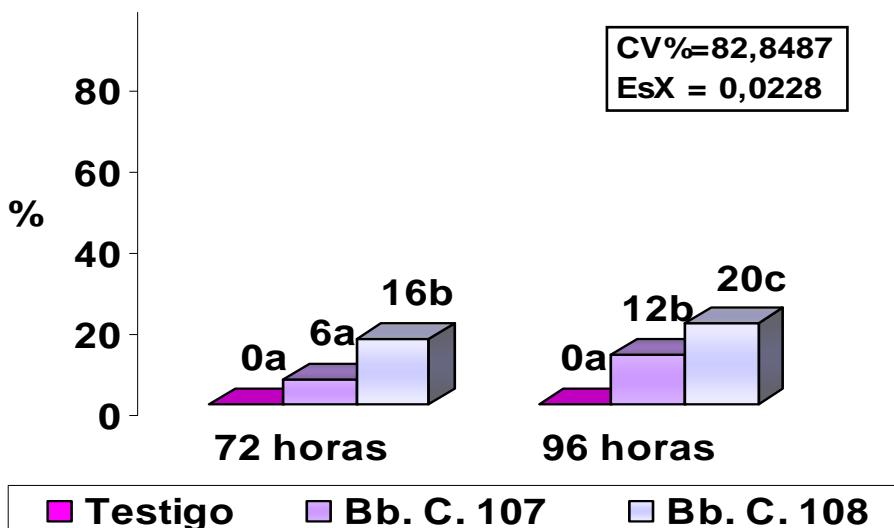


Figura 2. Mortalidad de larvas de *Chrysopa exterior* Navás de primer instar tratadas con *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin a las 72 y 96 horas de exposición.

En bioensayos realizados en el laboratorio con *Beauveria bassiana* y con *Paecilomyces fumosoroseus*, Generoso (2002), verificó que esos hongos eran selectivos a larvas de primer y tercer instar de *C. exterior*, y provocaron bajas mortalidades en esos estadios de desarrollo. Por otra parte al evaluar un bionematicida constituido por la cepa IMI SD 187 de *Pochonia chlamydosporia* var. *Catenulata* sobre larvas de *Chrysopa exterior*, en bioensayos ecotoxicológicos realizados en laboratorio, García (2005), reportó bajos porcentajes de mortalidad (entre un 10% y un 30%) con lo que confirmó la ausencia de patogenicidad del hongo sobre este depredador.

Thungrabeab y Tongma (2007), realizaron experimentos para conocer el efecto de los hongos entomopatógenos, *Beauveria bassiana* y *Metarrhizium anisopliae* sobre los enemigos naturales *Coccinella septempunctata* L., *Chrysoperla carnea* (Stephens) y *Dicyphus tamaninii* Wagner, así como también el insecto beneficioso de la tierra: *Heteromurus nitidus* Templeton; se obtuvo que *B. bassiana* no resultó patogénica para los insectos evaluados ya que no se observó mortalidad en estos. Para el caso de *M. anisopliae* solamente se registraron mortalidades para *C. carnea* y *D. tamaninii* con un 4% y un 10% respectivamente. En este estudio los autores señalaron a *B. bassiana* y *M. anisopliae* como agentes de control biológico relativamente seguros sobre insectos no diana, como los enemigos naturales y los insectos benéficos de la tierra.

En los bioensayos realizados en el laboratorio con cocones de *Chrysopa exterior* se observó un alto porcentaje de emersión de adultos, entre 90 y 80% en los tratamientos después de los 15 días de la aplicación y no se observaron diferencias estadísticas significativas con respecto al testigo que fue de 90%. (Figura 3).

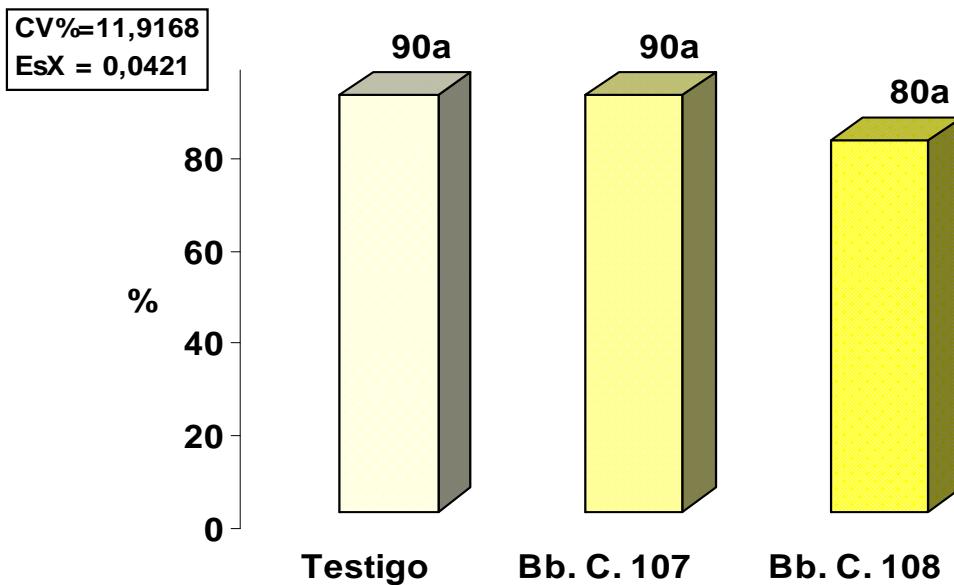


Figura 3. Efecto que provoca el tratamiento de cocones de *Chrysopa exterior* Navás con *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin en la emersión de los adultos a los 15 días de tratados.

Iannacone y Lamas, (2003) también evaluaron el efecto toxicológico de extractos de dos plantas: Molle (*Schinus molle*) y Lantana (*Lantana camara*) sobre pupas de *Chrysoperla externa* en bioensayos realizados bajo condiciones de laboratorio. Los extractos acuosos del molle y la lantana a las concentraciones aplicadas no causaron efectos significativos en la emergencia de pupas de *C. externa* en ensayos de inmersión después de lecturas de 8 y 21 días. El resultado alcanzado por ellos a pesar de tratarse de extractos de plantas, concuerda con el obtenido en esta investigación con *B. bassiana*, en la que se demostró una baja vulnerabilidad y susceptibilidad en esta fase de desarrollo del depredador a los tratamientos y a su vez confirma su potencial como agente de control biológico ya que es compatible también con productos botánicos.

En los bioensayos realizados con adultos de *Chrysopa exterior*, las concentraciones utilizadas provocaron mortalidades bajas, de un 10% en ambos casos, y no se observaron diferencias estadísticas significativas a las 48, 72 y 96 horas después de la aplicación en comparación con el testigo que no registró mortalidad. (Figura 4).

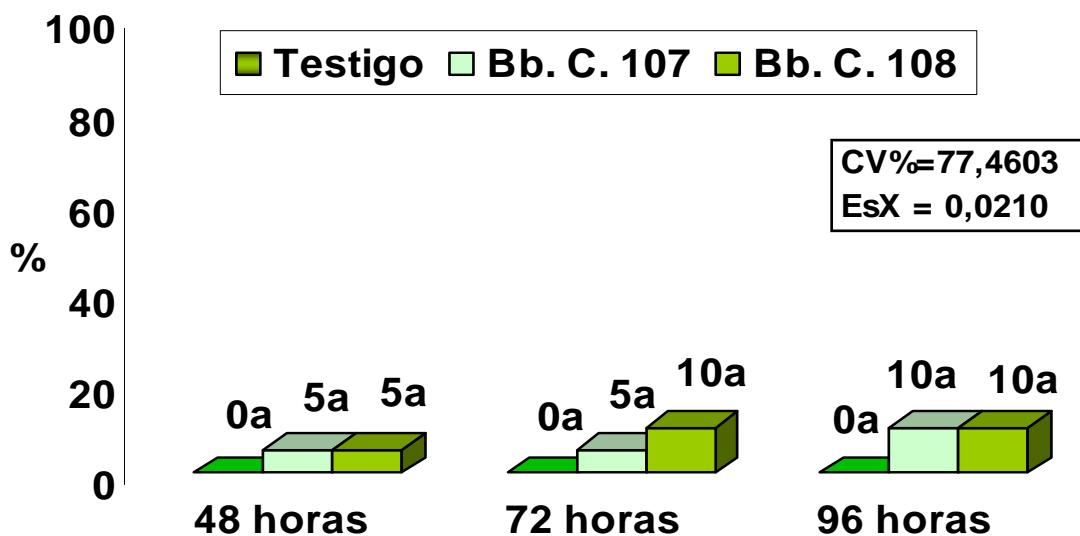


Figura 4. Mortalidad de adultos de *Chrysopa exterior* Navás tratados con *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin a las 48, 72 y 96 horas de exposición.

No se encontró en la literatura especializada información sobre evaluaciones del efecto hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* ni de otros productos biológicos sobre adultos de *Chrysopa exterior*. Castillo *et al.* (2009) realizaron bioensayos de laboratorio con el objetivo de determinar si *Beauveria bassiana* afectaba al parasitoide de la broca del café *Phymastichus coffea* LaSalle; el principal efecto del hongo se observó en la disminución de la longevidad de los adultos y en la mortalidad del 100% de los inmaduros del parasitoide cuando el hongo fue aplicado a sus hospederos parasitados.

Otro estudio similar fue realizado por Vázquez (2002) para determinar el efecto bioplaguicida de los hongos *Verticillium lecanii* y *Beauveria bassiana* sobre adultos de *Cotesia americanus* (Lepeletier) (Hymenoptera: Braconidae), parasitoide de la primavera de la yuca (*Erinnyis ello* L.) que reportó mortalidades de 95,1 y 84,5% respectivamente, entre los 3-5 días posteriores al contacto con las superficies asperjadas con los biopreparados. Esto demuestra que los hongos entomopatógenos pueden ser patogénicos para himenópteros parasitoides y además que estos pueden mostrar diferentes niveles de patogenicidad sobre los insectos benéficos, siendo más dañinos para unos que para otros.

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos en los parámetros evaluados en cada una de las fases de desarrollo del depredador, se procedió a la comparación de éstos con la escala de toxicidad a enemigos naturales, aplicada por la (OILB) (Viñuela, 2001) para ensayos residuales de laboratorio.

Estos resultados manifestaron que la mortalidad para la fase de huevo estuvo entre un 10% y un 15%; para las larvas a las concentraciones utilizadas se reportaron mortalidades de 12% y 20%, siendo el estado de desarrollo inmaduro más sensible al hongo entomopatógeno, ya que mostró los más altos porcentajes de mortalidades. Los cocones alcanzaron mortalidades entre un 10 y un 20%; y en el caso de los adultos se registraron mortalidades del 10% en las dos concentraciones utilizadas.

Por lo anterior se pueden clasificar estos resultados en la categoría 1 (inocuo); debido a que en los parámetros evaluados los porcentajes de mortalidad se mantuvieron dentro de lo establecido para esta categoría (<30%).

Los resultados obtenidos en el laboratorio sugieren que es posible la utilización conjunta del hongo entomopatógeno *B. bassiana* y el depredador *C. exterior* en los sistemas de producción agrícola para el control de plagas, ya que, si en el laboratorio se registraron bajos niveles de mortalidad, en el campo los efectos negativos del hongo sobre el insecto deben ser menores. La mortalidad observada en condiciones de laboratorio, no siempre es equivalente a la obtenida en condiciones de campo, donde la cantidad de inóculo que atrapa el insecto es menor (Alves, 1998).

Lo anterior coincide con lo planteado por la OILB que aconseja como primer paso trabajar en condiciones de laboratorio. Si el plaguicida resulta ser inocuo en condiciones de laboratorio, no es necesario conocer su efecto en condiciones de semicampo o campo, ya que si no ha afectado al organismo en las estrictas condiciones de laboratorio, difícilmente lo pueda hacer en campo. Sin embargo, por lo general si un plaguicida tiene algún efecto negativo en laboratorio, tendrá que ser objeto de ensayos de semicampo y campo para determinar su actividad (Viñuela y Jacas, 1993).

CONCLUSIONES

- El hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* (Cepa LBb-1) no afectó el desarrollo embrionario de los huevos, el desarrollo de las larvas, ni la emersión y la supervivencia de los adultos del depredador *Chrysopa exterior*.
- Es posible la utilización conjunta de *B. bassiana* (Cepa LBb-1) y *C. exterior* para el control biológico de plagas en los sistemas de producción agrícola teniendo en cuenta la baja susceptibilidad de este depredador al entomopatógeno.

REFERENCIAS

- 1) Alves, S.: «Fungos entomopatogênicos. Controle microbiano de insetos», 2nd Fundação Estudos Agrários Luiz de Queiroz, Brazil, p. 289-381, 1998.
- 2) Amorim, L. G.; R. Sousa; A. Moino; B. Souza: «Compatibility between *Beauveria bassiana* and the predator *Chrysoperla externa* in laboratory», *Pesquisa agropecuária brasileira*, vol. 40, no. 6, 2005.
- 3) Baeteman, R.: «The development of a mycoinsecticide for the control of locust and grasshoppers», *Outlook on Agriculture*, 26:13-18, 1997.
- 4) Castillo, A.; J. Gómez; F. Infante y F. E. Vega: «Susceptibilidad del parasitoide *Phymastichus coffea* a *Beauveria bassiana* en condiciones de laboratorio», *Neotropical entomology*, vol.38, no.5, 2009.
- 5) FAO.: «Métodos recomendados para la detección y la medición de la resistencia de plagas agrícolas a los plaguicidas», 17 (4) 76-82, 1969.
- 6) Fonseca, A. R.; C. Carvalho; B. Souza; C. Ecole: «Functional response of *Chrysoperla externa* fed on *S chizaphis graminum*», In International Congress of Entomology, Brasil, Abstract Book I, 2000.

- 7) García, L.: «Evaluación toxicológica y ecotoxicológica de un bionematicida constituido por la cepa imi sd 187 de *pochonia chlamydosporia* var. *catenulata*», UNAH, CENSA, La Habana, 2005.
- 8) Generoso, A.: «Compatibilidade de *Beauveria bassiana* e *Paecilomyces fumosoroseus* com *Chrysoperla externa* e metodologia para avaliação da seletividade», Dissertação, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 63p. 2002.
- 9) Hansen, L. J. y M. L. Jonson: «Conservation and toxicology: integrating the disciplines», *Conservation Biology*, 13: 1225-1227, 1999.
- 10) Iannacone, J. y L. Alvariño: «Evaluación del riesgo ambiental del insecticida cartap en bioensayos con tres invertebrados», *Agricultura Técnica* (Chile), 62: 366-374, 2002.
- 11) Iannacone, J. y G. Lamas: «Efecto de dos extractos botánicos y un insecticida convencional sobre el depredador *Chrysoperla externa*», *Manejo Integrado de Plagas y Agroecología* (Costa Rica), No. 65, p. 92-101, 2002.
- 12) Iannacone, J. y G. Lamas: «Efectos toxicológicos de extractos de Molle (*Schinus molle*) y Lantana (*Lantana camara*) sobre *Chrysoperla externa* (Neuroptera: Chrysopidae) en Perú», *Agricultura técnica* (Chile), 63 (4): 347-360, 2003.
- 13) Massó, E. y R. Gómez: «Producción y uso de entomófagos en Cuba», *Fitosanidad*, vol. 12, no. 4, Pág. 253, 2008.
- 14) Núñez, E.: «Chrysopidae (Neuróptera) del Perú y sus especies más comunes», En: *Revista Peruana de Entomología*, Vol. 31, p. 69-75, 1988.
- 15) Speciale, F.: «Alternativas ante el uso de químicos», Control biológico de insectos, FCV-UNA, 2007. Consultado el: 21/ marzo/ 2009. Disponible en: (<http://www.abc.com.py/suplementos/rural/articulos.php?pid=481138>).
- 16) Thungrabeab, M. y S. Tongma: «Effect of entomopathogenic fungi, *Beauveria bassiana* (Balsam) and *Metarhizium anisopliae* (Metsch) on non target insects», *Kmitl Science Technology Journal*, Thailand, Vol. 7, No.1, 2007.
- 17) Vázquez, L.: «Efecto de *Verticillium lecanii* y *Beauveria bassiana* sobre *Cotesia americanus* (Hymenoptera: Braconidae), parasitoide de larvas de la primavera de la yuca (*Erinnyis ello* L.)», *Fitosanidad*, vol. 6, no. 1, 2002.
- 18) Vázquez, L.: *Manejo Integrado de Plagas. Preguntas y respuestas para agricultores y extensionistas*, Ediciones CIDISAV, Ciudad de la Habana, 556p. 2003.
- 19) Viñuela, E.: «Efectos secundarios de los plaguicidas en los enemigos naturales (I)», *Phytoma*, 133: 21- 25, 2001.
- 20) Viñuela, E.; J. A. Jacas; V. Marco; A. Adan; F. Budia: «Los efectos de los plaguicidas sobre los organismos beneficiosos en agricultura. Grupo de trabajo de OILB plaguicidas y organismos beneficiosos. Insecticidas y acaricidas», *Phytoma*, 55: 18-25, España, 1993.