

# EL CONTROL BIOLÓGICO DE PLAGAS Y ENFERMEDADES

Josep Jacas  
Primitivo Caballero  
Jesús Avilla (eds.)



**EL CONTROL BIOLÓGICO DE PLAGAS Y ENFERMEDADES.  
LA SOSTENIBILIDAD DE LA AGRICULTURA MEDITERRÁNEA**

Col·lecció Medi Ambient **5**

**EL CONTROL BIOLÓGICO  
DE PLAGAS Y ENFERMEDADES.  
LA SOSTENIBILIDAD  
DE LA AGRICULTURA MEDITERRÁNEA**

**Josep Jacas, Primitivo Caballero, Jesús Avilla (eds.)**



**UNIVERSITAT  
JAUME•I**



**Universidad Pública de Navarra**  
*Nafarroako Unibertsitate Publikoa*

Qualsevol forma de reproducció, distribució, comunicació pública o transformació d'aquesta obra només pot ser realitzada amb l'autorització dels seus titulars, llevat d'excepció prevista per la llei. Dirigiu-vos a CEDRO (Centro Español de Derechos Reprográficos, [www.cedro.org](http://www.cedro.org)) si necessiteu còpies digitals d'algun fragment d'aquesta obra.

© Del text: Els autors i les autores, 2010.

© De la present edició: Publicacions de la Universitat Jaume I, 2010.

Edita: Publicacions de la Universitat Jaume I. Servei de Comunicació i Publicacions  
Campus del Riu Sec. Edifici Rectorat i Serveis Centrals.  
12071 Castelló de la Plana  
Fax 964 72 88 32  
<http://www.tenda.uji.es>      e-mail: [publicacions@uji.es](mailto:publicacions@uji.es)

ISBN: 978-84-8021-775-0

# ÍNDICE

---

	Pag.
<b>PRÒLEG/PRÓLOGO</b> .....	9
<b>CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN</b>	
<b>La lucha biológica, pieza clave de la Agricultura Sostenible</b> <i>ELISA VIÑUELA</i> .....	15
<b>Control biològic: del control clàssic a la conservació</b> <i>RAMÓN ALBAJES</i> .....	31
<b>CAPÍTULO 2. AGENTES DE CONTROL BIOLÓGICO DE PLAGAS</b>	
<b>Agentes entomófagos de control biológico de plagas</b> <i>JESÚS AVILA</i> .....	51
<b>El potencial de <i>Bacillus thuringiensis</i> en el control biológico de plagas</b> <i>PRIMITIVO CABALLERO</i> .....	67
<b>Los nematodos entomopatógenos agentes de control de plagas</b> <i>FERNANDO GARCÍA DEL PINO</i> .....	87
<b>CAPÍTULO 3. AGENTES DE CONTROL BIOLÓGICO DE ENFERMEDADES</b>	
<b>Estrategias para el control biológico de hongos fitopatógenos</b> <i>PALOMA MELGAREJO, ANTONIETA DE CAL, INMACULADA LARENA,</i> <i>PILAR SABUQUILLO, BELÉN GUIJARRO</i> .....	115
<b>Control biológico de bacterias fitopatógenas</b> <i>MARÍA MILAGROS LÓPEZ, RAMÓN PEÑALVER</i> .....	131
<b>Control biológico de nematodos fitoparásitos</b> <i>SOLEDAD VERDEJO</i> .....	

## **CAPÍTULO 4. EL CONTROL BIOLÓGICO EN ACCIÓN**

<b>Control biológico en la postcosecha de frutas</b> <i>INMACULADA VIÑAS</i> .....	169
<b>Control biológico de plagas en cítricos</b> <i>FERRAN GARCIA MARÍ</i> .....	183
<b>Control biológico de plagas en cultivos hortícolas de invernadero</b> <i>ROSA GABARRA</i> .....	193

## **CAPÍTULO 5. EL FUTURO DEL CONTROL BIOLÓGICO**

<b>El futuro del control biológico</b> <i>JOSEP JACAS MIRET, ALBERTO URBANEJA GARCÍA, JOSÉ LUIS RIPOLLÉS</i> .....	209
---	-----

## PRÒLEG

---

Des de l'any 1997, i a través d'un conveni signat amb la Diputació Provincial de Castelló, la Universitat Jaume I celebra l'Escola de Sostenibilitat de l'Agricultura Mediterrània, en el marc de l'Escola de Tardor de la Universitat Jaume I. A l'Escola de Sostenibilitat de l'Agricultura s'aborden diversos aspectes relacionats amb la sostenibilitat dels sistemes productius agrícoles del nostre entorn. L'any 2003, aquesta escola es va centrar en el control biològic de plagues i malalties.

El control biològic de plagues i malalties (CB) consisteix en l'ús dels enemics naturals o dels competidors de les plagues i dels patògens per al control de les seues poblacions. És una tècnica mil·lenària, que ja utilitzaven cultures com la xinesa al segle III. Fou, però, a partir de finals del segle XIX quan el CB va despertar un gran interès gràcies a l'èxit espectacular de la introducció de la marieta *Rodolia cardinalis* per al control de la cotxinilla acanalada *Icerya purchasi*. Malauradament, el CB va deixar de ser practicat amb la generalització de la lluita química com a mesura de control de plagues, malalties i males herbes, fins que el replantejament general de la protecció vegetal, provocat pels diversos problemes ocasionats per l'ús intensiu de pesticides, va fer que el CB anara guanyant terreny de bell nou. Actualment, el CB és una peça fonamental i indispensable en qualsevol estratègia d'agricultura sostenible, com per exemple la producció integrada o l'ecològica.

Durant la setena edició de l'Escola de Tardor s'analitzaren algunes de les claus del CB, com les seues bases ecològiques, els diferents tipus de tècniques, els organismes implicats i els casos d'alguns sistemes agrícoles on ha estat aplicat amb molt d'èxit. Es varen debatre els problemes que afecten aquesta tècnica de protecció vegetal, amb les seues implicacions tecnològiques, econòmiques, ecològiques i socials, oferint una visió ampla per tal d'obtenir unes conclusions sòlides i pràctiques.

Aquest llibre, que ara us presentem gràcies a la col·laboració entre la Universitat Jaume I i la Universitat Pública de Navarra, és el fruit d'aquella escola. Al llarg d'aquest document trobareu les transcripcions que els mateixos conferenciants han fet de les lliçons impartides. Sabem que la llibertat de què hem gaudit els autors a l'ho-



ra de transcriure les nostres contribucions pot haver afectat la uniformitat del document que ara us presentem, però no la seua unitat. Tots aquells que hem contribuït d'una manera o una altra a fer possible aquest llibre esperem no decebre els nostres lectors, i que aquest contribuïska a divulgar aquesta tècnica i a augmentar l'interès general per les tècniques de protecció vegetal més sostenibles.

Castelló-Pamplona-Lleida, estiu de 2004

ELS EDITORS

## PRÓLOGO

---

Desde el año 1997, y a través de un convenio firmado con la Diputación Provincial de Castellón, la Universidad Jaume I celebra la Escuela de Sostenibilidad de la Agricultura Mediterránea, en el marco de la Escuela de Otoño de la Universitat Jaume I. En la Escuela de Sostenibilidad de la Agricultura se abordan diversos aspectos relacionados con la sostenibilidad de los sistemas productivos agrícolas de nuestro entorno. En el año 2003, esta escuela se centró en el control biológico de plagas y enfermedades.

El control biológico de plagas y enfermedades (CB) consiste en el uso de los enemigos naturales o de los competidores de las plagas y de los patógenos para el control de sus poblaciones. Se trata de una técnica milenaria, que ya utilizaban culturas como la china en el siglo III. Fue, sin embargo, a partir de finales del siglo XIX cuando el CB despertó un gran interés debido al éxito espectacular conseguido con la introducción de la mariquita *Rodolia cardinalis* para el control de la cochinilla acanalada *Icerya purchasi*. Desgraciadamente, el CB dejó de ser practicado con la generalización de la lucha química como medida de control de plagas, enfermedades y malas hierbas, hasta que el replanteo general de la protección vegetal, provocado por los diversos problemas ocasionados por el uso intensivo de plaguicidas, hizo que nuevamente el CB fuera ganando terreno. Actualmente, el CB es una pieza fundamental e indispensable en cualquier estrategia de agricultura sostenible, como la producción integrada, o la ecológica.

Durante la séptima edición de la escuela de otoño se analizaron algunas de las claves del CB, desde sus bases ecológicas, los diferentes tipos de técnicas, los organismos implicados, así como los casos de algunos sistemas agrícolas donde se está aplicando con gran éxito. Se debatieron los problemas que afectan a esta técnica de protección vegetal, con sus implicaciones tecnológicas, económicas, ecológicas y sociales, ofreciendo una visión amplia con el fin de obtener unas conclusiones sólidas y prácticas.

Este libro, que ahora os presentamos gracias a la colaboración entre la Universitat Jaume I y la Universidad Pública de Navarra, es el fruto de aquella escuela. A lo largo

de este documento encontraréis las transcripciones que los propios conferenciantes han realizado de las lecciones impartidas. Sabemos que la libertad de que hemos gozado los autores a la hora de transcribir nuestras contribuciones puede haber afectado a la uniformidad del documento que ahora os presentamos, pero no su unidad. Todos aquéllos que hemos contribuido de una manera u otra a hacer posible este libro esperamos no decepcionar a nuestros lectores, y que éste contribuya a divulgar esta técnica y a aumentar el interés general por las técnicas de protección vegetal más sostenibles.

Castelló-Pamplona-Lleida, verano de 2004

LOS EDITORES

## **INTRODUCCIÓN**



# LA LUCHA BIOLÓGICA, PIEZA CLAVE DE LA AGRICULTURA SOSTENIBLE

ELISA VIÑUELA

Protección de Cultivos. ETSI Agrónomos. 28040-Madrid.

elisa.vinuela@upm.es

El Control Biológico se ha convertido hoy en día en uno de los componentes principales de la protección de cultivos en todo el mundo. En este capítulo examinaremos cómo se ha llegado a establecer su importancia, cómo se utiliza solo o junto a otras técnicas, las ventajas e inconvenientes que presenta y algunos aspectos legales de interés, desarrollándose más ampliamente en otros capítulos algunos de los aspectos revisados.

## LA AGRICULTURA SOSTENIBLE Y EL CONTROL DE PLAGAS

Las modernas tendencias productivas agrícolas de los países desarrollados tratan, desde los años noventa, de encuadrar los sistemas productivos dentro de la agricultura sostenible, que tiene por objetivo la producción de alimentos y fibras de calidad, en cantidad, de una manera rentable, socialmente aceptable y sin dañar el medio ambiente (Wijnands y Kroonen-Backbier, 1993). Dentro de este contexto, se han puesto en práctica numerosos sistemas productivos como por ejemplo la agricultura ecológica y la agricultura biológica y, actualmente, cobra cada vez más auge en el mundo, la Producción Integrada, cuyos principios establecidos por la OILB (Organización Internacional para la Lucha Biológica e Integrada), tienen por principal objetivo la conservación de la biodiversidad ambiental (Boller *et al.*, 1999). La Producción Integrada cuenta en nuestro país con una normativa aplicable a todo el territorio nacional desde noviembre del 2002 (MAPA, 2002).

En estos modernos sistemas productivos, uno de los elementos esenciales de la producción es la protección de cultivos, y aquí el control de plagas se hace siempre desde la perspectiva del Manejo Integrado de Plagas (MIP), concepto del que existen numerosas definiciones en los libros y que es un sistema de toma de decisiones para

la selección y uso de estrategias de control de plagas, aisladas o armoniosamente coordinadas, en una estrategia de manejo que se basa en un análisis de costes beneficios en el que se tienen en cuenta los intereses y el impacto sobre los productores, sociedad y medio ambiente (Kogan, 1998). En el MIP por tanto se puede desde no intervenir, a usar una sola técnica de control o una combinación de varias minimizando siempre el uso del control químico, teniendo como finalidad la eliminación de los daños económicos de la plaga (Viñuela y Jacas, 1993; Minks *et al.*, 1998). Se pone por tanto énfasis, en primer lugar, en la utilización de medidas preventivas (variedades resistentes, predicción de daños en una etapa temprana, etc.), en la vigilancia de las poblaciones de las especies plaga importantes y en la aplicación de umbrales económicos, antes de llegar a la aplicación de una medida directa de control encaminada a eliminar únicamente la porción de la población plaga que nos está causando pérdidas económicas en el cultivo (Boller *et al.*, 1999). Entre las medidas directas se prefieren las ecológicas (biológicas, biotécnicas [feromonas, atrayentes, etc.], físicas [trampas, barreras, etc.] y agronómicas [manejo del riego, abonado, labores del cultivo, etc.]) antes que la lucha química y, en caso de aplicarse ésta, los equipos están a punto y calibrados; se reducen las áreas de tratamiento en lo posible; se dejan zonas sin tratar, a no ser que la plaga sea considerada como muy peligrosa por las autoridades; y sólo se aplican plaguicidas autorizados en el cultivo, descartando si es posible, los persistentes, volátiles, poco selectivos o que presenten cualquier otra característica indeseable.

## ¿QUÉ ES EL CONTROL BIOLÓGICO?

El control biológico, lucha biológica (LB), o biocontrol, se considera por tanto una de las técnicas preferibles a aplicar en el control de plagas, por sus innegables ventajas ambientales, y consiste en el uso de organismos vivos para disminuir la densidad de población o el impacto de un organismo plaga, y hacerle menos abundante o menos perjudicial de lo que es (Eilenberg *et al.*, 2001). Podemos distinguir entre lucha microbiológica (LMB), si se utilizan microorganismos entomopatógenos (virus, bacterias, hongos, nematodos, etc.) y Lucha Macrobiológica si se usan enemigos naturales artrópodos (insectos, ácaros, arañas), llamándose a esta última corrientemente LB (Hokkanen y Lynch, 1995; Jervis y Kidd, 1996).

Centrándonos en la LB, al uso de enemigos para controlar las plagas, se llegó porque los artrópodos, al igual que otros organismos vivos, tienen enemigos naturales que limitan sus números de poblaciones, y que se encuentran de forma espontánea en la naturaleza, por lo que son capaces de hacer disminuir los niveles de población de sus presas hasta valores más bajos de los que alcanzarían sin su presencia, ello constituye el control biológico natural (DeBach y Rosen, 1991; Flint y

Dreistadt, 1998). En nuestros cultivos los enemigos naturales pueden, pues, proporcionarnos una ayuda inestimable para mantener por debajo de niveles económicos, las poblaciones de algunos insectos perjudiciales, y en utilizar al máximo este tipo de ayuda, se basa la LB que se puede aplicar para el control de artrópodos plagas (insectos y ácaros), hongos y malas hierbas de los cultivos (Bellows y Fisher, 1999).

## HISTORIA DEL CONTROL BIOLÓGICO

La LB se conoce y aplica desde antiguo (Van Den Bosch *et al.*, 1982; Van Driesche y Bellows, 1996). El primer uso de insectos por el hombre ocurrió en China en el siglo III d.C. cuando se empleó la hormiga depredadora *Oecophylla smaragdina* (F.) (Hymenoptera: Formicidae) para controlar una cochinilla plaga de los mandarinos. La primera introducción de un enemigo natural de un país a otro fue un pájaro indio que se introdujo en Isla Mauricio para controlar el ataque de la langosta roja *Nomadacris septemfasciata* (Serville) (Orthoptera: Locustidae) en el siglo XVIII. La primera observación del parasitismo (desarrollo de las formas juveniles de un artrópodo en un solo individuo del huésped, artrópodo o no) se hizo en 1602: una avispa del género *Apanteles* (Hymenoptera: Braconidae) que se desarrollaba sobre la mariposa de la col, pero una interpretación correcta del fenómeno no se hizo hasta 1706, y su potencialidad en el control de plagas no se comprendió totalmente hasta el siglo XIX. El primer transporte internacional de un enemigo natural se hizo con motivo del grave ataque de la filoxera *Viteus vitifoliae* (Fitch) (Homoptera: Phylloxeridae) a las viñas francesas en 1873. Este pulgón americano tiene un ciclo complicado alternando sus generaciones entre la parte aérea y subterránea de la vid, sin producir daños graves a las raíces de las cepas americanas que tienen mayor cantidad de corcho en las mismas, pero pudiendo matar a las vides europeas, por lo que su llegada a Europa ocasionó gravísimas pérdidas económicas. En un intento de controlar esta plaga, el entomólogo americano Riley introdujo el ácaro *Tyroglyphus phylloxerae* Riley (Acarina: Tyroglyphidae) en Francia, pero los resultados no fueron los esperados, la solución vino años más tarde al injertarse las cepas europeas sobre pies americanos resistentes al insecto. El primer éxito del control biológico llegó unos años más tarde, cuando este mismo entomólogo introdujo desde Australia a California la mariquita *Rodolia cardinalis* (Mulsant) (Coleoptera: Coccinellidae) que controló con total éxito la cochinilla acanalada *Icerya purchasi* (Maskell) (Homoptera: Margarodidae), que estaba ocasionando graves pérdidas en la citricultura de este estado americano. Desde este momento, la LB se empezó a contemplar con otros ojos y se depositaron en ella grandes esperanzas.

Sin embargo, la LB también puede presentar algún inconveniente (Wajnberg *et al.*, 2001; Pimentel, 2002), y así en el siglo XIX ya se vio la necesidad de establecer



cuarentenas para las especies que se introducían de un país a otro. Las cuarentenas, medidas legilastivas, reguladoras y actividades asociadas (erradicación y campañas de contención, vigilancia, evaluación de riesgos) encaminadas a minimizar el transporte y diseminación de organismos perjudiciales a las plantas por las actividades humanas (Ebbels, 2003), también se aplican a los agentes de control biológico sometidos a reglamentaciones fitosanitarias, que se confinan oficialmente para observarles, ya que pueden estar contaminados con patógenos o tener enfermedades o hiperparasitoides, pueden convertirse ocasionalmente en plagas si tienen alimentación mixta, pueden ser menos selectivos de lo que se pensaba o pueden producir graves alteraciones en los ecosistemas al desplazar a especies nativas (Jacas, 2002).

La LB sufrió aparentemente un olvido a partir de mediados de los años cuarenta que coincidió con el uso extensivo de los insecticidas de síntesis (Davies, 1991), pero se seguía trabajando en ella, y se dio un avance importante en 1942 cuando Wilkes aplica los principios de la genética a la producción masiva de enemigos naturales, mejorando por ejemplo su vigor y fecundidad (Narang *et al.*, 1994). Otra prueba del trabajo en la sombra sobre esta técnica lo constituye la fundación de la OILB en 1952. La LB volvió a ser centro de atención de los especialistas en el control de plagas en 1962, cuando Rachel Carlson publica en Estados Unidos su famoso libro *Silent spring* en el que habla de los problemas ambientales que estaba ocasionando el uso abusivo de plaguicidas.

Aunque la potencialidad de la LB es enorme, ya que el 25% de los insectos (y hay más de un millón de especies) son depredadoras o parasitoides en algún momento de sus ciclos de vida (Davies, 1991), en los 100 años de existencia de esta técnica, sólo se han ensayado unas 5500 especies de enemigos, de las que 420 han dado una reducción considerable de la plaga diana (Van Lenteren, 1993). En el futuro, todo parece indicar que se seguirá estimulando el uso de la LB porque cada vez se registran menos plaguicidas nuevos, las plagas siguen desarrollando resistencia a éstos y en todos los países desarrollados se quiere reducir el uso de la lucha química por los numerosos problemas ocasionados.

## **FUNDAMENTO ECOLÓGICO DE LA LB**

La LB tiene un fundamento ecológico en el que hay implicados tres factores: la población-comunidad, el equilibrio natural y el control natural (DeBach y Rosen, 1991; Bellows y Fisher, 1999). En la naturaleza, todas las especies existen como grupos de individuos que viven y se reproducen en una zona (población), donde conviven con otras especies, formando una comunidad. Las poblaciones de las plagas pueden sufrir variaciones de tamaño a corto plazo (por condiciones ambientales, enemigos, etc.) y tienen una estructura de edades que hace que en cierto momento,

haya sólo un estado de desarrollo o varios, dependiendo de la especie. El conocimiento de estos factores es fundamental para poder sincronizar plaga y enemigo. A largo plazo, sin embargo, la densidad de la población de una especie oscila en torno a un punto de equilibrio relativamente estable, y así hablamos de especies abundantes y raras. A este punto de equilibrio, se llega por la actuación del control natural, que regula la densidad de población de los organismos mediante la intervención de factores abióticos y bióticos, unos independientes de la densidad (clima, factores físicos o calidad del alimento), y otros dependientes de la misma (espacio, cantidad de alimento y enemigos naturales).

El uso de enemigos naturales por el hombre, se puede entender por tanto, como un paso del control natural, porque al introducir un enemigo de una plaga en el agroecosistema, la densidad de ésta bajará por debajo del umbral económico de daños (densidad de la plaga a partir de la cual hay pérdidas económicas en el cultivo y punto en el que se igualan el coste de las medidas de control con el aumento de rendimiento del cultivo (Stern, 1973)).

## AGENTES DE CONTROL BIOLÓGICO

Hay dos tipos de enemigos naturales artrópodos, depredadores y parasitoides, aunque a veces es difícil decir dónde acaba un tipo de vida y comienza el otro (Van Driesche y Bellows, 1996). A grandes rasgos, se considera que los depredadores son especies cazadoras que necesitan consumir varios individuos de sus presas. Por ejemplo, las larvas de sírfidos (dípteros) se alimentan de pulgones, mientras que sus adultos, parecidos a las avispas, son florícolas; los adultos de algunas hormigas son activos cazadores; las larvas de crisopas (neurópteros) son muy frecuentes en todo tipo de ecosistemas y se alimentan vorazmente de pulgones; adultos y larvas de mariquitas (coleópteros) son depredadoras de pulgones, cochinillas o ácaros, según la especie (Jervis y Kidd, 1996).

Los parasitoides consumen una sola presa para su desarrollo que es otro artrópodo de talla semejante (si es un vertebrado hablamos de parásitos), este consumo se realiza sólo durante su fase juvenil (larvas si son insectos) porque los adultos son de vida libre y el huésped muere finalmente. La mayoría de los parasitoides son himenópteros, como por ejemplo *Encarsia formosa* Gahan (Hymenoptera: Aphelinidae), pequeña avispa que se desarrolla sobre la mosca blanca *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) (Homoptera: Aleyrodidae), pero también hay buen número de taquíidos (moscas de talla algo superior a la doméstica) y, en menor cuantía, especies de otros órdenes de insectos o ácaros. Algunas especies de enemigos naturales importantes en España, se dan en el cuadro 1.

CUADRO 1. Algunas especies de enemigos importantes en España y sus huéspedes plaga

<b>DEPREDADORES</b>	
➤ HETEROPTERA; Anthocoridae	
<i>Anthocoris spp</i> s/ Psyllidae	<i>Orius spp.</i> s/Thysanoptera
➤ HETEROPTERA; Miridae	
<i>Macrolophus caliginosus</i> s/Aleyrodidae	<i>Diciphus tamaninii</i> s/Aleyrodidae
➤ DIPTERA; Cecidomyiidae	
<i>Aphidoletes aphidimiza</i> s/Aphidoidea	
➤ DIPTERA; Syrphidae	
Syrphidae s/ Aphidoidea	
➤ COLEOPTERA; Coccinellidae	
<i>Chilocorus bipustulatus</i> s/ Coccoidea	<i>Coccinella septempunctata</i> s/Aphidoidea
<i>Rodolia cardinalis</i> s/ <i>Icerya purchasi</i>	
<i>Cryptolaemus montrouzieri</i> s/ <i>Planococcus citri</i>	
➤ NEUROPTERA; Chrysopidae	
<i>Chrysoperla carnea</i> s/Aphidoidea	
➤ NEUROPTERA; Coniopterygidae	
<i>Conwentzia psociformis</i> s/Acari	
➤ ACARI; Phytoseiidae	
<i>Amblyseius spp</i> s/ <i>Tetranychus urticae</i>	<i>Phytoseiulus persimilis</i> s/ <i>T.urticae</i>
<b>HYMENOPTERA PARASITOIDES</b>	
<b>ICHNEUMONOIDEA</b>	
➤ Ichneumonidae	
<i>Hyposoter didymator</i> s/ Noctuidae	
➤ Braconidae	
<i>Cotesia glomerata</i> s/ <i>Pieris spp.</i>	<i>Dacnusa sibirica</i> s/Agromyzidae
<i>Psytalia (=Opius) concolor</i> s/ <i>Bactrocera oleae</i>	
➤ Aphidiidae	
<i>Aphidius spp</i> s/ pulgones	
<b>CHALCIDOIDEA</b>	
➤ Aphelinidae	
<i>Aphelinus mali</i> s/ <i>Eriosoma lanigerum</i>	<i>Encarsia formosa</i> s/ <i>T.vaporariorum</i>
<i>Aphytis spp.</i> s/Coccoidea	<i>Eretmocerus mundus</i> s/ <i>Bemisia tabaci</i>
<i>Cales noacki</i> s/ <i>A. floccosus</i>	
➤ Eulophidae	
<i>Diglyphus isaea</i> s/Agromyzidae	
➤ Encyrtidae	
<i>Leptomastix dactylopii</i> s/Coccoidea	

## Características deseables de los enemigos naturales para su uso en LB

Para aplicar la LB con éxito, hay unos requisitos previos imprescindibles que hay que conocer de los enemigos naturales: sus características biológicas (forma de reproducción, ciclos de vida, necesidades alimenticias, formas de romper la diapausa (parada de desarrollo con base genética, inducida en general por los días cortos en nuestras latitudes), relaciones parasitoide-huésped/huésped-planta); su sistemática y biosistemática (especies próximas, biotipos) y su biología (gama de huéspedes, costumbres, feromonas, etc.).

Idealmente, los enemigos naturales deben presentar como características deseables: elevada capacidad búsqueda, alta capacidad reproductora, alta especificidad, buena adaptación ambiental, alta capacidad de dispersión, estar libre de enemigos y tener una fácil cría masiva que nos permita disponer de grandes cantidades de ellos en los momentos precisos. En el esquema de la figura 1, se representa la secuencia de pasos por la que un parasitoide encuentra, reconoce y se desarrolla sobre su huésped.

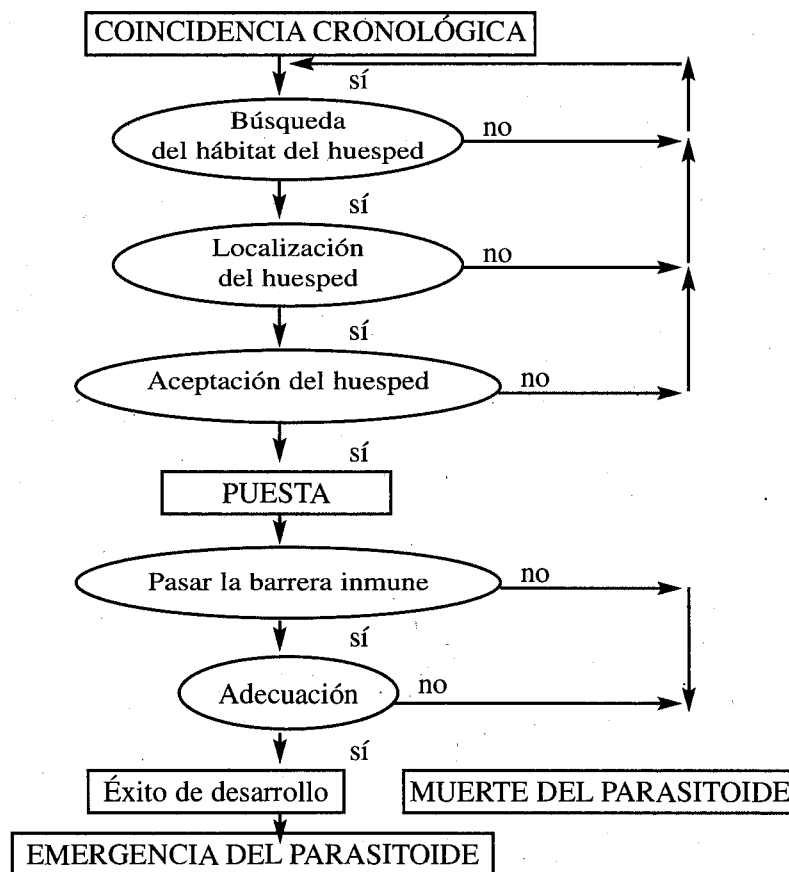


FIGURA 1: Secuencia de pasos en la búsqueda del huésped por un parasitoide

## ¿CÓMO USAMOS LOS ENEMIGOS NATURALES EN LA LB?

Hay fundamentalmente cuatro grandes métodos de control biológico, que tienen denominaciones diferentes según los distintos autores (cuadro 2) y que Eilenberg *et al.* (2001) en un intento de unificar la terminología denominan: conservación; control clásico; control inundativo y control inoculativo, términos aplicables tanto a la LB como a la LMB.

CUADRO 2. Equivalencias entre las denominaciones de los distintos tipos de LB

Van Lenteren (1993)	Flint y Dreistadt (1998)	Eilenberg <i>et al.</i> (2001)
Conservación	Conservación y aumento	Conservación
Inoculativo o Control Clásico	Importación o Control Clásico	Control Biológico Clásico
Inoculativo estacional	Aumento (Inoculativo e Inundativo)	Control Biológico Inoculativo
Inundativo	Control	Biológico Inundativo

En la conservación, se hace el ambiente del cultivo más favorable a los enemigos naturales presentes, dándoles refugios, alimento alternativo, etc. (Ejemplos: *Anthocoris nemoralis* (F.) (Heteroptera: Anthocoridae) y *Cacopsylla pyri* (L.) (Homoptera: Psyllidae) en peral). En los otros tres tipos de control biológico se introducen enemigos en los cultivos y una lista de los usados en Europa la proporciona la Organización Europea y Mediterránea para la Protección de las Plantas (EPPO, 2002). En el control clásico se importan enemigos exóticos del lugar de origen de la plaga, para tener un control permanente a largo plazo (ejemplo, *R. cardinalis* e *I. purchasi* en cítricos). En el control inundativo, se hacen introducciones repetidas de cantidades elevadas del enemigo para un control suficiente de la plaga (ejemplo, *Trichogramma* y taladros del maíz). En el control inoculativo, se introduce el enemigo en cantidades más bajas, esperando que se multiplique en el cultivo y dé un control de la plaga durante un largo período, aunque no de forma permanente (ejemplo, *E. formosa* y *T. vaporariorum* en los invernaderos). Las características deseables de los enemigos son diferentes según el tipo de LB (cuadro 3) (Van Lenteren, 1993).

CUADRO 3. Características deseables de los enemigos naturales según su uso

Características del enemigo natural	LB clásica	LB inoculativa	LB inundativa
Sincronización estacional con huésped	+	-	-
Sincronización interna con huésped	+	+	-
Adaptación climática	+	+	+
Sin efectos negativos	+	+	+
Facilidad de cría masiva	-	+	+
Especificidad de huésped	+	-	-
Alto potencial reproductor	+	+	-
Buena respuesta densidad dependiente	+	+	+/-

+ = importante - = no importante

### IMPORTANCIA DE LA LB DENTRO DE LAS TÉCNICAS DE CONTROL

Dentro de las herramientas de MIP, hoy en día y a escala mundial, se pone énfasis especialmente en el uso conjunto de enemigos naturales y plaguicidas selectivos (Minks *et al.*, 1998), porque reconocemos la gran importancia de estos eficaces aliados. Los enemigos naturales, aunque en general hay pocos ejemplos en los que controlen por sí solos una especie plaga (ejemplo: la mariquita *R. cardinalis* y la cochinilla acanalada *I. purchasi* o el himenóptero *Cales noacki* Howard (Hymenoptera: Aphelinidae) y la mosca blanca de los cítricos *Aleurothrixus floccosus* (Maskell) (Homoptera: Aleyrodidae), ayudan a disminuir las densidades de población de muchas plagas y a mantenerlas a niveles notablemente más bajos de los que alcanzarían en su ausencia, reportándonos por tanto un gran beneficio al hacer posible una reducción en el número de intervenciones a efectuar con otras técnicas de control, químicas o no (Pedigo, 1991).

Aunque es difícil cuantificar en términos monetarios las pérdidas de las plagas y la acción favorable de los enemigos (Pimentel y Greiner, 1997), los efectos nocivos de la eliminación de éstos es clara. Si no actúan, hay mayor ataque de plagas, y esto se traduce en mayores daños al cultivo y mayor aplicación de plaguicidas para poder producir económicamente.

Por otro lado, cuando se interfiere con la LB, como por ejemplo con el uso de plaguicidas de amplio espectro, puede haber una resurgencia de ciertas plagas o una explosión de las secundarias (ejemplo: ácaros tetránquidos o minadoras de hojas), y la importancia de ambas se puede disminuir simplemente, con un manejo adecuado de los plaguicidas que respete sus enemigos naturales presentes en los cultivos.

Somos conscientes, sin embargo, de que los plaguicidas van a seguir jugando un papel predominante en este siglo en la protección de cultivos debido a nuestra incapacidad de poder controlar de manera satisfactoria con otras técnicas, algunas de las plagas llaves que amenazan la producción económica de nuestros cultivos (ejemplo: la mosca mediterránea de la fruta *Ceratitis capitata* (Wied.)). Por lo tanto, en principio, no parece posible pensar que se pueda llegar a prescindir de los plaguicidas a corto plazo en el control de plagas, pero lo que sí tenemos que hacer es mejorar su uso con la finalidad de conseguir el máximo respeto por el medio ambiente, e intentar minimizar así los gravísimos problemas ocasionados desde que se intensificó el uso de productos de síntesis en los años cuarenta: desarrollo de resistencias, contaminación de aguas y suelos, residuos en cosechas, eliminación de enemigos naturales y polinizadores, toxicidad en los aplicadores, etc. (Pimentel y Greiner, 1997).

## **PROBLEMAS DEL USO DE PLAGUICIDAS JUNTO CON LA LB**

El uso conjunto de enemigos naturales y plaguicidas tiene un problema: los tratamientos fitosanitarios suelen afectar más a los enemigos que a las plagas porque la forma más corriente en que se contaminan aquéllos en la naturaleza es entrando en contacto con residuos (Croft, 1990), y los enemigos en general suelen ser de talla más pequeña que las plagas (ofrecen comparativamente una mayor superficie de contacto en relación a su volumen), son más móviles, son muy dependientes de sus huéspedes pudiendo morir en ausencia de densidad suficiente de éstos, y tienen unos sistemas enzimáticos más pobres. Por tanto, una premisa previa e imprescindible para su uso conjunto es estudiar los efectos que los plaguicidas les causan, para poder seleccionar aquellos que sean selectivos.

Los plaguicidas pueden matar a los enemigos directa o indirectamente. Directamente, porque se contaminan con los residuos que hay sobre la planta, pero también porque entran en contacto con gotas durante el tratamiento, o porque ingieren líquidos o sustancias azucaradas contaminadas, y el efecto del plaguicida sobre el enemigo puede ser agudo (mortalidad), que es fácilmente observable, o subletal que son cambios a largo plazo en la esperanza de vida, fisiología o comportamiento, más difíciles de observar pero igualmente importantes. Indirectamente, un plaguicida puede afectar al enemigo a través de la cadena trófica (los depredadores pueden ingerir presas contaminadas y los parasitoides pueden parasitar huéspedes contaminados), o porque reduzcan demasiado las poblaciones del huésped plaga y los enemigos se ven incapaces de actuar.

Así, y con la finalidad de respetar los enemigos naturales, la Unión Europea estableció por vez primera en su directiva 91/414/CEE (DOCE, 1991), la obligatoriedad de hacer estudios ecotoxicológicos previo al registro de plaguicidas en los países miembros, iniciativa pionera en el mundo. La OILB, por otra parte, tiene desde 1974 un grupo de trabajo denominado Plaguicidas y Organismos Beneficiosos, que tiene

por objetivo dar apoyo a las actividades de MIP, mediante la identificación y uso correcto de plaguicidas que sean compatibles con los enemigos naturales, trabajando activamente en la normalización de métodos de medida basados en la exposición de los enemigos a residuos, y habiendo publicado abundantes datos sobre los efectos de gran número de plaguicidas en numerosos enemigos de interés, en los que se ha puesto de manifiesto la diferente susceptibilidad de los distintos estados de desarrollo del enemigo (ver por ejemplo la revisión de Viñuela *et al.*, 2002).

Para reducir el impacto negativo de los plaguicidas en los enemigos, tenemos pues que modificar su uso, o bien disminuyéndolo mediante el empleo de umbrales de tratamiento y el uso de aquellas técnicas de protección a nuestra disposición que no sea la lucha química; o bien mejorándolo. Para mejorarlo, podemos tratar de bajar el riesgo que el plaguicida supone para el enemigo, usando plaguicidas selectivos fisiológicamente (productos intrínsecamente selectivos con DL<sub>50</sub> elevadas) o reduciendo la dosis aplicada (ejemplo: menor número de tratamientos; tratar solo el estado más sensible del fitófago). Otra posibilidad es disminuir la exposición del enemigo trabajando con la selectividad ecológica del plaguicida, evitando la coincidencia espacial entre ambos (ejemplo: formulaciones selectivas; aplicaciones localizadas), o la temporal (ejemplo: plaguicidas poco persistentes) (Croft, 1990).

## VENTAJAS E INCONVENIENTES DE LA LB

La LB presenta una serie de ventajas como: persistencia (si logramos establecer el enemigo); no es contaminante (no hay residuos); rapidez (si el enemigo es bueno, el efecto se ve rápido); no estimula el desarrollo de resistencia; no altera la categoría de las plagas; tener un coste de desarrollo no elevado; o crea las condiciones favorables para el uso de polinizadores en algunos cultivos hortícolas importantes. Una comparación de algunas características de la LB y la lucha química se dan en el cuadro 4 (Van Lenteren, 1993).

CUADRO 4. Características de la LB y la lucha química

	LUCHA BIOLÓGICA	LUCHA QUÍMICA
Nº ensayado	5.500	>1 millón
Tasa éxito	1: 20	1: 30.000
Coste desarrollo	2 millones \$ (1986)	100 millones \$ (1986)
Tiempo desarrollo	10 años	10 años
Beneficio/inversión	30	2,5-5
Riesgo de resistencia	nulo-pequeño	grande
Especificidad	grande	pequeña
Efectos secundarios	nulos-pocos	muchos



La LB tiene, sin embargo, también alguna desventaja y algún efecto indeseable. Entre las desventajas podemos citar: efecto a largo plazo (el agricultor los quiere más inmediatos); no siempre tiene éxito (la densidad de equilibrio que alcanza la plaga es insuficiente para producir económicamente); no siempre es aplicable (no hay enemigo eficaz) y la densidad de plaga para que el enemigo actúe, no debe ser ni muy baja ni demasiado alta. Entre los efectos indeseables de la LB, hay muy pocos ejemplos en el control de artrópodos, pero puede darse un desplazamiento de especies nativas de entomófagos; un efecto perjudicial sobre entomófagos nativos al consumir los enemigos introducidos sus presas; o una baja eficacia de la técnica si el enemigo generalista se alimenta de presas no diana (Wajnberg *et al.*, 2001).

Sin embargo, las ventajas de esta estrategia de control superan con creces a los pequeños inconvenientes, por lo que es un método de control de plagas muy popular hoy en día, siendo su uso más corriente en coordinación con otras técnicas respetuosas con el medio ambiente, ya que suelen coexistir en los cultivos en tiempo y espacio, diferentes problemas de plagas, patógenos o malas hierbas, para los cuales no siempre disponemos de un agente de control biológico eficaz.

En el éxito de la LB, el agricultor juega un papel fundamental, puesto que es él quien tiene que aplicarla a sus cultivos. Por ello es necesario que tenga buenos conocimientos del concepto de LB y los mecanismos implicados, sepa reconocer a los enemigos presentes en sus cultivos, conozca su biología-ecología y las técnicas de muestreo de ellos, ya que todo esto le ayudará a tomar la decisión correcta de manejo del cultivo. Por otra parte, y con la finalidad de mejorar su formación, es deseable que los servicios oficiales de Sanidad Vegetal le den apoyo mediante cursos de formación o la ayuda de técnicos especializados.

## **LEGISLACIÓN SOBRE LB**

Para que todas las personas implicadas en el control de plagas confíen en la LB, su eficacia sea la esperada y se prevengan efectos indeseables como desequilibrios en los ecosistemas, hay mucho por hacer en lo referente a la legislación de esta estrategia de control en aspectos tales como: registro de parasitoides y depredadores, importación y liberación de especies no autóctonas y calidad de los enemigos naturales comercializados.

La UE no tiene aún un registro de agentes de control biológico (sí existe en algún país europeo), pero es necesario que se establezca, ya que ayudará a la puesta en práctica de esta estrategia.

La importación y liberación de especies de enemigos naturales no autóctonos para el control biológico clásico tampoco está legislada más que en ciertos países europeos. En España debe ser autorizada por el Ministerio de Agricultura, Pesca y

Alimentación, previo informe del Ministerio del Medio Ambiente (Anónimo, 2002) y su reglamentación sigue el código de conducta de la FAO (1996) y los protocolos de la EPPO para la introducción (EPPO, 1999) y liberación (EPPO, 2000) de enemigos naturales. La necesidad de una regulación a escala europea es clara, porque armonizará regulaciones entre países, fijará responsabilidades, evitará efectos indeseables y establecerá protocolos normalizados a seguir por las organizaciones públicas y privadas. Entre los datos a requerir estarían: test de eficacia del enemigo con la especie plaga problema; estimación de efectos ambientales; base de datos con distribución geográfica, posibles huéspedes y posible influencia en el ecosistema (FAO, 1996; Van Lenteren, 2003).

El uso comercial de los enemigos naturales (inundativo o inoculativo) no empezó en Europa hasta 1968 con los ácaros fitoseidos, pero se ha extendido notablemente en la actualidad, en especial en los invernaderos, demandando una regulación. La introducción de enemigos naturales en España, por parte de las casas comerciales multinacionales no está regulada, así que en sus catálogos encontramos con frecuencia especies que no están presentes de forma natural en nuestro país. Por otro lado, hay una necesidad de garantizar la calidad de los enemigos a los consumidores, y la industria del biocontrol, con la finalidad de asegurar la confianza de los clientes, quiere desarrollar un certificado de calidad, que incluya criterios definidos por el grupo de trabajo de la OILB Control de Calidad de Artrópodos Criados Masivamente, como número de enemigos vivos, proporción sexual, fecundidad, tasa de depredación, talla, capacidad de vuelo o comportamiento en campo (Van Lenteren, 1996, 2003).

## BIBLIOGRAFÍA Y PÁGINAS WEB

- ANÓNIMO (2002). Ley 43/2002 de 20 de noviembre, de sanidad vegetal. *BOE 21-XI-2002*.
- BELLOWS, T. S. y FISHER, T. W. (eds). (1999). *Handbook of biological control*. Academic Press. San Diego (EE UU), 1046 pp.
- BOLLER, E. F.; EL TITI, A.; GENDRIER, J. P.; AVILLA, J.; JÖRG, E. Y MALAVOLTA, C. (1999). *Integrated production. Principles and technical guidelines*. 2<sup>nd</sup> ed. *IOBC wprs Bulletin*, 22, 37.
- CROFT, B. A. (1990). *Arthropod biological control agents and pesticides*. John Wiley and Sons. New York (EE UU). 723 pp.
- DAVIES, R. G. (1991). *Introducción a la entomología*. Mundi Prensa. Madrid. 449 pp.

- DEBACH, P. y ROSEN, D. (1991). *Biological control by natural enemies*. 2<sup>nd</sup> ed. Cambridge University Press. Cambridge (Reino Unido), 440 pp.
- DOCE, (1991). Directiva 91/414/EEC relativa a la comercialización de productos fitosanitarios. *Diario oficial de las comunidades europeas* (15-7-91), L230: 1-32.
- EBBELS, D. L. (2003). *Principles of plant health and quarantine*. CABI Publishing. Oxon. (Reino Unido), 302 pp.
- EILENBERG, J.; HAJEK, A. y LOMER, C. (2001). Suggestions for unifying the terminology in biological control. *Biocontrol*, 46: 387-400.
- EPPO (1999). *Eppo standards. Safe use of biological control. First import of exotic biological control agents for research under contained conditions*. <http://www.eppo.org/Standards/bio.html>
- EPPO (2000). *Eppo standards: Safe use of biological control. Import and release of exotic biological control agents*. <http://www.eppo.org/Standards/bio.html>
- EPPO (2002). *Lists list of biological control agents widely used in the Eppo region*. [http://www.eppo.org/QUARANTINE/biocontrol/bio\\_list.html](http://www.eppo.org/QUARANTINE/biocontrol/bio_list.html)
- FAO (1996). *Código de conducta para la importación y liberación de agentes exóticos de control biológico*. <http://www.fao.org/WAICENT/FaoInfo/Agricult/AGP/PQ/Dwfault.htm>
- FLINT, M. L. y DREISTADT, S. T. (1998). *Natural enemies handbook. The illustrated guide to biological pest control*. University of California Press. Berkely (EEUU), 154 pp.
- HOKKANEN, H. y LYNCH, J. M. (eds.) (1995). *Biological Control. Benefits and Risks*. Cambridge University Press. Cambridge (Reino Unido), 304 pp.
- JACAS, J. (2002). La introducción de enemigos naturales exóticos para control biológico: ¿un riesgo controlado? *Phytoma España*, 144: 128-132.
- JERVIS M. y KIDD, N. (1996). *Insect natural enemies. Practical approaches to their study and evaluation*. Chapman and Hall. London (Reino Unido), 491 pp.
- KOGAN, M. (1998). Integrated pest management: historical perspectives and contemporary developments. *Annual Review of Entomology*, 43: 243-270.
- MAPA (2002). Real decreto 1201/2002 de 20 de noviembre por el que se regula la producción integrada de productos agrícolas. *BOE 30-XI-2002*.
- MINKS, A. K.; BLOMMERS, L. H. M.; RAMAKERS, P. M. J. y THEUNISSEN, J. (1998). Fifty years of biological and integrated control in Western Europe: accomplishments and future prospects. *Med. Fac. Landbouww. Univ. Gent*, 63/2a: 165-181.

- NARANG, S. K.; BARTLETT, A. C. y FAUST, R. M. (1994). *Applications of genetics to arthropods of biological control significance*. CRC Press. Boca Ratón (EEUU), 198 pp.
- PEDIGO, L. P. (1991). *Entomology and pest management*. McMillan. New York. (EEUU), 646 pp.
- PIMENTEL, D. (2002). *Biological invasions. Economic and environmental costs of alien plant, animal and microbe species*. CRC Press. Boca Ratón (EEUU).
- PIMENTEL, D. y GREINER, A. (1997). Environmental and socio-economic cost of pesticide use. En: *Techniques for reducing pesticide use. Economic and environmental benefits*, ed. PIMENTEL, D. 51-78 pp. Wiley and Sons. Chichester (Reino Unido).
- STERN, V. N., (1973). Economic thresholds. *Annual Review of Entomology*, 18: 259-280.
- VAN LENTEREN, J. C. (1993). Biological control of pests. En: *Modern crop protection: developments and perspectives*, ed. ZADOKS, J. C. 179-187 pp. Wageningen Pres. Wageningen (Holanda).
- VAN LENTEREN, J. C. (1996). Quality control tests for natural enemies used in greenhouse biological control. *IOBC/wprs Bulletin*, 19(1): 79-82.
- VAN LENTEREN, J. C. (2003). Need for quality control of mass-produced biological control agents. En: *Quality control and production of biological control agents. Theory and testing procedures*: ed. VAN LENTEREN, J.C. 1-19 pp. CABI Publishing. Oxon (Reino Unido).
- VAN DEN BOSCH, R.; MESSENGER, P. S. y GUTIERREZ, A. P. (1982). *An introduction to biological control*. Plenum Press. Alesbury (EEUU), 247 pp.
- VAN DRIESCHE, R. G. y BELLOWS JR., T. S. (1996). *Biological control*. Chapman and Hall. New York. (EEUU), 539 pp.
- VIÑUELA, E.; GONZÁLEZ, M.; VOGT, H. y JACAS, J. (2002). Efectos secundarios de los plaguicidas en los enemigos naturales. Necesidad de su estudio para la autorización de productos en Producción Integrada y otros modernos sistemas productivos. *Phytoma España*. Primera parte, 133: 21-25. Segunda parte, 136: 26-33. Tercera parte, 137: 22-32.
- VIÑUELA E. y JACAS, J. (1993). *Los enemigos naturales de las plagas y los plaguicidas*. Hojas Divulgadoras 2/93. MAPA, Madrid. España, 24 pp.
- WAINBERG, E.; SCOTT, J. K. y QUIMBY, P. C. (2001). *Evaluating indirect ecological effects of biological control*. CABI. (Reino Unido), 261 pp.

WIJNANDS, F. G. y KROONEN-BACKBIER, B M A. (1993). Management of farming systems to reduce pesticide inputs: the integrated approach. En: *Modern crop protection: developments and perspectives*, ed. ZADOKS, J. C., 227-234 pp. Wageningen Press. Wageningen (Holanda).

# CONTROL BIOLÒGIC: DEL CONTROL CLÀSSIC A LA CONSERVACIÓ

RAMON ALBAJES

Àrea de Protecció de Conreus, Centre UdL-IRTA, Universitat de Lleida,  
Rovira Roure 191, 25198 - Lleida  
ramon.albajes@irta.es

Aquestes línies van ser exposades com una lliçó dintre del curs de «Control biològic de plagues, malalties i males herbes i la sostenibilitat de l'agricultura mediterrània» organitzat per la Universitat Jaume I. He conservat l'estructura i contingut de la presentació per tal de mantenir l'objectiu docent que originalment se'm va assenyalar. He pretès donar la prioritat a l'exposició de conceptes més que a receptes de manual pràctic. Així doncs, els exemples descrits tracten d'il·lustrar les explicacions més que d'ensenyar a procedir en situacions concretes. Això darrer queda fora de l'abast d'aquest capítol, que és introductori del volum, i de ben segur el lector ho trobarà en els capítols dedicats al control biològic en conreus concrets. Tampoc he pretès fer un llistat de referències bibliogràfiques del tema ans he seleccionat els documents que poden abastar els grans temes abordats en aquest capítol. Tot i que tots plegats hem fet un esforç per a evitar repeticions d'un capítol a l'altre, probablement n'hi queden; tal vegada no és dolent que així sigui. Al cap i a la fi tot hom diu que cal evitar de ser dogmàtics en l'aplicació del control biològic i això ens permet ser diversos en les aproximacions al tema.

## INTRODUCCIÓ: LES BASES ECOLÒGIQUES DEL CONTROL BIOLÒGIC

L'agricultura opera sobre un ecosistema relativament simplificat on hi reduïm dràsticament el nombre d'espècies productores per a deixar-n'hi habitualment una de sola, la planta cultivada (figura 1). Fruit d'aquesta simplificació, els esglaons següents contenen un nombre d'espècies també molt reduït que pot consistir en unes desenes d'herbívors, patògens i sapròfags com a consumidors primaris, alguns parasitoides, depredadors i entomopatògens com a consumidors secundaris i etcètera. L'agricultura pretén magnificar la productivitat d'una sola espècie, la conreada o,

per a ser més exactes, una part d'aquesta planta, que és la que s'aprofita. Això mira d'aconseguir-ho tot augmentant la fixació de l'energia solar per la planta i la seva conversió en biomassa; ha estat el principal objectiu de l'anomenada revolució verda que ha permès augmentar espectacularment els rendiments agrícoles en la segona meitat del segle XX i que, malgrat les crítiques que se li poden fer, ha mitigat en part la fam en el món.

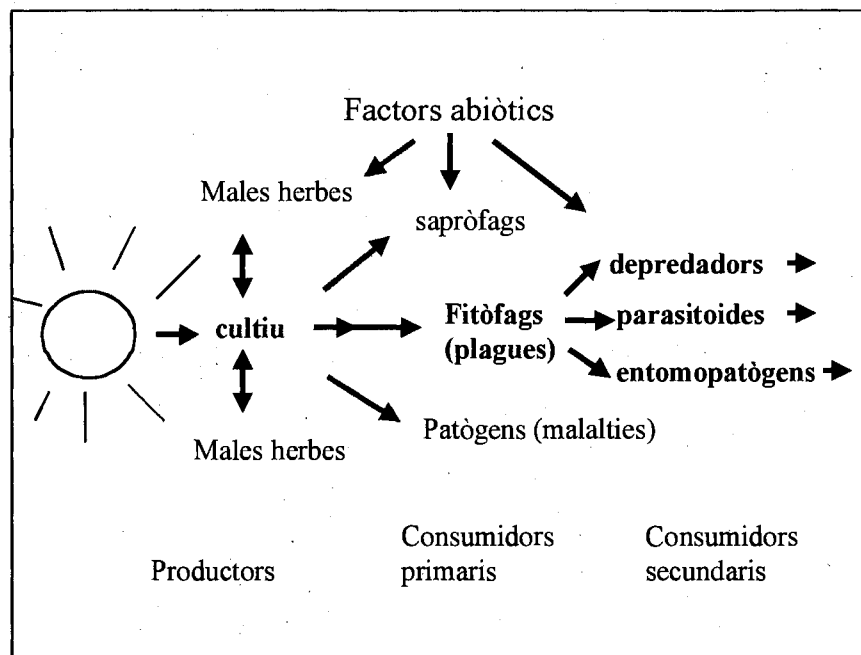


FIGURA 1. Esquema dels components i relacions tròfiques en un agroecosistema on els components directament implicats en el control de plagues hi són destacats

Hom s'adonà aviat, tanmateix, que aquest únic objectiu de la innovació en l'agricultura conduïa a un atzucac; valgui per a il·lustrar-ho aquella afirmació de Pimentel que en la segona part del segle XX les pèrdues degudes a plagues es doblà malgrat que l'ús de pesticides es multiplicà per 10. És evident que aquesta tendència és insostenible. Hom s'adonà aleshores que calia optimitzar tot un sistema de components i relacions més que focalitzar l'estratègia en un sol punt. L'observació, de nou, de la figura 1 ens permet deduir que optimitzar la producció no solament s'aconsegueix augmentant la fletxa d'entrada sinó també disminuint-hi les fletxes de sortida mitjançant la reducció de l'accés, per exemple, dels herbívors a la planta cultivada o, també, disminuir la densitat de les plagues afa-

vorint els consumidors secundaris corresponents. La figura 2 il·lustra aquest darrer mecanisme.

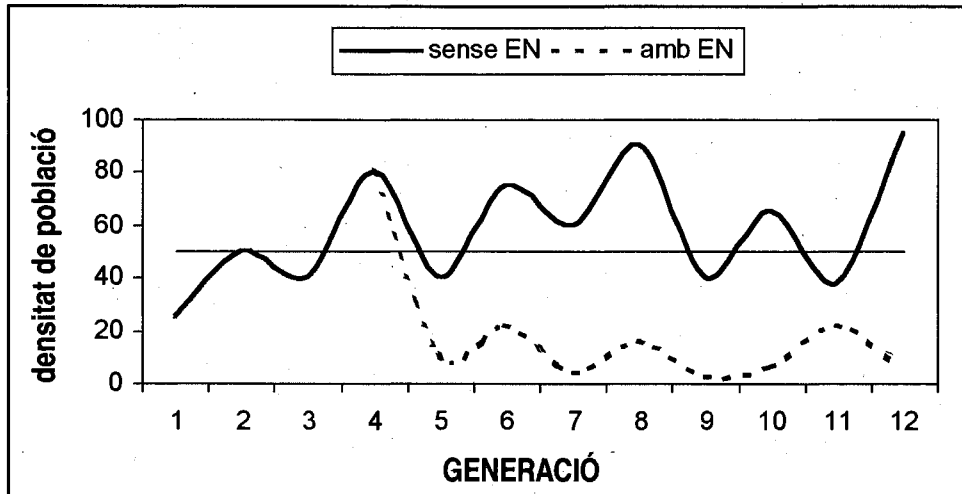


FIGURA 2. Disminució de la densitat d'una plaga en un cultiu per l'acció d'un enemic natural (EN) que s'hi ha introduït o s'hi ha permès la seva activitat. La línia horitzontal representa un llindar hipotètic de danys

Hom sap que els enemics naturals constitueixen un factor de regulació natural de primera magnitud, gràcies al qual només uns pocs fitòfags dels que podríem inventariar en un agroecosistema arriben a densitats perjudicials per als cultius. El control biològic pretén manipular aquest mecanisme de regulació per tal de reduir la densitat de les plagues. Això ho aconsegueix mitjançant tècniques diverses que podem agrupar en tres tipus: per inoculació, per inundació i per conservació i augmentació.

### CONTROL BIOLÒGIC PER INOCULACIÓ

També se l'anomena control biològic clàssic ja que fou la tècnica imperant en els inicis del control biològic modern. Consisteix en la introducció en un cultiu o en una zona de cultiu d'una espècie d'enemic natural exòtic per tal de controlar una plaga també exòtica. La quantitat d'enemic natural introduït és habitualment poca i s'espera que s'instal·li a la zona, es reproduïxi i al cap d'unes quantes generacions arribi a controlar la plaga. De vegades, la instal·lació i supervivència del nou enemic natural només es perllonga durant la vida del conreu i cal reinocular-lo amb un nou



conreu. D'aquesta modalitat de control biològic se n'ha dit control biològic per inoculació estacional per a indicar que cal inocular l'enemic natural de manera periòdica. Una altra variant del control biològic clàssic és el neoclàssic en el qual l'enemic natural exòtic, que s'introdueix en un cultiu, va dirigit al control d'una espècie indígena.

La importació de la marieta *Rodolia cardinalis* (Mulsant) (Coleoptera: Coccinellidae), procedent d' Austràlia, per al control de la cotxinilla *Icerya purchasi* Maskell (Homoptera: Margarodidae) en els cítrics de Califòrnia en la segona meitat del segle XIX sol citar-se com l'inici del control biològic modern. El procediment que aleshores se seguí, amb les millores que posteriorment s'hi ha introduït, està relativament estandarditzat actualment per al control biològic per inoculació i es pot resumir en les cinc etapes següents (Van Driesche i Bellows, 1998): (1) exploració i recol·lecció d'enemics naturals, (2) enviament dels enemics naturals recol·lectats, (3) processament del material en quarantena, (4) comprovació de la seguretat i (5) alliberament en camp i avaluacions inicials. Pot consultar-se la font bibliogràfica assenyalada o una altra de similar per a comprovar que aquestes cinc etapes consisteixen en autèntics programes que precisen d'una infraestructura *in situ* i també internacional, personal format i finançament que no es poden improvisar i que només estan a disposició actualment d'uns pocs països.

Al llarg de la història, els programes de control biològic clàssic han representat èxits espectaculars per bé que també fracassos evidents en la seva aplicació i en qualsevol cas s'han d'anotar al seu haver alguns beneficis indirectes inqüestionables (DeBach i Rosen, 1991). Han demostrat repetidament que és una metodologia aplicable a la pràctica per al control de plagues, han obligat a estendre l'interès, l'estudi i l'aplicació del control biològic arreu del món a partir de les bases logístiques disseminades per a les expedicions de recerca i recol·lecció d'enemics naturals, i també han impulsat els estudis teòrics de les relacions presa-depredador –que constitueixen la base científica del control biològic– i en d'altres àmbits del coneixement com l'ecologia i taxonomia d'insectes.

Entre molts dels aspectes del control biològic que han suscitat l'interès i el debat dels ecòlegs hi ha l'establiment de l'enemic natural exòtic en la nova zona on tractem de controlar la nova plaga. L'èxit en l'establiment és el que habitualment perseguim i per tant els factors que hi són implicats han estat estudiats a bastament. Tanmateix, avui es reconeix que de vegades l'establiment és un risc per a la fauna autòctona i el control biològic clàssic –i en particular el neoclàssic– pot ser inacceptable. No es tracta aquí de dedicar-hi un espai significatiu, però sí d'esmentar alguns temes a fi de que el lector hi reconegui aspectes del debat modern de l'ecologia i genètica de poblacions i també de l'aplicació del control biològic per inoculació (quadre 1).

QUADRE 1. Alguns temes que el desenvolupament del control biològic per inoculació ha suscitat i que són objecte de debat i d'estudi en l'ecologia i genètica de poblacions.

Les poblacions d'enemics naturals no són homogènies en la seva constitució genètica –com no ho són les espècies en general– i per tant els *diferents biotipus* poden tenir una eficàcia diferent en el control biològic segons la zona geogràfica, presa/hoste a controlar, cultiu a tractar, etcètera. El marcat i reconeixement d'aquests biotipus pot tenir interès per a la comercialització dels enemics naturals en el control per inoculació estacional.

Les importacions dels enemics naturals poden arrossegar els seus depredadors i parasitoides (*hiperparasitoides*) que, en general, poden comprometre l'eficàcia del control o interferir amb els enemics naturals autòctons.

L'*estabilitat* dels hàbitats on els enemics naturals importats han d'actuar pot tenir la seva importància i tot i que s'ha dit que els hàbitats més perennes –llenyosos, conreus herbacis plurianuals, boscos, prats, etc.– són més propicis per al control biològic hi ha exemples que en d'altres hàbitats més efímers també el control biològic s'hi ha aplicat amb èxit.

El nou enemic natural pot competir –tant de forma passiva com activa– amb les *espècies indígenes i desplaçar-les*. Aquest es un tema que ha generat un gran debat en la darrera dècada que ha obligat als governs a legislar sobre el comerç i utilització d'enemics naturals exòtics. Hi dediquem a aquest tema una mica més d'espai paràgrafs més avall.

L'*adaptabilitat* dels enemics naturals a nous hàbitats o a hàbitats canviants depèn de la *riquesa genètica* –polimorfisme– de les poblacions inicialment introduïdes. Sovint les importacions són d'un nombre reduït d'individus i la descendència instal·lada serà excessivament homogènia.

Ja hem esmentat que els riscos del control biològic per inoculació d'enemics naturals exòtics estan essent objecte de gran debat i han obligat a legislar el seu comerç i ús (Follett i Duan, 2000). De bon començament fou l'extinció d'espècies indígenes el principal risc apuntat tot i que amb prou feines es pot documentar seriosament cap exemple (Howarth, 1991). Això implicaria que es coneixen la distribució i densitats habituals de les espècies de la fauna autòctona i aquests valors es mesuren després de la introducció de la/es nova/es espècie/s d'enemic natural, no solament en els punts d'alliberament ans en una àrea suficientment àmplia. Tanmateix, aquesta manca d'estudis detallats no nega l'existència de riscos d'extinció d'espècies indígenes. Posteriorment, els riscos se centraren en l'impacte sobre funcions ecològiques determinades més que en el catàleg d'espècies i en les relacions en els ecosistemes afectats. En aquest darrera aproximació s'hi inclouen lògicament els insectes fitòfags. Fruit d'aquestes inquietuds han estat les iniciatives reguladores europees (veure capítol 12 d'aquest llibre).

Hom ha especulat força sobre quins atributs dels enemics naturals els feia més perillosos per a la fauna autòctona a l'hora de plantejar el seu alliberament en control bio-

lògic clàssic. D'entre ells la polifàgia ha estat probablement el més assenyalat basant-se en el fet de que com més polífaq és un depredador (els parasitoides no ho són tant, en general) més probabilitat té d'alimentar-se sobre determinats enemics naturals indígenes. Val a dir, tanmateix, que els depredadors generalistes rarament són capaços de reduir molt les densitats de les seves preses i per tant de portar-les a l'extinció.

Hi ha força exemples de control biològic per inoculació a Europa. En el quadre 2 se n' en citen alguns de propers. Malgrat els inconvenients que té, el control biològic per inoculació pot ser una manera d'iniciar l'aplicació del control biològic en una zona, reduir-hi l'aplicació de pesticides i permetre que els enemics naturals indígenes recolonitzin els hàbitats agrícoles i s'hi pugui intervenir amb control biològic de conservació i augmentació.

#### QUADRE 2. Alguns exemples de control biològic per inoculació al sud d'Europa

La mosca blanca dels cítrics, *Aleurothrixus floccosus* (Maskell) (Homoptera: Aleyrodidae) s'introdueix a Espanya a les darreries dels anys 60 via les Illes Canàries; la seva distribució per tota la Península a començaments dels 70 produeix pèrdues importants sense que el control amb pesticides fos gaire eficaç. En aquella època s'introdueixen al sud de la Península una sèrie de parasitoides entre els quals *Cales noacki* Howard (Hymenoptera: Aphelinidae) aviat s'instal·la colonitzant la zona cítrica espanyola tot reduint dràsticament les densitats de la mosca blanca. Des d'aleshores qualsevol acció de control en cítrics ha de comptar amb el respecte a aquest parasitoide per tal d'evitar que la mosca blanca torni a proliferar.

Un exemple típic de control biològic per inoculació estacional és el control de la mosca blanca dels hivernacles, *Trialeurodes vaporariorum* (Estwood) (Homoptera: Aleyrodidae), mitjançant el parasitoide exòtic *Encarsia formosa* Gahan (Hymenoptera: Aphelinidae), l'ús del qual es començà a estendre en el conreu protegit europeu als anys 70 i que a mitjans dels 80 s'implantà també comercialment a Catalunya, a la comarca del Maresme. Cal introduir el parasitoide als hivernacles cada cop que s'inicia un nou conreu donat que aquesta espècie molt rarament és capaç de sobreviure en la Mediterrània a l'exterior. Per al control de la mosca blanca en aquest darrer medi, s'introduí a Itàlia una altra espècie d'*Encarsia*, *Encarsia pergandiella* Howard (Hymenoptera: Aphelinidae), adaptada a temperatures més baixes que *E. formosa*. En el decurs dels anys 80 i 90 aquesta nova espècie s'entengué per tota la Mediterrània i exhibí una clara interferència amb *E. formosa* tot fent-la sovint ineficaç (figura 3). És difícil saber amb fonament els beneficis aportats aquí per *E. pergandiella* al control de mosca blanca al llarg d'aquests anys però és evident el risc que suposa la seva proliferació per als parasitoides indígenes de mosca blanca donat el seu caràcter d'autoparasitoide.

La inoculació del parasitoide polífaq de pugons *Lysiphlebus testaceipes* (Cresson) (Hymenoptera: Braconidae) a mitjans dels 70 al sud de França per al control de dos pugons exòtics de cítrics és un altre exemple de control biològic clàssic a la Mediterrània. Des d'aleshores l'espècie s'ha distribuït àmpliament per les nostres latituds parasitant un gran nombre d'espècies de pugons, evidentment la major part indígenes, predominant en molts casos sobre espècies indígenes de parasitoides. Un cop més cal dir que és difícil fer un balanç dels beneficis i perjudicis causats per la introducció d'aquest enemic natural exòtic. Aquest cas té unes característiques interessants que permet posar-nos en guàr-

dia respecte al dogmatisme en la pràctica del control biològic. *L. testaceipes* és originari de Cuba i va permetre controlar dos pugons, *Toxoptera aurantii* (Boyer de Fonscolombe) (Homoptera: Aphididae) i *Aphis citricola* van der Goot (Homoptera: Aphididae), també exòtics però de procedència ben diferent com és el sud-est asiàtic. L'àrea de distribució geogràfica actual del parasitoide inclou els vessants oriental i occidental de la Mediterrània i la costa atlàntica portuguesa, de condicions ben diferents a les del seu origen geogràfic cubà.

Un altre exemple de control biològic clàssic ben recent és el que s'està intentant implantar per al control de la minadora de fulles de cítrics *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera: Gracillariidae) (veure el capítol 10 d'aquest llibre).

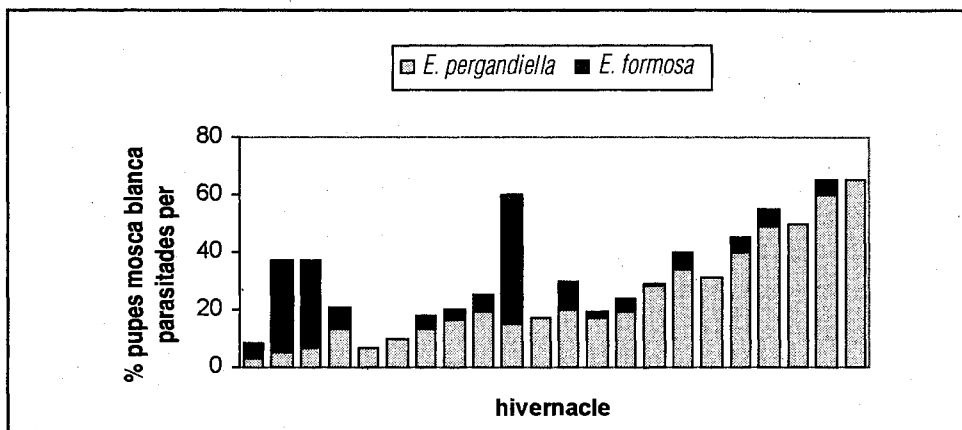


FIGURA 3. Percentatges de mosca blanca dels hivernacles parasitada pel parasitoide inoculat en els hivernacles (*E. formosa*) i pel parasitoide instal·lat a la comarca (*E. pergandiella*) que entrà en els hivernacles espontàniament interferint en el control biològic de la plaga. Són resultats de 1995 i els percentatges de 1996 foren molt similars (Gabarrà *et al.*, 1999)

## CONTROL BIOLÒGIC PER INUNDACIÓ

En el control biològic per inoculació la quantitat d'enemics naturals alliberats era petita en relació a la quantitat de plaga, de manera que no va ser fins a unes quantes generacions posteriors a l'alliberada que l'enemic natural aconseguia exercir un bon control. En el control biològic per inundació busquem un efecte a curt termini –efecte de xoc– sense necessitat que l'enemic natural s'instal·li (fins i tot es considera positiu la no instal·lació per tal d'evitar impactes sobre la fauna autòctona). Hom ha

dit que l'estratègia del control biològic per inundació és la mateixa que en l'ús de pesticides, és a dir, apliquem una gran quantitat d'agent de control, n'esperem un efecte immediat i l'agent desapareix poc després o disminueix a quantitats molt escasses. Les condicions exigibles a un enemic natural per a inundació són diferents a les d'un enemic natural per a inoculació. Entre elles ocupa un lloc preferent la facilitat de cria en massa, un caràcter que ja tenia prou importància de cara al control biològic per inoculació estacional però que ara en té molta més. És evident que el cost de producció dels enemics naturals que cal alliberar en grans quantitats (de vegades per milions), pot representar un factor limitant per a que el mètode sigui aplicable. El cost, al mateix temps, no pot millorar-se a costa de la qualitat dels enemics naturals produïts, el control i estandardització de la qual es considera cada cop més necessaris (Van Lenteren, 2003). Als quadres 3a i 3b es poden trobar alguns dels aspectes de la cria en massa dels enemics naturals que estan relacionats amb el cost i la qualitat dels enemics naturals.

QUADRE 3a. Aspectes relatius a la qualitat que cal tenir en compte  
en la cria d'enemics naturals per a inundació

Com a qualsevol altre producte comercial, hom espera que els enemics naturals que compra siguin *d'eficàcia estable*. Això implica que els enemics naturals siguin uniformes, qualitat que pot resultar fins a cert punt contradictòria amb la heterogeneïtat desitjable per a que els enemics naturals siguin adaptables a condicions variables i diverses. La cria repetida durant generacions condueix probablement a la uniformitat de la població i, a més, adaptada a condicions no forçosament iguals a les del camp. La renovació periòdica de la població criada amb individus del camp mitiga aquest problema encara que comporta més riscos d'introduir malalties en la cria i augmentar la variabilitat del control.

En relació a l'apartat anterior, cal sovint referir els *criteris de qualitat a biotipus* més que no pas a espècies doncs cada una de les condicions o zones en que es vol aplicar un enemic natural pot exigir característiques diferents.

Cal definir i valorar la *qualitat en funció de la plaga* i no de l'hoste/presa de substitució per a la cria. En aquest aspecte valen les consideracions fetes en un dels apartats relatius al cost (quadre 3b).

Els *caràcters a mesurar* en el control de qualitat depenen de l'espècie d'enemic natural i de les condicions en les quals l'haurem de fer servir, però els següents són dels més freqüents: supervivència i longevitat, fecunditat, mobilitat i capacitat de recerca, capacitat de consum, absència de malalties i hiperparasitoides.

El control biològic per inundació, ultra la facilitat de cria en massa a cost acceptable, té altres aspectes crítics. Un d'ells és la determinació del moment exacte per a l'alliberament dels enemics naturals. Cal tenir en compte que els enemics naturals

habitualment depreden (i en particular parasiten) en estats de desenvolupament molt concrets i només sobre certs estats de desenvolupament de la presa/hoste de durada molt limitada. Vol dir, doncs, que cal alliberar els enemics naturals en el moment que permeti la coincidència fenològica dels màxims de població d'uns i altres, objectiu que implica el seguiment molt acurat de la població de plaga, sovint una operació tècnicament factible però costosa. Si, a més, la fenologia de la població de plaga és poc homogènia bona part dels seus individus poden escapar a l'acció de l'enemic natural o estarem obligats a repetir l'alliberament. El maneig de la diapausa en els enemics naturals –en aquells que en poden tenir– pot aconseguir augmentar la persistència dels alliberaments. Es tracta d'induir la diapausa amb antelació en els enemics naturals a alliberar i trencar-la gradualment de manera que, entre els alliberats, hi hagi enemics naturals sense diapausa i d'altres que en sortiran gradualment un cop en el camp. D'aquesta manera allargarem el període cobert pels enemics naturals amb capacitat de depredació/ parasitització. Aquesta tècnica pot comportar una disminució de l'eficàcia de control com a conseqüència de la mortalitat en el camp dels individus alliberats amb diapausa que romandran exposats a depredadors (és el cas freqüent amb les formigues) durant un temps més llarg que no pas els alliberats sense diapausa; caldrà, almenys, tenir en compte aquest fenomen a l'hora de calcular les dosis d'aplicació. Aquesta possibilitat d'augmentar la persistència dels alliberaments mitjançant la diapausa ha tingut força èxit en el cas de diverses espècies del gènere *Trichogramma* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) que són parasitoides d'ous d'insectes (quadre 4).

QUADRE 3b. Aspectes relatius al cost que cal tenir en compte en la cria d'enemics naturals per a inundació

*Hoste/presa de substitució.* Hi ha hostes/preses molt fàcils de criar a cost reduït (per exemple els ous de l'arna de la farina, d'*Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae), que es fan servir per a cria de *Trichogramma* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) i força depredadors). Cal comprovar la qualitat dels enemics naturals resultants. Un problema addicional ve del fet que, en ser l'hoste/ presa diferent a la plaga que caldrà controlar en el camp, la cria repetida d'un enemic natural sobre una espècie diferent de la plaga pot fer-li perdre aptituds en alguna característica, especialment en aquells components del comportament que són apresos al llarg del desenvolupament.

*Aliment artificial.* Un aliment artificial per a un depredador o la seva presa pot resultar molt més barat que la presa viva. Hi ha molt pocs aliments del tot artificials que es puguin fer servir per a cria en massa d'insectes; a més de la composició, la presentació hi juga un paper decisiu per a que un depredador o fitòfag accepti un aliment sense que disminueixi la seva ingestió ni la qualitat de l'individu resultant. També es poden repetir consideracions fetes en l'apartat anterior.

*Substrat de posta.* Hi ha insectes que necessiten la planta viva i sencera per a la posta (p.e. alguns heteròpters), fet que complica (més espai, més pesat de manipular) i encareix la cria.

*Emmagatzemat.* Les necessitats d'enemics naturals per alliberar-los solen ser molt puntuals al llarg de l'any en funció del cicle del cultiu i de la plaga a controlar. Si no hi ha possibilitat de produir-los al llarg de tot l'any i emmagatzemar-los fins a ser venuts i aplicats ens caldrà dimensionar tota la cria per a només uns quants dies a l'any i concentrats en un període curt. L'emmagatzemat a curt termini (alguns dies o poques setmanes) sense una pèrdua excessiva de qualitat sol fer-se en fred però l'emmagatzemat a llarg termini se s'aconsegueix amb la inducció de diapausa en l'enemic natural. Les limitacions venen del fet que només uns pocs enemics naturals tenen diapausa i en els que en tenen també poden representar un problema si la inducció té lloc en condicions a les quals hauria de treballar al camp.

*Manipulació automatitzada.* Donat l'elevat nombre d'etapes en la manipulació dels enemics i de vegades també la complexitat dels components de la cria, la manipulació de tots ells és laboriosa i, per tant, cara en ma d'obra. L'automatització d'aquest processos, encara que sigui a costa de perdre part de l'eficiència, pot permetre disminuir els costos dràsticament.

*Automatització de l'aplicació.* L'aplicació segueix essent manual en la més gran part dels casos del control biològic per inundació. Això, evidentment és una font important de costos. L'aplicació aèria que de vegades hom ha intentat pot danyar els enemics naturals alliberats.

#### QUADRE 4. Utilització de tricograma en programes de control biològic per inundació.

El gènere *Trichogramma* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) s'ha utilitzat en el món en milions d'hectàrees per al control de plagues diverses sobretot de lepidòpters. La caiguda del sistema soviètic (que era el principal productor i usuari de tricogrames) ha fet disminuir la superfície mundial d'aplicació, però els tricogrames segueixen estant entre els enemics naturals més utilitzats. A Europa *T. evanescens* Westwood s'utilitza en unes quantes desenes de mils d'hectàrees per al control d'*Ostrinia nubilalis* (Hübner) (Lepidoptera: Pyralidae), un dels barrinadors del blat de moro. La producció es fa a Europa amb ous d'una arna de la farina com a hoste de la que se'n poden produir milions diàriament a un cost relativament baix. La inducció de diapausa larvària en els parasitoides per maneig del fotoperíode i temperatura permet el seu emmagatzemat durant mesos; amb una certa antelació a l'alliberament es pot trencar la diapausa i recuperar el desenvolupament en moments diferents en els individus de la mateixa partida per tal d'augmentar la persistència de l'alliberament. Aquest es fa molt al començament del període de posta (en l'única o segona generació de la papallona segons la latitud del lloc) per tal que els primers adults del parasitoides trobin ja un nombre suficient de plaques d'ous de la plaga per a parasitar. Podem dir per experiència pròpia que un alliberament ben fet, en quantitat i moment, pot arribar a parasitar el 99% dels ous del barrinador resultant-ne un control excel·lent. El mètode té la principal limitació del preu, que generalment resulta excessiu per al blat de moro de pinso però molt rendible en blat de moro per a llavor i pot resultar interessant en blat de moro dolç, molt sensible a l'ús de pesticides.

## CONTROL BIOLÒGIC PER CONSERVACIÓ I AUGMENTACIÓ

Aquesta mena de control biològic tracta de conservar, augmentar i/o potenciar l'acció dels enemics naturals ja establerts en una àrea, bé perquè són autòctons, bé perquè,

tot i essent exòtics, s'hi han instal·lat després d'alliberar-los. El fet de fer servir enemics naturals ja establerts salven l'inconvenient del control biològic clàssic on la introducció d'enemics naturals exòtics té riscos d'impacte en fauna indígena. Per altra banda, cal suposar que els enemics naturals ja instal·lats estan més ben adaptats que els que provenen d'altres regions. Entre els avantatges d'aquest tipus de control biològic respecte als anteriors també es pot dir que sol resultar molt rendible ja que maneja poblacions ja existents en els cultius o les seves rodalies. Entre els principals inconvenients podem dir que és lent i difícil de desenvolupar. La lentitud és un autèntic problema ja que el finançament de la investigació científica actual exigeix resultats cada cop més ràpids i el control biològic de conservació necessita desenvolupar projectes de recerca en ecologia d'agroecosistemes. Un altre inconvenient és que no sempre hi ha disponibles en una zona aquells enemics naturals prou eficaços per al control de les plagues existents. En aquest darrer cas, a banda d'utilitzar altres tècniques de control diferents al control biològic, podem recórrer a la introducció d'enemics naturals de fora, potser de vegades podem reintroduir-hi algunes espècies ja existents anteriorment però extingides a resultes de l'ús en massa de pesticides. El control biològic per conservació s'ha desenvolupat considerablement en els darrers anys paral·lelament als estudis d'agroecologia i a les restriccions per a la importació d'enemics naturals exòtics (Barbosa, 1998; Landis *et al.*, 2000; Pickett i Bugg, 1998).

Probablement és quan es pren consciència i es comencen a tenir resultats dels impactes que els insecticides causen en les poblacions d'enemics naturals quan hom s'adona de la importància dels depredadors, parasitoides i entomopatògens en la limitació de les poblacions de fitòfags en els agroecosistemes. La dinàmica representada en la figura 4 és força comuna. En un començament, després del tractament amb insecticides, una població de plaga disminueix dràsticament en comparació amb un testimoni no tractat. Al cap d'unes poques generacions, de vegades, en la generació següent a la tractada, la població de plaga creix desmesuradament. Es pot comprovar fàcilment que aquest creixement és conseqüència de l'eliminació dels enemics naturals que en la parcel·la no tractada romanen en nombre apreciable. Fruit d'aquest coneixement és l'intent de conservar i, si és possible potenciar o augmentar, els enemics naturals.

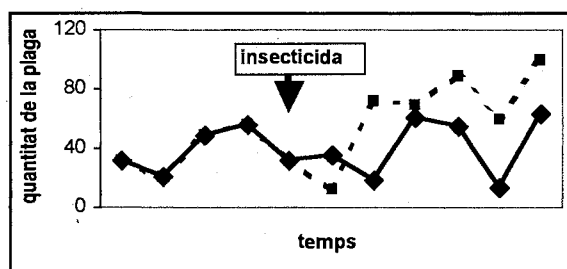


FIGURA 4. Dinàmica habitual d'una plaga quan és sotmesa a tractament insecticida (línia discontinua) o sense tractar (línia contínua)



QUADRE 5. Alguns temes de l'ecologia moderna que estan en estreta relació amb els problemes de plagues i control biològic per conservació.

*Pèrdua, fragmentació i aïllament d'hàbitats.* Els enemics naturals estan confrontats a explotar hàbitats agrícoles que, en funció de la mida i disposició en l'espai de les parcel·les de conreu, estan molt fragmentats i aïllats per a moltes espècies amb baixa capacitat de dispersió. La disposició de corredors que assegurin la connectivitat entre taques d'hàbitat és precisament una de les tàctiques del control biològic per conservació.

*Extinció ecològica.* L'extinció d'espècies d'enemics naturals d'àmplies zones com a conseqüència del maneig agrícola és un dels aspectes que el control biològic per conservació pretén corregir. Les zones de compensació en les explotacions agrícoles que permetin preservar la diversitat funcional van en aquesta direcció.

La disposició dels cultius en *mosaic en el paisatge* agrícola permet esmorteir part de les perturbacions/extincions que es donen en cada peça del mosaic. Tanmateix si les perturbacions i la seva magnitud varien de manera síncrona en les diverses taques –com es força habitual en un mosaic de monocultiu– les perturbacions es magnifiquen mentre que la diversitat de parcel·les (espècie de cultiu, durada del conreu, fenologia, edat en cultius plurianuals) permet esmorteir considerablement les perturbacions.

La *teoria de les illes* presa de la biogeografia ha estat una de les escasses aproximacions teòriques de l'ecologia al problema de les plagues. Les parcel·les de conreu es veuen, en el sí d'aquesta teoria, com a illes sotmeses a colonització, extinció i recolonització. Proximitat de la font de colonització, mida de les illes són aspectes que el control biològic per conservació considera en les seves aplicacions.

*Diversitat i estabilitat.* És una vella controvèrsia en ecologia que sovint ha explicat el per què hi ha tantes oscil·lacions en els sistemes agrícoles. La polèmica ens porta a preguntes com ara, ens cal augmentar al màxim la diversitat d'enemics naturals dintre del cultiu?, què podem esperar de la depredació intragremial per al resultat del control biològic de conservació?, o fins i tot, ens cal promocionar la diversitat de fitòfags?

Ecologia de *metapoblacions*. En realitat els enemics naturals en una zona es comporten més com a metapoblacions –és a dir com un conjunt de subpoblacions que intercanvien de tant en tant individus– que com poblacions homogènies.

La comprovació del fenomen descrit no vol dir, tanmateix, que el problema es resol evitant fer el tractament insecticida; no fer res vol dir sovint que la plaga ultrapassa el llindar de tolerància i es produeix una davallada del rendiment. La solució no és tan immediata i requereix d'estudis més aprofundits de l'ecologia de les comunitats d'insectes en els agroecosistemes i en relació als ecosistemes veïns. Malauradament el desenvolupament de l'ecologia per a estudis d'aquesta mena és clarament insuficient. Algú ha dit més d'una vegada que l'ecologia ha rebut més del control de plagues que el que aquest s'ha beneficiat de l'ecologia. El que és evident,

en qualsevol cas, és que força dels desenvolupaments actuals de l'ecologia han tingut el seu origen en problemes plantejats per l'agricultura. En el quadre 5 es recullen alguns temes de l'ecologia moderna que estan en estreta relació als problemes de plagues i control biològic de conservació.

Operativament el control biològic per conservació s'orienta cap al maneig del cultiu –és a dir, les pràctiques culturals– i al maneig de l'hàbitat –l'immediat del conreu o d'altres que hi estan en relació:

### **Maneig del cultiu en el control biològic per conservació**

Hi ha molts factors lligats al conreu que tenen un gran paper en els enemics naturals. En primer lloc les rotacions i els cicles de conreu. En la mesura que hi ha enemics naturals que només es troben en uns cultius i no en d'altres –sobretot degut a la presència de diferents hostes/preses– la rotació de cultius al llarg del temps, el cicle i fenologia del cultiu (cultiu perenne vs. anual, dates de sembra i recol·lecció), i la disposició dels diferents cultius en el paisatge agrícola tenen una gran influència en la presència i dinàmica dels enemics naturals. Els cultius són com hàbitats-illa que són sotmesos a colonització, extinció i recolonització; la dinàmica d'aquests processos està influït per aquells factors lligats a la rotació i cicles de conreu. Les espècies predominants d'enemics naturals seran aquelles que més bé s'adaptin a aquests hàbitats més o menys efímers i en bona mesura previsibles segons un patró general estable (Wissinger, 1997). Tinguem en compte que hi ha tipus de conreus que, encara que aparentment són perennes a tots els efectes, en la pràctica són anuals o, encara més efímers per a moltes de les espècies que les habiten. Aquest és el cas, per exemple, d'un conreu d'usarda que el dallem 5 o 6 cops al llarg de l'època vegetativa o un hort de fruiters que ruixem sovint; en ambdós casos la major part dels individus de les poblacions aèries moren o abandonen les plantes cultivades en aquestes operacions culturals i després l'han de recolonitzar. A través d'aquesta aproximació també podem referir-nos al paper del conreu associat en el manteniment dels enemics naturals en les parcel·les de conreu o a la sega a franges que augmenti la perennitat de l'hàbitat.

Cada vegada es fa més evident que en la relació presa-depredador la planta hi juga un paper decisiu de manera que l'activitat i efectes dels enemics naturals pot variar molt segons l'espècie i fins i tot la varietat de cultiu. Aquesta relació tritròfica es encara més íntima en els depredadors facultatius (molts heteròpters, però també coccinèl·lids, crisòpids, trips i d'altres), és a dir, aquells depredadors que poden facultativament alimentar-se de plantes o dels seus productes. Així tenim, per exemple, que les espècies d'*Orius* (Heteroptera: Anthocoridae) són freqüents en molts cultius d'horta però molt rars en tomàquet encara que aquest contingui un gran nombre de preses potencials. Un altre exemple el tenim en la

pilositat de les fulles; un nombre elevat de tricomes a les fulles dificulten la recerca de l'hoste per part del parasitoide *Encarsia formosa* Gahan (Hymenoptera: Aphelinidae) de manera que les varietats glabres són més aptes per al control biològic que no pas les piloses.

Alguns aspectes del maneig de la planta (p.e. esporga, esbrotat, sega) poden afavorir o interferir en la biologia i comportament del parasitoide o depredador a través de mecanismes diversos. Un de molt corrent és l'alteració del microclima que envolta la planta i que, per tant, experimenta l'enemic natural quan busca una presa/ hoste en la planta. Un altre és l'eliminació prematura de parts de la planta que contenen enemics naturals. El maneig de les restes de collita també pot repercutir en la dinàmica de la relació presa/depredador fent-se difícil a priori advocar per la necessitat de treure o no les restes de cultiu per a eliminar una gran quantitat de plaga però també d'enemic natural si hi fos.

Es va reconèixer fa temps que la presència de males herbes –o de coberta vegetal en horts de fruiters– pot afavorir els enemics naturals a través de vies diverses, per exemple les següents: font de pol·len i nèctar, refugi protegit quan el cultiu és jove o quan aquest es ruixa amb insecticides, presència de presa/hoste quan és escàs en el conreu i que afavoreix una colonització primerenca de les parcel·les de conreu, alteracions favorables del clima de la parcel·la.

No hi ha dubte que l'ús de pesticides és una de les pràctiques culturals més pertorbadora de les poblacions d'enemics naturals. La major part de l'ús selectiu de pesticides en relació als enemics naturals es fonamenta en la separació de l'aplicació dels primers en el temps o en l'espai respecte a la presència dels segons. Això exigeix un bon coneixement i seguiment de la fenologia dels enemics naturals a conservar per tal de determinar els moments òptims d'aplicació del pesticida.

### **Maneig de l'hàbitat en el control biològic per conservació**

Un aspecte bàsic del control biològic per conservació és que el control és exercit sovint per un complex d'espècies d'enemics naturals, la conservació de les quals requereix d'altres complexos i abundància d'espècies d'hostes i preses i de determinada flora, tots ells amb una determinada fenologia i localització. Mantenir, doncs, un cert grau de diversitat (en particular de la diversitat funcional) és habitualment necessari. Aquest és l'objectiu de les anomenades zones de compensació –dintre les explotacions en cas de que siguin suficientment grans– on les pràctiques agrícoles hi són dràsticament reduïdes. Val a dir que deixar zones abandonades no garanteix la biodiversitat, ni que aquesta, tot i essent alta, sigui automàticament beneficiosa per al control biològic. Cal no oblidar, per altra banda, que determinats components de la biodiversitat són més estimuladors de plagues que dels seus enemics naturals.

Hem comentat més amunt que les males herbes, entre els seus aspectes beneficiosos, poden ser font d'aliment (pol·len, nèctar, hostes/preses) per als enemics naturals. Aquest paper el poden fer també les espècies vegetals d'altres parts de l'hàbitat, com els marges dels camps i camins. Determinar quines espècies de la flora juguen un paper en la dinàmica del agroecosistema, quin és el paper principal i les possibilitats de manipulació per tal de reforçar els papers beneficiosos i rebaixar els perjudicials, són etapes necessàries en els estudis que cal fer abans de proposar un pla de gestió de la flora de l'hàbitat de cara al control biològic de conservació.

Una part de la flora de l'hàbitat només té un paper de refugi; un refugi pot referir-se a un lloc sense les perturbacions que han causat que un enemic natural abandoni la parcel·la i la planta conreades: insecticides, recol·lecció i retirada del cultiu, sega o esbrotat o esporga, reg, etc. Així doncs, el refugi no proveeix l'enemic natural amb aliment en quantitat significativa ni l'aliment és l'estímul que el manté sobre la planta refugi. El refugi es pot considerar, doncs, com una base per a colonitzar o recolonitzar una parcel·la de conreu quan aquesta ja no tingui perturbacions que temporalment la fan inhabitable. De vegades també utilitzem la paraula refugi per a designar una planta que conté regularment enemics naturals sense conèixer exactament quin recurs li subministra; sovint hem de suposar que la relació pot ser més estreta del que suposem doncs hi ha associacions planta-enemic natural relativament específiques.

L'hàbitat pot oferir a l'enemic natural unes condicions de microclima més benignes que la parcel·la conreada. Per exemple, són relativament comuns canvis de temperatura, humitat (inclosa la rosada) i vent en marges, voreres de basses o canals de reg, sota bosc proper a les parcel·les de conreu, parcel·les abandonades i guarets.

Lògicament, quan estem parlant de maneig de l'hàbitat per afavorir el control biològic per conservació podem estar abastant superfícies diferents segons l'espècie d'enemic natural i orografia del terreny. La capacitat de dispersió dels enemics naturals i els estímuls que els fan moure en l'hàbitat són aspectes de coneixement obligatori a l'hora de dissenyar el maneig que s'hi ha de fer.

Cada cop hi ha més exemples, tant a Catalunya com a Espanya, de programes de control biològic per conservació i augmentació. Com a exemples citarem el maneig del depredador generalista *Macrolophus caliginosus* Wagner (Heteroptera: Miridae) per control en conreu d'horta d'aire lliure i protegit al Maresme (veure per a més detall el capítol 11) i també l'ús de fitosèids (Acarina: Phytoseiidae) per al control de l'aranya roja *Panonychus ulmi* (McGregor) (Acarina: Tetranychidae) en pomera a les comarques de Lleida. El primer es basa en la colonització natural de parcel·les d'aire lliure i dels hivernacles en quantitats suficients i en èpoques primerenques. Això implica el maneig de la flora de diverses espècies com a plantes insectàries que faciliten aquesta colonització primerenca o el manteniment del depredador en els hivernacles entre dos conreus consecutius.

El segon exemple citat s'ha basat en el maneig dels tractaments fitosanitaris per a fer-los més selectius per tal de permetre la colonització dels arbres per les espècies de fitosèids que mantindran les densitats d'aranya roja a densitats inferiors al llindar. Un cop instal·lades les poblacions de fitosèids en els horts de pomera rarament cal tractar contra l'aranya si aquest programa s'acompanya d'un maneig correcte de la plantació.

## CONCLUSIONS

De les línies exposades en aquest capítol ens interessa ressaltar les conclusions següents:

- Tot i els avenços haguts en els darrers decennis en el camp de l'ecologia i en particular en l'àmbit de la relació presa-depredador, el control biològic segueix tenint unes bases teòriques dèbils. Això fa que aquesta tecnologia sovint avanci per 'assaig i error'.
- El control biològic es pot aplicar amb tècniques diferents que hem descrit i que es poden agrupar en tres tipus bàsics: inoculació (inclosa la inoculació estacional), inundació i conservació i augmentació. A priori cada una d'elles té avantatges i inconvenients i caldrà considerar les condicions i objectius concrets per a jutjar la més adient.
- El control biològic per inoculació té uns procediments força estandarditzats i pot comptar amb el suport internacional d'organitzacions i científics d'arreu del món. Pot resultar car i, sobretot, té, i en tindrà més, limitacions per a la importació d'enemics naturals exòtics pels riscos mediambientals que tenen sobre fauna indígena.
- La inundació representa una tècnica que s'ha aplicat amb molt d'èxit però en pocs casos, sobretot pel seu alt cost. En aquest sentit la millora i abaratiment de la cria en massa ha de col·laborar en aconseguir una més àmplia aplicabilitat.
- El control biològic per conservació i augmentació exigeix estudis aprofundits en ecologia d'agrosistemes i això fa que sigui lent de desenvolupar i aplicar. Tanmateix ofereix molts avantatges respecte a les tècniques abans esmentades i tot fa pensar que tindrà un gran desenvolupament en els anys propers.
- L'escàs desenvolupament de les bases científiques del control biològic fa que sovint caiem en el dogmatisme típic del coneixement empíric. Aquesta posició dogmàtica ens pot dificultar la innovació.

## BIBLIOGRAFIA

- BARBOSA, P. (coord.). (1998). *Conservation Biological Control*. Academic Press. San Diego (EUA), 396 pp.
- DEBACH, P. i ROSEN, D. (1991). *Biological control by natural enemies* 2<sup>nd</sup> ed. Cambridge University Press. Cambridge (Regne Unit). 440 pp.
- FOLLETT, P. A. i DUAN, J. J. (2000). *Non target effects of biological control*. Kluwer Academic Publishers. Boston (EUA), 316 pp.
- GABARRA, R.; ARNÓ, J.; ALOMAR, O. i ALBAJES, R. (1999). Naturally occurring populations of *Encarsia pergandiella* (Hymenoptera: Aphelinidae) in greenhouse tomatoes. *IOBC wprs Bulletin*, 22(1): 85-88.
- HOWARTH, F. G. (1991). Environmental Impacts of Classical Biological Control. *Annual Review of Entomology*, 36: 485-509.
- LANDIS, D. A.; WRATTEN, S. D. i GURR, G. M. (2000). Habitat management to conserve natural enemies of arthropod pests in agriculture. *Annual Review of Entomology*, 45: 175-201.
- PICKETT, C. H. i BUGG, R. L. (Eds). (1998). *Enhancing biological control*. University of California Press. San Diego (EUA), 422 pp.
- VAN DRIESCHE, R. G.; i BELLOWS, T. S. (1998). *Biological Control*. Chapman and Hall. New York (EUA), 539 pp.
- VAN LENTEREN, J. C. (Ed.). (2003). *Quality control and production of biological control agents*. CABI Publishing. Wallingford (Regne Unit), 327 pp.
- WISSINGER, S. A. (1997). Cyclic colonization in predictably ephemeral habitat: a template for biological control in annual crop systems. *Biological Control*, 10: 4-15.



**AGENTES DE CONTROL BIOLÓGICO  
DE PLAGAS**





# AGENTES ENTOMÓFAGOS DE CONTROL BIOLÓGICO DE PLAGAS

JESÚS AVILLA

Área de Protección de Cultivos, Centro UdL-IRTA de R+D de Lleida, Universitat de  
Lleida, Rovira Roure -191, 25198- Lleida.

jesus.avilla@irta.es

El presente capítulo mantiene el título, la estructura y el contenido de la clase impartida en l'Escola de Tardor (Escuela de Otoño) de 2003 de la Universitat Jaume I de Castelló. En primer lugar, se desarrolla el concepto de entomófago y se presentan los grupos de entomófagos más importantes y sus características más relevantes. A continuación, se discute el papel que juegan en la regulación de poblaciones de plagas agrícolas y cómo se puede modelizar la dinámica de sus poblaciones.

## CONCEPTO DE ENTOMÓFAGO

Dediquemos en primer lugar, por lo tanto, unas líneas a concretar de qué y de quién vamos a hablar. De acuerdo con el significado etimológico de la palabra, los entomófagos son aquellos seres vivos que se alimentan de insectos (o de artrópodos, si admitimos que el término «entomon» se refiere a los animales articulados o artrópodos y no únicamente a los insectos); o sea, aquellos seres vivos que extraen de los artrópodos la energía que necesitan para vivir.

En el Capítulo 2 del presente libro se ha presentado (figura 1 del capítulo 2) un esquema simplificado de las relaciones tróficas que se establecen en un agroecosistema. Entre ellas nos interesan, de manera especial, aquellas que implican un flujo de energía desde las plagas agrícolas al nudo siguiente de la red trófica. Estas relaciones son tres y, en el contexto que nos ocupa, pueden definirse de la siguiente manera:

1. Parasitismo. Una especie parásita es aquella cuyos individuos se alimentan de individuos de otras especies de animales (hospedantes, aunque el

término huéspedes es también utilizado con mucha frecuencia), con los cuales establecen una relación continua en el tiempo y a consecuencia de la cual el hospedante puede morir o no. Los parásitos de insectos y ácaros más importantes son nematodos, hongos, protozoos, bacterias, virus y rickettsias.

2. Depredación. Una especie depredadora es aquella cuyos adultos y estados inmaduros se alimentan de individuos de otras especies de animales (presas) y las matan. Cada individuo del depredador necesita más de un individuo de la presa para completar su desarrollo. Los depredadores de insectos y ácaros más importantes son insectos, arácnidos y aves.
3. Parasitoidismo. Una especie parasitoide es aquella cuyos adultos son de vida libre y cuyos estados inmaduros se alimentan de otras especies de animales (hospedantes o huéspedes) y las matan. Cada individuo del parasitoide necesita un único individuo del hospedante para completar su desarrollo, pero sobre cada individuo del hospedante puede desarrollarse un solo individuo del parasitoide (parasitoide solitario) o varios (parasitoide gregario). El desarrollo puede tener lugar en el interior del cuerpo del huésped (endoparasitoide) o en el exterior (ectoparasitoide). Los adultos del parasitoide pueden alimentarse de polen, de néctar, o no hacerlo. Únicamente existen parasitoides entre los insectos.

A los depredadores y a los parasitoides de insectos y ácaros se les conoce como entomófagos y, a veces, como enemigos naturales. La terminología puede ser algo confusa, ya que el término «enemigo natural» puede utilizarse también para referirse a los depredadores, parasitoides y parásitos de plagas agrícolas.

Las definiciones de depredador y de parasitoide expuestas corresponden a los paradigmas de estos modos de vida, pero, como sucede casi siempre en la Naturaleza, existen modos de vida más o menos intermedios. Así, existen especies de parasitoides cuyas hembras adultas pueden ser depredadoras de sus hospedantes, especies de parasitoides cuyos estados inmaduros se alimentan de más de un individuo del hospedante, especies de depredadores cuyos estados inmaduros o cuyos adultos pueden alimentarse de plantas (zoofitófagos) o especies de depredadores cuyos adultos no se alimentan de las presas.

Los entomófagos se encuentran en varias clases del Reino Animal (cuadro 1). Debido a la limitación del espacio y por su importancia en control de plagas agrícolas, dedicaremos una especial atención a algunos de ellos.

CUADRO 1. Relación de taxones de depredadores y de parasitoides más importantes desde el punto de vista del control de plagas agrícolas

Depredadores		Parasitoides	
Clase / Orden	Familia	Clase / Orden	Familia
Insecta / Heteroptera	Anthocoridae	Insecta / Hymenoptera	Ichneumonidae
	Miridae		Braconidae
Insecta / Dermaptera	Forficulidae		Aphidiidae
Insecta / Thysanoptera	Aeolothripidae	Trichogrammatidae	Encyrtidae
Insecta / Neuroptera	Chrysopidae		Eulophidae
			Aphelinidae
Insecta / Coleoptera	Carabidae	Insecta / Diptera	Tachinidae
	Staphylinidae		
	Coccinellidae		
Insecta / Diptera	Syrphidae		
	Cecidomyiidae		
Insecta / Hymenoptera	Formicidae		
Arachnida / Mesostigmata	Phytoseiidae		
Arachnida / Subclase Araneae	Araneidae		
	Lycosidae		
	Thomisidae		

## DEPREDADORES

### Heteroptera. Anthocoridae

Los antocóridos son heterópteros que se reconocen por la presencia de una pieza triangular diferenciada en la parte externa del hemiélitro, denominada cúneo y la presencia de ocelos en los adultos. Tanto las ninfas como los adultos son depredadores de insectos de tegumento blando (pulgones, trips, cochinillas, psílidos, huevos y larvas de lepidópteros) y de ácaros, aunque también pueden alimentarse de agua y de polen. Las hembras realizan la puesta en el interior de tejidos vegetales, como las hojas, pero este comportamiento no tiene efectos negativos sobre la producción. Su especificidad es variable, y depende de la especie de antocórido. Los dos géneros más importantes son *Anthocoris* y *Orius*.

Los adultos son buenos voladores, lo que les permite agregarse en las zonas donde la densidad de la presa sea más alta y dispersarse muy fácilmente cuando la presa escasea. Tienen una elevada capacidad de búsqueda de sus presas y de incre-

mentar rápidamente sus poblaciones cuando la presa es abundante. Se utilizan sobre todo en programas de control biológico por inoculación estacional (*Orius* spp. en cultivo protegido) y por conservación y aumento (*Anthocoris* spp. en frutales). En conjunto, el mayor porcentaje de éxito con antocóridos se ha producido sobre plagas agrícolas con bajas tasas de crecimiento de la población.

### **Heteroptera. Miridae**

Los míridos también tienen cúneo, pero los adultos no tienen ocelos. La mayor parte de los míridos son fitófagos, pero unas cuantas especies son depredadoras o zoofitófagas. Al igual que los antocóridos, realizan la puesta en el interior de los tejidos vegetales. Son depredadores generalistas, que se alimentan de insectos de tegumento blando y de ácaros. Los géneros más importantes son *Macrolophus*, *Dicyphus* y *Campylomma*.

Su fitofagia puede ser un problema importante, ya que pueden causar daños y pérdidas a los cultivos como *Dicyphus tamaninii* Wagner en tomate o *Campylomma verbasci* (Herrich-Schäffer) en manzano. En algunos casos, la fitofagia depende de la densidad de la presa (*Dicyphus*), mientras que en otros, del momento del ciclo (*Campylomma*). Se utilizan en programas de control biológico por inundación estacional y por conservación y aumento, sobre todo en invernaderos.

### **Neuroptera. Chrysopidae**

Los adultos de las crisopas se reconocen muy fácilmente por las largas antenas, las alas membranosas con numerosas venas y celdas y el color verde de su cuerpo. Son muy frecuentes en diferentes hábitats. Las larvas tienen mandíbulas fuertes y muy aparentes con las que atacan y destrozan la presa, incluidas sus congéneres. Son muy voraces. Los adultos pueden ser depredadores y alimentarse de néctar y de polen. Son especies polífagas, que se alimentan de insectos (sobre todo homópteros) y ácaros. La especie más importante es *Chrysoperla carnea* Stephens.

Los individuos de *C. carnea* consumen una gran cantidad de presas, por lo que es necesario que exista una densidad de presa mínima para el establecimiento de su población. Los adultos son atraídos al cultivo por sustancias volátiles, lo que se ha intentado utilizar en campo. Se utiliza sobre todo en programas de control biológico por conservación y aumento (es una especie a respetar y potenciar prácticamente en todos los cultivos), pero también se cría con facilidad y está disponible comercialmente para su uso en programas de inundación o de inoculación estacional.

### **Coleoptera. Carabidae**

Los adultos de los carábidos tienen antenas largas, la cabeza móvil y los élitros, que recubren todo el abdomen, son casi siempre de colores oscuros y brillantes. Las larvas son muy móviles y tienen un par de cercos en el abdomen. Tanto los adultos como las larvas son terrestres y de actividad nocturna, principalmente depredadores muy voraces de insectos que viven en el suelo y de lombrices. Algunas especies suben a las plantas para alimentarse de sus presas. La mayoría son polívoros oportunistas, aunque las larvas suelen ser más específicas en cuanto a su alimentación que los adultos, y pueden ser importantes consumidores terciarios. Algunos géneros importantes son *Harpalus*, *Agonum*, y *Demetrias*.

Su período de actividad principal puede ser primaveral u otoñal, según la especie, sin que su ciclo biológico esté sincronizado con el de su presa (son oportunistas, como ya se ha mencionado). Se utilizan sobre todo en programas de conservación y aumento (por ejemplo, en cereales) y también son indicadores del impacto de la actividad agrícola en el suelo.

### **Coleoptera. Coccinellidae**

Los adultos tienen típicamente una forma globosa u oval, con élitros brillantes y con dibujos. Las larvas son móviles y pueden estar recubiertas de secreciones cerosas. Tanto las larvas como los adultos de la mayoría de las especies son depredadores muy voraces de insectos (incluidos sus congéneres) y de ácaros. Es un grupo muy diverso; hay especies con una marcada preferencia por determinadas presas (*Rodolia cardinalis* Muls sobre *Icerya purchasi* (Maskell), *Stethorus punctillum* (Weise) sobre tetraníquidos), y otras son más polívoras (*Coccinella septempunctata* L. sobre pulgones o *Chilochorus* spp. sobre cóccidos).

Tienen un ciclo biológico relativamente corto, pero su longevidad puede alcanzar un año. Son buenos voladores y tienen una buena capacidad de dispersión. Su capacidad reproductiva también es relativamente alta, lo que les hace buenos entomófagos desde el punto de vista del control biológico. Sin embargo, muchos son poco eficaces cuando la densidad de la presa es baja. Se han utilizado en programas de control biológico por inoculación (*R. cardinalis*, el primer ejemplo de control biológico moderno), por inundación y por conservación y aumento.

### **Diptera. Syrphidae**

La mayoría de las especies de los sírfidos son depredadoras, aunque hay unas pocas que son fitófagas. Únicamente las larvas son depredadoras, mientras que los adultos son de vida libre. Depredan principalmente pulgones, aunque pueden atacar otros homópteros y larvas de lepidópteros.

mentar rápidamente sus poblaciones cuando la presa es abundante. Se utilizan sobre todo en programas de control biológico por inoculación estacional (*Orius* spp. en cultivo protegido) y por conservación y aumento (*Anthocoris* spp. en frutales). En conjunto, el mayor porcentaje de éxito con antocóridos se ha producido sobre plagas agrícolas con bajas tasas de crecimiento de la población.

### **Heteroptera. Miridae**

Los míridos también tienen cúneo, pero los adultos no tienen ocelos. La mayor parte de los míridos son fitófagos, pero unas cuantas especies son depredadoras o zoofitófagas. Al igual que los antocóridos, realizan la puesta en el interior de los tejidos vegetales. Son depredadores generalistas, que se alimentan de insectos de tegumento blando y de ácaros. Los géneros más importantes son *Macrolophus*, *Dicyphus* y *Campylomma*.

Su fitofagia puede ser un problema importante, ya que pueden causar daños y pérdidas a los cultivos como *Dicyphus tamaninii* Wagner en tomate o *Campylomma verbasci* (Herrich-Schäffer) en manzano. En algunos casos, la fitofagia depende de la densidad de la presa (*Dicyphus*), mientras que en otros, del momento del ciclo (*Campylomma*). Se utilizan en programas de control biológico por inundación estacional y por conservación y aumento, sobre todo en invernaderos.

### **Neuroptera. Chrysopidae**

Los adultos de las crisopas se reconocen muy fácilmente por las largas antenas, las alas membranosas con numerosas venas y celdas y el color verde de su cuerpo. Son muy frecuentes en diferentes hábitats. Las larvas tienen mandíbulas fuertes y muy aparentes con las que atacan y destrozan la presa, incluidas sus congéneres. Son muy voraces. Los adultos pueden ser depredadores y alimentarse de néctar y de polen. Son especies polífagas, que se alimentan de insectos (sobre todo homópteros) y ácaros. La especie más importante es *Chrysoperla carnea* Stephens.

Los individuos de *C. carnea* consumen una gran cantidad de presas, por lo que es necesario que exista una densidad de presa mínima para el establecimiento de su población. Los adultos son atraídos al cultivo por sustancias volátiles, lo que se ha intentado utilizar en campo. Se utiliza sobre todo en programas de control biológico por conservación y aumento (es una especie a respetar y potenciar prácticamente en todos los cultivos), pero también se cría con facilidad y está disponible comercialmente para su uso en programas de inundación o de inoculación estacional.

### **Coleoptera. Carabidae**

Los adultos de los carábidos tienen antenas largas, la cabeza móvil y los élitros, que recubren todo el abdomen, son casi siempre de colores oscuros y brillantes. Las larvas son muy móviles y tienen un par de cercos en el abdomen. Tanto los adultos como las larvas son terrestres y de actividad nocturna, principalmente depredadores muy voraces de insectos que viven en el suelo y de lombrices. Algunas especies suben a las plantas para alimentarse de sus presas. La mayoría son polívoros oportunistas, aunque las larvas suelen ser más específicas en cuanto a su alimentación que los adultos, y pueden ser importantes consumidores terciarios. Algunos géneros importantes son *Harpalus*, *Agonum*, y *Demetrias*.

Su período de actividad principal puede ser primaveral u otoñal, según la especie, sin que su ciclo biológico esté sincronizado con el de su presa (son oportunistas, como ya se ha mencionado). Se utilizan sobre todo en programas de conservación y aumento (por ejemplo, en cereales) y también son indicadores del impacto de la actividad agrícola en el suelo.

### **Coleoptera. Coccinellidae**

Los adultos tienen típicamente una forma globosa u oval, con élitros brillantes y con dibujos. Las larvas son móviles y pueden estar recubiertas de secreciones cerosas. Tanto las larvas como los adultos de la mayoría de las especies son depredadores muy voraces de insectos (incluidos sus congéneres) y de ácaros. Es un grupo muy diverso; hay especies con una marcada preferencia por determinadas presas (*Rodolia cardinalis* Muls sobre *Icerya purchasi* (Maskell), *Stethorus punctillum* (Weise) sobre tetraníquidos), y otras son más polívoras (*Coccinella septempunctata* L. sobre pulgones o *Chilocorus* spp. sobre cóccidos).

Tienen un ciclo biológico relativamente corto, pero su longevidad puede alcanzar un año. Son buenos voladores y tienen una buena capacidad de dispersión. Su capacidad reproductiva también es relativamente alta, lo que les hace buenos entomófagos desde el punto de vista del control biológico. Sin embargo, muchos son poco eficaces cuando la densidad de la presa es baja. Se han utilizado en programas de control biológico por inoculación (*R. cardinalis*, el primer ejemplo de control biológico moderno), por inundación y por conservación y aumento.

### **Diptera. Syrphidae**

La mayoría de las especies de los sírfidos son depredadoras, aunque hay unas pocas que son fitófagas. Únicamente las larvas son depredadoras, mientras que los adultos son de vida libre. Depredan principalmente pulgones, aunque pueden atacar otros homópteros y larvas de lepidópteros.



Los adultos tienen hábitos diurnos y son muy activos (buenos voladores). Su aspecto es muy característico: antenas aristadas de tres artejos, ojos compuestos grandes, una vena espúrea en las alas y, generalmente, colores vistosos que recuerdan a las avispas. Su forma de volar también es característica: son capaces de mantenerse estáticos en el aire y salir en cualquier dirección. Se alimentan de polen o de néctar de flores, por lo que, para el éxito del control biológico, puede ser muy importante la presencia de una cubierta vegetal con flores. Las larvas son ápodas, acéfalas y con aparato bucal masticador. Pueden estar más o menos coloreadas, pero son transparentes, por lo que es visible el tubo digestivo. Algunos géneros importantes son: *Syrphus*, *Metasyrphus*, *Episyrphus* y *Scaeva*.

Suelen ser depredadores específicos de pulgones, muy abundantes en muchas plantaciones y puede jugar un papel importante en la limitación de poblaciones de pulgones, por lo que se utilizan en programas de control biológico por conservación y aumento. En general, son muy sensibles o sensibles a la acción de los insecticidas.

#### **Diptera. Cecidomyiidae**

Únicamente las larvas son depredadoras, mientras que los adultos son de vida libre, tienen costumbres nocturnas y realizan la puesta de huevos cerca de las presas de las larvas.

Los adultos tienen el aspecto de pequeños mosquitos. Las larvas son ápodas y acéfalas y tienen un color anaranjado que puede cambiar con la alimentación. Debido a su escasa movilidad, depredan principalmente presas de hábitos gregarios (pulgones, ácaros, moscas blancas) o huevos (cóccidos).

En general, necesitan densidades poblacionales de la presa altas y son sensibles a la acción de insecticidas, pero no a la de acaricidas o fungicidas del suelo.

Se han utilizado en diversos programas de control biológico contra pulgones, sobre todo en invernaderos y en jardines. Hay especies disponibles comercialmente, como *Aphidoletes aphidimyza* (Rondani), que está considerado uno de los agentes más efectivos de control de pulgones en invernadero. Se alimenta exclusivamente de pulgones, por lo que puede utilizar diversas especies como presas alternativas. Los pulgones atacados mueren aunque no hayan sido totalmente consumidos, debido a la acción de una toxina paralizante que inyectan. Las hembras son muy móviles, por lo que se dispersan y establecen en el invernadero de una forma rápida y eficiente. Tienen, sin embargo, una baja fecundidad. Pueden ser necesarias liberaciones repetidas para obtener un buen control de la plaga.

## **Hymenoptera. Formicidae**

Vale la pena mencionar a las hormigas, aunque sólo sea porque se han utilizado en control biológico de plagas desde el siglo III d.C. en China. Hay especies depredadoras de pulgones (*Formica rufa* L.) y de lepidópteros (*Formica lugubris* Zetterstedt).

## **Mesostigmata. Phytoseiidae**

Son ácaros con forma de pera y, con alguna excepción, tegumento transparente, por lo que el color varía según su alimentación: rojizos, anaranjados, amarillentos etc. Su tamaño máximo es de unas 500  $\mu$ m, y las hembras son claramente mayores que los machos. Se identifican por el aparato bucal, formado por un par de quelíceros quelado-dentados y un par de pedipalpos y la presencia de un par de estigmas en la mitad del cuerpo y de un máximo de 20 pares de setas en la placa dorsal. Se mueven con rapidez en las hojas, principalmente en el envés.

Tanto los estados juveniles como los adultos son depredadores de ácaros (tetraníquidos, eriófidos, tenuipálpidos, tarsonémidos y tideidos) y de insectos de pequeño tamaño (tisanópteros, cóccidos, psocópteros), aunque algunas especies pueden alimentarse también de melaza producidas por homópteros, de polen y de hifas de hongos. En general, son polípagos, en el sentido de que son capaces de alimentarse de presas que pertenecen a familias distintas, aunque no todos los alimentos que son capaces de ingerir son óptimos; algunos de ellos sólo permiten su supervivencia durante un cierto tiempo sin que se reproduzcan. Algunas especies son específicas de tetraníquidos, como *Phytoseiulus persimilis* Athias-Henriot y *Neoseiulus californicus* (McGregor).

La tasa intrínseca de crecimiento ( $r_m$ ) de las especies de fitoseidos es similar a la de las especies de tetraníquidos sobre las que se alimentan, excepto en condiciones de temperatura mayor que 30 °C y/o humedad relativa menor del 40%, cuando la  $r_m$  de los fitoseidos es menor que la de los tetraníquidos. Por lo tanto, pueden ser capaces de responder rápidamente a los incrementos poblacionales de sus presas. Es posible que existan poblaciones de una determinada especie más adaptadas que otras a condiciones de temperatura alta y humedad relativa baja, lo que debe ser tenido en cuenta en los programas de importación y liberación de fitoseidos.

La capacidad de sobrevivir a épocas de escasez de presa depende de que exista un alimento alternativo aceptable. En algunos casos, el alimento alternativo pueden ser otras especies, como los eriófidos, mientras que en otros casos puede ser polen. Sin embargo, en general, las hembras de fitoseidos son capaces de sobrevivir semanas sin presa si tienen una fuente de agua, pero sin poner huevos, ya que la mayoría de la energía proporcionada por el alimento se utiliza en su producción. Una vez en presencia de presas, las hembras vuelven a poner huevos, alcanzando prácticamente los niveles de hembras bien alimentadas durante toda su vida.

Los géneros más importantes son *Amblyseius*, *Euseius*, *Neoseiulus*, *Phytoseiulus* y *Typhlodromus*. Se utilizan tanto en programas de liberación (*Phytoseiulus*) como de conservación y aumento (*Amblyseius*, *Euseius*).

#### **Araneae. Araneidae, Lycosidae y Thomisidae**

Todas las arañas son depredadoras. La mayoría son generalistas, pero muestran un cierto grado de especificidad por el hábitat en el que se encuentran. Su papel en el control biológico es incierto, aunque hay autores que opinan que es mayor que el que se supone. Debido a su especificidad por el hábitat en que se encuentran, están especialmente indicados los programas de conservación y aumento de especies nativas. Pueden construir telarañas (como los Araneidae), cazar activamente las presas (Lycosidae) o permanecer emboscadas (Thomisidae).

### **PARASITOIDES**

#### **Hymenoptera. Ichneumonidae y Braconidae**

Los icneumónidos y braconídeos constituyen dos familias de aspecto parecido que se distinguen por la venación de las alas. Los adultos son de tamaño medio o grande, de antenas largas y un ovíscapo siempre visible y, en ocasiones, mucho más largo que el cuerpo. Los adultos se alimentan, en general, de néctar y de sustancias azucaradas y son buenos voladores.

Los icneumónidos son endo y ectoparasitoides, principalmente solitarios, de larvas y pupas de lepidópteros y de larvas de dípteros e himenópteros. Los braconídeos son principalmente endoparasitoides solitarios de larvas de lepidópteros, coleópteros y dípteros. Algunos géneros importantes son *Opius*, *Apanteles*, *Microgaster* y *Dacnusa* (entre los braconídeos) e *Ichneumon*, *Itoplectis* y *Diadromus* (entre los icneumónidos).

Se utilizan en programas de control biológico por inoculación y conservación y aumento.

#### **Hymenoptera. Aphidiidae**

Los Aphidiidae son himenópteros de pequeño tamaño, cuyos adultos son negros con zonas del cuerpo más o menos amarillas o anaranjadas. Son exclusivamente endoparasitoides solitarios de pulgones (Aphidoidea); en su mayoría, oligófagos. Al final del desarrollo de la larva del parasitoide, el pulgón parasitado se convierte en un momia por endurecimiento de su tegumento. La forma y aspecto de la momia es característica de la especie de parasitoide, no de la especie de pul-

gón. Algunas especies importantes son *Aphidius*, *Diaretiella*, *Lysiphlebus* y *Praon*.

Su adaptación al ciclo del hospedante es especialmente importante. Para ello, algunas especies han desarrollado una diapausa estival o invernal, mientras que las especies oligófagas cambian de hospedante cuando el pulgón emigra de su planta huésped. Por eso, en algunos programas de control biológico es especialmente importante la presencia de hospedantes alternativos (en la cubierta vegetal o en las zonas circundantes al cultivo, por ejemplo). Se utilizan sobre todo en programas de control biológico por conservación y aumento.

#### **Hymenoptera. Trichogrammatidae**

Los tricogramas son himenópteros de tamaño muy pequeño parasitoides de huevos de lepidópteros. En general, son muy polífagos. Tienen una gran importancia en el control natural de algunas especies y también se usan en programas de control biológico por inundación (*Trichogramma* spp.).

#### **Hymenoptera. Eulophidae**

Es una familia muy numerosa y diversa, cuyas especies pueden ser ecto y endoparasitoides de huevos, larvas y pupas de coleópteros, dípteros, lepidópteros e himenópteros. Algunas especies están especializadas en atacar larvas minadoras de hojas o de tallos (como especies de los géneros *Sympiesis*, *Tetrastichus* y *Diglyphus*), y son polífagos; tanto, que pueden ser indistintamente parasitoides o hiperparasitoides. Se utilizan en programas de control biológico por inoculación (*Diglyphus isaea* (Walker)), o por conservación y aumento (como el complejo de parasitoides de lepidópteros minadores de hoja en frutales de pepita).

#### **Hymenoptera. Aphelinidae**

Los afelínidos constituyen una numerosa familia que incluye principalmente parasitoides solitarios de Diaspididae (cochinillas), Aleyrodidae (moscas blancas) y Aphididae (pulgones). Son muy utilizados en control biológico por inoculación (*Aphytis*), inoculación estacional (*Cales noacki* Howard y *Encarsia formosa* Gahan, que es probablemente el parasitoide más utilizado), y conservación y aumento (*Aphelinus mali* Haldeman, *Prospaltella perniciosi* (Tower)).

#### **Diptera. Tachinidae**

Los adultos de los taquínidos tienen toda la apariencia de las moscas comunes, aunque algunos de ellos no son negros. Son buenos voladores y se alimentan de né-

tar de flores y de melaza producida por homópteros. Todas las especies son parasitoides, aunque el rango de hospedantes sobre el que se desarrollan es muy amplio. La gran mayoría son endoparasitoides solitarios de ninfas, larvas y adultos de pentatómidos (chinchas), langostas, lepidópteros, coleópteros e himenópteros. No se conocen especies hiperparasitoides.

Como las hembras no tienen oviscapto, la mayoría depositan los huevos sobre la vegetación o sobre la superficie del suelo y es la larva la encargada de encontrar el hospedante. En otras especies, la emergencia de la larva se produce en el interior del cuerpo de la madre y, posteriormente, es depositada sobre el huésped o sobre el hábitat.

Se utilizan principalmente en programas de control biológico de conservación, como *Lydella thompsoni* Herting y *Leskia aurea* Fall.

## **REGULACIÓN DE POBLACIONES DE PLAGAS AGRÍCOLAS**

La importancia de los entomófagos en la protección de cultivos radica en su capacidad de regular las poblaciones de las plagas agrícolas por debajo de los umbrales económicos de daños. El estudio de la dinámica de las poblaciones de los entomófagos y de las plagas agrícolas es, por lo tanto, fundamental. Hay dos aspectos que es necesario considerar; el primero es el nivel de equilibrio en el que se mantiene la población de la plaga, que debe estar por debajo del umbral de tolerancia; el segundo, la estabilidad del equilibrio alcanzado (es decir, la capacidad del sistema de retornar al mismo cuando se ha perdido), sobre todo en programas de control biológico por inoculación.

Los depredadores y los parasitoides tienen diferentes características biológicas y de comportamiento, pero su acción presenta unas cuantas similitudes. Unas y otras se resumen en el cuadro 2.

Pensemos en un depredador y un parasitoide paradigmáticos. Tanto uno como otro atacan a un individuo de la plaga agrícola y cuando el ataque tiene éxito (lo cual puede que no pase siempre, ya que la presa/hospedante puede tener mecanismos de defensa) desemboca en su captura (depredador) o en la puesta sobre él (parasitoide). La presa capturada es eliminada del agroecosistema y sólo puede ser consumida una vez. En cambio, el hospedante atacado permanece un tiempo en el agroecosistema (hasta que muere un tiempo después del ataque) y puede ser atacada más de una vez, produciéndose superparasitismo (cuando es atacada por un parasitoide de la misma especie) o multiparasitismo (cuando es atacada por un parasitoide de otra especie) o incluso puede ser consumida por un depredador. Todos los estados del depredador atacan a la presa (recordemos que estamos considerando un depredador modelo) en respuesta a un estímulo que es el hambre. En cambio, sólo las hembras adultas de

los parasitoides atacan a los hospedantes, en respuesta a la presencia de oocitos maduros en su aparato genital. Finalmente, la reproducción de los parasitoides está directamente relacionada con la densidad del hospedante, lo que no sucede en el caso de los depredadores.

CUADRO 2. Similitudes y diferencias entre la depredación y el parasitoidismo

Similitudes		Diferencias	
Depredación	Parasitoidismo	Depredación	Parasitoidismo
Ataque	Ataque	Efecto inmediato	Efecto diferido
Captura	Puesta	Consumición única	Consumición múltiple: superparasitismo, multiparasitismo, depredación
Consumo	Dstrucción del hospedante	Todos los estados	Hembras adultas
Hambre	Presencia de oocitos maduros	Relación no tan directa	Reproducción relacionada con la densidad

### La relación presa-depredador o hospedante-parasitoides

Tanto el nivel de equilibrio que se alcance como su estabilidad depende de las características biológicas del entomófago, de las características biológicas de la plaga agrícola, de las densidades poblacionales de ambas especies y las características del medio ambiente en el que se desarrolle la interacción. El cuadro 3 presenta un resumen de los factores más importantes.

La posibilidad de control de la proporción de sexos de la descendencia se ha desarrollado especialmente en el grupo de parasitoides que son arrenotóquicos; es decir, cuyas hembras son diploides (y proceden de óvulos fecundados) y cuyos machos son haploides (y proceden, por partenogénesis, de óvulos no fecundados). La proporción de sexos de estas especies depende de factores ambientales (como la temperatura), de la idoneidad del hospedante (las hembras se desarrollan sobre los hospedantes más idóneos) y de las densidades poblacionales del hospedante y de la suya propia. De esta manera la proporción de sexos actúa como factor regulador de las poblaciones. Otros parasitoides son telitóquicos: únicamente hay hembras que se reproducen por partenogénesis.

CUADRO 3. Factores más importantes que influyen sobre la relación presa-depredador

El nivel de equilibrio de las densidades poblacionales de la plaga y el entomófago depende de:

- La tasa efectiva de incremento de la plaga agrícola, que depende de:
  - Su fecundidad.
  - Su proporción de sexos.
  - Su mortalidad debida a factores distintos de la acción del entomófago.
- La proporción de individuos de la plaga agrícola que son eliminados por el entomófago, que depende de:
  - Número de individuos del entomófago que realizan la búsqueda.
  - De la eficacia de búsqueda del entomófago y de los factores que le afecten.

La estabilidad de la interacción depende de:

- La respuesta del entomófago a la densidad de la plaga, que se divide en la respuesta funcional y la respuesta numérica.
- La respuesta del entomófago a su propia densidad, conocida como interferencia mutua.
- La respuesta del entomófago a la distribución espacial de la plaga agrícola.

La eficacia de búsqueda del entomófago es una de las características más importantes. Un entomófago que tenga una elevada capacidad de búsqueda será capaz de encontrar a los individuos de las plagas cuando su densidad sea baja y, por lo tanto, será capaz de mantener sus densidades poblacionales a niveles bajos, lo cual es importante en control biológico. Los entomófagos más eficaces no realizan una búsqueda al azar, sino que utilizan estímulos visuales y, sobre todo, químicos, para localizar sus presas/hospedantes.

La respuesta funcional es la relación entre el número de presas/hospedantes consumidas/atacados y el número disponible en la zona de actuación del entomófago. En una búsqueda al azar y con una distribución de la plaga uniforme, esta relación es directamente proporcional, al menos hasta una densidad de la plaga agrícola máxima a partir de la cual el número de ataques no aumenta (respuesta funcional de Tipo I). Es mucho más frecuente una situación en la cual la tasa de ataque es continuamente decreciente al aumentar la densidad de la plaga agrícola (respuesta funcional de Tipo II). La respuesta funcional de Tipo II conduce a relaciones presa/depredador estables.

La respuesta numérica es la relación entre el número de depredadores/parasitoides y el número de presas/hospedantes disponibles. Depende fundamentalmente de la capacidad de movimiento y de agregación de los entomófagos en las zonas en las que la densidad poblacional de la plaga agrícola sea mayor.

La interferencia mutua es la reacción de los individuos de los entomófagos a la presencia de otros individuos de la misma especie que buscan en la misma

población de la plaga agrícola. Se traduce en una disminución del tiempo de búsqueda disponible y de la eficacia de búsqueda y en un aumento de la dispersión.

Teniendo en cuenta la forma cómo los entomófagos regulan las poblaciones de insectos, es posible clasificarlos en dos grandes grupos (con situaciones intermedias, como siempre):

- Entomófagos de mantenimiento: Son aquellos capaces de regular la densidad poblacional de la plaga agrícola a densidades bajas, por lo que su propia densidad poblacional también es baja. Tienen una elevada capacidad de búsqueda y suelen ser polítragos, para ser capaces de sobrevivir en épocas de gran escasez de la presa. Un ejemplo es el fitoseido *Amblyseius andersoni*.
- Entomófagos de limpieza: Son aquellos cuya acción se manifiesta cuando la densidad poblacional de la plaga agrícola es alta. Tienen una gran capacidad de dispersión y de agregación en las zonas donde se encuentra su presa/hospedante. Son voraces y capaces de provocar rápidas disminuciones de la densidad poblacional de la plaga agrícola. Sin embargo, en ocasiones ya es demasiado tarde y se ha superado el umbral de tolerancia. Un ejemplo es el coccinélido *Stethorus punctillum*.

### Modelización de la relación presa-depredador o hospedante-parasitoide

Existen numerosos modelos que intentan explicar y predecir la dinámica de poblaciones de la relación entomófago-plaga agrícola, paso importante para convertir el control biológico en algo más que una simple práctica empírica. La forma general de todos ellos es la siguiente:

$$N_{t+1} = N_t \cdot \lambda \cdot g(N_t) \cdot f(N_t, P_t)$$

$$P_{t+1} = N_t \cdot c \cdot s(N_t, P_t) \cdot [1 - f(N_t, P_t)]$$

donde:

- N y P denotan las densidades poblacionales de la plaga agrícola (N) y del entomófago (P) en dos momentos o generaciones sucesivas (t y t+1).
- $\lambda \cdot g(N_t)$  es la tasa de incremento de la población de la plaga agrícola en ausencia del entomófago, en la que  $\lambda$  es la tasa finita de incremento y  $g(N_t)$  es una función dependiente de la densidad de la plaga agrícola.
- $f(N_t, P_t)$  es la función de supervivencia de la plaga agrícola al ataque del entomófago.



- $c$  es el número de individuos del entomófago que se producen por cada individuo de la plaga agrícola atacado.
- $s(N_i, P_i)$  es el porcentaje de hembras en la descendencia del entomófago.

La función de supervivencia incorpora las características del entomófago a las que hemos hecho referencia anteriormente, tales como la respuesta funcional, la respuesta numérica, la interferencia mutua y la capacidad de agregación.

## BIBLIOGRAFÍA

La bibliografía sobre entomófagos es muy abundante. Algunos textos son muy generales, mientras que otros tratan de órdenes o de familias concretas. A continuación se presenta una selección de referencias que cubre los temas tratados en este capítulo.

BAUDRY, O.; BRAZIER, C.; BRENIAUX, D.; BRUN, V. Y FAUVEL, G. (1999). *Les Phytoséiides prédateurs d'acariens en vergers*. Ctifl. París (Francia). 118 pp.

Una buena y breve introducción a los Phytoseiidae, aunque sólo se refiera a los que tienen importancia en cultivos frutales.

DEBACH, P. y ROSEN, D. (1991). *Biological Control by natural enemies* 2<sup>nd</sup> ed. Cambridge University Press. Cambridge (Reino Unido), 440 pp.

Es la segunda edición de un libro clásico, cuya lectura es muy recomendable. La primera edición está traducida al castellano: DeBach, P. 1977. *Lucha biológica contra los enemigos de las plantas*. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid (España), 399 pp.

EWEN MC, P.; NEW, T. R. y WHITTINGTON, A. E. (2001). *Lacewings in the Crop Environment*. Cambridge University Press. Cambridge (Reino Unido), 546 pp.

Un extenso tratado sobre los crisópidos

HELYER, N.; BROWN, K. y CATTILIN, N. D. (2003). *A Colour Handbook of Biological Control in Plant Protection*. Manson Publishing Ltd. London (Reino Unido), 126 pp.

Muy bueno para reconocer entomófagos, por la calidad y cantidad de sus fotografías. Presenta las características generales de las familias y especies más importantes.

HOY, M. A. (1994). Parasitoids and predators in management of arthropod pests. En: *Introduction to Insect Pest Management*, coord. METCALF, R.; LUCKMANN, W. H., 129-198, John Wiley and Sons. New York (EUA).

Un buen resumen, en uno de los libros clásicos de Control Integrado de Plagas.

JERVIS M. y KIDD, N. (1996). *Insect natural enemies. Practical approaches to their study and evaluation*. Chapman and Hall. London (Reino Unido), 491 pp.

El libro trata sobre biología, ecología y comportamiento de parasitoides y depredadores: comportamiento de búsqueda, ciclo de vida, comportamiento de apareamiento y dinámica de poblaciones.

LATTIN, J. D. (1999). Bionomics of the Anthocoridae. *Annual Review of Entomology*, 44: 207-231.

Una revisión de los antocóridos y su papel en el control biológico de plagas.

VAN DRIESCHE, R. G. y BELLOWS Jr., T. S. (1996). *Biological Control*. Chapman and Hall. New York (EUA), 539 pp.

Es el texto más moderno que trata de manera completa el control biológico de plagas, patógenos y malas hierbas. Muy recomendable.



# EL POTENCIAL DE *Bacillus thuringiensis* EN EL CONTROL BIOLÓGICO DE PLAGAS

PRIMITIVO CABALLERO MURILLO

Departamento de Producción Agraria, Universidad Pública de Navarra,  
31006 - Pamplona,  
pcm92@unavarra.es

## INTRODUCCIÓN

La necesidad de desarrollar sistemas de producción agrícola sostenibles y compatibles con la conservación del medio ambiente ha propiciado un renovado interés por los métodos de control biológico como un componente esencial de las estrategias del control integrado y, de un modo más genérico, de la producción integrada. La bacteria entomopatógena *Bacillus thuringiensis* (Berliner) es el más importante agente de control biológico de plagas agrícolas y forestales en todo el mundo. Las proteínas insecticidas que produce *B. thuringiensis* (Bt) constituyen la materia activa de más del 95% del total de los bioinsecticidas actualmente comercializados. Estos bioinsecticidas han sido utilizados durante varias décadas para el control de plagas de lepidópteros, dípteros y coleópteros (Schnepf *et al.*, 1998). En este tiempo se han puesto de manifiesto algunas importantes ventajas de los productos Bt sobre los plaguicidas químicos entre las que cabe mencionar la no producción de residuos plaguicidas, la alta especificidad de las proteínas Bt contra las especies plagas y la falta de toxicidad para el hombre, la fauna terrestre (mamíferos, aves, reptiles, etc.) y la fauna acuícola (peces, anfibios, etc.) que no son objeto del tratamiento. Sin embargo, la utilización de proteínas Bt no está exenta de riesgos entre los que cabe mencionar el desarrollo de resistencia por parte de los insectos plagas (Ferré y van Rie, 2002).

Los productos Bt están registrados para su uso en más de 50 cultivos en todo el mundo y son, en su mayoría, bioinsecticidas convencionales en los que la materia activa son cepas naturales de Bt no mejoradas. El amplio conocimiento que se ha acumulado sobre la biología molecular de *B. thuringiensis* ha conducido al desarrollo de técnicas que permiten la manipulación genética de esta bacteria para mejorar su utilidad en protección de los cultivos. La mejora genética de las cepas Bt para el desarrollo de una segunda generación de bioinsecticidas ha conseguido un incremento de su potencia contra los insectos plagas, ampliación del espectro de huéspedes para su aplicación en cultivos específicos, mejora de la persistencia sobre las plantas y optimización del proceso de fermentación para la producción. La gran diversidad de genes *cry* identificados en *B. thuringiensis* representa un

enorme potencial para el desarrollo de plantas transgénicas con la capacidad insecticida de *B. thuringiensis*. Estas plantas ya ocupaban en el año 2000 una superficie de más de 11 millones de hectáreas en todo el mundo y están protagonizando nueva revolución de la agricultura (Shelton *et al.*, 2002).

### CARACTERÍSTICAS GENERALES DE *Bacillus thuringiensis*

La bacteria entomopatógena *B. thuringiensis* fue originariamente aislada en 1901 por el científico japonés S. Ishiwata y científicamente descrita en 1915 por el científico alemán E. Berliner (Caballero y Ferré, 2001) con el nombre que actualmente se la conoce. *Bacillus thuringiensis* es una bacteria aerobia, con forma de bastón o varilla, que se distingue de otras bacterias similares (*Bacillus cereus* Frankland & Frankland, *Bacillus mycoides* Flugge, y *Bacillus anthracis* Koch) por su capacidad de producir proteínas que se agregan formando uno o dos cristales paraesporales durante la esporulación (figura 1) (Smilbert y Krieg, 1994). Actualmente se conocen numerosos aislados de *B. thuringiensis* los cuales se han agrupado por las características de su antígeno flagelar en 82 serovares distintos (Lecadet *et al.*, 1999).

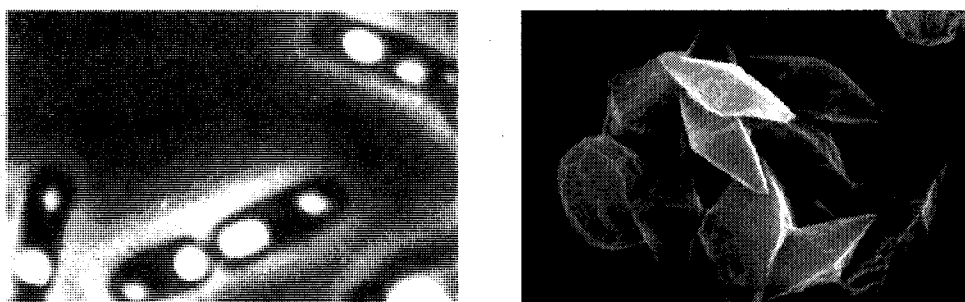


FIGURA 1. Fotografía de células de *Bacillus thuringiensis* esporuladas y con cristales al microscopio óptico (izquierda) y de cristales y esporas al microscopio electrónico de barrido (derecha)

El cristal paraesporal de *B. thuringiensis* es el principal responsable de la actividad insecticida de la bacteria y está compuesto por proteínas Cry, que son más abundantes y específicas, y por proteínas citolíticas Cyt. El conjunto de ambos tipos de proteínas (Cry + Cyt) constituye las conocidas  $\delta$ -endotoxinas (Höfte y Whiteley, 1989). Las proteínas Cry ejercen su acción insecticida cuando son ingeridas por una larva o, a veces, un adulto. En el mesenterón son solubilizadas y digeridas por proteasas del intestino para dar

lugar a péptidos de alrededor de 60 kDa, los cuales son resistentes a la digestión proteolítica y constituyen las verdaderas toxinas. La unión de las toxinas a receptores específicos situados en la membrana citoplásmica de las células epiteliales conduce a la formación de poros, la lisis osmótica de las células y la muerte del insecto (Escríche y Ferré, 2001). Las proteínas Cyt se agrupan en una familia diferente a la de las proteínas Cry y son capaces de producir la lisis de un amplio espectro de células in vitro (Guerchicoff *et al.*, 2001). Algunas cepas Bt también secretan, durante el crecimiento vegetativo, proteínas insecticidas tóxicas para lepidópteros (Vips), que causan la lisis de las células epiteliales del mesenterón y la parálisis del tubo digestivo en insectos susceptibles (Selvapandiyar *et al.*, 2001). Otras cepas Bt secretan otros factores de toxicidad tales como quitinasas, fosfolipasas, proteasas y enterotoxinas (Wiwat *et al.*, 2000).

Hasta la fecha se han caracterizado más de 200 proteínas Cry o Cyt, a través de la clonación y secuenciación de los correspondientes genes *cry* o *cyt*, que en su gran mayoría han sido aisladas de los cristales producidos por cepas naturales de Bt ([http://www.biols.susx.ac.uk/home/Neil\\_Crickmore/Bt/](http://www.biols.susx.ac.uk/home/Neil_Crickmore/Bt/)). La gran diversidad de estas proteínas, tanto desde el punto de vista molecular como de la actividad tóxica que tienen para insectos, representan un gran potencial para el control biológico de las plagas.

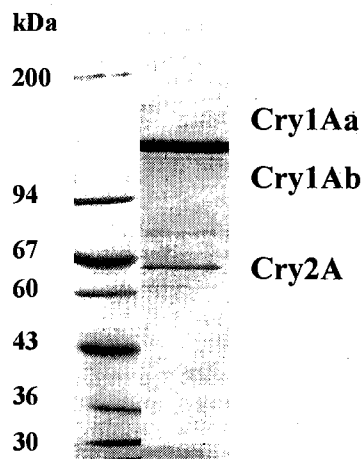
## **DESARROLLO COMERCIAL DE *B. thuringiensis* COMO BIOINSECTICIDA**

Una de las claves del éxito comercial de *B. thuringiensis* es que, al ser un patógeno facultativo, puede ser producido en grandes cantidades a un bajo coste mediante procesos de fermentación líquida o semisólida. La fermentación líquida se hace en fermentadores industriales de hasta 60.000 litros. Cada cepa Bt tiene requerimientos específicos por lo que para su producción industrial es necesario optimizar, en cada caso, el medio de crecimiento y las condiciones de fermentación. La mezcla de esporas y cristales se concentra mediante centrifugación o filtración y puede ser estabilizada como una suspensión concentrada o, previo secado, como un polvo. En la fermentación semisólida la bacteria se crece en un sustrato sólido, húmedo y aireado, que puede ser inerte (por ejemplo vermiculita) o nutritivo como son algunos productos de desecho de industrias agrícolas (por ejemplo salvado de trigo). El producto técnico se estabiliza mediante secado con aire caliente hasta que el contenido de humedad sea menor del 5% (Burges y Jones, 1998). Muchos agricultores de países en desarrollo han validado la sencillez técnica y bajo coste de la fermentación semisólida para producir localmente sus propios insecticidas, como un medio de abaratar la protección de sus cultivos, utilizando cepas locales de *B. thuringiensis*. Las principales limitaciones de este proceso son de escala y calidad técnica de los productos obtenidos. Recientemente se ha puesto de manifiesto la importancia de una adecuada formulación para mejorar la eficacia de *B. thuringiensis* en condiciones de campo (Burges y Jones, 1998).

## Bioinsecticidas basados en cepas Bt naturales

Las cepas de *B. thuringiensis* encontradas en la naturaleza presentan combinaciones de proteínas Cry o Cyt muy diversas y, en consecuencia, también difieren en sus propiedades insecticidas (Schnepf *et al.*, 1998). Actualmente se conocen muchas cepas Bt con un amplio espectro de huéspedes que abarca a distintas especies de insectos de los órdenes Lepidoptera, Diptera y Coleoptera. También se conocen otras cepas Bt con actividad tóxica para otras especies de insectos (Hymenoptera, Homoptera, Orthoptera y Mallophaga) y nematodos pero de estas se conocen menos detalles prácticos (Feitelson., 1993; García-Robles *et al.*, 2001). A pesar de esta enorme diversidad de cepas Bt, hasta la fecha, sólo algunas de ellas han sido desarrolladas como bioinsecticidas comerciales para el control de plagas de lepidópteros, dípteros o coleópteros. Así pues, la mayoría de los formulados comercializados contra lepidópteros han estado basados principalmente en cepas de *B. thuringiensis* ser. *kurstaki* (ej. HD-1) cuyos cristales bipiramidales contienen una combinación de proteínas (Cry1A y Cry2) tóxicas para varias decenas de especies (figura 2). Más tarde se propició la producción comercial de cepas de *B. thuringiensis* ser. *aizawai* cuyos cristales, además de contener algunas proteínas Cry1A, contienen otras proteínas (Cry1C y Cry1D, principalmente) muy tóxicas para *Spodoptera* spp. (Lepidóptera: Noctuidae) y otras especies no controladas por las cepas de *B. thuringiensis* ser. *kurstaki* (figura 2).

### B. t. ser. *kurstaki* HD-1



### B. t. ser. *aizawai* 7.29

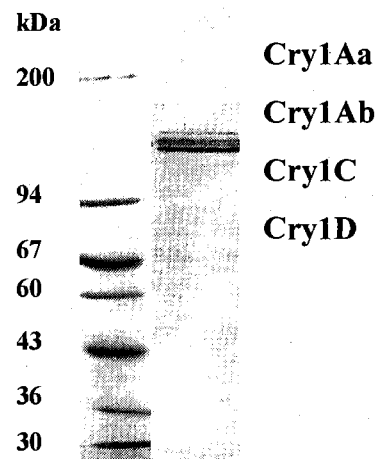


FIGURA 2. Proteínas Cry que componen el cristal de las cepas tipos de *B.t.* ser. *kurstaki* y *B.t.* ser. *aizawai*

Prácticamente todos los formulados comerciales contra dípteros se basan en cepas de *B. thuringiensis* ser. *israelensis* cuyos cristales son una combinación de cuatro proteínas (Cry4A, Cry4B, Cry11A y Cyt1A ) con actividad sinérgica entre ellas (figura 3). De igual modo, los productos contra coleópteros se basan en la cepa *tenebrionis* de *B. thuringiensis* ser. *morrisoni* cuya actividad insecticida reside en las proteínas Cry3A y Cry3B (figura 3).

### *B. t. ser. israelensis.*

### *B. t. ser. tenebrionis*

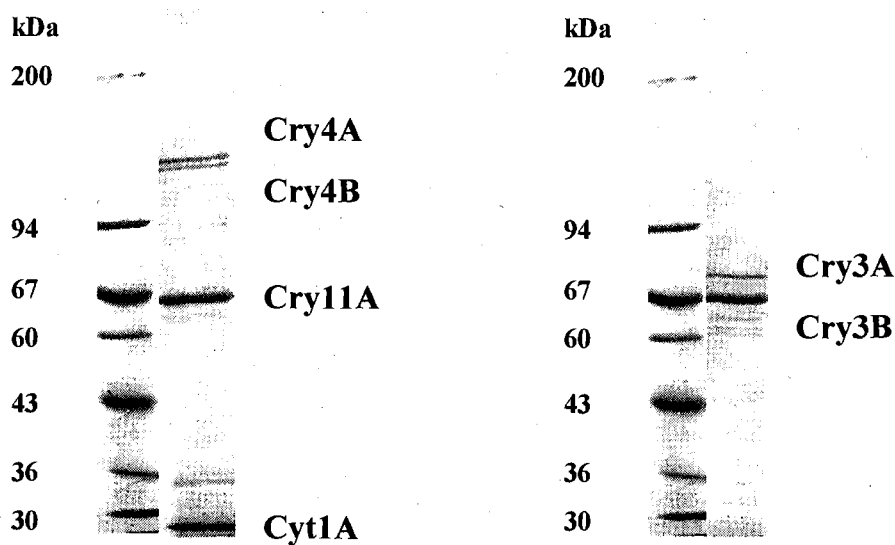


FIGURA 3. Proteínas Cry o Cyt que componen el cristal de la cepa tipo de *B.t. ser. israelensis* y la cepa *tenebrionis* de *B.t. ser. morrisoni*

### Bioinsecticidas basados en cepas Bt mejoradas

Mediante técnicas como la conjugación, transformación, recombinaciones específicas, etc. se han construido cepas con un mayor potencial insecticida contra una determinada especie o con un espectro de huéspedes más amplio que el de las correspondientes cepas naturales (Sanchis, 2000).

#### *Cepas Bt transconjugantes*

El espectro de huéspedes de una cepa Bt es el resultado de la suma de la actividad insecticida de cada una de las proteínas Cry o Cyt individuales que produce y las posibles actividades sinérgica o antagónica que puedan producirse entre ellas.



Los genes que codifican para estas proteínas (genes *cry* o *cyt*, respectivamente) se encuentran, en su mayoría, localizados en plásmidos de gran peso molecular algunos de los cuales son conjugativos (González *et al.*, 1982). La conjugación fue inicialmente utilizada para manipular genéticamente las cepas Bt porque no estaban disponibles los métodos de transformación. Estos plásmidos pueden ser curados o transferidos de una cepa Bt a otra con la finalidad de reunir en una determinada cepa la combinación de genes *cry* deseada. La cepa Bt (EG2424) que produce la materia activa del bioinsecticida comercial Foil® se obtuvo por curación de uno de sus plásmidos nativos y la transferencia por conjugación de un plásmido que porta un gen *cry3A*. De esta manera, se consiguió que dicha cepa tuviera un espectro de huéspedes más amplio ya que produce al mismo tiempo proteínas Cry1A y Cry3A con lo que resulta tóxica para *Ostrinia nubilalis* (Hübner) (Lepidoptera: Pyralidae) y *Leptinotarsa decemlineata* (Say) (Coleoptera: Chrysomelidae). De igual modo se ha obtenido la cepa EG2348 que constituye el ingrediente activo del bioinsecticida comercial Condor® (Sanchis, 2000). Las cepas Bt genéticamente mejoradas por conjugación no son consideradas organismos genéticamente manipulados por lo que los productos basados en ellas no están sujetos a restricciones en el registro. Sin embargo, este procedimiento sólo es aplicable a los genes *cry* localizados en plásmidos conjugativos y tiene otras limitaciones debido principalmente a la incompatibilidad de los orígenes de replicación de algunos plásmidos y también, en cierta medida, a la curación o conjugación espontánea de plásmidos.

### ***Cepas Bt recombinantes***

La construcción de cepas Bt recombinantes con la actividad insecticida deseada ha sido posible gracias a la construcción de vectores de expresión que son funcionales tanto en *B. thuringiensis* como en *Escherichia coli* Thomas (Arantes y Lereclus, 1991) y al desarrollo de un sistema de transformación de las células Bt (Bone y Ellar, 1989). Dichos vectores han sido utilizados para integrar, por recombinación homóloga, un gen *cry* en el cromosoma de *B. thuringiensis* (Kalman *et al.*, 1995) o en uno de los plásmidos nativos de la cepa Bt que se desea mejorar (Bravo *et al.*, 1996). El primer recombinante Bt obtenido mediante esta tecnología fue comercializado en EE UU con el nombre comercial de Raven®. El ingrediente activo de Raven® es una cepa Bt que produce las proteínas Cry3A y Cry3B, activas contra coleópteros, y la proteína Cry1Ac tóxica para larvas de lepidópteros (Sanchis, 2000).

El conocimiento de la estructura y el modo de acción de las toxinas Cry han hecho posible el diseño racional de toxinas recombinantes (quiméricas) con mejorada actividad insecticida. Actualmente se admite que la mayoría de las toxinas Cry tienen una estructura tridimensional similar compuesta por tres dominios a los que

se les han asignado determinadas funciones. Una de las toxinas mejor conocidas es la de Cry3A. El dominio I está integrado por los primeros 250 aminoácidos, que forman siete hélices, y su función es la formación del poro en la membrana de las células epiteliales de los insectos susceptibles. El dominio II, constituido por los 300 aminoácidos siguientes que forman varias láminas, participa en la interacción con el receptor por lo que es un determinante de la especificidad de la toxina. Los restantes 150 aminoácidos forman las *sandwich* del dominio III. Este dominio también parece estar involucrado en la especificidad y, al mismo tiempo, confiere estabilidad a la toxina y protección contra las proteasas (Bravo, 2001). Los genes *cry* híbridos se construyen intercambiando los dominios específicos de dos o más genes *cry* con la finalidad de producir toxinas con un mayor espectro de huéspedes o un mayor potencial insecticida. Algunos de los genes *cry* que se encuentran en la naturaleza son el producto de recombinaciones homólogas entre genes *cry* en los que se ha producido un intercambio de dominios (De Maagd *et al.*, 2001). Los productos de fusión de fragmentos tóxicos de cry1Ab y cry1Ac exhiben características tóxicas de ambos genes (Honee *et al.*, 1991). La toxina híbrida Cry1Ba/Cry1Ia tiene una actividad tóxica mayor contra el escarabajo de la patata, *L. decemlineata*, que la que tienen las dos proteínas precursoras (Naimov *et al.*, 2001).

La cantidad de proteína Cry producida por una determinada cepa Bt puede aumentarse de forma significativa mediante la manipulación del promotor que regula la expresión del correspondiente gen *cry*. A esto también contribuye la eliminación de genes que codifican para enzimas proteolíticas extracelulares las cuales degradan las proteínas del cristal causando una disminución de la cantidad de proteína producida. Tan y Donovan (2001) han demostrado que la eliminación de los genes que codifican para la proteasa alcalina A y la proteasa neutra A mejora la estabilidad del cristal y la producción de proteínas Cry.

### ***Microorganismos alternativos con la capacidad insecticida Bt***

Los genes *cry* pueden ser expresados en organismos alternativos, los cuales adquieren la capacidad insecticida de *B. thuringiensis*, que son utilizados como un vehículo para mejorar o ampliar la persistencia o distribución de las proteínas insecticidas Cry. La bacteria epífita de plantas *Pseudomonas fluorescens* Mikula fue el primer huésped heterólogo utilizado para la expresión de genes *cry*. Las células sintetizan una inclusión cristalina y al final del proceso de fermentación se les produce la muerte, por medio de un tratamiento químico, conservando íntegra la pared celular. Cada célula forma una microcápsula que protege las proteínas del cristal con lo cual se mejora la baja persistencia de los productos Bt debido a la acción de la radiación ultravioleta, el calor o los exudados y el pH de las plantas (Carlton, 1996). Este sistema (Cell-Cap®) ha sido objeto de una patente y se ha empleado para la

obtención de los productos comerciales MVP<sup>®</sup>, utilizado para el control de lepidópteros, y M-Trak<sup>®</sup> para el control de coleópteros (Sanchis, 2000). El proceso de registro de estos productos es bastante sencillo ya que se trata de bacterias muertas. La transferencia por conjugación del gen *cry1Ac* a *Bacillus megaterium* de Bary, una bacteria epífita que persiste en el filoplano del algodón, permite proteger el cultivo de los daños que le causa el noctuido *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Bora *et al.*, 1994).

La transformación de microorganismos endófitos con genes *cry* permite ampliar la utilización de las proteínas Cry de *B. thuringiensis* para el control biológico de plagas que son minadores de hojas o tallos. El gen *cry1Ab* se ha incorporado al cromosoma de la bacteria endófito *Clavibacter xyli* subsp. *cynodontis* Davis *et al.* cuyo hábitat natural es el xilema de *Cynodon dactylon* (L) Pers (Poaceae). Esta bacteria recombinante puede colonizar el xilema de las plantas del maíz y sintetizar la correspondiente proteína Cry con lo cual es capaz de reducir entre el 55% y el 65% las pérdidas que produce *O. nubilalis* en el cultivo (Tomasino *et al.*, 1995). En un aislado endófito de *B. cereus* se ha expresado el gen *cry2Aa* (Mahaffee *et al.*, 1994). Las bacterias causantes de los nódulos de las raíces de las leguminosas también han sido utilizadas como huéspedes alternativos para la dispersión de las toxinas Bt. La expresión del gen *cry3Aa* en la bacteria *Rhizobium meliloti* Dangeard permite proteger el cultivo de la alfalfa de los ataques del coleóptero curculiónido *Sitona hispidulus* (Fabricius). De igual modo, la colonización de los nódulos por cepas recombinantes de *Rhizobium leguminosarum* Frank construidas con el gen *cry3Aa* reducen las pérdidas ocasionadas por *Sitona lineatus* (L.) en los cultivos de guisante (Bezdicek *et al.*, 1994).

## **PLANTAS TRANSGÉNICAS CON LA CAPACIDAD INSECTICIDA DE *B. thuringiensis***

La ingeniería genética ha permitido extender el uso de *B. thuringiensis* en protección de cultivos mediante la construcción de plantas transgénicas que expresan una o más proteínas Cry tóxicas para insectos. Las primeras plantas transgénicas (tabaco y tomate) fueron transformadas mediante el plásmido Ti de *Agrobacterium tumefaciens* E. F. Smith & Town utilizando genes *cry* tanto completos como truncados (sólo incluyen la parte que codifica para la toxina activa) no modificados (Barton *et al.*, 1987; Vaeck *et al.*, 1987). Sin embargo, desde un principio quedó claro que el nivel de expresión de los genes *cry* no modificados era demasiado bajo para conferir a la planta un suficiente grado de protección contra los insectos en condiciones de campo. Los genes *cry* son típicos genes bacterianos cuyo contenido en A/T (60-70%) es mayor que el de los genes de las plantas (40-50%). Esto hace que los codones de los genes *cry* sean ineficientes en plantas ya que las regiones ricas en

A/T pueden contener sitios de terminación de la transcripción, sitios críticos de empalme de mRNA y motivos de inestabilidad del mRNA (De Maagd *et al.*, 1999). El efecto de diferentes grados de modificación de la secuencia codificante fue inicialmente estudiada en los genes *cry1Ab* y *cry1Ac* (Perlak *et al.*, 1991). Actualmente, la práctica más común es utilizar genes sintéticos que, al estar adaptados a la maquinaria transcripcional y traduccional de la planta, pueden ser expresados a niveles suficientes para conferirles a las plantas el grado de resistencia necesario contra los insectos.

En estos momentos, se dispone de muchas plantas cultivadas que han sido transformadas con éxito proporcionándoles resistencia contra una o varias de sus plagas (Shelton *et al.*, 2002; <http://www.aphis.usda.gov/bbep/bp/>). Los insectos objeto de control con plantas Bt son principalmente especies del orden Lepidoptera mediante la producción de proteínas Cry1Ab, Cry1Ac y Cry9C, aunque también se ha desarrollado un producto para el control del escarabajo de la patata, *L. decemlineata*, mediante la producción de la proteína Cry3A. Las plantas de patata con la capacidad insecticida de *B. thuringiensis* fueron las primeras plantas-Bt comercializadas en EE UU con el nombre comercial de NewLeaf™ (Monsanto, St Louis, MO, Estados Unidos) y posteriormente en otros países (Canadá, Rumania, Japón, México y Georgia) con distintos nombres comerciales. Las patatas-Bt fueron transformadas para producir la proteína Cry3A y conferirles resistencia contra el escarabajo de la patata. Su utilización en campo redujo las cantidades de insecticidas en un 40% en 1997, pero en el año 2001 la compañía dejó de producir estas plantas (<http://w.w.w.monsanto.com/ag/articles/PlantBiotech>). En 1996 la compañía Monsanto comercializó el algodón-Bt con distintos nombres comerciales en varios países. El producto comercial de mayor difusión fue el Bollgard® (Monsanto) que produce la proteína Cry1Ac y protege al cultivo principalmente de *Heliothis virescens* (Fabricius) y *H. armigera* y, secundariamente, de *Heliothis zea* (Boddie) (Lepidoptera: Noctuidae) y del gusano rosado *Pectinophora gossypiella* (Saunders) (Lepidoptera: Gelechiidae) (Shelton *et al.*, 2002). *Earias insulana* (Boisduval) (Lepidoptera: Noctuidae) es otra importante plaga del algodón en determinadas regiones del mundo pero su susceptibilidad a las toxinas Bt no ha sido determinada hasta el momento. Las plantas transgénicas de maíz-Bt han sido desarrolladas por varias compañías y vienen siendo comercializadas desde 1996. Los productos introducidos en el mercado con los nombres comerciales de YieldGard® (Monsanto, Syngenta) y de Knockout® (Syngenta) son los que han alcanzado una mayor difusión. Estas plantas producen la proteína Cry1Ab a las cuales les confiere una protección total contra las larvas de la primera generación del pirálido *O. nubilalis* que es una de las más importantes plagas del maíz en todo el mundo. Otras importantes plagas del maíz en distintas regiones del mundo son los lepidópteros *Ostrinia furnacalis* (Guenée) (Lepidoptera: Pyralidae), *Diatraea grandiosella* Dyar

(Lepidoptera: Pyralidae), *H. zea*, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) y *Agrotis ipsilon* (Hufnagel) (Lepidoptera: Noctuidae).

Las plantas transgénicas de la primera generación (patata, algodón y maíz) se han caracterizado por producir una sola toxina Cry seleccionada en función de su toxicidad para las plagas claves del cultivo en cuestión. Actualmente se está desarrollando una segunda generación de plantas transgénicas con el objetivo de que las plantas produzcan al menos dos toxinas Cry que reconozcan distintos receptores en las células epiteliales de los insectos. Así por ejemplo, las plantas de algodón-Bt de segunda generación se han diseñado para producir las toxinas CryAc y Cry2Ab (Greenplate *et al.*, 2000) ya que los modelos matemáticos demuestran las ventajas de estas variedades piramidales para el manejo de la resistencia (Roush, 1998). En el año 1999 se cultivaron cerca de 9 millones de hectáreas de plantas-Bt de las que aproximadamente el 70% eran de maíz-Bt. Esta superficie superó los 11 millones de hectáreas en el año 2000 y, en EE UU, la superficie de cultivo destinada a algodón-Bt superaba a la ocupada por algodón convencional.

## **IMPACTO AMBIENTAL DE *B. thuringiensis***

### **Impacto ambiental de los bioinsecticidas Bt**

Los primeros bioinsecticidas basados en Bt se comercializaron en Francia en 1938, pero su utilización a gran escala en protección de cultivos no tuvo lugar hasta veinte años más tarde con la introducción del producto comercial Thuricide® al que le siguieron otros productos similares comercializados por distintas compañías. Inicialmente, uno de los principales problemas evocados sobre la seguridad de *B. thuringiensis* fue su estrecha relación con *B. anthracis* y *B. cereus* que son dos conocidos agentes causantes de infecciones en el hombre. Sin embargo, ya en 1958 al producto Thuricide® le fue concedida una exención de tolerancia por la Administración de Estados Unidos (United States Food and Drug Administration) basada en una serie de estudios toxicológicos sobre animales y humanos voluntarios (Fisher y Rosner, 1959). Como parte de los estudios necesarios para el registro de los productos Bt en las pruebas toxicológicas se incluyen varias especies de aves y peces sin que se hayan encontrado evidencias de infecciones en ninguna de ellas (Lacey y Brooks, 2001). En los países occidentales no está permitido el desarrollo comercial de cepas que durante su fase de crecimiento vegetativo producen una exotoxina termoestable denominada  $\beta$ -exotoxina. Esta exotoxina es un análogo del ATP y debido al parecido con esta molécula, es capaz de inhibir las ARN polimerasas dependientes de ADN (Sebesta y Horská, 1970) siendo, así, su espectro de toxicidad inespecífico (Hansen y Salamiou, 2000). Recientemente se ha demostrado que ciertas cepas Bt pueden tener la capacidad de producir toxinas similares a las enteroto-

xinas diarreicas de *B. cereus* (Damgaard, 1995) por lo que se ha sugerido que la toxicidad de *B. thuringiensis* para mamíferos debe ser considerada para cada cepa (Bishop *et al.*, 1999). Los resultados publicados ponen de manifiesto que las aplicaciones de bioinsecticidas Bt, debido a su elevada especificidad, no producen efectos directos sobre las poblaciones de enemigos naturales (depredadores y parasitoides) ni sobre otros organismos que no son objeto del tratamiento. Los efectos indirectos producen un impacto sobre las poblaciones de enemigos naturales, a corto y largo plazo, que depende del huésped, el enemigo natural, el momento de la aplicación y la dosis de Bt utilizada (Lacey y Brooks, 2001).

Al evaluar el impacto de los productos Bt recombinantes sobre la salud humana y el medio ambiente, los principales factores que hay que considerar son su contenido genético, su persistencia y su dispersión desde el lugar de aplicación. La transferencia de plásmidos por conjugación ocurre de forma natural entre las cepas Bt que se encuentran en un mismo medio o coinfectando a un mismo huésped (González *et al.*, 1982). Las cepas transconjugantes quedan fuera de la definición de organismos genéticamente modificados (Morris-Coole, 1995) y, por tanto, no están sujetas a ningún tipo de restricciones con vistas a su registro o utilización. El riesgo de las cepas Bt recombinantes es mínimo. Después de una aplicación, las esporas persisten durante algún tiempo en el filoplano y el suelo pero no proliferan y están sujetas a desactivación tanto por agentes bióticos como abióticos (Stotzsky, 2002). Los estudios realizados con organismos que no son objeto del tratamiento no han indicado ningún riesgo de toxicidad específica para mamíferos u otros vertebrados asociados con las cepas Bt recombinantes (McClintock *et al.*, 1999; Siegel, 2001).

Numerosos estudios han puesto de manifiesto que los bioinsecticidas basados en Bt, debido a su especificidad y baja persistencia, no entrañan riesgo de toxicidad para el hombre u otros vertebrados, no producen efectos negativos sobre los enemigos naturales y son considerados compatibles con el resto de agentes de control utilizables en el control integrado de plagas.

### **Impacto ambiental de las plantas Bt**

Las plantas-Bt fueron de las primeras plantas transgénicas aprobadas para uso comercial aunque su previsible impacto ambiental produjo una oposición social en contra de su utilización desde el primer momento. Algunos de los riesgos ecológicos asociados con la utilización masiva de cultivos transgénicos son el desarrollo de poblaciones de insectos resistentes, efectos perjudiciales sobre los insectos que no constituyen plagas y los organismos del suelo y la diseminación de los caracteres transgénicos a otras plantas (Sanchis, 2000).

En las plantas transgénicas las toxinas Bt se producen continuamente y, al estar más protegidas, persisten durante más tiempo por lo que ejercen una fuerte presión

de selección sobre las poblaciones de insectos susceptibles que se alimentan de dichas plantas. Esto representa un importante riesgo ecológico ya que las poblaciones de insectos susceptibles pueden desarrollar resistencia a las toxinas Bt las cuales quedarían inutilizadas para la construcción de plantas transgénicas y para la producción de bioinsecticidas. El fenómeno de la resistencia a Bt ya ha sido documentado para distintas poblaciones de varias especies de insectos en las que se han seleccionado biotipos resistentes tanto en condiciones de campo como a través de selecciones artificiales de laboratorio (Ferré y Van Rie, 2002). La evolución de la resistencia a las toxinas Bt depende de las bases genéticas de la resistencia, la frecuencia inicial de los alelos de resistencia en la población del insecto, la competitividad de los insectos resistentes en el campo y la disponibilidad de una estrategia de manejo de la resistencia. Para preservar la utilidad de las plantas-Bt se han ideado una serie de estrategias entre las que se incluyen como más favorables las siguientes: 1) utilización de plantas-Bt que producen una elevada cantidad de la toxina Bt; 2) rotación temporal de plantas transformadas con distintas toxinas Bt; 3) producción por una misma planta-Bt de dos o más toxinas con efecto insecticida complementario; 4) la utilización de refugios integrados por cultivos convencionales (no transgénicos); y 5) aplicación de mosaicos espaciales integrados por plantas-Bt que producen distintas toxinas-Bt. La estrategia más favorable para el manejo de la resistencia, y la única que hasta ahora se ha puesto en práctica, combina la utilización de cultivos transgénicos-Bt (de alta producción de toxina) con cultivos convencionales (no transgénicos) que actúan como refugios para conservar los alelos susceptibles (Gould, 1998). Otras posibles estrategias moleculares que se han considerado para retrasar la aparición de la resistencia, con vistas al futuro, incluyen la utilización de plantas en las que se regula tanto el momento como la parte de la planta en la que se produce la toxina Bt así como la construcción de plantas-Bt que produzcan toxinas quiméricas.

Las plantas transgénicas con la capacidad insecticida Bt sólo producen una o dos toxinas por lo que son incluso más específicas que los bioinsecticidas basados en cepas Bt las cuales generalmente producen varias proteínas Cry y, a veces, otros tipos de toxinas. Sin embargo, mientras que las cepas Bt producen protoxinas que deben ser disueltas y activadas para ser tóxicas para los insectos las plantas transgénicas producen la toxina ya activada. Estas toxinas son, además, el producto de genes *cry* que han sido genéticamente modificados para aumentar su expresión en plantas con lo cual su espectro de huéspedes puede verse alterado con respecto a las toxinas no modificadas que produce la propia bacteria (Sanchis, 2000). Los microorganismos del suelo quedan expuestos a las toxinas Bt procedentes de los restos de cosecha y exudados radiculares de las plantas transgénicas (Saxena *et al.*, 1999). Los estudios realizados demuestran que las toxinas Bt no producen una mortalidad significativa o efectos adversos sobre el peso de las lombrices, con respecto

al control, ni sobre el número total de nematodos, protozoos, actinomicetos, bacterias u hongos del suelo (Shelton *et al.*, 2002). Sin embargo, dichas toxinas se unen a las partículas con superficies activas del suelo (por ejemplo ácidos húmicos, arcillas) por lo que pueden persistir durante más tiempo y, a más largo plazo, contribuir al desarrollo de resistencias en las poblaciones de insectos del suelo (Stozsky, 2002). Se ha puesto de manifiesto la necesidad de realizar estudios a más largo plazo que permitan obtener resultados concluyentes sobre la seguridad e integridad de los microorganismos del suelo.

Para determinar el efecto que producen las plantas-Bt en otros organismos distintos a las plagas se llevaron a cabo diversos estudios, con anterioridad a su registro en 1995, utilizando como organismos indicadores pájaros, peces, abejas, coleópteros depredadores, himenópteros parasitoides, etc. Los datos obtenidos confirmaron la asunción original de que las plantas-Bt no producen efectos perjudiciales sobre las poblaciones de dichos organismos (Orr *et al.*, 1997; Pilcher *et al.*, 1997; Shelton *et al.*, 2002). En otros estudios realizados con posterioridad al registro de las plantas-Bt, y que han tenido una gran repercusión mediática, se ha señalado que las toxinas Bt son causantes de mortalidad y otros efectos adversos en el depredador polífago *Chrysoperla carnea* (Stephens) (Neuroptera: Chrysopidae) (Hilbeck *et al.*, 1998, 1999) y la mariposa monarca *Danaus plexippus* (L.) (Lepidoptera: Nymphalidae) (Losey *et al.*, 1999). Sin embargo, estos estudios han sido criticados bien porque el diseño experimental no permite establecer una relación causa efecto directa o bien porque la metodología y la interpretación de los resultados es inadecuada (Shelton *et al.*, 2002). En las áreas donde se cultivan de forma masiva las plantas-Bt se han reducido de forma importante las necesidades de aplicaciones de insecticidas químicos de amplio espectro aunque la importancia de dichas reducciones varía en función del cultivo y la región de que se trate (Shelton *et al.*, 2002). Una de las consecuencias más notables de dichas reducciones ha sido la conservación o el aumento de las poblaciones de enemigos naturales lo cual ha permitido un incremento del control natural de las especies fitófagas presentes en la zona del cultivo. La disminución de plaguicidas químicos también favorece la aplicación de otras estrategias posibles en programas de control integrado. Otras consecuencias favorables han sido la disminución de la contaminación potencial del suelo y el agua y el descenso de intoxicaciones crónicas en los agricultores y otros organismos que entran en contacto con los plaguicidas químicos necesarios en ausencia de plantas-Bt.

La transferencia de genes *cry* insertados en el cromosoma de las plantas-Bt a otras variedades de plantas cultivadas o salvajes que crecen en las proximidades es poco probable, especialmente entre especies diferentes, pero teóricamente posible. El flujo de genes entre especies cultivadas y especies próximas silvestres o viceversa se ha demostrado en el caso del maíz y algunas subespecies de maíz silvestre (teosinte) (Nigh *et al.*, 2000). Por tanto, en un determinado contexto agrícola o ecológico como



es el caso de las áreas que constituyen el centro de origen de una especie, el flujo de genes desde las plantas-Bt puede tener efectos imprevisibles y no deseables. En prevención de este posible riesgo, una de las restricciones impuestas al uso de las plantas transgénicas es la prohibición de su cultivo en áreas donde existen especies silvestres próximas. La transferencia de genes desde el ADN procedente de los exudados de las plantas-Bt y los restos del cultivo a bacterias y otros organismos del suelo también se ha estimado que ocurriría muy raramente aún cuando se den las condiciones óptimas (Shelton *et al.*, 2002). Recientemente se ha puesto de manifiesto que la posibilidad de que las plantas-Bt puedan llegar a convertirse en plantas dominantes (malas hierbas) o invasoras en un hábitat natural es baja a corto plazo (Crawley *et al.*, 2001), pero estos resultados necesitan ser confirmados a más largo plazo y para un mayor número de especies transgénicas.

## CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS DE FUTURO

El mayor desafío que actualmente hay planteado en protección de cultivos es el desarrollo de medidas de control que, al mismo tiempo que efectivos, sean sostenibles y compatibles con la conservación del medio ambiente. Las proteínas insecticidas que produce *B. thuringiensis* por su efectividad y compatibilidad con otras medidas de control de tienen un gran potencial dentro de los programas de control integrado. El continuo y progresivo descubrimiento de nuevas proteínas insecticidas con mayor potencia insecticida o un mayor espectro de huéspedes aumentarán el uso de esta bacteria entomopatógena en el futuro. Esta gran diversidad de proteínas insecticidas está dando lugar al desarrollo de muy diferentes productos biotecnológicos basados en Bt. Se han obtenido cepas de Bt que producen nuevas combinaciones de proteínas insecticidas distintas a las que se encuentran en la naturaleza. Otras cepas Bt pueden ser mejoradas de modo que puedan expresar proteínas quiméricas que exhiben las características de dos proteínas distintas. La cantidad de proteína insecticida producida por una determinada cepa Bt puede aumentarse mediante la manipulación de los promotores de los genes *cry* o la curación de ciertos plásmidos que portan otros genes *cry*. Los genes *cry* pueden ser expresados en organismos alternativos, como la bacteria *P. fluorescens*, que son utilizados como vehículos para mejorar o ampliar la persistencia o la distribución en campo de las proteínas Cry. La transformación de bacterias epífitas y endófitas, que colonizan las mismas plantas cultivadas que son atacadas por los fitófagos, permite ampliar la utilización de las proteínas Cry para el control de insectos minadores o taladradores. El desarrollo de plantas transgénicas-Bt ha sido, probablemente, el avance tecnológico más significativo en protección de cultivos en los últimos 50 años. Estas plantas ocupan actualmente más de 11 millones de hectáreas y se prevé

que esta superficie aumente en la medida en que vayan desarrollándose nuevas plantas-Bt.

Los insecticidas Bt han sido utilizados en protección de cultivos durante más de 40 años y tienen un destacado record de seguridad especialmente en comparación con los plaguicidas químicos. La utilización de plantas transgénicas ha encontrado una fuerte oposición desde el principio como resultado de publicaciones negativas aparecidas en la prensa popular. Sin embargo, hay evidencias que muestran que las plantas-Bt, en comparación de los plaguicidas químicos, son beneficiosas para la mayoría de los animales que no son objeto del tratamiento y especialmente para los enemigos naturales. En cualquier caso, las consecuencias ecológicas y sanitarias que potencialmente puedan producir los bioinsecticidas o plantas-Bt, incluyendo los efectos sobre organismos que no son objeto del tratamiento, seguridad sanitaria de los alimentos, y el desarrollo de resistencias en las poblaciones de insectos susceptibles, deben ser analizadas comparativamente con los efectos que producen otras estrategias alternativas.

## BIBLIOGRAFÍA

- ARANTES, O. y LERECLUS, D. (1991). Construction of cloning vectors for *Bacillus thuringiensis*. *Gene*, 108: 115-119.
- BARTON, K. A.; WHITELEY, H. R. y YANG, N. S. (1987). *Bacillus thuringiensis* delta-endotoxin expressed in transgenic *Nicotiana tabacum* provides resistance to lepidopteran insects. *Plant Physiology* 85: 1103-1109.
- BEZDICEK, D. F.; QUINN, M. A.; FORSE, L.; HERON, D. y KAHN, M. L. (1994). Insecticidal activity and competitiveness of *Rhizobium* spp. containing the *Bacillus thuringiensis* subsp. *tenebrionis* -endotoxin gene (cryIII) in legume nodules. *Soil Biology and Biochemistry*, 26: 1637-1646.
- BISHOP, A. H.; JOHNSON, C. y PERANI, M. (1999). The safety of *Bacillus thuringiensis* to mammals, investigated by oral and subcutaneous dosage. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 15: 375-380.
- BONE, E. J. y ELLAR, D. J. (1989). Transformation of *Bacillus thuringiensis* by electroporation. *FEMS Microbiology Letters*, 58: 171-178.
- BORA, R. S.; MURTY, M. G.; SHENBAGARATHI, R. y SEKAR, V. (1994). Introduction of a lepidopteran-specific insecticidal protein gene of *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* by conjugal transfer into *Bacillus megaterium* strain that persist in cotton phyllosphere. *Applied and Environmental Microbiology*, 60: 214-222.

- BRAVO, A. (2001). Proteínas insecticidas de *Bacillus thuringiensis*. En: *Bioinsecticidas, fundamentos y aplicaciones de Bacillus thuringiensis en el control integrado de plagas*, coord. CABALLERO, P. y FERRÉ, J. 71-86. M. V. Phytoma-España S.L. Valencia (España).
- BRAVO, A.; AGAISSE, H.; SALAMITOU, S. y otros (1996). Analysis of *cryIAa* expression in *sigE* and *sigK* mutants of *Bacillus thuringiensis*. *Molecular & General Genetics*, 250: 734-741.
- BURGES, H. D. y JONES, K. A. (1998). Formulation of bacteria, viruses and Protozoa. En: *Formulation of Microbial Biopesticides: Beneficial microorganisms, nematodes and seed treatments*, coord. BURGES, H. D. Kluwer. 31-128 pp. Academic Publishers. Dordrecht (Holanda).
- CABALLERO, P. y FERRÉ, J. (coord.). (2001). *Bioinsecticidas: fundamentos y aplicaciones de Bacillus thuringiensis en el control integrado de plagas*. M. V. Phytoma-España, S.L. Valencia (España), 318 pp.
- CARLTON, B. C. (1996). Development and commercialisation of new and improved biopesticides. *Annals of New York Academy of Science*, 792: 154-163.
- CRAWLEY, M. J.; BROWN, S. L.; HAILS, R. S.; KOHN, D. D. y REES, M. (2001). Biotechnology: transgenic crops in natural habitats. *Nature*, 409: 443-448.
- DAMGAARD, P. H. (1995). Diarrhoeal enterotoxin production by strains of *Bacillus thuringiensis* isolated from commercial *Bacillus thuringiensis* based bioinsecticides. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, 12: 245-250.
- DE MAAGD, R. A.; BAKKER, P. L.; MASSON, L.; ADANG, M. J.; SANGADALA, S.; STEIKEMA, W. y BOSCH, D. (1999). Domain III of *Bacillus thuringiensis* delta endotoxin Cry1Ac is involved in binding to *Manduca sexta* brush border membranes and its purified amino peptidase N. *Molecular Microbiology*, 31: 463-471.
- DE MAAGD, R. A.; BRAVO, A. y CRICKMORE, N. (2001). How *Bacillus thuringiensis* has evolved specific toxins to colonize the insect world. *Trends in Genetics*, 17: 193-199.
- ESCRICHE, B. y FERRÉ, J. (2001). Modo de acción de las proteínas insecticidas de *Bacillus thuringiensis*. En: *Bioinsecticidas, fundamentos y aplicaciones de Bacillus thuringiensis en el control integrado de plagas*, coord. CABALLERO, P. y FERRÉ, J. 87-108 pp. M. V. Phytoma-España S.L. Valencia (España).
- FEITELSON, J.S. (1993). The *Bacillus thuringiensis* family tree. En: *Advanced engineered pesticides*. coord. KIM, L. 63-71 pp. Marcel Dekker. New York (EUA).
- FERRÉ, J. y VAN RIE, J. (2002). Biochemistry and genetics of insect resistance to *Bacillus thuringiensis*. *Annual Review of Entomology*, 47: 501-533.

- FISHER, R. y ROSNER, L. (1959). Toxicology of the microbial insecticide Thuricide. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 7: 686-688.
- GARCÍA-ROBLES, I.; SÁNCHEZ, J.; GRUPPE, A.; MARTÍNEZ-RAMÍREZ, A. C.; RAUSELL, C.; REAL, M. D. y BRAVO, A. (2001). Mode of action of *Bacillus thuringiensis* PS86Q3 strain in hymenopteran forest pests. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 31: 849-856.
- GONZÁLEZ, J. M. J.; BROWN, B. J. y CARLTON, B. C. (1982). Transfer of *Bacillus thuringiensis* plasmids coding for delta-endotoxin among strains of *Bacillus thuringiensis* and *B. cereus*. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 79: 6951-6955.
- GOULD, F. (1998). Sustainability of transgenic insecticidal cultivars: integrating pest genetics and ecology. *Annual Review of Entomology*, 43: 701-726.
- GREENPLATE, J. T.; PEN, S. R.; AHAPPLEY, Z. y otros (2000). Bollgard II efficacy: quantification of total lepidopteran activity in a 2-gene product. *Proceedings of the Beltwide Cotton Conference*, 2: 1041-43.
- GUERCHICOFF, A.; DELECLUSE, A. y RUBINSTEIN, C. P. (2001). The *Bacillus thuringiensis* cyt genes for hemolytic endotoxins constitute a gene family. *Applied & Environmental Microbiology*, 67: 1090-1096.
- HANSEN, B. M. y SALAMITOU, S. (2000). Virulence of *Bacillus thuringiensis*. En: *Entomopathogenic bacteria: from laboratory to field application*, coord. CHARLES, J. F.; DELÉCLUSE, A. y NIELSEN-LEROUX, C. 41-64 pp. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht (Holanda).
- HILBECK, A.; MOAR, W. J.; PUSZTAI-CAREY, M.; FILIPPINI, A. M. y BIGLER, F. (1998). Toxicity of *Bacillus thuringiensis* Cry1Ab toxin to the predator *Chrysoperla carnea*. *Environmental Entomology*, 27: 1255-63.
- HILBECK, A.; MOAR, W. J.; PUSZTAI-CAREY, M.; FILIPPINI, A. M. y BIGLER, F. (1999). Prey-mediated effects of Cry1Ab toxin and protoxin and Cry2A protoxin on the predator *Chrysoperla carnea*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 91: 305-316.
- HÖFTE, H. y WHITELEY, H. R. (1989). Insecticidal crystal proteins of *Bacillus thuringiensis*. *Microbiological Reviews*, 53: 242-255.
- HONEE, G.; CONVENTS, D.; VAN RIE, J.; JANSSENS, S.; PEFFEROEN, M., y VISSER, B. (1991). The carboxyl terminal domain of the toxic fragment of a *Bacillus thuringiensis* crystal protein determines receptor binding. *Molecular Microbiology*, 5: 2799-2806.

- KALMAN, S.; KIEHNE, K. L.; COOPER, N. y otros (1995). Enhanced production of insecticidal proteins in *Bacillus thuringiensis* strains carrying an additional crystal protein gene in their chromosomes. *Applied & Environmental Microbiology*, 61: 3063-3068.
- LACEY, L. A. y BROOKS, W. M. (2001). Initial handling and diagnosis of diseased insects. En: *Manual of Techniques in Insect Pathology*, coord. LACEY, L. 1-17 pp. Academic Press. San Diego (EUA).
- LECADET, M.M.; FRANCHON, E.; COSMAO-DUMANOIR, V.; RIPOUTEAU, H.; HAMON, S.; LAURENT, P y THYÉRY, I. (1999). Updating the H-antigen classification of *Bacillus thuringiensis*. *Journal of Applied Microbiology*, 86: 660-672.
- LOSEY, J.; RAYNOR, L. y CARTER, M. E. (1999). Transgenic pollen harms monarch larvae. *Nature*, 399: 214.
- MAHAFFEE, W. F.; MOAR, W. J. y KLOEPPER, J. W. (1994). Bacterial endophytes genetically engineered to express the cryIIA -endotoxin from *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki*. En: *Improving Plant Productivity with Rhizosphere Bacteria*, coord. RYDER, M. H.; STEVENS, P. M. y BOWEN, G. D. 246-256 pp. CSIRO Publications. East Melbourne (Australia).
- MCCLINTOCK, J. T.; VAN BEEK, N. A. M.; KOUGH, J. L.; MENDELSON, M. L. y HUTTON, P. O. (1999). Regulatory aspects of biological control agents and products derived by biotechnology. En: *Biological and Biotechnological Control of Insect Pests*, coord. REHCIGL, J. E. y REHCIGL, N. A. 305-357 pp. Lewis Publishers. Boca Raton (EUA).
- MORRIS-COOLE, C. (1995). *Bacillus thuringiensis*: ecology, the significance of natural genetic modification and regulation. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 11: 471-477.
- NAIMOV, S.; WEEMEN-HENDRIKS, M.; DUKIANDJIEV, S. y DE MAAGD, R. A. (2001). *Bacillus thuringiensis* delta-endotoxina CryI hybrid proteins with increased activity against the colorado potato beetle. *Applied and Environmental Microbiology*, 67: 5328-5330.
- NIGH, R.; BENBROOK, C.; BRUSH, S.; GARCÍA-BARRIOS, L.; ORTEGA-PACZKA, R. y PERALES, H. R. (2000). Transgenic crop: a cautionary tale. *Science*, 287: 1927.
- ORR, D. B. y LANDIS, D. A. (1997). Oviposition of European corn borer (Lepidoptera: Pyralidae) and impact of natural enemy populations in transgenic versus isogenic corn. *Journal of Economic Entomology*, 90: 905-909.
- PERLAK, F. J. y otros (1991). Modification of the coding sequence enhances plant expression of insect control protein genes. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 88: 3324-3328.

- PILCHER, C. D. y otros (1997). Preimaginal development, survival, and field abundance of insect predators on transgenic *Bacillus thuringiensis* corn. *Environ. Entomol.*, 26: 446-454.
- ROUSH, R. T. (1998). Two-toxin strategies for management of insect resistant transgenic crops: can pyramiding succeed where pesticide mixtures have not? *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B*, 353: 1777-1786.
- SANCHIS, V. (2000). Biotechnological improvement of *Bacillus thuringiensis* for agricultural control of insect pest: benefits and ecological implications. En: *Entomopathogenic bacteria: from laboratory to field application*, coord. CHARLES, J. F.; DELÉCLUSE, A. y NIELSEN-LEROUX, C. 441-459 pp. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht (Holanda).
- SAXENA, D.; FLORES, S. y STOTZSKY, G. (1999). Insecticidal toxin in roots exudates from Bt corn. *Nature*, 402: 480.
- SCHNEPF, E. N.; CRICKMORE, N.; VAN RIE, J.; LERECLUS, D.; BAUM, J.; FEITELSON, J.; ZEIGLER, D. R. y DEAN, D. H. (1998). *Bacillus thuringiensis* and its pesticidal crystal proteins. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 62: 775-806.
- SEBESTA, K. y HORSKÁ, K. (1970). Mechanism of inhibition of DNA-dependent RNA polymerase by exotoxin of *Bacillus thuringiensis*. *Biochemica et Biophysica Acta*, 209: 357-376.
- SELVAPANDIYAN, A.; ARORA, N.; RAJAGOPAL, R.; JALALI, S. K.; VENKATESAN, T.; SINGH, S. P. y BHATNAGAR, R. K. (2001). Toxicity analysis of N- and C-terminus-deleted vegetative insecticidal protein from *Bacillus thuringiensis*. *Applied and Environmental Microbiology*, 67: 5855-5858.
- SHELTON, A. M.; ZHAO, J. Z. y ROUSH, R. T. (2002). Economic, ecological, food safety, and social consequences of the deployment of Bt transgenic plants. *Annual Review of Entomology*, 47: 845-881.
- SIEGEL, J. P. (2001). The mammalian safety of *Bacillus thuringiensis* spores following aerial application. *Journal of Invertebrate Pathology*, 71: 263-267.
- SMILBERT, R. y KRIEG, N. (1994). Phenotypic testing. En: *Methods for general and molecular bacteriology*, coord. GERHARDT, P.; MURRAY, R. G. E.; WOOD, W. y KRIEG, N. 172-193 pp. American Society for Microbiology. Washington (EUA).
- STOTZSKY, G. (2002). Release, persistence and biological activity in soil of insecticidal proteins from *Bacillus thuringiensis*. En: *Genetically Engineered Organisms*, coord. LETOURNEAU, D. K. y BURROWS, B. E. 187-222 pp. CRC Press. Boca Raton (EUA).

- TAN, Y. y DONNOVAN, W. P. (2001). Deletion of *aprA* and *nprA* genes for alkaline protease A and neutral protease A from *Bacillus thuringiensis*: effects on insecticidal crystal proteins. *Journal of Biotechnology* 84,: 67-72.
- TOMASINO, S. F.; LEISTER, R. T.; DIMOCK, M. B.; BEACH, R. M. y Kelly, J. L. (1995). Field performance of *Clavibacter xyli* subsp. *cynodontis* expressing the insecticidal crystal protein genes *cryIAc* of *Bacillus thuringiensis* against European corn borer in field corn. *Biological Control*, 5: 442-448.
- VAECK, M.; REYNAERTS, A.; HÖFTE, H. y otros (1987). Transgenic plants protected from insect attack. *Nature*, 327: 33-37.
- WIWAT, C.; THAITHANUN, S.; PANTUWATANA, S. y BHUMIRATANA, A. (2000). Absence of toxicity of *Bacillus thuringiensis* pollen to black swallowtails under field conditions. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 97: 7700-7703.

# LOS NEMATODOS ENTOMOPATÓGENOS AGENTES DE CONTROL DE PLAGAS

FERNANDO GARCÍA DEL PINO

Departamento de Biología Animal. Facultad de Ciencias. Universidad Autónoma de  
Barcelona. 08193 Bellaterra. Barcelona.

fernando.garcia@uab.es

Los nematodos entomopatógenos son parásitos obligados de insectos, que presentan una relación simbiótica con una bacteria que les confiere las particulares características del complejo nematodo-bacteria, y la enorme potencialidad como bioinsecticidas.

Recientemente estos nematodos están recibiendo una mayor atención, debido al desarrollo de métodos de producción económicamente razonables que han permitido su utilización generalizada como bioinsecticidas mediante estrategias inundativas o estacionales. Otro aspecto que incide en el interés despertado por este agente biológico de control de plagas es que pueden ser manipulados para mejorar su patogenicidad y su persistencia, y algunas de las toxinas que producen pueden ser transferidas o expresadas en plantas cultivables o en otros microorganismos.

Los nematodos entomopatógenos pertenecen a dos familias de nematodos del orden Rhabditida: la familia Steinernematidae (Chitwood y Chitwood, 1937) y la familia Heterorhabditidae (Poinar, 1976), presentando ambas familias un ciclo de vida muy similar (figura 1).

El estadio infectivo de *Steinernema*, que corresponde a un tercer estadio juvenil infectivo, es el único estadio del ciclo de vida de estos nematodos que puede vivir fuera del insecto. Estas formas infectivas no se alimentan, tienen la boca y el ano cerrados y pueden sobrevivir en el medio durante varios meses. Son las encargadas de localizar el insecto, ya que pueden detectar diversos productos de excreción de los mismos que son utilizados como rastros para su localización. Estas formas infectivas, que presentan una doble cutícula, transportan en la parte anterior de su intestino unas 200 células de la bacteria simbiote del género *Xenorhabdus* (Enterobacteriaceae) (Ehlers y Peters, 1995).

La entrada en el insecto se produce principalmente por las aberturas naturales del mismo (boca, ano y espiráculos). Una vez el nematodo se encuentra en el sistema traqueal o el sistema digestivo del insecto, éste penetra hacia el hemocele a través de las frágiles paredes de las traqueolas por acción mecánica, o a través de la mem-



brana peritrofica del digestivo, gracias a la presión mecánica y a la secreción de enzimas histolíticos (Abu Hatab *et al.*, 1995). Cuando el nematodo alcanza el hemocele libera la bacteria que transportaba, esta liberación se puede producir entre 30 minutos a 5 horas después de la infección (Dunphy y Thurston, 1990; Wang *et al.*, 1994). La bacteria se multiplica rápidamente en la hemolinfa del insecto y lo mata por septicemia, generalmente dentro de las 24-48 horas. Es en ese momento cuando el nematodo comienza a alimentarse de la bacteria, y muda sucesivamente hasta alcanzar el cuarto estadio, después del cual se transforman en adultos, machos y hembras de la primera generación. Esta primera generación se reproduce dando lugar a una segunda generación de adultos.

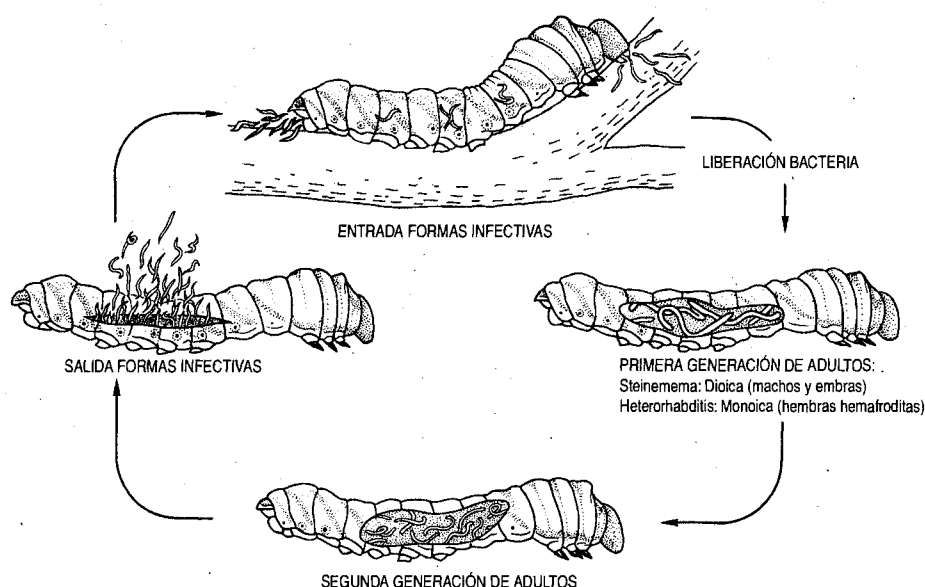


FIGURA 1. Ciclo biológico de los nematodos entomopatógenos

La producción de los nematodos dentro del insecto continúa hasta que se consumen los recursos alimenticios del cadáver del insecto, usualmente permitiendo el desarrollo de dos o hasta tres generaciones. Cuando los recursos comienzan a escasear, el segundo estadio larvario del nematodo deja de alimentarse e incorpora las bacterias en una vesícula presente en su tubo digestivo. Es entonces cuando este segundo estadio larvario muda y se convierte en estadio infectivo, manteniendo la cutícula del segundo estadio como funda exterior. En el caso de que los recursos del insecto sean muy limitados, la descendencia de la primera generación dará lugar directamente a las formas infectivas.

Cuando se forman las nuevas formas infectivas, éstas saldrán del cadáver del insecto, pasando al medio para localizar un nuevo insecto que parasitar.

El ciclo de vida de los heterorhabdítidos es similar al de los steinernemátidos, pero en *Heterorhabditis* la primera generación de adultos es monoica, ya que está compuesta exclusivamente por hembras hermafroditas. Igualmente en el caso de *Heterorhabditis* la bacteria simbiote pertenece al género *Photorhabdus* (Enterobacteriaceae), que presenta luminiscencia, en vez de la bacteria *Xenorhabdus* que transportan los nematodos del género *Steinernema*.

### **CARACTERÍSTICAS DE LOS NEMATODOS ENTOMOPATÓGENOS COMO BIOINSECTICIDAS Y FACTORES QUE PUEDEN LIMITAR SU EFICACIA**

Los nematodos entomopatógenos son letales para muchos insectos, pero son muy seguros para el hombre, las plantas y otros animales, ya que no contaminan el medio ambiente. Por este motivo en la aplicación de estos nematodos, a diferencia de los productos químicos, no es necesario la utilización de máscaras u otros equipos de protección personal, no necesitan plazos de seguridad, y no dejan residuos ni contaminan las aguas subterráneas. Los nematodos no requieren equipos de aplicación especializados, y se pueden aplicar con los equipos convencionales (pulverizadores, inyectores, mediante el riego, etc.) y son compatibles con muchos plaguicidas químicos, pudiendo ser utilizados conjuntamente. Mientras que muchos otros agentes de control biológico necesitan días e incluso semanas para matar al insecto, los nematodos, con su bacteria simbiótica, matan al insecto en 24-48 horas. Otra característica importante de estos nematodos es que encuentran al insecto activamente en hábitats ocultos (suelo y galerías), y son efectivos donde otros plaguicidas químicos o agentes de control biológico no lo son. Finalmente, cabe señalar que los nematodos entomopatógenos se reproducen en el insecto que parasitan, pudiendo dar lugar a un efecto multiplicativo de la dosis inicial aplicada.

Todas estas características determinan que los nematodos entomopatógenos presenten grandes ventajas en el control de plagas de insectos, pero existen diversos factores que, en algunos casos, pueden determinar su eficacia, entre estos factores, se pueden destacar los siguientes:

#### **Entrada de los nematodos en el insecto**

Una vez el nematodo ha localizado al insecto, generalmente, no existen problemas para que pueda entrar en el interior del mismo, sin embargo, en algunas ocasiones se ha podido comprobar cómo esta entrada se ha visto dificultada por comportamientos del propio insecto. Gaugler *et al.*, (1994), pudieron comprobar como

*Popillia japonica* (Newman) (Coleoptera: Scarabaeidae) desarrolla un comportamiento de acicalamiento o autoaseo (*grooming*) y comportamientos de evasión que dificultan la entrada de los nematodos al interior del insecto.

La entrada de los nematodos por los espiráculos hacia el sistema traqueal puede verse dificultada en algunos insectos por la presencia de barreras mecánicas como placas protectoras que impidan el paso de los nematodos a través de los mismos. Este fenómeno ha sido observado en diversas larvas de escarabeidos que se desarrollan en el suelo (Forschler y Gardner, 1991) y en larvas de típulas (Peters y Ehlers, 1994). Sin embargo, en otros casos, como en las larvas de *Cephalcia lariciphila* (Hymenoptera: Pamphiliidae), los espiráculos respiratorios son la vía principal de entrada de los nematodos (Georgis y Hague, 1981).

La boca y el ano son las vías principales de entrada de los nematodos en muchos insectos. Sin embargo, en algunos casos la anchura de la boca puede ser un factor que limite la entrada de los nematodos en el insecto, como ocurre con los gusanos de alambre (Eidt y Thurston, 1995). En otros casos, la presencia de potentes mandíbulas pueden dañar los nematodos que intenten penetrar por esta vía, como ocurre en las larvas de simúlidos (Gaugler y Molloy, 1981). La entrada de los nematodos por el ano puede dificultarse cuando el insecto produce defecaciones frecuentes, así por ejemplo Cui *et al.* (1993) y Georgis y Hague (1981) vieron que tanto en los escarabeidos como en los tipúlidos, la vía de entrada más frecuente era la boca en vez del ano.

La entrada de los nematodos también se puede producir a través de la cutícula del insecto. Los heterorhabdítidos pueden penetrar la cutícula del insecto por presión mecánica, gracias a la presencia en su parte anterior de un diente cuticular. A pesar de que las formas infectivas de los steinernemátidos no presentan dicho diente cuticular, también pueden atravesar la cutícula de algunos insectos. Peters y Ehlers (1994) comprobaron como *Steinernema feltiae* (Filipjev) (Nematoda: Steinernematidae) es capaz de atravesar la cutícula de las larvas de las típulas, la cual carece de epicutícula cerosa. Simoes (1998) comprobó cómo esta penetración de las formas infectivas de los steinernemátidos a través de las exocutículas rudimentarias de algunos insectos se ve favorecida por la secreción de enzimas histolíticos.

### **Interacciones con el sistema inmunitario del insecto**

Cuando un nematodo entra en la hemolinfa de un insecto, la respuesta inmediata del sistema inmunitario del mismo es el reconocimiento del nematodo como un agente extraño y la consiguiente encapsulación del mismo. El nematodo queda encerrado en una cápsula que lo inactiva antes de la liberación de la bacteria. Estos fenómenos se han observado en diferentes grupos de insectos (ortópteros, coleópteros, dípteros y lepidópteros). Wang *et al.* (1994) observaron cómo en *Acheta domestica*

(L.) (Orthoptera: Gryllidae), se producía la encapsulación del nematodo *Steinernema carpocapsae* (Weiser) (Nematoda: Steinernematidae) y *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar (Nematoda: Heterorhabditidae), pero en cambio no se producía la encapsulación de *Steinernema scapterisci* Nguyen y Smart (Nematoda: Steinernematidae), especie que ha sido observada frecuentemente en relación con ortópteros. Igualmente el nematodo *Steinernema glaseri* (Steiner) (Nematoda: Steinernematidae), que se asocia de forma natural con larvas de escarabeidos, no produce la encapsulación en *P. japonica*, mientras que otras especies de nematodos como *S. carpocapsae* y *H. bacteriophora* sí la producen. Estas observaciones sugieren que los nematodos entomopatógenos son capaces de evitar la encapsulación en aquellos hospedadores similares a los que habitualmente parasitan de forma natural (Dowds y Peters, 2002). Dunphy y Webster (1987) comprobaron cómo los nematodos son capaces de evitar la encapsulación gracias a la presencia de componentes lipídicos que presenta su cutícula, que evita que sean reconocidos como un cuerpo extraño por parte del sistema inmunitario del insecto. A pesar de que este fenómeno de la encapsulación de los nematodos que penetran en el insecto puede limitar su eficacia, cabe señalar que la capacidad de encapsular nematodos es limitada. Diversos autores han podido comprobar cómo, cuando se produce una entrada múltiple de nematodos en el insecto, no todos pueden ser encapsulados, quedando alguno de ellos libres en la hemolinfa lo que produce finalmente la muerte del insecto.

### **El comportamiento de búsqueda del nematodo**

El comportamiento de búsqueda del insecto por parte del nematodo puede ser un factor determinante que afecte su eficacia. Así por ejemplo, si se pretende controlar una plaga que se encuentra en las capas más profundas del suelo se deberán utilizar nematodos que se desplacen verticalmente, mientras que si la plaga se encuentra en la superficie del suelo, un nematodo con desplazamientos horizontales puede ser el más efectivo. En este sentido, la distribución vertical de los nematodos ha sido estudiada tanto en el laboratorio como en el campo (Campbell *et al.*, 1996; Ferguson *et al.*, 1995). Estos autores han podido comprobar cómo *S. carpocapsae* se encuentra frecuentemente en las capas más superficiales del suelo (1-2 cm), mientras que *H. bacteriophora* suele encontrarse en las capas más profundas (desde los 8 cm hasta los 35 cm). Igualmente estudios de laboratorio han señalado que las formas infectivas de *S. carpocapsae* tienden a moverse hacia arriba (Georgis y Poinar, 1983; Schroeder y Beavers, 1987), mientras que *S. glaseri* y *H. bacteriophora* se mueven principalmente hacia abajo, aunque también se mueven a lo largo de toda la columna de suelo. Evidentemente, la posición de cada especie de nematodo en las diferentes capas del suelo, determinará una cierta especificidad por la entomofauna presente en cada estrato.

Otro aspecto relacionado con el comportamiento de búsqueda es la capacidad de movimiento que manifiestan los diferentes nematodos. Así por ejemplo, se han podido establecer unos patrones genéricos de comportamiento. Algunos nematodos presentan un comportamiento de «emboscada». Cuando estos nematodos están en el suelo permanecen inmóviles hasta que detectan la proximidad de un posible hospedador y es entonces cuando se activa el comportamiento de búsqueda que les permite abalanzarse sobre el insecto que parasitarán. Por el contrario, otros nematodos presentan un comportamiento de «navegante». Estos nematodos cuando están en el suelo están continuamente desplazándose, buscando un posible insecto que les sirva de hospedador.

Las diferentes estrategias de búsqueda del hospedador por parte de las formas infectivas de las diferentes especies de nematodos varían en un continuo entre el comportamiento de «emboscada» y el de «navegante» (Campbell y Gaugler, 1993, 1997; Grewal *et al.*, 1994; Lewis *et al.*, 1992, 1993). Dentro de los géneros *Steinernema* y *Heterorhabditis* existen variaciones considerables en sus comportamientos de búsqueda, que determinan su eficacia contra las distintas plagas. De forma genérica se puede indicar que si se pretende controlar una plaga que se encuentra inmóvil en el suelo alimentándose de las raíces de una planta, será necesario utilizar un nematodo con comportamiento de búsqueda de «navegante», mientras que si se trata de una plaga con movilidad en el suelo sería adecuado utilizar un nematodo con comportamiento de «emboscada».

### **Supervivencia en el medio**

Generalmente los nematodos entomopatógenos son utilizados como bioinsecticidas mediante estrategias inundativas, que implican la liberación de un gran número de nematodos en el medio, con el objetivo de obtener un inmediato control de la plaga. En estas situaciones es necesario mantener una elevada población de nematodos en el campo durante al menos 2-3 semanas (Georgis y Manweiler, 1994). Por este motivo la capacidad de persistencia de los nematodos es un factor que determinará la eficacia de los mismos. La supervivencia de los nematodos en el medio una vez aplicados, varía en función de la especie de nematodo, en relación con su comportamiento, su tasa metabólica y la cantidad de reservas nutritivas que dispone, así como de diversos factores abióticos y bióticos (antagonistas).

Entre los factores abióticos, las características del suelo como la granulometría, pueden determinar la capacidad de movilidad de los nematodos, así como la aireación del suelo y por tanto su supervivencia (Kung *et al.*, 1990).

Otros factores como la temperatura, la humedad, la concentración de sales o de plaguicidas en su entorno, también pueden jugar un papel importante en la supervivencia de los nematodos. Se ha podido comprobar como a temperaturas superiores

a 32°C, los nematodos entomopatógenos, como otros muchos organismos, tienen dificultades en reproducirse, desarrollarse e incluso sobrevivir (Grewal *et al.*, 1994; Zervos *et al.*, 1991). Sin embargo, se están aislando diferentes cepas de nematodos en regiones de clima tropical que manifiestan una mayor tolerancia a las temperaturas elevadas (Amarasinghe *et al.*, 1994). La humedad es otro factor que puede determinar la supervivencia de los nematodos entomopatógenos. Los nematodos necesitan una película de agua alrededor de su cuerpo para poder moverse, por lo que la desecación afecta de manera adversa su movilidad y su supervivencia. Se han realizado diversos estudios que han determinado la diferente tolerancia a la desecación que presentan las distintas especies de *Steinernema* y *Heterorhabditis* (Liu y Glazer, 2000; Solomon *et al.*, 1999).

Entre los factores bióticos que determinan la supervivencia de las formas infectivas de los nematodos entomopatógenos en el medio, enemigos naturales como protozoos, hongos, turbelarios, nematodos, tardígrados, oligoquetos, ácaros, etc., pueden provocar una reducción de las poblaciones de estos nematodos (Small, 1988). Sin embargo, los nematodos tienen diferentes estrategias para poder evadirse del ataque de estos enemigos naturales, así por ejemplo, su comportamiento de búsqueda, ciertas estructuras morfológicas, como la presencia de la doble cutícula, o diversos factores fisiológicos protegen a las formas infectivas del ataque de los hongos nematófagos. Igualmente la presencia de antibióticos producidos por la bacteria simbiote en el interior del insecto genera un ambiente favorable para el desarrollo del nematodo que puede impedir el ataque de muchos antagonistas. Finalmente, la elevada capacidad reproductiva de estos nematodos y su rápido ciclo biológico, que permite a las formas infectivas salir rápidamente del interior del insecto parasitado, minimizan tanto el ataque de antagonistas como los posibles efectos de la actividad de los organismos carroñeros.

## PRODUCCIÓN FORMULACIÓN Y APLICACIÓN

Los nematodos entomopatógenos se pueden producir a gran escala en cultivos monoxénicos (cultivos libres de microorganismos a excepción de la bacteria simbiótica) en medios sólidos (Bedding, 1981, 1984) o en medios líquidos mediante métodos de fermentación líquida (Pace *et al.*, 1986). El cultivo a gran escala en medios sólidos implica un elevado coste de producción que limita su desarrollo comercial (Ehlers, 1996). La producción en biorreactores mediante fermentación líquida es una alternativa económicamente competitiva para la producción de estos nematodos. Este método fue desarrollado inicialmente para el cultivo de *S. carpocapsae*, alcanzándose una producción de  $1 \times 10^5$  formas infectivas por ml de medio (Georgis, 1992). Actualmente diversas especies/cepas de nematodos entomopatógenos se producen comercialmente en fermentadores de 1.000 y hasta 40.000 litros en EE UU, Australia y diversos países de Europa.

Después de la producción de los nematodos, y debido a su carácter de bioinsecticidas, es necesario desarrollar formulaciones estables que garanticen la supervivencia de los nematodos durante el transporte, la distribución y el almacenamiento que exige su comercialización. Los nematodos pueden ser conservados en diferentes sustratos como: esponja de poliuretano, vermiculita, alginato, geles floables, que mantienen la humedad necesaria para su supervivencia, permitiendo su conservación durante algunos meses a una temperatura de 4-8°C. Últimamente se han desarrollado formulaciones más estables en forma de gránulos dispersables en agua que inducen una anhidrobiosis parcial de los nematodos, reduciendo el consumo de oxígeno y de sus reservas de lípidos, que garantiza una conservación de tres a seis meses.

Los nematodos entomopatógenos deben ser aplicados en las condiciones adecuadas de humedad y temperatura que garanticen su supervivencia en el ambiente donde deben buscar al insecto. Debido a su sensibilidad a la desecación y a la radiación ultravioleta, para prolongar su supervivencia, es deseable realizar la aplicación de los nematodos durante la época de lluvias, con tiempo nublado o durante el anochecer, o incorporar antidesecantes en su formulación. Los nematodos se pueden aplicar en suspensión acuosa mediante pulverización o inyección, siempre y cuando no se rebasa una presión de 2000 kPa y la boquilla no sea inferior a 50 $\mu$ m (Georgis, 1990; Shetlar, 1999), o a través del sistema de irrigación. Cuando se aplican en suspensión acuosa es importante evitar la precipitación de los nematodos durante su aplicación, para ello se deberá mantener una continua agitación de la cuba de aplicación o bien se puede incorporar 0,2% de carboximetil celulosa para evitar su precipitación. También es posible aplicar los nematodos a través del riego o bien mediante la dispersión de cadáveres de insectos parasitados previamente por nematodos.

La dosis de aplicación de los nematodos dependerá de la especie/cepa de nematodo, del insecto a controlar y del ambiente donde se ha de aplicar. La dosis utilizada habitualmente en ensayos de campo a gran escala en tratamientos inundativos, es de 0,5x10<sup>6</sup>/m<sup>2</sup>, 1x10<sup>9</sup>/ha o 2-5x10<sup>4</sup>/planta.

## DIVERSIDAD DE ESPECIES

La familia Steinernematidae cuenta con dos géneros: el género *Neosteinernema*, con la única especie *N. longicurvicauda* Nguyen y Smart (Nematoda: Steinernematidae), y el género *Steinernema* con más de 32 especies conocidas en la actualidad. La familia Heterorhabditidae cuenta con un único género *Heterorhabditis* y 9 especies conocidas (cuadro 1). Actualmente de todas las especies conocidas, únicamente se comercializan como bioinsecticidas un número limitado de ellas (cuadro 1).

La identificación de especies de los nematodos entomopatógenos se basa en caracteres morfológicos de las formas infectivas y los adultos (Hominick *et al.*,

1997). Los estudios morfológicos se pueden complementar con técnicas de hibridación de especies y con estudios de taxonomía molecular, mediante la digestión con enzimas restrictivos de genes amplificados con PCR (RFLP, Restriction fragment length polymorphism) o mediante la secuenciación del DNA (rDNA ITS, mtDNA ND4 loci)

CUADRO 2. Especies conocidas de nematodos entomopatógenos de la familia Steinernematidae y Heterorhabditidae. (\*) En negrita aparecen las especies que actualmente se comercializan como bioinsecticidas

<b>ESPECIES DE NEMATODOS DE LA FAMILIA Steinernematidae:</b>	
<p><b>FORMAS INFECTIVAS MAYORES DE 1000 micras</b></p> <p>«grupo glaseri»</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Steinernema arenarium</i></li> <li>• <i>Steinernema caudatum</i></li> <li>• <i>Steinernema cubanum</i></li> <li>• <b><i>Steinernema glaseri</i></b> (*)</li> <li>• <i>Steinernema longicaudum</i></li> <li>• <i>Steinernema puertoricense</i></li> <li>• <i>Steinernema diaprepesi</i></li> </ul> <p><b>FORMAS INFECTIVAS ENTRE 1000 - 700 micras</b></p> <p>«grupo feltiae»</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b><i>Steinernema feltiae</i></b> (*)</li> <li>• <i>Steinernema kari</i></li> <li>• <i>Steinernema kraussei</i></li> <li>• <i>Steinernema monticolum</i></li> <li>• <i>Steinernema neocurtillae</i></li> <li>• <i>Steinernema oregonense</i></li> <li>• <i>Steinernema loci</i></li> <li>• <i>Steinernema sangi</i></li> <li>• <i>Steinernema thanhi</i></li> <li>• <i>Steinernema scarabei</i></li> <li>• <i>Steinernema weiseri</i></li> </ul>	<p><b>FORMAS INFECTIVAS ENTRE 700 - 600 micras</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Steinernema affine</i></li> <li>• <i>Steinernema intermedium</i></li> </ul> <p><b>FORMAS INFECTIVAS MENOS DE 600 micras</b></p> <p>«grupo carpocapsae»</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b><i>Steinernema carpocapsae</i></b> (*)</li> <li>• <i>Steinernema kushidai</i></li> <li>• <i>Steinernema rarum</i></li> <li>• <i>Steinernema ritteri</i></li> <li>• <b><i>Steinernema scapterisci</i></b> (*)</li> <li>• <i>Steinernema siamkayai</i></li> <li>• <i>Steinernema tami</i></li> </ul> <p><b>FORMAS INFECTIVAS CON 2 CUERNOS</b></p> <p>«grupo bicornutum»</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Steinernema abbasi</i></li> <li>• <i>Steinernema bicornutum</i></li> <li>• <i>Steinernema ceratophorum</i></li> <li>• <i>Steinernema pakistanense</i></li> <li>• <b><i>Steinernema riobravisi</i></b> (*)</li> </ul>
<b>ESPECIES DE NEMATODOS DE LA FAMILIA Heterorhabditidae:</b>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Heterorhabditis argentiniensis</i></li> <li>• <b><i>Heterorhabditis bacteriophora</i></b> (*)</li> <li>• <i>Heterorhabditis brevicaudis</i></li> <li>• <i>Heterorhabditis dowesi</i></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Heterorhabditis hawaiiensis</i></li> <li>• <i>Heterorhabditis indica</i></li> <li>• <i>Heterorhabditis marelatus</i></li> <li>• <b><i>Heterorhabditis megidis</i></b> (*)</li> <li>• <i>Heterorhabditis zealandica</i></li> </ul>



## SELECCIÓN DE ESPECIES

Las diversas especies y cepas de nematodos entomopatógenos responden de forma diferente a los factores que pueden limitar su eficacia. Es por ello que la elección de los nematodos más adecuados a la especie de insecto que se desee controlar, y a las condiciones donde se encuentre dicha plaga, será un aspecto determinante a la hora de poder predecir la eficacia que tendrá la utilización de estos nematodos en el campo.

Si bien las características de cada especie pueden variar en relación a la cepa aislada, a continuación se describen las características generales más destacables de las especies comercializadas en la actualidad:

*Steinernema carpocapsae*: Ésta es la especie más estudiada de todos los nematodos entomopatógenos. Su fácil producción en masa y su capacidad de ser formulada mediante desecación parcial, que le permite ser conservada a temperatura ambiente durante varios meses, ha hecho que sea la especie más utilizada hasta el momento. Es particularmente efectiva contra larvas de lepidópteros. Presenta un comportamiento de búsqueda del insecto típicamente de «emboscada», permaneciendo erguida sobre su cola (*nictating*) cerca de la superficie del suelo hasta que pasa un posible hospedador. Por este motivo está principalmente recomendada para el control de insectos que se mueven por la superficie del suelo.

*Steinernema feltiae*: Principalmente ataca larvas de dípteros. Presenta un comportamiento de búsqueda del hospedador intermedio entre el de «emboscada» y el de «navegante». Existen cepas de este nematodo que pueden mantener su capacidad infectiva a temperaturas del suelo inferiores a 10°C.

*Steinernema glaseri*: Es la especie comercializada cuyas formas infectivas presenta un mayor tamaño, siendo el doble de largas que las de *S. carpocapsae*. Ataca principalmente larvas de coleópteros, concretamente escarabeidos. Las formas infectivas poseen un comportamiento de búsqueda del insecto típicamente de «navegante», son muy móviles y presentan una fuerte atracción por los diferentes productos de excreción de los insectos. Por ello, este nematodo está mejor adaptado a parasitar insectos con una baja movilidad que se encuentren en las capas inferiores del suelo.

*Steinernema riobravis*: *S. riobravis* Cabanillas, Poinar y Klein (Nematoda: Steinernematidae) es una especie muy patógena para diversos órdenes de insectos. En relación al comportamiento de búsqueda del insecto, presenta una combinación de características propias de las especies con comportamiento de «emboscada» y «navegantes». Está adaptada a las altas temperaturas, su eficacia ha sido demostrada a temperaturas del suelo superiores a 35 °C. Igualmente presenta una buena tolerancia a las condiciones de sequedad.

*Steinernema scapterisci*: Esta especie de nematodo se utiliza para el control de los grillotopos; es un patógeno muy específico de este insecto. Para localizar a los insectos presenta un comportamiento de emboscada que le permite permanecer en los túneles que los grillotopos realizan en el suelo, hasta que éstos pasen y así parasitarlos.

*Heterorhabditis bacteriophora*: Es una especie que presenta una gran versatilidad, pudiendo atacar tanto larvas lepidópteros como de coleópteros y otros insectos. Tiene un comportamiento de «navegante» en la búsqueda del insecto, por lo que está recomendada para el control de gorgojos que se alimentan de raíces. Particularmente es muy eficaz en el control de los otiorrincos. Es una especie adaptada a temperaturas cálidas, reduciéndose su eficacia cuando la temperatura del suelo está por debajo de los 20°C. Una característica que se ha observado en algunas cepas de este nematodo es su baja persistencia en el campo una vez aplicado, en algunas ocasiones las formas infectivas persisten únicamente unos pocos días.

*Heterorhabditis megidis*: *H. megidis* Poinar, Akhurst y Mourant (Nematoda: Heterorhabditidae) se comercializa para el control de otiorrincos y otros insectos, presentando unas características similares a las descritas para *H. bacteriophora*.

Aunque existen algunos ejemplos en que especies exóticas de nematodos alcanzan una mayor control que las especies autóctonas (Berry *et al.* 1997), generalmente el mayor éxito se obtendrá utilizando el nematodo autóctono salvaje más efectivo contra la plaga concreta que se pretende combatir. Por ello, para alcanzar una máxima eficacia en campo, siempre que sea posible, se debería seleccionar, producir y liberar el nematodo autóctono fisiológicamente mejor adaptado para la supresión de la plaga, y seleccionar o producir las condiciones abióticas y bióticas que favorezcan su supervivencia (Bedding *et al.* 1993).

## ENSAYOS DE EFICACIA

### Ensayos de laboratorio

Para determinar la virulencia de los nematodos y poder prever la eficacia de los nematodos en las pruebas de campo, se han desarrollado diversos de ensayos laboratorio que intentan valorar los diferentes aspectos que determinan esta eficacia. Caroli *et al.* (1996) desarrollaron ensayos para valorar la capacidad de los nematodos de penetrar en el interior del insecto. Los ensayos de tiempo de exposición fueron propuestos por Glazer (1991) para analizar la proporción de nematodos que pue-

den penetrar en el insecto. Los ensayos en columnas de arena, desarrollados por Griffin y Downes (1994), han permitido evaluar la capacidad de los nematodos de localizar y penetrar en el insecto. Finalmente los ensayos «uno-a-uno» de Miller (1989) y los de idoneidad del hospedador de Lewis *et al.* (1996) permiten evaluar todo el proceso de infección en su conjunto.

### **Ensayos de campo**

La eficacia de los nematodos entomopatógenos en aplicaciones en el campo viene determinada por varios factores asociados con los nematodos (comportamiento del nematodo, grado de invasión, liberación, establecimiento y multiplicación de la bacteria, persistencia en el medio, condiciones de producción y almacenamiento, etc.) y el hospedante (su comportamiento y la respuesta de su sistema inmunitario), así como con el ambiente (situación del insecto, temperatura, humedad, pH, composición y textura del suelo, etc.). En el cuadro 2 se pueden observar algunos ejemplos de pruebas de campo del control biológico con nematodos entomopatógenos de diversos insectos pertenecientes a los grupos de lepidópteros, coleópteros, dípteros y otros grupos de insectos.

CUADRO 2. Algunos ejemplos de control biológico con nematodos entomopatógenos en pruebas de campo a pequeña o gran escala

LEPIDOPTEROS					
PLAGA	CULTIVO/SUSTRATO	NEMATODO	DOSIS	EFICACIA	REFERENCIA
<i>Actebia fennica</i>	píceas	<i>S. carpocapsae</i> <i>S. feltiae</i>	1x10 <sup>9</sup> /planta	30-80% reducción	West y Vrain (1997)
<i>Agrotis</i> spp		<i>S. carpocapsae</i> <i>S. glaseri</i>	2,5x10 <sup>9</sup> /ha	Mortalidad significativa	Buhler y Gibb (1994)
<i>Boarmia selenaria</i>	aguacate	<i>S. carpocapsae</i>	250/m <sup>2</sup>	98±2% control	Glazer y Wysoki (1990)
<i>Choristonerura rosaceana</i>	manzano	<i>S. carpocapsae</i>	2x10 <sup>9</sup> /ha	13-37% control	Bélair <i>et al.</i> (1999)
<i>Comoritis albicapilla</i>		<i>H. bacteriophora</i> <i>S. carpocapsae</i> <i>S. feltiae</i> <i>S. glaseri</i>		14-92% mortalidad larvaria	Xu JieLian <i>et al.</i> (2000)
<i>Cydia pomonella</i>	manzano	<i>S. carpocapsae</i> <i>S. riobravivis</i> <i>H. bacteriophora</i>	50/cm <sup>2</sup>	83% control 31% control 43% contro	Lacey y Unruh (1998)
<i>Diaphania nitidalis</i>		<i>S. carpocapsae</i>	7,4x10 <sup>9</sup> /ha	85-97% larvas infectadas	Shannag <i>et al.</i> (1994)
<i>Earias insulana</i>	algodón	<i>S. carpocapsae</i>	125/ml	76% reducción	Glazer <i>et al.</i> (1992)
<i>Eoreuma loftini</i>	caña de azúcar	<i>S. riobravivis</i>	1,4x10 <sup>9</sup> /ha 2,47x10 <sup>9</sup> /ha	no efectivo no efectivo	Legaspi <i>et al.</i> (2000)
<i>Euzophera semifuneralis</i>	cerezo (melocotonero)	<i>H. bacteriophora</i> <i>S. feltiae</i>	3,9x10 <sup>8</sup> /litro 6,5x10 <sup>8</sup> /litro	Control insignificante	Kain y Agnello (1999)
<i>Helicoverpa zea</i>	cereales	<i>S. riobravivis</i>	2x10 <sup>9</sup> /ha	22-100% parasitismo	Cabanillas y Raulston (1995)
<i>Helicoverpa zea</i>		<i>S. carpocapsae</i> <i>S. riobravivis</i>	2x10 <sup>9</sup> /m <sup>2</sup>	no efectivo 82-97% parasitismo prepupas y pupas	Cabanillas y Raulston (1996)
<i>Helicoverpa zea</i>	cereales	<i>S. riobravivis</i>	3,7x10 <sup>6</sup> -1,2x10 <sup>7</sup> /m <sup>2</sup>	79-93% mortalidad	Feaster y Steinkraus (1996)
<i>Incurvaria capitella</i>		<i>S. carpocapsae</i>		58-86% mortalidad larvas	Samersov <i>et al.</i> (1998)
<i>Ostrinia nubilalis</i>	cereales	<i>S. carpocapsae</i>	5x10 <sup>9</sup> /plata	5-20% reducción de 2 años en planta	Ben-Yakir <i>et al.</i> (1998)
<i>Phyllocnistis citrella</i>	cítricos	<i>S. carpocapsae</i>	5-30x10 <sup>9</sup> /litro	69% reducción galerías	Beattie <i>et al.</i> (1995)
<i>Plutella xylostella</i>		<i>H. bacteriophora</i> <i>S. carpocapsae</i>		33,9% mortalidad	Yang Ping <i>et al.</i> (1999)
<i>Plutella xylostella</i>		<i>S. carpocapsae</i>		41% control	Baur <i>et al.</i> (1998)
<i>Spodoptera littoralis</i>	algodón	<i>S. carpocapsae</i>	250/ml	61%	Glazer <i>et al.</i> (1992)
<i>Synanthedon myopaeformis</i>	manzano	<i>Steinernema</i> sp	3-4x 10 <sup>4</sup> /callo	32-76% mortalidad	Kahounová y Mráček (1991)
<i>Wiseana cervinata</i>		<i>H. bacteriophora</i> <i>S. feltiae</i>	4x10 <sup>9</sup> /m <sup>2</sup>	25% control 60% control	Wright y Jackson (1992)
<i>Zetraphera canadensis</i>	píceas	<i>S. carpocapsae</i>	4x10 <sup>6</sup> /litro	82% reducción	Eidt y Dunphy (1991)

CUADRO 2. Algunos ejemplos de control biológico con nematodos entomopatógenos en pruebas de campo a pequeña o gran escala

COLEÓPTEROS					
PLAGA	CULTIVO/SUSTRATO	NEMATODO	DOSIS	EFICACIA	REFERENCIA
<i>Abirus fortunei</i>	mora	<i>S. feltiae</i>	45-75/cm surco	88-96% mortalidad larvas	Wei Hong Yi <i>et al.</i> (1999)
<i>Anoplophora chinensis</i>		<i>S. carpocapsae</i> <i>S. feltiae</i>		> 90% parasitismo	Liu QuinLang <i>et al.</i> (1999)
<i>Asynonychus godmani</i>	cítricos	<i>S. carpocapsae</i>	50-500/cm <sup>2</sup>	38-82% reducción	Morse y Lindegren (1996)
<i>Conotrachelus nenuphar</i>	manzano	<i>S. carpocapsae</i>	2x10 <sup>9</sup> /ha	5-85% reducción daño	Bélaire <i>et al.</i> (1998)
<i>Cyclocephala borealis</i>	césped	<i>H. bacteriophora</i>	1,25-5x10 <sup>9</sup> /ha	> 80% control	Downing (1994)
<i>Cylas formicarius</i>	batata	<i>H. bacteriophora</i> <i>S. carpocapsae</i>	1-3,1x10 <sup>9</sup> /ha 1,1-4,9x10 <sup>9</sup> /ha	Reducción significativa	Jansson <i>et al.</i> (1990)
<i>Cylas formicarius</i>	batata	<i>Heterorhabditis sp.</i> <i>H. bacteriophora</i> <i>S. carpocapsae</i> <i>S. feltiae</i> <i>S. glaseri</i>	1,25-3,75x10 <sup>9</sup> /ha	incremento de la mortalidad	Mannion y Jansson (1993)
<i>Diaprepes abbreviatus</i>	cítricos	<i>S. carpocapsae</i>	2x10 <sup>9</sup> /árbol	7-53%	Bullock <i>et al.</i> (1999)
<i>Diaprepes abbreviatus</i>	cítricos	<i>H. bacteriophora</i> <i>S. riobravus</i>	2x10 <sup>9</sup> /árbol	no efectivo 77-90% reducción	Duncan <i>et al.</i> (1996)
<i>Diaprepes abbreviatus</i>	cítricos	<i>H. bacteriophora</i> <i>S. carpocapsae</i>	5x10 <sup>9</sup> /árbol	58% reducción	Schroeder (1992)
<i>Hylobius congener</i>	picea	<i>S. carpocapsae</i>	2-4x10 <sup>9</sup> /planta	Control significativo	Eidt <i>et al.</i> (1995)
<i>Listronotus oregonensis</i>	zanahoria	<i>S. carpocapsae</i>	4,4x10 <sup>9</sup> /ha	59% reducción daño	Bélaire y Boivin (1995)
<i>Maladera matrida</i>	cacahuete	<i>H. bacteriophora</i> <i>S. carpocapsae</i> <i>S. glaseri</i>	0,25-1x10 <sup>9</sup> /m <sup>2</sup>	50-90% 40% 50%	Glazer y Gol' Berg (1993)
<i>Matamasius hemipterus</i>	palmera datilera	<i>S. carpocapsae</i>	8x10 <sup>9</sup> /palmera	51% mortalidad	Gibblin-Davis <i>et al.</i> (1996)
<i>Otiorynchus ligustici</i>	alfalfa	<i>H. bacteriophora</i>	2,5-15x10 <sup>9</sup> /ha	Reducción significativa	Shields <i>et al.</i> (1999)
<i>Otiorynchus ovatus</i>	arándanos	<i>H. bacteriophora</i> <i>S. carpocapsae</i>	2x10 <sup>9</sup> /18m <sup>2</sup>	68,8% mortalidad 74% mortalidad	Simser y Roberts (1994)
<i>Otiorynchus sulcatus</i>	rododendro	<i>S. feltiae</i>	3x10 <sup>9</sup> /planta	72-88% protección	Mráček <i>et al.</i> (1993)
<i>Otiorynchus sulcatus</i>	fresa	<i>H. megidis</i> <i>S. carpocapsae</i>	1,2-7,6x10 <sup>9</sup> /ha	26% 49,5-65%	Kakouli-Duarte <i>et al.</i> (1997)
<i>Otiorynchus sulcatus</i>	fresa	<i>H. marelatus</i>	2,5x10 <sup>9</sup> /ha 1,5x10 <sup>6</sup> /ha	42-67% plantas 9% plantas	Wilson <i>et al.</i> (1999)
<i>Pachneus litus</i>	cítricos	<i>S. riobravus</i>	2x10 <sup>6</sup> /árbol	64-89%	Bullock <i>et al.</i> (1999)
<i>Phyloperla horticola</i> , <i>Aphodius contaminatus</i>	césped	<i>H. bacteriophora</i> <i>H. megidis</i>	0,5-1,5x10 <sup>9</sup> /m <sup>2</sup>	40-83% control	Sulistyanto y Ehlers (1996)
<i>Popilia japonica</i>	césped	<i>H. bacteriophora</i>	1,25-5x10 <sup>9</sup> /ha	> 80% control	Downing (1994)
<i>Popilia japonica</i>	prado	<i>H. bacteriophora</i> <i>S. carpocapsae</i> <i>S. glaseri</i>	5x10 <sup>9</sup> /m <sup>2</sup>	44-91% reducción	Simoës <i>et al.</i> (1993)
<i>Popilia japonica</i>	césped	<i>S. glaseri</i>	5x10 <sup>9</sup> /ha	44-66% reducción	Selvan <i>et al.</i> (1994)
<i>Popilia japonica</i>	césped	<i>S. glaseri</i>	19,7x10 <sup>9</sup> /ha	reducción significativa	Yeh y Alm (1995)
<i>Temnorhinus mendicis</i>	remolacha	<i>H. bacteriophora</i> <i>S. carpocapsae</i>	7,5-25x10 <sup>9</sup> /m <sup>2</sup>	control significativo	Boselli <i>et al.</i> (1977)

CUADRO 2. Algunos ejemplos de control biológico con nematodos entomopatógenos en pruebas de campo a pequeña o gran escala

DIPTEROS					
PLAGA	CULTIVO/SUSTRATO	NEMATODO	DOSIS	EFICACIA	REFERENCIA
<i>Bradysia coprophila</i>	poinsetia	<i>S. feltiae</i>	2-4x10 <sup>9</sup> /maceta de 15 cm	75% mortalidad larva	Harris <i>et al.</i> (1995)
				30% mortalidad pupa	
<i>Bradysia paupera</i>	fucsia	<i>S. feltiae</i>	7,8x10 <sup>9</sup> /m <sup>2</sup>	92% reducción de adultos	Gougle y Hague (1995)
<i>Ceratitis capitata</i>	suelo	<i>S. feltiae</i>	150-5000/cm <sup>2</sup>	76,5-95,8% mortalidad	Lindegren <i>et al.</i> (1990)
<i>Delia radicum</i>	berza	<i>H. bacteriophora</i> <i>S. carpocapsae</i> <i>S. feltiae</i> <i>S. riobravis</i>	1x10 <sup>3</sup> -2x10 <sup>3</sup> /planta	reducción de las pupas y del daño en raíz	Schroeder <i>et al.</i> (1996)
<i>Delia radicum</i>	coliflor	<i>S. feltiae</i>	3,5x10 <sup>4</sup> /planta	duplicar la producción	Vänninen <i>et al.</i> (1999)
<i>Delia radicum</i>		<i>S. feltiae</i>	5x10 <sup>3</sup> /planta	5,5 veces reducción de las pupas	Bracken (1990)
<i>Fannia spp.</i>	estiércol	<i>H. bacteriophora</i>	8-9x10 <sup>9</sup> /m <sup>2</sup>	no efectivo	Mullens <i>et al.</i> (1987)
<i>Liriomyza huidobrensis</i>	lechuga	<i>S. feltiae</i>	2x10 <sup>10</sup> -1x10 <sup>11</sup> /ha	82±5% mortalidad	Williams y Walters (2000)
<i>Liriomyza trifolii</i>	judía	<i>S. carpocapsae</i>	9x10 <sup>9</sup> /ha	> 65% mortalidad	Hara <i>et al.</i> (1993)
<i>Lycoriella auripila</i>	champiñones	<i>S. feltiae</i>	3x10 <sup>9</sup> /bandeja	Incr. produc. (8-11%) en peso y n°	Grewal y Richardson (1993)
<i>Lycoriella auripila</i> , <i>Megaselia halterata</i>	champiñones	<i>S. feltiae</i>	1x10 <sup>9</sup> /m <sup>2</sup>	95-97% mortalidad	Scheepmaker <i>et al.</i> (1997)
<i>Lycoriella mali</i>	champiñones	<i>S. feltiae</i>	1x10 <sup>9</sup> /m <sup>2</sup>	72,8-82,8% reducción	Grewal <i>et al.</i> (1993)
<i>Lycoriella mali</i>	champiñones	<i>H. bacteriophora</i>	28-1120/cm <sup>2</sup>	52-100% mortalidad	Rinker <i>et al.</i> (1995)
		<i>S. feltiae</i>	11-1120/cm <sup>2</sup>	38-100% mortalidad	
<i>Lycoriella solani</i>	champiñones	<i>S. feltiae</i>	1-3x10 <sup>9</sup> /m <sup>2</sup>	91,1-92,7% reducción emergencia adultos	Tomalak (1994)
<i>Musca domestica</i>	estiércol	<i>H. bacteriophora</i>	5x10 <sup>9</sup> /m <sup>2</sup>	reducción significativa	Belton <i>et al.</i> (1987)
<i>Muscina stabulans</i>	estiércol	<i>H. bacteriophora</i>	8-9x10 <sup>9</sup> /m <sup>2</sup>	no efectivo	Mullens <i>et al.</i> (1987)
<i>Tipula paludosa</i>	césped	<i>S. feltiae</i>	1x10 <sup>9</sup> /m <sup>2</sup>	53% reducción	Ehlers y Gerwien (1993)
OTROS INSECTOS					
PLAGA	CULTIVO/SUSTRATO	NEMATODO	DOSIS	EFICACIA	REFERENCIA
<i>Anasa tristis</i> (Hemiptera)		<i>S. carpocapsae</i>	2,4x10 <sup>9</sup> /planta	24,1-70,8% infección	Huei-Jung Wu (1988)
<i>Blattella germanica</i> (Dyctioptera) casas		<i>S. carpocapsae</i>	2x10 <sup>9</sup> /cebo	reducción significativa	Appel <i>et al.</i> (1993)
<i>Cephalcia arvensis</i> (Hymenoptera) píceas		<i>S. feltiae</i>	1x10 <sup>3</sup> /cm <sup>2</sup>	56(32,3)% reducción	Battisti (1994)
		<i>S. krausseii</i>		36,4% reducción	
<i>Cephalcia lariciphila</i> (Hymenoptera)		<i>S. feltiae</i>	5-20x10 <sup>3</sup> /cm	3,4-29,4% reducción	Georgis y Hague (1988)
			200/cm <sup>2</sup>	17,3-61% reducción	
<i>Hoplocampa testudinea</i> (Hymenoptera) manzano		<i>S. carpocapsae</i>	1x10 <sup>3</sup> /500cm log. rama	0-100% reducción daño	Bélair <i>et al.</i> (1998)
<i>Reticulitermes tibialis</i> (Isoptera) suelo		<i>S. feltiae</i>	1x10 <sup>7</sup> /m <sup>2</sup>	reducción significativa	Epsky y Capinera (1988)
<i>Scapteriscus spp</i> (Orthoptera) césped		<i>S. scapterisci</i>	2x10 <sup>9</sup> /m <sup>2</sup>	0-100% infección	Parkman <i>et al.</i> (1994)
<i>Solenopsis invicta</i> (Hymenoptera) suelo		<i>S. feltiae</i>	2-6x10 <sup>9</sup> /parcela	7,9-27,3% reducción	Jouvenaz <i>et al.</i> (1990)

## REFERENCIAS

- ABU HATAB, M.; SELVAN, S. y GAUGLER, R. (1995). Role of proteases in penetration of insect gut by the entomopathogenic nematode *Steinernema glaseri* (Nematoda: Steinernematidae). *Journal of Invertebrate Pathology*, 66: 125-130.
- AMARASINGHE, L. D.; HOMINICK, W. M.; BRISCOE, B. R. y REID, A. P. (1994). Occurrence and distribution of entomopathogenic nematode in Sri Lanka. *Journal of Helminthology*, 68: 277-286.
- APPEL, A. G.; BENSON, E. P.; ELLENBERGER, J. M. y MANWEILER, S. A. (1993). Laboratory and field evaluation of an entomogenous nematode (Nematoda: Steinernematidae) for german cockroach (Dictyoptera: Blatellidae) control. *Journal of Economic Entomology*, 86: 777-784.
- BATTISTI, A. (1994). Effects of entomopathogenic nematodes on the spruce web-spinning sawfly *Cephalcia arvensis* Panzer and its parasitoids in the field. *Biocontrol Science and Technology*, 4: 95-102.
- BAUR, M. E.; KAYA, H. K.; TABASHNIK, B. E. y CHILCUTT, C. F. (1998). Suppression of diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae) with an entomopathogenic nematode (Rhabditida: Steinernematidae) and *Bacillus thuringiensis* Berliner. *Journal of Economic Entomology*, 91: 1098-1095.
- BEATTIE, G. A. C.; SOMSOOK, V.; WATSON, D. M.; CLIFT, A. D. y JIANG, L. (1995). Field evaluation of *Steinernema carpocapsae* (Weiser) (Rhabditida: Steinernematidae) and selected pesticides and enhancers for control of *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera: Gracillariidae). *Journal the Australian Entomological Society*, 34: 335-342.
- BEDDING, R. A. (1981). Low cost in vitro mass production of *Neoaplectana* and *Heterorhabditis* species (Nematoda) for field control of insect pests. *Nematologica*, 27: 109-114.
- BEDDING, R. A. (1984). Large scale production, storage, and transport of the insect-parasitic nematodes *Neoaplectana* spp. and *Heterorhabditis* spp. *Annals of Applied Biology*, 104: 117-120.
- BEDDING, R. A.; AKHURST, R. J. y KAYA, H. K. (1993). Future prospects for entomogenous and entomopathogenic nematodes. En: *Nematodes and the Biological Control of Insect Pests*, R. A. BEDDING, R. J. AKHURST and H. K. KAYA, eds. 157-170 pp. CSIRO Publications, East Melbourne, Victoria, Australia.
- BÉLAIR, G. y BOIVIN, G. (1995). Evaluation of *Steinernema carpocapsae* Weiser for control of carrot weevil adults, *Listronotus oregonensis* (Leconte) (Coleoptera:

- Curculionidae) in organically grown carrots. *Biocontrol Science and Technology*, 5: 225-231.
- BÉLAIR, G.; VINCENT, C. y CHOUINARD, G. (1998). Foliar sprays with *Steinernema carpocapsae* against early-season apple pests. *Journal of Nematology*, 30: 559-606.
- BÉLAIR, G.; VINCENT, C.; LEMIRE, S. y CODERRE, D. (1999). Laboratory and field assays with entomopathogenic nematodes for the management of oblique banded leafroller *Chroristoneura rosaceana* (Harris) (Tortricidae). *Journal of Nematology*, 31(4S): 684-689.
- BELTON, P.; RUTHERFORD, T. A.; TROTTER, D. B. y WEBSTER, J. M. (1987). *Heterorhabditis heliothidis*: A potential biological control agent of house flies in caged-layers poultry barns. *Journal of Nematology*, 19:263-266.
- BEN-YAKIR, D.; EFRON, D.; CHEN, M. AND GLAZER, I. (1998). Evaluation of entomopathogenic nematodes for biocontrol of the European corn borer, *Ostrinia nubilalis*, on sweet corn in Israel. *Phytoparasitica*, 26: 101-108.
- BERRY, R. E.; LIU, J. y REED, G. (1997). Comparison of endemic and exotic entomopathogenic nematodes species for control of Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae). *Journal of Economic Entomology*, 90: 1528-1533.
- BOSELLI, M.; CURTO, G. M. y TACCONI, R. (1977). Field efficacy of entomopathogenic nematodes against the sugar-beet weevil *Temnorhinus* (= *Conorrhynchus*) *mendicus* Gyll. (Coleoptera: Curculionidae). *Biocontrol Science and Technology*, 7: 231-238.
- BRACKEN, G. K. (1990). Susceptibility of first-instar cabbage maggot, *Delia radicum* (L.) (Anthomyiidae: Diptera), to strains of the entomogenous nematodes *Steinernema feltiae* Filipjev, *S. bibionis* (Bovien), *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar, and *H. heliothidis* (Khan, Brooks and Hirschmann). *Canadian Entomologist*, 122: 633-639.
- BUHLER, W. G. y GIBB, T. J. (1994). Persistence of *Steinernema carpocapsae* and *S. glaseri* (Rhabditida: Steinernematidae) as measured by control of black cutworm (Lepidoptera: Noctuidae) larvae in bentgrass. *Journal of Economic Entomology*, 87:638-642.
- BULLOCK, R. C.; PELOSI, R. R. y KILLER, E. E. (1999). Management of citrus root weevils (Coleoptera: Curculionidae) on Florida citrus with soil-applied entomopathogenic nematodes (Nematoda: Rhabditida). *Florida Entomologist*, 82: 1-7.
- CABANILLAS, H. E. y RAULSTON, J. R. (1995). Impact of *Steinernema riobravus* (Rhabditida: Steinernematidae) on the control of *Helicoverpa zea* (Lepidoptera: Noctuidae) in corn. *Journal of Economic Entomology*, 88: 58-64.



- CABANILLAS, H. E. y RAULSTON, J. R. (1996). Evaluation of *Steinernema riobrisis*, *S. carpocapsae*, and irrigation timing for the control of corn earworm, *Helicoverpa zea*. *Journal of Nematology*, 28: 75-82.
- CAMPBELL, J. F. y GAUGLER, R. (1993). Nictation behaviour and its ecological implications in the host search strategies of entomopathogenic nematodes (Heterorhabditidae and Steinernematidae). *Behaviour*, 126: 155-169.
- CAMPBELL, J. F. y GAUGLER, R. (1997). Inter-specific variation in entomopathogenic nematode foraging strategy: dichotomy or variation along a continuum? *Fundamental and Applied Nematology*, 20: 393-398.
- CAMPBELL, J. F.; LEWIS, E. E.; YODER, F. y GAUGLER, R. (1996). Spatial and temporal distribution of entomopathogenic nematodes in turf. *Parasitology*, 113: 473-482.
- CAROLI, L.; GLAZER, I. y GAUGLER, R. (1996). Entomopathogenic nematode infectivity assay: multi variable comparison of penetration into different hosts. *Biocontrol Science and Technology*, 6: 227-233.
- CUI, L.; GAUGLER, R. y WANG, Y. (1993). Penetration of steinernematid nematodes (Nematoda: Steinernematidae) into Japanese beetle larvae, *Popillia japonica* (Coleoptera: Scarabaeidae). *Journal of Invertebrate Pathology*, 62: 73-78.
- CHITWOOD, B. G. y CHITWOOD, M. B. (1937). An introduction to nematology. Monumental Printing company, Baltimore, Maryland, 213 pp.
- DOWNING, A. S. (1994). Effects of irrigation and spray volume on efficacy of entomopathogenic nematodes (Rhabditida: Heterorhabditidae) against white grubs (Coleoptera: Scarabaeidae). *Journal of Economic Entomology*, 87: 643-646.
- DOWDS, B. C. A. y PETERS, A. (2002). Virulence Mechanisms. En: *Entomopathogenic Nematology*, GAUGLER, R. (ed). 79-98 pp. Cabi Publishing,
- DUNCAN, L. W.; MCCOY, C. V. y TERRANOVA, A. C. (1996). Estimating sample size and persistence of entomogenous nematodes in sandy soil and their efficacy against the larvae of *Diaprepes abbreviatus* in Florida. *Journal of Nematology*, 28: 56-67.
- DUNPHY, G. B. y THURSTON, G. S. (1990). Insect Immunity. En: *Entomopathogenic Nematode in Biological Control*. GAUGLER, R. and KAYA, H. K. (eds). 301-323. CRC Press, Boca Raton, Florida.
- DUNPHY G. B. y WEBSTER, J. M. (1987). Partially characterized components of the epicuticle of dauer juvenile *Steinernema feltiae* and their influence on haemocyte activity in galleria mellonella. *Journal of Parasitology*, 73: 584-588.

- EHLERS, R. U. (1996). Current and future use of nematodes in biocontrol: Practice and commercial aspects with regards to regulatory policy issues. *Biocontrol Science and Technology*, 6: 303-316.
- EHLERS, R. U. y GERWIEN, A. (1993). Selection of entomopathogenic nematodes (Steinernematidae and Heterorhabditidae, Nematoda) for the biological control of crane fly larvae *Tipula paludosa* (Tipulidae, Diptera). *Journal of Plant Diseases Protection*, 100: 343-353.
- EHLERS, R. U. y PETERS, A. (1995). Entomopathogenic nematodes in biological control: Feasibility, perspectives and possible risks. En: *Biological Control: Benefits and risks*. H. M. T. Hokkanen & J. M. Lynch (eds.). 119-136pp. University Press. Cambridge.
- EIDT, D. C. y DUNPHY, G. B. (1991). Control of spruce budmoth *Zeiraphera canadensis* Mut. And Free., in white spruce plantations with entomopathogenic nematodes, *Steinernema* spp. *Canadian Entomologist*, 123: 379-385.
- EIDT, D. C. y THURSTON, G. S. (1995). Physical deterrents to infection by entomopathogenic nematodes in wireworm (Coleoptera: Elateridae) and other soil pests. *Canadian Entomologist*, 127: 423-429.
- EIDT, D. C.; ZERVOS, S.; PYE, A. E. y FINNEY-CRAWLEY, J. R. (1995). Control of *Hylobius congener* Dalle Torre, shenkling and marschall (Coleoptera: Curculionidae) using entomopathogenic nematodes. *Canadian Entomologist*, 127: 431-438.
- EPSKY, N. D. y CAPINERA, J. L. (1988). Efficacy of entomogenous nematode, *Steinernema feltiae* against a subterranean termite, *Reticulitermes tibialis* (Isoptera: Rhinotermitidae). *Journal of Economic Entomology*, 81: 1313-1317.
- FEASTER, M. A. y STEINKRAUS, D. C. (1996). Inundative biological control of *Helicoverpa zea* (Lepidoptera: Noctuidae) with the entomopathogenic nematode *Steinernema riobravus* (Rhabditida: Steinernematidae). *Biological Control*, 7: 38-43.
- FERGUSON, C. S.; SCHROEDER, P. C. y SHIELDS, E. J. (1995). Vertical distribution, persistence, and activity of entomopathogenic nematodes (Nematoda: Heterorhabditidae and Steinernematidae) in alfalfa snout beetle (Coleoptera: Curculionidae) infested fields. *Environmental Entomology*, 24: 149-158.
- FORSCHLER, B. T. y GARDNER, W. A. (1991). Parasitism of *Phyllophaga hirticula* (Coleoptera: Scarabeidae) by *Heterorhanditis heliothidis* and *Steinernema carpocapsae*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 58: 396-407.
- GAUGLER, R. y MOLLOY, D. (1981). Instar susceptibility of *Simulium vittatum* (Diptera: Simuliidae) to the entomogenous nematode *Neoalectana carpocapsae*. *Journal of Nematology*, 13: 1-5.

- GAUGLER, R.; WANG, Y. y CAMPBELL, J. F. (1994). Aggressive and evasive behaviours in *Popillia japonica* (Coleoptera: Scarabeidae) larvae: defenses against entomopathogenic nematode attack. *Journal of Invertebrate Pathology*, 64: 193-199.
- GEORGIS, R. (1990). Formulation and application technology. En: *Entomopathogenic Nematode in Biological Control*. (eds).GAUGLER, R. and Kaya, H.K. 173-191. CRC Press, Boca Raton, Florida.
- GEORGIS, R. (1992). Present and future prospects for entomopathogenic nematodes products. *Biocontrol Science and Technology*, 2: 83-99.
- GEORGIS, R. y HAGUE, N. G. M. (1981). A neoaplectanid nematode in the larch sawfly *Cephalcia lariciphila* (Hymenoptera: Pamphiliidae). *Annals of Applied Biology*, 99: 171-177.
- GEORGIS, R. y HAGUE, N. G. M. (1988). Field evaluation of *Steinernema feltiae* against the web-spinning larch sawfly *Cephalcia lariciphila*. *Journal of Nematology*, 20: 317-320.
- GEORGIS, R. y MANWEILER, S. A. (1994). Entomopathogenic nematodes: A developing biological control technology. En: *Agricultural Zoology. Intersept, Andover. Reviews*. EVANS, K. (ed.). 63-94.
- GEORGIS, R. y POINAR, G. O. Jr. (1983). Effect of soil texture on the distribution and infectivity of *Neoaplectana carpocapsae* (Nematoda: Steinernematidae). *Journal of Nematology*, 15: 308-311.
- GIBBLIN-DAVIS, R. M.; PENA, J. E. y DUNCAN, R. E. (1996). Evaluation of an entomopathogenic nematode and chemical insecticides for control of *Metamasius hemipterus sericeus* (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of Entomological Science*, 31: 240-251.
- GLAZER, I. (1991). Invasion rate as a measure of infectivity of steinernematid and heterorhabditid nematodes to insect. *Journal of Invertebrate Pathology*, 59: 90-92.
- GLAZER, I. y GOL'BERG, A. (1993). Field efficacy of entomopathogenic nematodes against the beetle *Maladera matrida* (Coleoptera: Scarabeidae). *Biocontrol Science and Technology*, 3: 367-376.
- GLAZER, I. y WYSOKI, M. (1990). Steinernematid and heterorhabditid nematodes for biological control of the giant looper. *Boarmia selenaria*. *Phytoparasitica*, 18: 9-16.
- GLAZER, I.; KLEIN, M.; NAVON, A. y NACKACHE, Y. (1992). Comparison of efficacy of entomopathogenic nematodes combined with antidesiccants applied by

- canopy sprays against three cotton pests (Lepidoptera: Noctuidae), *Journal of Economic Entomology*, 85: 1636-1641.
- GOUGLE, D. H. y HAGUE, H. G. M. (1995). Glasshouse control of fungus gnats, *Bradysia paupera*, on fuchsias by *Steinernema feltiae*. *Fundamental and Applied Nematology*, 18: 77-80.
- GREWAL, P. S. y RICHARDSON, P. N. (1993). Effects of application rates of *Steinernema feltiae* (Nematoda: Steinernematidae) on biological control of the mushroom fly *Lycoriella auripila* (Diptera: Sciaridae). *Biocontrol Science and Technology*, 3: 29-40.
- GREWAL, P. S.; LEWIS, E. E.; CAMPBELL, J.F. y GAUGLER, R. (1994). Searching behavior as a predictor of foraging strategy for entomopathogenic nematodes. *Parasitology*, 108: 207-215.
- GREWAL, P. S.; TOMALAK, M.; KEIL, C. B. O. y GAUGLER, R. (1993). Evaluation of genetically selected strain of *Steinernema feltiae* against the mushroom sciarid *Lycoriella mali*. *Annals of Applied Biology*, 123: 695-702.
- GRIFFIN, C. T. AND DOWNES, M.J. (1994). Recognition of low temperature active isolates of the entomopathogenic nematode *Heterorhabditis*. *Nematologica*, 37: 83-91.
- HARA, A. H.; KAYA, H. K.; GAUGLER, R.; LEBECK, L. M. y MELLO, C. L. (1993). Entomopathogenic nematodes for biological control of the leafminer, *Liriomyza trifolii* (Dipt.: Agromyziidae). *Entomophaga*, 38: 359-369.
- HARRIS, A. E.; OETTING, R. D. y GARDNER, W. A. (1995). Use of entomopathogenic nematodes and a new monitoring technique for control of fungus gnats, *Bradysia coprophila* (Diptera: Sciaridae), in floriculture. *Biological Control*, 5: 412-418.
- HOMINICK, W. M.; BRISCOE, B. R.; GARCIA DEL PINO, F.; HENG, D. J.; HUNT, E.; KOZODOY, Z.; MRACEK, K. B.; NGUYEN, A. P.; REID, S.; SPIRIDOV, P.; STOCK, D.; STURHAN, C.; WATURU AND M. YOSHIDA. (1997). Biosystematics of entomopathogenic nematodes: current status, protocols and definitions. *Journal of Helminthology*, 71: 271-298.
- HUEI-JUNG WU (1988). Biocontrol of squash bug with *Neoplectana carpocapsae* (Weiser). *Bulletin of the Institute of Zoology Academia Sinica*, 27: 195-203.
- JANSSON, R. K.; LECRONE, S. H.; GAUGLER, R. y SMART, G. C. (1990). Potential of entomopathogenic nematodes as biological control agents of sweetpotato weevil (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of Economic Entomology*, 83: 1818-1826.

- JOUVENAZ, D. P.; LOFGRE, C. S. y MILLER, R. W. (1990). Steinernematid nematodes drenches for control of fire ants, *Solenopsis invicta*, in Florida. *Florida Entomologist* 73: 190-193.
- KAHOONOVÁ, L. y MRÁČEK, Z. (1991). Larval mortality in *Synanthedon myopaeformis* (Lepidoptera) in apple trees sprayed with *Steinernema* sp (Nematoda, Steinernematidae), strain *Hylobius*. *Acta Entomologica Bohemoslovaca*, 88: 205-210.
- KAIN, D. P. y AGNELLO, A. M. (1999). Pest status of American plum borer (Lepidoptera: Pyralidae) and fruit tree borer control with synthetic insecticides and entomopathogenic nematodes in New York state. *Journal of Economic Entomology*, 92:193-200.
- KAKOULI-DUARTE, T.; LABUSCHAGNE, L. y HAGUE, N. G. M. (1997). Biological control of the black vine weevil, *Otiorhynchus sulcatus* (Coleoptera: Curculionidae) with entomopathogenic nematodes (Nematoda: Rhabditida). *Annals of Applied Biology*, 131: 11-27.
- KUNG, S. P.; GAUGLER, R. y KAYA, H. K. (1990). Influence of soil pH and oxygen on entomopathogenic nematode persistence. *Journal of Nematology*, 22: 440-445.
- LACEY, L. A. y UNRUH, T. R. (1998). Entomopathogenic nematodes for control of codling moth, *Cydia pomonella* (Lepidoptera: Tortricidae): effect of nematode species, concentration, temperature, and humidity. *Biological Control*, 13:1-8.
- LEGASPI, J. C.; LEGASPI, B. C. y SALDANA, R. R. (2000). Evaluation of *Steinernema riobravus* (nematoda: Steinernematidae) against the Mexican rice borer (Lepidoptera: Pyralidae). *Journal of Entomological Science*, 35:141-149.
- LEWIS, E. E.; GAUGLER, R. y HARRISON, R. (1992). Entomopathogenic nematode host finding: response to host contact cues by cruise and ambush foragers. *Parasitology*, 105: 309-319.
- LEWIS, E. E.; GAUGLER, R. y HARRISON, R. (1993). Response of cruiser and ambusher entomopathogenic nematodes (Steinernematidae) to host volatile cues. *Canadian Journal of Zoology*, 105: 309-315.
- LEWIS, E. E.; RICCI, M. y GAUGLER, R. (1996). Host recognition behavior reflect host suitability for the entomopathogenic nematode, *Steinernema carpocapsae*. *Parasitology*, 109: 1-7.
- LINDEGREN, J. E.; WONG, T. T. y MCINNIS, D. O. (1990). Response of Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae) to the entomogenous nematode *Steinernema feltiae* in fields tests in Hawaii. *Environmental Entomology*, 19: 383-386.

- LIU QUINLANG; CHEN RUIPING; WU RUOGUANG; HUANG JINSHUL; DING BI; KE YUZHU; CHEN BINQUAN; QIN BIN ZHAN y ZHANG JINNING. (1999). Biological control of cotton locust *Chondracris rosea rosea* y *Anoplophora chinensis* (Forster) study on integrated control techniques of pests and diseases in the coastal protection forest of Casuarina. *Natural Enemies of Insects*, 21: 97-106.
- LIU, Q. Z. y GLAZERZ, I. (2000). Factors affecting desiccation survival of the entomopathogenic nematodes, *Heterorhabditis bacteriophora* HP88. *Phytoparasitica*, 28: 331-340.
- MANNION, C. M. y JANSSON, R. (1993). Within-root mortality of *Cylas formicarius* (Coleoptera: Apionidae) by entomopathogenic nematodes. *Journal of Economic Entomology*, 86: 722-729.
- MILLER, R. (1989). Novel pathogenicity assessment technique of steinernematids and heterorhabditids entomopathogenic nematodes. *Journal of Nematology*, 21: 574.
- MORSE, J. G. y LINDEGREN, J. E. (1996). Suppression of fuller rose beetle (Coleoptera: Curculionidae) on citrus with *Steinernema carpocapsae* (Rhabditida: Steinernematidae). *Florida Entomologist*, 79: 372-384.
- MRÁČEK, Z.; JISKRA, K. y KAHOUNOVÁ, L. (1993). Efficiency of steinernematid nematodes (Nematoda: Steinernematidae) in controlling larvae of the black vine weevil, *Otiorynchus sulcatus* (Coleoptera: Curculionidae) in laboratory and field experiments. *European Journal Entomology*, 90: 71-76.
- MULLENS, B. A.; MEYER, J. A. y GEORGIS, R. (1987). Field tests of insect-parasitic nematodes (Rhabditida: Steinernematidae, Heterorhabditidae) against larvae of manure-breeding flies (Diptera: Muscidae) on caged-layer poultry facilities. *Journal of Economic Entomology*, 80: 438-442.
- PACE, G. W.; GROTE, W.; PITT, D. E. y PITT, J. M. (1986). Liquid cultures of nematodes, *International Patent Number WO 86/01074*.
- PARKMAN, J. P.; FRANK, J. H.; NGUYEN, K. B; y SMART, G. C. JR. (1994). Inoculative release of *Steinernema scapterisci* (Rhabditida: Steinernematidae) to suppress pest mole crickets (Orthoptera: Gryllotalpidae) on golf courses. *Environmental Entomology*, 23: 1331-1337.
- PETERS A. y EHLERS, R. U. (1994). Susceptibility of leatherjackets (*Tipula paludosa* and *Tipula oleracea*; Tipulidae; Nematocera) to the entomopathogenic nematode *Steinernema feltiae*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 63: 163-171.
- POINAR, G. O. (1976). Description and biology of a neu insect parasitic rhabditoid, *Heterorhabditis bacteriophora* n. gen. n. sp. (Rhabditida: Heterorhabditida n. fam). *Nematologica* 21: 463-470.

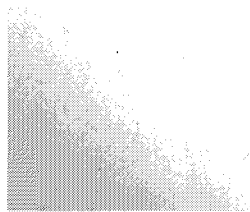
- RINKER, D. L.; OLTHOFTH, H. A.; DANO, J. y ALM, G. (1995). Effects of entomopathogenic nematodes on control of a mushroom-infesting sciarid fly and on mushroom production. *Biocontrol Science and Technology*, 5: 109-119.
- SAMERSOV, V. F.; YARCHAKOVSKAYA, S. I. y BEZRUCHENOK, N. N. (1998). Ecologically safe protection of black currant. *Zashchita I Karantin Rastenii*, 9: 11-12.
- SCHEEPMAKER, J. W. A.; GEELS, F. P.; SMITS, P. A. y VAN GRIENSVEN, L. J. L. D. (1997). Control of mushroom pests *Lycoriella auripila* (Diptera: Sciaridae) and *Megaselia halterata* (Diptera: Phoridae) by *Steinernema feltiae* (Nematoda: Steinernematidae) in field experiments. *Annals of Applied Biology*, 131: 359-368.
- SCHROEDER, W. J. (1992). Entomopathogenic nematodes for control of root weevils of citrus. *Florida Entomologist*, 75: 563-567.
- SCHROEDER, W. J. y BEAVERS, J. B. (1987). Movement of the entomogenous nematodes of the families Heterorhabditidae and Steinernematidae in soil. *Journal of Nematology*, 19: 257-259.
- SCHROEDER, P. C.; FERGUSON, C. S.; SHELTON, A. M.; WILSEY, W. T.; HOFFMANN, M. P. y PETZOLDT, C. (1996). Greenhouse and field evaluation of entomopathogenic nematodes (Nematoda: Heterorhabditidae and Steinernematidae) for control of cabbage maggot (Diptera: Anthomyiidae) on cabbage. *Journal of Economic Entomology*, 89: 1109-1115.
- SELVAN, S.; GREWAL, P. S.; GAUGLER, R. y TOMALAK, M. (1994). Evaluation of steinernematid nematodes against *Popillia japonica* (Coleoptera: Scarabaeidae) larvae: species, strains and rinse after application. *Journal of Economic Entomology*, 87: 605-609.
- SHANNAG, H. K.; WEBB, S. E. y CAPINERA, J. L. (1994). Entomopathogenic nematode effect on pickleworm (Lepidoptera: Pyralidae) under laboratory and field conditions. *Journal of Economic Entomology*, 87: 1205-1212.
- SHETLAR, D. J. (1999). Application methods in different cropping systems. En: *Proceedings of Workshop: Optimal Use of Insecticidal Nematodes in Pest Management*. POLAVARAPU, S. (ed.). 31-36 pp. New Brunswick, NJ.
- SHIELDS, E. J.; TESTA, A.; MILLER, J. M. y FLANDERS, K. L. (1999). Field efficacy and persistence of the entomopathogenic nematodes *Heterorhabditis bacteriophora* «Oswego» and *Heterorhabditis bacteriophora* «NC» on alfalfa snout beetle larvae (Coleoptera: Curculionidae). *Environmental Entomology*, 28: 128-136.
- SIMÕES, N. (1998). Pathogenicity of the complex *Steinernema carpocapsae-Xenorhabdus nematophilus*: molecular aspects related with the virulence. En: *Pathogenicity of Entomopathogenic Nematodes versus Insect Defense Mechanisms*:

- Impact on Selection of Virulent Strains*. SIMOES, N.; BOEMARE, N. y EHLERS, R. U. (eds). 73-83 pp. European Commission, Brussels.
- SIMOES, N.; LAUMOND C. y BONIFASSI, E. (1993). Effectiveness of *Steinernema* spp. and *Heterorhabditis bacteriophora* against *Popillia japonica* in the Azores. *Journal of Nematology*, 25: 480-485.
- SIMSER, D. y ROBERTS, S. (1994). Suppression of strawberry root weevil, *Otiorynchus ovatus*, in cranberries by entomopathogenic nematodes (Nematoda: Steinernematidae and Heterorhabditidae). *Nematologica*, 40: 456-462.
- SMALL, R. W. (1988). Invertebrate predators. En: *Diseases of Nematodes*, vol. 2. POINAR, G. O. Jr and JANSSON, H. B. (eds). 73-92 pp. CRC Press, Boca Raton, Florida (EEUU).
- SOLOMON, A.; PAPERNA, I. y GLAZER I. (1999). Desiccation survival of the entomopathogenic nematode *Steinernema feltiae*: induction of anhydrobiosis. En: *Survival Strategies of Entomopathogenic Nematodes*. GLAZER, I.; RICHARDSON, P.; BOEMARE, N. y COUDERT, F. (eds.). 83-98 pp. EUR 18855 EN Report.
- SULISTYANTO, J. D. y EHLERS, R. U. (1996). Efficacy of the entomopathogenic nematodes *Heterorhabditis megidis* and *Heterorhabditis bacteriophora* for the control of grubs (*Phyllopertha horticola* and *Aphodius contaminatus*) in golf course turf. *Biocontrol Science and Technology*, 6: 247-250.
- TOMALAK, M. (1994). Selective breeding of *Steinernema feltiae* (Filipjev) (Nematoda: Steinernematidae) for improved efficacy in control of mushroom fly *Lycoriella solani* Winnertz (Diptera: Sciaridae). *Biocontrol Science and Technology*, 4: 187-198.
- VÄNNINEN, I.; HOKKANEN, H. y TYNJUSLIN, J. (1999). Screening of field performance of entomopathogenic fungi and nematodes against cabbage root flies (*Delia radicum* L. and *D. floralis* (Fall.); Diptera, Anthomyiidae). *Acta Agriculturae Scandinavica Section B, Soil and Plant Science*, 49: 167-183.
- WANG, Y.; GAUGLER, R. y CUI, L. (1994). Variations in immune response of *Popillia japonica* and *Acheta domestica* to *Heterorhabditis bacteriophora* and *Steinernema* species. *Journal of Nematology*, 26: 11-18.
- WEI HONGYI; YIN YISHOU; XU JUN; ZHAN GENGXIANG; WEU DELONG; SHENG RONG WU y YANG AIQING (1999). Control of mulberry beetle, *Abirus fortunei* (Baly). *Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis*, 21: 512-515.
- WEST, R. J. y VRAIN, T. C. (1997). Nematode control of black army cutworm (Lepidoptera: Noctuidae) under laboratory and field conditions. *Canadian Entomologist*, 129: 229-239.



- WILLIAMS, E. C. y WALTERS, K. F. A. (2000). Foliar application of the entomopathogenic nematode *Steinernema feltiae* against leafminers on vegetables. *Biocontrol Science and Technology*, 10: 61-70.
- WILSON, M.; NITZSCHE, P. y SCHEARER, P. W. (1999). Entomopathogenic nematodes to control black vine weevil (Coleoptera: Curculionidae) on strawberry. *Journal of Economic Entomology*, 92: 651-657.
- WRIGHT, P. J. y JACKSON, T. A. (1992). Efficacy of entomogenous nematodes for control of porina (*Viseana cervinata*) in Canterbury pastures during winter. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 35: 435-439.
- XU JIELIAN; YANG PING y XIE RUCHUANG (2000). Studies on the applications of some entomopatogenic nematodes against litchi yponomeutid. *Comoritis albicapilla* Moriuti. *Acta Phytopathologica Sinica*, 27: 27-31.
- YANG PING; LIU NANXIN y LIN JIN YING (1999). Study on application of entomopathogenic nematodes to control the diamondback moth (*Plutella xylostella*, DBM). *Natural Enemies of Insect*, 21: 107-112.
- YEH, T. y ALM S. R. (1995). Evaluation of *Steinernema glaseri* (Nematoda: Steinernematidae) for biological control of Japanese beetle and Oriental beetles (Coleoptera: Scarabaeidae). *Journal of Economic Entomology*, 88: 1251-1255.
- ZERVOS, S.; JOHNSON, S. C. y WEBSTER, J. M. (1991). Effect of temperature and inoculum size on reproduction and development of *Heterorhabditis heliothidis* and *Steinernema glaseri* (Nematoda: Rhabditoidea) in *Galleria mellonella*. *Canadian Journal of Zoology*, 69: 1261-1264.

**AGENTES DE CONTROL BIOLÓGICO  
DE ENFERMEDADES**



# ESTRATEGIAS PARA EL CONTROL BIOLÓGICO DE HONGOS FITOPATÓGENOS

PALOMA MELGAREJO, ANTONIETA DE CAL, INMACULADA LARENA, PILAR SABUQUILLO y BELÉN GULJARRO

Departamento de Protección Vegetal, Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA), Carretera de la Coruña km 7, 28040 - Madrid,

melgar@inia.es

## CONCEPTO DE CONTROL BIOLÓGICO

### Definición

Las enfermedades vegetales resultan de la interacción de un patógeno con un huésped susceptible en un ambiente favorable. En este triángulo clásico de la enfermedad, hay un cuarto factor que se tiene en cuenta al hablar de control biológico: los organismos antagonistas (figura 1).

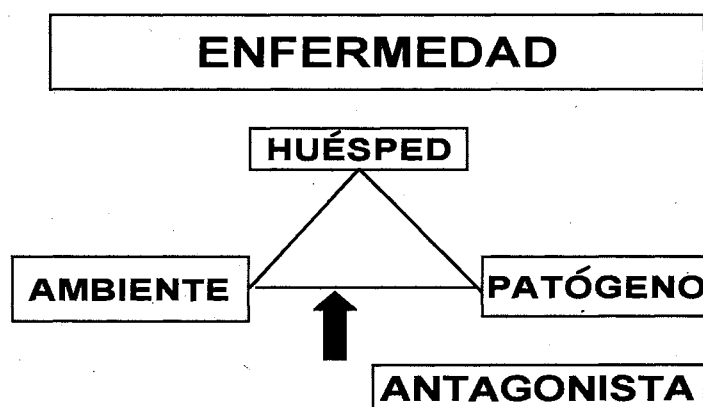


FIGURA 1. Concepto de control biológico de enfermedades vegetales

Así, el control biológico incluye estrategias y métodos para controlar las enfermedades a través de la actividad de organismos vivos distintos del hombre. No existe un acuerdo general sobre lo que se considera control biológico, pues hay defini-

ciones más o menos amplias en las que se incluyen algunos tipos de control o no. La definición dada por Baker y Cook (1974) es una de las que consideramos más apropiada. Estos autores definen control biológico como «la reducción de la densidad de inóculo o de las actividades inductoras de enfermedad de un patógeno o un parásito, en estado activo o durmiente, por la acción de uno o más organismos». Lo que siempre queda claro en todas es que en el control biológico interviene un tercer elemento vivo (junto con el huésped y el patógeno), que es el antagonista. En el caso del control microbiano este elemento vivo es un microorganismo.

### **Componentes del biocontrol**

Los componentes del control biológico son cuatro: patógeno, antagonista, ambiente y huésped, y hablaremos a continuación someramente de ellos.

#### ***Patógenos***

Las enfermedades de las plantas pueden estar causadas por agentes bióticos como hongos, bacterias, virus, etc., o abióticos, que son capaces de alterar el normal funcionamiento de las plantas y resultar en enfermedad. En España el grupo de patógenos descritos más importante es el de hongos (271), seguido por virus (63), nematodos (33) y bacterias (32) (De Andrés *et al.*, 1998).

El control del patógeno se puede aplicar en cualquier parte de su ciclo de vida; existen diversas estrategias de control, basadas en la epidemiología, que pueden ir dirigidas bien a la eliminación o a la reducción del inóculo inicial o bien a la disminución del desarrollo de la enfermedad. Estas estrategias serán más o menos eficaces dependiendo del tipo de patógeno al que nos enfrentemos, monocíclico o policíclico (Fry, 1982).

En el control de los patógenos vegetales se consideran también otros aspectos como su naturaleza biótrofa o necrótrofa, su accesibilidad al antagonista, etc. Un mejor conocimiento de la biología y epidemiología del patógeno al que va dirigido el control hará que éste sea siempre más eficaz. Todos los principios y toda la ciencia que se aplica para otros métodos de control más desarrollados, como el control químico, son también de aplicación para el control biológico.

#### ***Antagonistas***

Un antagonista definido en sentido amplio es un oponente o un adversario. En términos de control biológico, los antagonistas son agentes biológicos con potencial para interferir en cualquiera de los procesos vitales de los patógenos vegetales. Los antagonistas pueden ser todo tipo de organismos: hongos, bacterias, nematodos, pro-

tozoos, virus, viroides y plantas. El término es equivalente al de enemigos naturales, utilizado en el caso de los insectos plaga. El antagonismo es «toda acción directa o indirecta ejercida por microorganismos que resulta en la reducción de la expresión de enfermedad». La explotación del antagonismo por el hombre consiste en una modificación cuidadosa del equilibrio biocenótico para el beneficio de la planta cultivada.

Un microorganismo antagonista puede presentar cinco modos de acción frente a un patógeno: competencia, antibiosis, explotación, resistencia inducida en el huésped y lisis, bien de forma individual o asociada.

La competencia es la lucha de dos o más organismos por conseguir un sustrato que no es suficiente para todos ellos (Baker y Cook, 1974). La competencia puede ser por nutrientes, factores de crecimiento y/o espacio. La competencia por nutrientes (principalmente carbohidratos de alto poder energético y, en algunas ocasiones, por nitrógeno) y agua es característica de la filosfera, sobre todo en la fase de prepenetración del patógeno. La competencia por oxígeno se presenta generalmente en la rizosfera, donde se dan con frecuencia situaciones de anaerobiosis. La competencia por espacio sucede cuando un microorganismo cubre la superficie vegetal sin dejar que otro se desarrolle. Suele ser importante en patógenos que penetran por herida o que necesitan una concentración inicial de inóculo para penetrar. En este caso es importante la relación entre la velocidad de crecimiento del patógeno y la del antagonista (Cook y Baker, 1983).

La antibiosis se define como la inhibición del crecimiento o de las actividades metabólicas de un organismo por la acción de una sustancia (a bajas concentraciones) producida por otro organismo (Gottlieb y Shaw, 1970). La producción de antibióticos depende de la disponibilidad de nutrientes que posea el medio y, en general, se ve favorecida por aportes suplementarios de compuestos orgánicos (Cook y Baker, 1983). Una ventaja de la antibiosis es que no es preciso que el patógeno y el antagonista entren en contacto y, además, el antibiótico puede permanecer en el medio incluso tras la muerte del antagonista (Cook y Baker, 1983). Una clara desventaja es el mayor número de ensayos a realizar para el registro del agente de biocontrol en el Registro Único Europeo de Productos Fitosanitarios.

La explotación incluye la depredación y el parasitismo directo e implica un contacto íntimo entre el huésped y el parásito (Boosalis, 1964). El parasitismo es una relación nutricional en la que un organismo (el parásito) obtiene todo o parte de lo que necesita para vivir de las partes funcionales vivas de otro organismo, el huésped (Dubos, 1987). En el control biológico el único parasitismo importante es el hiperparasitismo o interrelación que se presenta entre un hongo y otro que, a su vez, es parásito de plantas superiores. Los hiperparásitos son cuestionados como antagonistas efectivos frente a la infección primaria, puesto que es preciso un contacto directo parásito-huésped, lo que requiere un tiempo que tiene que ser sufi-

ciente para que el patógeno infeste (Baker y Cook, 1974). Por tanto, los hiperparásitos son útiles en la reducción del inóculo del patógeno disponible para infecciones secundarias.

La resistencia inducida es un fenómeno en el cual los mecanismos de defensa del huésped reconocen y responden a un organismo menos dañino, el agente de biocontrol, de modo que el huésped está ya listo para un ataque subsiguiente del patógeno (Campbell, 1989).

La lisis es la destrucción o desintegración enzimática total o parcial de un organismo. Las enzimas implicadas en el proceso son hidrolasas de los tipos, quitinasa y glucanasa.

### ***Huésped***

La planta huésped es un participante en todos los sistemas de control biológico dirigidos a la supresión de las actividades inductoras de enfermedad de los patógenos, así como en muchos casos de control biológico dirigido a regular la cantidad de inóculo de éste. Puede actuar directamente suprimiendo la patogénesis o la reproducción del patógeno por mecanismos de resistencia o indirectamente al proporcionar el punto de acción de uno o más antagonistas.

### ***Ambiente***

Incluye temperatura, potencial hídrico, radiación, pH, cargas superficiales, presión parcial de gases, iones y elementos y compuestos de carbono que contienen energía. Cada uno de estos factores varía en tiempo y en espacio e interacciona entre ellos. El ambiente abiótico es dinámico, heterogéneo y complejo. Su medida y conocimiento son difíciles y sigue siendo un gran reto para el control biológico y en general para la patología vegetal.

### **Importancia del control biológico**

Desde hace tiempo, se está dedicando gran esfuerzo al desarrollo del control biológico, probablemente debido a la frustración de no poder utilizar otras técnicas de control de enfermedades y a la creencia de que es menos perjudicial para el medio ambiente que la utilización de técnicas físicas y químicas. El creciente interés que este tipo de control ha suscitado queda reflejado en la explosión de publicaciones científicas, libros y simposios a los que ha dado lugar.

Sin embargo, su aplicación práctica se encuentra en su infancia, por lo que se ofrecen pocas aplicaciones para el agricultor, sobre todo si se compara con el control químico. Varias son las razones que contribuyen a su bajo desarrollo comercial. Los

esfuerzos y el interés de las compañías en los productos biológicos han sido pequeños hasta el momento, debido a que los resultados obtenidos no son tan reproducibles ni tan eficaces como con los productos químicos. Un problema adicional al que se enfrentan ahora las compañías interesadas en estos productos es que su registro en Europa se rige por la misma directiva (Directiva CEE 91/414) que los productos químicos, lo que hace que los gastos de registro de estos productos sean también muy elevados.

## **APLICACIÓN DEL CONTROL BIOLÓGICO**

De la propia definición de control biológico se desprende que éste se puede aplicar de tres formas, aunque en la práctica suelen solaparse:

### **Explotación del control biológico natural**

Hay algunas situaciones en las que la enfermedad no es grave e incluso está ausente y una de las causas es la actuación de un control biológico natural. Este tipo de biocontrol no se ha estudiado en profundidad, por lo que se desconoce hasta qué punto puede ser importante en situaciones de ausencia o poca gravedad de la enfermedad. Los estudios en patología vegetal se han centrado en el estudio de la enfermedad y de epidemias importantes, puesto que son éstas las situaciones que crean problemas económicos.

El control biológico natural puede estar operando donde un patógeno causa poca o ninguna enfermedad en un ambiente aparentemente favorable o donde un patógeno no es capaz de establecerse a pesar de su frecuente introducción en un área aparentemente favorable. El Hombre puede explotar el control biológico natural identificando los agentes que mantienen las poblaciones de los patógenos a niveles tolerables de forma natural y, una vez identificados, preservar o mejorar las condiciones que hacen que se obtenga el control. En algunos casos estas prácticas pueden consistir en evitar el uso de productos químicos que destruyen la población de antagonistas que controlan al patógeno.

El control biológico natural presenta el problema de que siempre existe una cantidad de daño en los cultivos en los que se produce, y en algunos productos (frutas y ornamentales, por ejemplo), no suele ser aceptable económicamente. En algunos casos, también ocurre un resurgimiento de la enfermedad periódicamente por encima del umbral económico de daños que provoca pérdidas. De todas formas, el control biológico ha demostrado ser operativo en los casos en los que se conoce. Si se elimina, la enfermedad se desarrolla con toda su gravedad. Ejemplos importantes de control biológico natural son los suelos supresivos y el control de *Cryphonectria parasitica* (Murril) Barr.



Procedente del lejano oriente, *C. parasitica*, inductora del chancro del castaño, fue introducida en Estados Unidos a finales del siglo pasado, y es una de las enfermedades vegetales más devastadoras de las conocidas hasta ahora, pues ha llegado a matar a más de nueve millones de acres de castaño americano, *Castanea dentata* (Marsh.) Borkh. En Italia, la enfermedad apareció durante la primera guerra mundial y en Francia, en 1957, causando también considerables daños en los castaños europeos, *Castanea sativa* Mill. A los quince años de haber sido descrita la enfermedad por primera vez en Italia, Biragui (1951) observó que algunos árboles situados en áreas muy infectadas eran aparentemente resistentes al patógeno, mostrando solamente chancros muy superficiales. Posteriormente Grente y Sauret (1969) describieron este mismo hecho en Francia y lo atribuyeron a la presencia de variantes del patógeno de baja virulencia en estos árboles que se aislaban de chancros cicatrizados, demostrando posteriormente que la hipovirulencia podía ser transmitida a cepas normales por anastomosis vegetativa. Debido a la existencia de estas cepas con hipovirulencia transmisible que se presentaban de forma natural en los chancros, la enfermedad dejó de ser un problema en Italia.

Otro ejemplo muy típico de control biológico natural y que se da con cierta frecuencia es el de los suelos supresivos, que son aquéllos en los que no se desarrolla la enfermedad a pesar de la presencia del patógeno, del huésped susceptible y de condiciones ambientales favorables. Hay un caso especialmente bien documentado de suelos supresivos que se lleva estudiando muchos años. Son los suelos de aluvión franceses en el distrito de Châteaurenard en el valle del Ródano, donde *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* (Leach y Currence) Zinder y Hansen está presente, se cultivan variedades susceptibles de melón, el clima es apropiado y, sin embargo, no tiene lugar la enfermedad. La supresividad de estos suelos es de carácter microbiológico al perder sus propiedades supresivas cuando se tratan con calor y, además, su capacidad de suprimir la enfermedad se puede transferir a suelos de tipo conductivo.

### **Modificación del ambiente**

El ambiente se modifica para favorecer la actividad de los antagonistas ya presentes en él. Se han utilizado muchas técnicas para modificar el ambiente y conseguir controlar enfermedades, pero sus mecanismos de acción son generalmente mal entendidos. La rotación de cultivos es una de las más utilizadas para manejar enfermedades inducidas por patógenos de suelo. Mediante la rotación de cultivos se mantiene una microflora muy variada, lo que evita el desarrollo de grandes poblaciones del patógeno, siendo particularmente interesante para patógenos que pueden sobrevivir en el suelo durante períodos largos de tiempo. La manipulación del ambiente físico del suelo (humedad, temperatura, aireación), la utilización de productos químicos, y la adición de enmiendas orgánicas son otras de las técnicas que se utilizan habitualmente con mayor o menor éxito.

## Introducción de antagonistas

Cuando los patógenos no son inhibidos por los antagonistas naturales se puede conseguir un control biológico aumentando la cantidad de éstos mediante su introducción en el ecosistema. Éste es el sistema que más se utiliza en control biológico aunque, como ya se ha comentado anteriormente, son muchos los casos que no han llegado a la práctica. Los antagonistas pueden ser identificados más o menos fácilmente en laboratorio, pero la mayoría fallan al aplicarlos en condiciones naturales, bien por su incapacidad para sobrevivir en ese medio o porque el mecanismo de antagonismo sea inefectivo o inhibido en esas condiciones. Incluso en el caso de que el antagonismo tenga lugar, el antagonista debe persistir en el medio durante todo el tiempo necesario para suprimir la enfermedad, lo que no ocurre a menos que esté bien adaptado al microambiente del patógeno. La falta de control en condiciones prácticas ha hecho que se haya variado en los últimos años la estrategia de selección de antagonistas. Antes se seleccionaban gran número de antagonistas con ensayos *in vitro* de laboratorio y luego se veía si funcionaban en campo. Ahora los ensayos se realizan en las condiciones más parecidas a las reales que permitan una garantía de éxito. Las investigaciones se han centrado también más en el estudio de la ecología de los antagonistas y su relación con la epidemiología de los patógenos. El mayor conocimiento del modo de acción de los antagonistas también permite un mejor diseño de su aplicación en el biocontrol.

La introducción de agentes de biocontrol está basada en el desarrollo de biofungicidas o productos biológicos con acción fungicida, en el caso del control de hongos fitopatógenos que es el que nos ocupa. Los biofungicidas son fungicidas cuya materia activa es un microorganismo antagonista. Considerando en general bioplaguicidas (excluyendo los dirigidos a insectos plaga) actualmente hay unos 50 productos biológicos formulados en el mercado internacional (<http://www.agrobiologicals.com>) que proceden mayoritariamente de Estados Unidos e Israel y se aplican sobre todo en pulverización o a las semillas. La materia activa de la mayoría de estos productos es un hongo o una bacteria, aunque hay algunos que contienen levaduras. Un 68% actúa por competencia y antibiosis, 15% sólo por competencia; 8% por competencia, antibiosis y lisis y 5% por hiperparasitismo, aunque algunos incluyen la resistencia inducida y la promoción del crecimiento en sus mecanismos de acción. Un 68% va dirigido a patógenos de suelo (*Rhizoctonia solani*, Kühn, *Pythium* spp., *Phytophthora* spp., *Fusarium* spp., *Sclerotium* spp., *Verticillium* spp., *Agrobacterium tumefaciens* (Smith y Townsend) Com), sólo un 20% a enfermedades de partes aéreas (antracnosis oidio, mildiu, *Cercospora* spp., *Heterobasidium annosum* (Fr.) Bref., *Botrytis cinerea* Pers., *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) Sacc.) y el resto a enfermedades de postcosecha (*Penicillium* spp., *B. cinerea*, *Geotrichum candidum* Link:Fr., *Mucor pyriformis* Fischer). En la Unión Europea están registradas algunas materias activas como las bacterias *Agrobacterium radiobacter*

(Beijerinck y van Delden) Conn y *Streptomyces griseoviridis* L. y los hongos filamentosos *Phlebia gigantea* (Fr.) Jülich, *Trichoderma harzianum* Rifai, *Trichoderma polysporum* (Link : Fries) Rifai, *Trichoderma* spp., *T. viride* Pers., *Verticillium dahliae* Kleb. y *V. lecanii* (Zimmermann) Viegas, y en España solamente hay registrado un producto formulado, el Mycostop, que comercializa Kemira. El Mycostop es un polvo mojable cuya materia activa es *S. griseoviridis*, que actúa por competencia y antibiosis y es activo frente a algunas fusariosis.

Como ya se ha comentado anteriormente los productos biológicos para ser incluidos en el Anexo 1 del Registro Europeo de Productos Fitosanitarios tienen que cumplir unos criterios de evaluación que están descritos en la Directiva CEE 91/414. Estos criterios están basados en unos principios generales (eficacia y riesgos) y en unos principios específicos (identidad y propiedades biológicas, modo de acción, eficacia y especificidad, e impacto sobre el hombre y el medio ambiente). Todo esto conlleva una serie de estudios previos a la comercialización de un agente de biocontrol que quedan reflejados en el cuadro 1.

CUADRO 1. Pasos previos a la comercialización de un biofungicida

<b>PASOS PREVIOS A LA COMERCIALIZACIÓN DE UN AGENTE DE BIOCONTROL</b>
1- Identificación del agente de biocontrol
2- Caracterización
3- Optimización del proceso de producción del agente de biocontrol
4- Formulación del mismo
5- Realización de ensayos de estabilidad y caducidad del producto
6- Realización de ensayos comerciales
7- Estudios de mercado
8- Evaluación de costes
9- Patente del agente de biocontrol o del producto
10- Registro del producto formulado
<b>Comercialización y venta</b>

## ESTUDIO DE CASOS

A continuación, ilustraremos los pasos mencionados con dos ejemplos de agentes de biocontrol desarrollados en nuestro laboratorio. La aplicación de estos dos biofungicidas va dirigida a dos patosistemas muy diferentes: *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Sacc.) Zinder y Hansen en tomate (suelo) y *Monilinia* spp. en fruta de hueso (postcosecha). Los hongos antagonistas (*Penicillium oxalicum* Currie y Thom, *Penicillium frequentans* Westling y *Epicoccum nigrum* Link) han sido aislados en nuestro laboratorio y actualmente se encuentran en fase de desarrollo comercial.

### Estudio de caso 1: *Penicillium oxalicum* vs. *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*

*Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* es el hongo causante de la marchitez vascular del tomate (figuras 2a y 2b). Debido a los problemas que plantea en plantaciones de tomate y a la inminente prohibición del bromuro de metilo, buscamos en el control biológico una alternativa más adecuada para el control integrado del tomate. Para ello seleccionamos, entre varios antagonistas, un aislado de *P. oxalicum* (Figura 2c) y demostramos que controlaba la marchitez vascular del tomate causada por *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*, tanto en suelo como en cultivos hidropónicos (De Cal *et al.*, 1995; De Cal *et al.*, 1997c) (figura 2d). El control de la enfermedad no estaba relacionado con una reducción de la población de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* en la rizosfera (De Cal *et al.*, 1995; De Cal *et al.*, 1997a y 1997b), demostrándose la inducción de resistencia a *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* en las plantas de tomate tratadas con *P. oxalicum* (De Cal *et al.*, 1997c). La inducción de resistencia se daba en diferentes cultivares de tomate (de diferente sensibilidad/resistencia a *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*), indicando un mecanismo general de resistencia (De Cal *et al.*, 1997a). La reducción de la enfermedad tenía lugar tanto si *P. oxalicum* se aplicaba antes o después de la inoculación con el patógeno, pero se obtenía el máximo control de la enfermedad si se regaban las plántulas en semillero en el estado de 2-4 hojas con una suspensión de esporas ( $10^6$  conidias/ml) de *P. oxalicum* (De Cal *et al.*, 1999). La aplicación de *P. oxalicum* controlaba la marchitez vascular inducida por *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* tanto si éste se encontraba en el suelo en forma de microconidias o de clamidosporas ( $10^4$ - $10^5$  clamidosporas/g) (De Cal *et al.*, 1997d). El control de la enfermedad duraba hasta los 100 días después de la inoculación con el patógeno en tomates cultivados en invernadero (De Cal *et al.*, 1999), y podía ser reinducida si se trataban las plantas de tomate más de una vez durante el cultivo (De Cal y Melgarejo, 2001). La reaplicación de *P. oxalicum* a las raíces de las plantas de tomate mediante un riego al terreno de asiento mejoraba el control de la marchitez vascular, especialmente en condiciones de alta presión de enfermedad (De Cal y Melgarejo, 2001). La inducción de resistencia por *P. oxalicum* en las plantas de tomate no estaba relacionada con la inducción de nuevas proteínas ni RNAs mensajeros (García-Lepe *et al.*, 1998). Se demostró que la resistencia inducida estaba relacionada con cambios en el sistema vascular de la planta: *P. oxalicum* prevenía, en parte, el bloqueo de los vasos del xilema en plantas atacadas por el patógeno, el sistema vascular de plantas de tomate inducidas con *P. oxalicum* presentaba mayor número de vasos del xilema y mayor desarrollo de la zona cambial, sugiriendo que estos cambios estaban relacionados con los niveles endógenos de hormonas en las plantas de tomate (García-Lepe *et al.*, 1999; De Cal *et al.*, 2000). *P. oxalicum* es un hongo xerotolerante, mesofílico que tolera un amplio rango de pH por lo que se adapta a diversos tipos de suelo (Pascual *et al.*, 1997b).

Una vez identificado y caracterizado el agente de biocontrol, se inició el periodo de desarrollo del mismo, con el fin de aplicarlo en condiciones reales. Para ello se des-

arrollaron métodos de producción en masa de conidias de *P. oxalicum* mediante fermentación líquida (Pascual *et al.*, 1997a) y fermentación sólida (De Cal *et al.*, 2001; De Cal *et al.*, 2002; Larena *et al.*, 2002) (figura 2e). La fermentación sólida producía más conidias ( $10^9$  conidias/g seco de sustrato), y con una viabilidad superior al 80% (figura 2f). Estas conidias controlaban no sólo a *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* sino también a *V. dahliae* en plantaciones comerciales de tomate (Larena *et al.*, 2003). Actualmente se está llevando a cabo la formulación de las conidias de *P. oxalicum* producidas en fermentación sólida. Primeramente se ha realizado el secado de éstas mediante técnicas de liofilización, atomización y lecho fluido. Las conidias de *P. oxalicum* secadas en lecho fluido mantenían un 100% de viabilidad durante 60-90 días, mientras que las que han sido secadas por liofilización perdían su viabilidad a lo largo del tiempo, incluso en presencia de protectores (Larena *et al.*, 2003). Las conidias de *P. oxalicum* perdían totalmente su viabilidad si se secaban por atomización (Larena *et al.*, 2003). Una vez elegido el lecho fluido como el sistema más adecuado para el secado de las conidias de *P. oxalicum* se ha iniciado el estudio de los coadyuvantes para formular el agente de biocontrol, así como del momento óptimo para incluirlos en el formulado y comprobar su efectividad, trabajo que está actualmente en marcha..

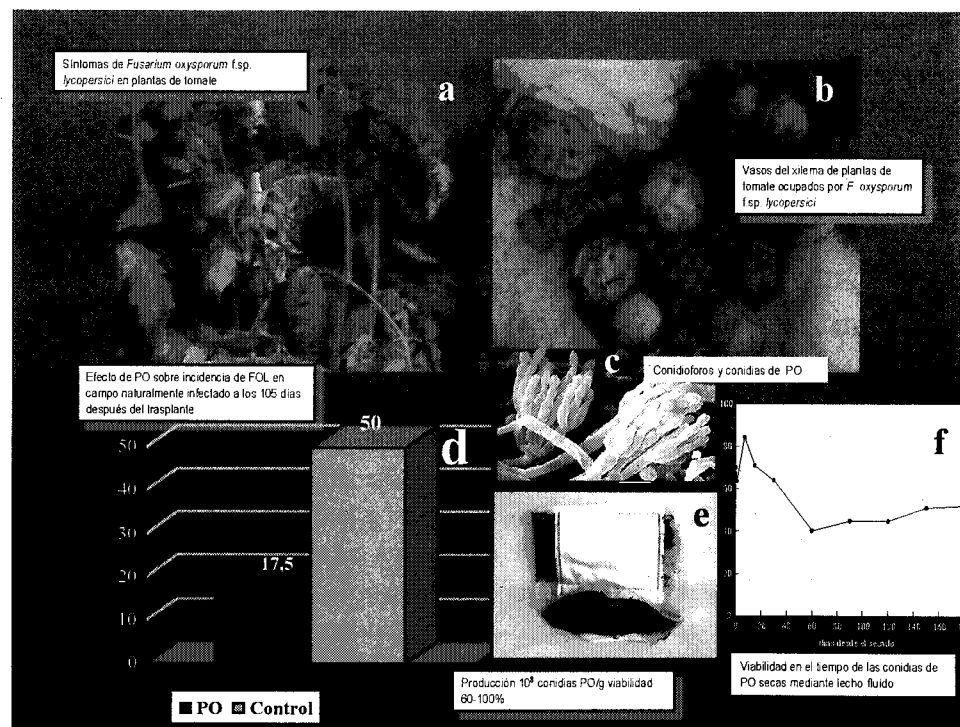


FIGURA 2. Distintos aspectos del patosistema *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (FOL) –tomate y su antagonista *Penicillium oxalicum* (PO)

**Estudio de caso 2: *Penicillium frequentans* y/o *Epicoccum nigrum* vs. *Monilinia* spp.**

El segundo patosistema al que nos vamos a referir es el de *Monilinia* spp. (*laxa* y *fructigena*) en frutales de hueso (figura 3)

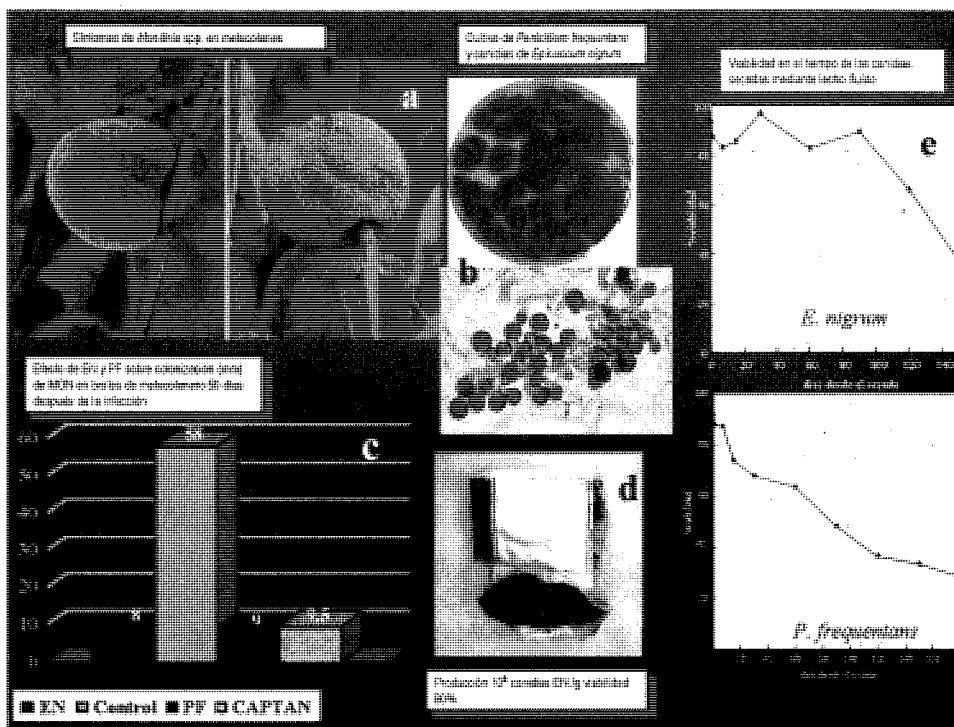


FIGURA 3. Distintos aspectos del patosistema *Monilinia* spp. (MON) - melocotón y sus antagonistas *Penicillium frequentans* (PF) y *Epicoccum nigrum* (EN)

Estos hongos causan marchitez de brotes, flores y podredumbre de frutos de hueso. Se realizó una búsqueda de antagonistas frente al patógeno entre la microflora epífita anual de los brotes de melocotonero tanto in vitro como in vivo (Melgarejo *et al.*, 1985). Se demostró el potencial de dos de los antagonistas seleccionados (*P. frequentans* y *E. nigrum*) en el control biológico de *Monilinia* en huertos experimentales (Melgarejo *et al.*, 1986). Posteriormente se comprobó el potencial como agentes de biocontrol de *Monilinia* en huertos comerciales utilizando individualmente cada uno de los antagonistas o en combinación con diferentes fungicidas en una estrategia de control integrado (De Cal *et al.*, 1990; De Cal y Melgarejo, 1992; Madrigal *et al.*, 1994; Pascual *et al.*, 1996). Paralelamente se llevaron a cabo estudios del modo de acción de los dos agentes de biocontrol. La competencia parecía ser uno de los modos de acción más importantes (De Cal *et al.*, 1990). En el caso de *P. frequentans* era nece-

sario que en los brotes hubiera  $10^{5-6}$  conidias/g brote para que hubiera control de la enfermedad (De Cal *et al.*, 1990). Ambos antagonistas producían antibióticos in vitro, aunque no se detectaron sobre la fruta (De Cal *et al.*, 1988; Madrigal *et al.*, 1991). Además, *M. laxa* era capaz de metabolizar antibióticos producidos por los antagonistas (Madrigal *et al.*, 1993). *Penicillium frequentans* producía los antibióticos frecuentina y palitantina y *E. nigrum*, la flavipina que inhibían a *M. laxa* e inducían la formación de su estroma (Madrigal y Melgarejo, 1995; Melgarejo *et al.*, 1989). La aplicación de fungicidas inhibidores de la síntesis de melanina junto con estos antagonistas sería una buena estrategia de control integrado porque *P. frequentans* causaba la autólisis de las hifas no melanizadas (De Cal y Melgarejo, 1993 y 1994). La flavipina producida por *E. nigrum* tenía varios modos de acción sobre *M. laxa*: cambio en la permeabilidad de sus membranas, la inhibición de la síntesis de ATP y de la síntesis de proteínas (Madrigal y Melgarejo, 1994). Se hicieron también estudios sobre la mejora del inóculo de *E. nigrum* y *P. frequentans* para mejorar su competencia ecológica (Pascual *et al.*, 1996 y 2000). Al igual que en el caso anterior de *P. oxalicum*, se ha iniciado el periodo de desarrollo de *P. frequentans* y *E. nigrum* mediante un método de producción en masa de conidias de los agentes de biocontrol por fermentación sólida produciéndose en este caso  $10^{8-9}$  conidias/g sustrato (De Cal *et al.*, 2001; Larena *et al.*, 2002). Se ha probado la eficacia de estas conidias durante las campañas 2000-2001, 2001-2002 y 2002-2003 en 20 huertos de melocotonero y nectarino de la provincia de Lleida (España), de las provincias de Verona y Lodi (Italia) y de Balandrán (Francia) en aplicaciones de pre cosecha en floración y prerrecolección, obteniéndose control de la podredumbre de la fruta en postcosecha con los tratamientos biológicos solos y en los integrados con productos químicos. Las conidias de *P. frequentans* y de *E. nigrum* secadas por lecho fluido mantenían un 100% de viabilidad durante 90-120 días sin necesidad de protectores, mejorando los resultados de estabilidad obtenidos mediante el secado por liofilización o atomización (Larena *et al.*, 2003). Se ha iniciado el estudio de los coadyuvantes para formular los agentes de biocontrol, así como el momento óptimo para incluirlos en el formulado y comprobar su efectividad, trabajo que se encuentra actualmente en marcha.

## AGRADECIMIENTOS

Estos trabajos han sido posibles gracias a la financiación recibida en los siguientes proyectos: QLK99-01065 (V Programa Marco de la UE), AGL2000-0067-P4-03 (Plan Nacional de I+D+I), RTA 01-0033 (Plan Nacional de Recursos y Tecnologías Agroalimentarias), AGL2002-04396-C02-01 (Plan Nacional de I+D+I), y 07M/00 31/2002 (Comunidad Autónoma de Madrid). Se agradece el apoyo técnico prestado por Carmen Simón, Yolanda Herranz y Ana Barrionuevo.

## BIBLIOGRAFÍA

- BAKER, K. F. y COOK, R. J. (1974). *Biological Control of Plant Pathogens*. W. H. Freeman and Company. San Francisco (EUA). 433 pp.
- BIRAGUI, A. (1951). Sul proposto raggruppamento di *Endothia fluens* (Sow.) S. et S. e di *Endothia parasitica* (Murr.) P. J. Et H. W. And. In um uniea specie. *Bolletino de la Stazione de Patolologia Vegetale (Florence)*, 9 (Ser 3): 133-157.
- BOOSALIS, M. G. (1964). Hyperparasitism. *Annual Review of Phytopathology*, 2: 363-376.
- CAMPBELL, R. (1989). *Biological Control of Microbial Plant Pathogens*. Cambridge University Press. Cambridge (Reino Unido), 218 pp.
- COOK R. J. y BAKER, K. F. (1983). *The Nature and Practice of Biological Control of Plant Pathogens*. The American Phytopathological Society. Saint Paul (EUA). 539 pp.
- DE ANDRÉS, M. F.; GARCÍA-ARENAL, F.; LÓPEZ, M. M. y MELGAREJO, P. (1998). *Patógenos de Plantas Descritos en España*. Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentación. Madrid (España), 526 pp.
- DE CAL, A.; GARCÍA-LEPE, R. y MELGAREJO, P. (2000). Induced resistance by *Penicillium oxalicum* against *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*: histological studies of infected and induced tomato stems. *Phytopathology*, 90: 260-268.
- DE CAL, A.; GARCÍA-LEPE, R.; PASCUAL, S. y MELGAREJO, P. (1999). Effects of timing and method of application of *Penicillium oxalicum* on efficacy and duration of control of Fusarium wilt of tomato. *Plant Pathology*, 48: 260-266.
- DE CAL, A.; LARENA, I. y MELGAREJO, P. (2001). Procedimiento para la producción de conidias de hongos filamentosos en fermentación sólida. *Patente de Invención, n° 200100758*.
- DE CAL, A.; LARENA, I., y MELGAREJO, P. (2002). Produccion de conidias de agentes de biocontrol en fermentación sólida. *Phytoma España*, 138: 104-105.
- DE CAL, A.; M. SAGASTA, E. y MELGAREJO, P. (1988). Antifungal substances produced by *Penicillium frequentans* and their relationship to the biocontrol of *Monilinia laxa*. *Phytopathology*, 78: 888-893.
- DE CAL, A.; M. SAGASTA, E. y MELGAREJO, P. (1990). Biological control of peach twig blight (*Monilinia laxa*) with *Penicillium frequentans*. *Plant Pathology*, 39: 612-618.



- DE CAL, A. y MELGAREJO, P. (1992). Interactions of pesticides and mycoflora of peach twigs. *Mycological Research*, 96: 1105-1113.
- DE CAL, A. y MELGAREJO, P. (1993). Effects of pyroquilon on the infection process by *Monilinia laxa*. *Pesticide Science*, 39: 267-269.
- DE CAL, A. y MELGAREJO, P. (1994). Effects of *Penicillium frequentans* and its antibiotics on unmelanized hyphae of *Monilinia laxa*. *Phytopathology*, 84: 1010-1014.
- DE CAL, A. y MELGAREJO, P. (2001). Repeated application of *Penicillium oxalicum* prolongs biocontrol of fusarium wilt of tomato plants. *European Journal of Plant Pathology*, 107: 805-811.
- DE CAL, A.; PASCUAL, S.; GARCÍA-LEPE, R. y MELGAREJO, P. (1997a). Biological control of *Fusarium* wilt of tomato. En: *Integrated Control in Protected Crops of Mediterranean Climate*. Coord. Albajes, R. y Carnero, A. *IOBC wprs Bulletin*, 20 (4): 63-75.
- DE CAL, A.; PASCUAL, S. y MELGAREJO, P. (1997b). Involvement of resistance induction by *Penicillium oxalicum* in the biocontrol of tomato wilt. *Plant Pathology*, 46:72-80.
- DE CAL, A.; PASCUAL, S. y MELGAREJO, P. (1997c). A rapid laboratory method for assessing the biological control potential of *Penicillium oxalicum* against *Fusarium* wilt of tomato. *Plant Pathology*, 46: 699-707.
- DE CAL, A.; PASCUAL, S. y MELGAREJO, P. (1997d). Infectivity of chlamydospores vs. microconidia of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* on tomato. *Journal of Phytopathology*, 145: 231-233.
- DE CAL, A.; PASCUAL, S.; LARENA, I. y MELGAREJO, P. (1995). Biological control of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* by lytic fungi. *Plant Pathology*, 44: 909-917.
- DUBOS, I. (1987). Fungal antagonism in aerial agrobiocenoses. En: *Innovative Approaches to Plant Disease Control*. JOHN WILEY & SONS. 107-190 pp. New York (EUA).
- FRY, W. E. (1982). *Principles of Plant Disease Management*. Academic Press. New York (EUA), 378 pp.
- GARCÍA-LEPE, R.; RODRÍGUEZ, P.; DE CAL, A., GARCÍA-OLMEDO, F. y MELGAREJO, P. (1998). Induced resistance against *Fusarium* wilt of tomato by *Penicillium oxalicum* is not associated to pathogenesis-related proteins. En: *Molecular Approaches in Biological Control*. Coord. DUFFY, B.; ROSENBERGER, G. y DEFAGO, G. *IOBC wprs Bulletin*, 21(9): 63-70.
- GARCÍA-LEPE, R.; DE CAL, A.; PASCUAL, S. y MELGAREJO, P. (1999). Induced resistance by *Penicillium oxalicum* in tomato against *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*

- sici. En: *Modern Fungicides and Antifungal Compounds*. coord. LYR, H.; RUSSELL, P.E.; DEHNE, H.W. y SISLER, H.D. 397-402 pp. Intercept Ltd, Andover (UK).
- GOTTLIEB, D. y SHAW, P. D. (1970). Mechanisms of action of antifungal antibiotics. *Annual Review of Phytopathology*, 8: 371-402.
- GREUTE, J. y SAURET, S. (1969). L'hypovirulence exclusive phénomène original en pathologie végétale. *Comptes Rendues de l'Academie des Sciences de Paris*, 268: 2347-2350.
- LARENA, I.; DE CAL, A.; LIÑÁN, M. y MELGAREJO, P. (2003a). Drying of *Epicoccum nigrum* conidia for obtaining a shelf-stable biological product against brown rot disease. *Journal of Applied Microbiology*, 94: 508-514.
- LARENA I.; MELGAREJO, P. y DE CAL, A. (2002). Production, survival and evaluation of solid-substrate inocula of *Penicillium oxalicum*, a biocontrol agent against fusarium wilt of tomato. *Phytopathology*, 92: 863-869.
- LARENA, I.; MELGAREJO, P. y DE CAL, I. (2003). Drying of *Penicillium oxalicum*, a biological control agent against Fusarium wilt of tomato. *Journal of Phytopathology*, 151: 600-606.
- MADRIGAL, C. y MELGAREJO, P. (1994). Mechanisms of action of the antibiotic flavipin on *Monilinia laxa* and *Sacharomyces cerevisiae*. *Mycological Research*, 98: 874-878.
- MADRIGAL, C. y MELGAREJO, P. (1995). Morphological effects of *Epicoccum nigrum* and its antibiotic flavipin on *Monilinia laxa*. *Canadian Journal of Botany*, 73: 425-431.
- MADRIGAL C.; PASCUAL, S. y MELGAREJO, P. (1994). Biological Control of peach twig blight induced by *Monilinia laxa* with *Epicoccum nigrum*. *Plant Pathology*, 43: 554-562.
- MADRIGAL, C.; TADEO, J. L. y MELGAREJO, P. (1991). Relationship between flavipin production by *Epicoccum nigrum* and antagonism against *Monilinia laxa*. *Mycological Research*, 95: 1375-1381.
- MADRIGAL, C.; TADEO J. L. y MELGAREJO, P. (1993). Degradation of flavipin by *Monilinia laxa*. *Mycological Research*, 97: 634-636.
- MELGAREJO, P.; CARRILLO, R. y M.-SAGASTA, E. (1985). Mycoflora of peach twigs and flowers and its possible significance in biological control of *Monilinia laxa*. *Transactions of the British Mycological Society*, 85: 313-317.
- MELGAREJO, P.; CARRILLO, R. y M. SAGASTA, E. (1986). Potential for biological control of *Monilinia laxa* in peach twigs. *Crop Protection*, 5: 422-426.

- MELGAREJO, P.; DE CAL, A. y M. SAGASTA, E. (1989). Effects of *Penicillium frequentans* and two of its antibiotics on production of stromata by *Monilinia laxa* in culture. *Canadian Journal of Botany*, 67: 83-87.
- PASCUAL, S.; MAGAN, N. y MELGAREJO, P. (1996). Improved biological control of peach twig blight by physiological manipulation of *Epicoccum nigrum*. *Proceedings of the Brighton Crop Protection Conference-Pests and Diseases*, 411-412.
- PASCUAL, S.; MELGAREJO, P. y MAGAN, N. (1997a). Induction of submerged conidiation of the biocontrol agent *Penicillium oxalicum*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 48: 389-392.
- PASCUAL, S.; MELGAREJO, P. y MAGAN, N. (2000). Accumulation of compatible solutes in *Penicillium frequentans* grown at reduced water activity and biocontrol of *Monilinia laxa*. *Biocontrol Science and Technology* 10: 73-82.
- PASCUAL, S.; RICO, J. R.; DE CAL, A. y MELGAREJO, P. (1997). Ecophysiological factors affecting growth, sporulation and survival of the biocontrol agent *Penicillium oxalicum*. *Mycopathologia*, 139: 43-50.

# CONTROL BIOLÓGICO DE BACTERIAS FITOPATÓGENAS

MARÍA MILAGROS LÓPEZ y RAMÓN PEÑALVER  
Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA),  
Ctra. de Moncada a Náquera km 5, 46113 – Montcada (Valencia),  
mlopez@ivia.es

El control biológico de bacterias pretende, al igual que el de otros patógenos, mantener las poblaciones de los agentes causantes de enfermedades a niveles que no favorezcan el desarrollo de síntomas en las plantas a las que pueden afectar. Esto puede también lograrse mediante un control integrado que incluya técnicas culturales, variedades poco sensibles o resistentes y tratamientos con algunos productos químicos, pero la tendencia general es situar el control biológico como una alternativa complementaria de interés (Andrews, 1992; Cook y Baker, 1983). Ello es debido a la necesidad de reducir el uso de pesticidas, la prioridad de la protección del medio ambiente y la carencia de bactericidas eficaces (Baldwin y Rathmell, 1988).

Existe en el mercado de la Unión Europea una clara necesidad de nuevos productos para el control de bacterias fitopatógenas, ya que se han constatado durante muchos años la baja eficacia práctica de los productos registrados, su escaso poder sistémico y su efecto bacteriostático, pero no bactericida. Además, hay un bajo número de productos registrados y se han observado resistencias a algunos de ellos, como los cúpricos (Andersen *et al.*, 1991; Cooksey, 1990). Las políticas agrícola, sanitaria y medio ambiental de la Unión Europea no autorizan el registro o el uso de antibióticos para tratamientos agrícolas y en los próximos años se verá reducido el número de pesticidas autorizados y serán necesarios exhaustivos análisis toxicológicos y estudios de impacto ambiental antes de su registro. El objetivo final es que la conservación del medio prive sobre aspectos productivos o económicos en el contexto agrario.

Por ello, el control biológico, utilizando microorganismos autóctonos o importados, pero seleccionados en función de su actividad y de su bajo impacto medio ambiental, tiene un gran futuro potencial. Se trata de utilizar interacciones planta-microorganismo que sean beneficiosas para los cultivos y que mejoren el control de

patógenos, pero situando la lucha biológica en un contexto de control integrado. Por ello, los agentes de biocontrol requieren los mismos estudios de evaluación que cualquier producto químico en vías de registro, tanto desde el punto de vista de su eficacia, como de su toxicidad y su impacto en el medio ambiente. Esto es lógico, ya que están superados los tiempos en los que se afirmaba, sin pruebas científicas, que el uso de los productos biológicos no implica ningún tipo de riesgos, por el mero hecho de tratarse de compuestos naturales y no de síntesis.

En este capítulo nos centraremos exclusivamente en el control biológico de bacterias fitopatógenas mediante la utilización de otras bacterias, es decir, en el modelo bacteria contra bacteria. Otros tipos de control biológico de bacterias fitopatógenas incluyen la utilización de hongos, levaduras, bacteriófagos y bacteriocinas, pero su utilización es muy reducida, incluso a escala experimental. Se describirán las principales características generales del control biológico de bacteriosis y se mostrarán como ejemplos, dos casos de biocontrol de importantes enfermedades bacterianas causadas por *Agrobacterium tumefaciens* y *Erwinia amylovora*.

Una de las grandes ventajas del sistema bacteria contra bacteria, es que los agentes de control están dotados de propiedades similares al patógeno, entre las que cabe destacar las de fácil multiplicación y dispersión. Se trata, en realidad, de un aprovechamiento de ciertos principios como la competencia, el antagonismo o la inducción de resistencia que rigen las interacciones entre plantas y bacterias. Sin embargo, el desarrollo de agentes de control biológico de bacteriosis es complicado debido a que implica a tres sistemas vivos: la bacteria patógena, el agente de control biológico y la planta huésped, cada uno con sus peculiaridades y requisitos y que además, interaccionan mutuamente entre ellos y a su vez están afectados por las condiciones ambientales. En nuestro caso, además, la interacción puede dar lugar a la transferencia de genes entre la bacteria patógena y la utilizada para el control. Estas transferencias son especialmente frecuentes cuando la bacteria diana y la controladora poseen plásmidos transferibles y es necesario estudiar ambas a escala molecular, para prever posibles fracasos del biocontrol. Una desventaja es que, debido a que los agentes de control biológico son bacterias, su colonización y multiplicación se ve interferida por el uso de muchos productos fitosanitarios, especialmente de los antibacterianos (Montesinos y López, 1996).

## **BACTERIAS FITOPATÓGENAS**

Las bacterias fitopatógenas son procariotas y, por tanto, organismos unicelulares de pequeño tamaño, con reproducción por bipartición y capaces de causar distintos tipos de enfermedades en las plantas (López y Montesinos, 1996). La mayoría de las especies fitopatógenas pertenece a los géneros *Agrobacterium*, *Brenneria*, *Clavibacter*,

*Curtobacterium*, *Erwinia*, *Pectobacterium*, *Pseudomonas*, *Ralstonia*, *Rhizomonas*, *Rhodococcus*, *Xanthomonas*, *Xylella* y *Xylophilus*.

Estos patógenos ocasionan distintos tipos de síntomas, que dependen de la interacción entre el patógeno y el huésped, y del estado fenológico y fisiológico de la planta. Los diferentes síntomas se pueden agrupar en seis síndromes (López y Montesinos, 1996): manchas foliares o en frutos, chancros, marchitamiento de plantas, tanto leñosas como herbáceas, podredumbres blandas, hiperplasias y roñas o costras.

Entre las bacterias fitopatógenas encontramos un elevado número de patógenos facultativos, que pueden sobrevivir fuera del huésped durante mucho tiempo y que son considerados como oportunistas. Esto implica que actúan una vez dentro del huésped y que producen enfermedad únicamente cuando las condiciones son favorables, como ocurre con muchas especies de *Pseudomonas*, *Brenneria* o *Agrobacterium*.

También existe otro grupo de bacterias fitopatógenas que podríamos considerar como saprófitos facultativos, porque prefieren sus huéspedes, pero pueden vivir fuera de ellos durante cortos períodos de tiempo y causan las enfermedades económicamente más graves. Entre ellas está el fuego bacteriano de las rosáceas, causado por *E. amylovora*, o la cancrrosis de los cítricos debida a *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri*. A estos dos grupos de bacterias fitopatógenas (patógenos y saprófitos facultativos), es a los que se ha dedicado generalmente la búsqueda de agentes de biocontrol.

Un tercer grupo está formado por las denominadas bacterias limitadas al floema o al xilema, que son generalmente de difícil cultivo en laboratorio y fácil transmisión por vectores. A ellas pertenece, entre otras, *Xylella fastidiosa* causante de graves bacteriosis que afectan a la vid, cítricos, café y distintas especies frutales, ornamentales y forestales. Para ellas no se han encontrado todavía agentes eficaces de biocontrol.

Los mecanismos de poder patógeno de las bacterias fitopatógenas son muy variados, siendo los más conocidos la producción de fitohormonas, los factores de virulencia (genes *hrp*), las fitotoxinas, las exoenzimas, los sideróforos, las proteínas nucleadoras de hielo y los exopolisacáridos (Montesinos y Beltrá, 1996; Murillo y Rodríguez-Palenzuela, 1996). Actualmente se sabe que la mayoría de las bacterias fitopatógenas en su interacción con la planta no actúan a nivel unicelular, sino que muchas funciones de virulencia sólo se activan cuando el tamaño poblacional del patógeno alcanza un determinado umbral. Este umbral es reconocido por el conjunto de las bacterias de la población mediante la detección en el medio de unas señales químicas denominadas autoinductores. De esta forma, los genes responsables de la producción de los factores de virulencia están regulados por el tamaño de la población, mediante un sistema de regulación de la expresión génica conocido como autoinducción o *quorum sensing*, de manera que sólo hay producción de síntomas si

se alcanza un tamaño poblacional umbral en los tejidos infectados (Von Bodman *et al.*, 2003).

Por todo ello, los agentes de control biológico deben ser capaces de poner en marcha los mecanismos apropiados para superar aquéllos utilizados por el patógeno. En este sentido, cuando las funciones de virulencia están reguladas por *quorum sensing*, la simple disminución de las poblaciones del patógeno por debajo de ese umbral, o la destrucción de las señales químicas (autoinductores), podría implicar una importante reducción en los síntomas de la enfermedad (Molina *et al.*, 2003).

## MECANISMOS DEL CONTROL BIOLÓGICO DE BACTERIAS

Los mecanismos más utilizados por los agentes seleccionados para el control biológico de bacterias son básicamente los mismos descritos en el control biológico de hongos y que se discuten en el capítulo 6. Son muy variados, pero uno de los más frecuentes es la producción de metabolitos, capaces de actuar específicamente frente a otras bacterias o de amplio espectro, o de bacteriocinas activas frente a microorganismos de un cierto género o especie (Fravel, 1989; Keel y Haas, 2003). Otro mecanismo muy frecuente es la producción de sideróforos o compuestos quelantes de hierro, que favorecen la supervivencia de la bacteria productora en el suelo y otros ambientes (Leong, 1985). Asimismo, en distintos casos se han seleccionado microorganismos capaces de competir por espacio o por nutrientes con la bacteria patógena. En los últimos años ha aumentado la utilización de bacterias promotoras del crecimiento (*plant growth promoting rhizobacteria* o PGPR) que cumplen esta función y además pueden controlar determinadas bacterias patógenas que sobreviven en el suelo y afectan al sistema radicular (Glick y Bashan, 1997). Finalmente, uno de los mecanismos de mayor interés es la inducción de resistencia sistémica, dado que se ha demostrado que ciertas bacterias son capaces de inducirla cuando se introducen en la planta y que puede tener un espectro más o menos amplio de actuación, incluyendo patógenos de distinto tipo, como hongos, bacterias y virus (Ramanmoorthy *et al.*, 2001).

En general, se considera que los agentes de control biológico eficaces son aquellos que tienen capacidad para utilizar mecanismos múltiples de actuación. En los últimos años, los métodos de selección de nuevos agentes han cambiado, ya que se prefiere utilizar los ensayos de eficacia *in vivo* a los de antagonismo *in vitro*. No se aconseja seleccionar únicamente aquellos microorganismos productores de sustancias antagonistas, ante los riesgos de que éstas tengan toxicidad para algún tipo de organismo o para el medio ambiente, y a la posibilidad de aparición de resistencias. Además, los recientes estudios sobre la autodefensa del patógeno frente a los antagonistas (Duffy *et al.*, 2003) deben también ser tomados en consideración.

## CARACTERÍSTICAS DE LOS AGENTES DE BIOCONTROL DE BACTERIOSIS Y SU SELECCIÓN

Las principales características deseables para un agente eficaz de biocontrol de bacterias fitopatógenas son: colonizador activo del tejido a proteger y con elevada supervivencia en el mismo en distintos hábitats, eficaz competidor con el patógeno por el espacio y los nutrientes, productor *in planta* de sustancias con poder antagonista frente al patógeno, (pero sin toxicidad para humanos, animales, plantas o el medio ambiente) e inductor de resistencia local o sistémica frente al patógeno diana.

Las fuentes para la selección de bacterias capaces de ser utilizadas como agentes de biocontrol, pueden ser muy variadas. Entre ellas, se suelen utilizar el suelo, especialmente si se conocen suelos supresivos (Weller *et al.*, 2002), el agua, las raíces y la parte aérea tanto de las plantas huéspedes como de otras especies, etc. Los procedimientos de selección de un agente de biocontrol de bacterias fitopatógenas se describen en la figura 1 y consisten en seleccionar uno o varias cepas bacterianas, aislarlas e identificarlas, realizar bioensayos para evaluar su eficacia, estudiar sus mecanismos de actuación y realizar los análisis toxicológicos correspondientes, antes de su patente, optimización de la formulación, registro, comercialización, etc.

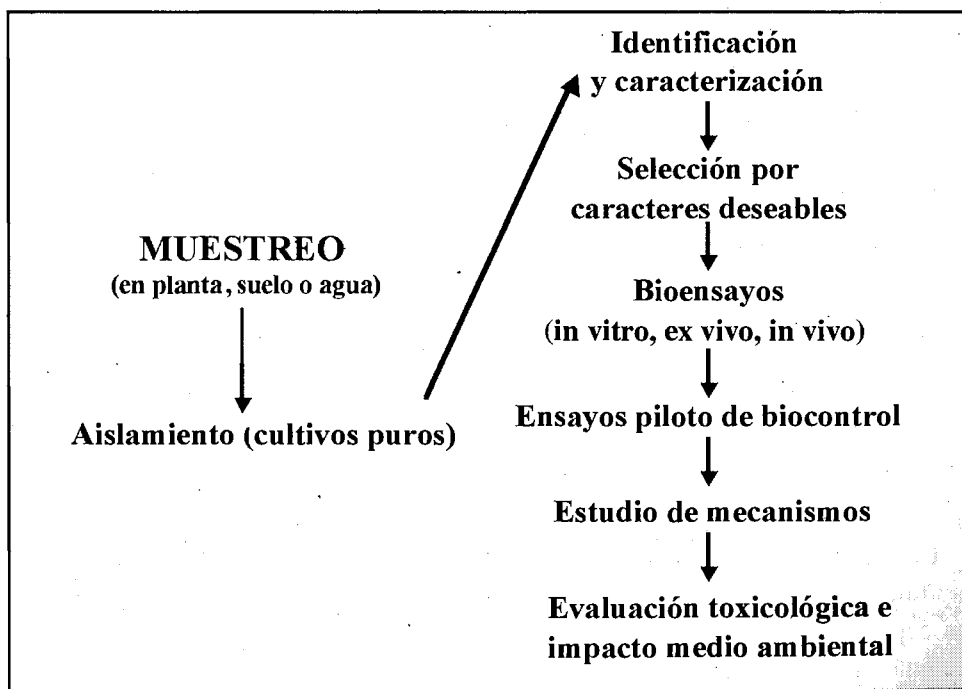


FIGURA 1. Selección de microorganismos para control biológico



Se seleccionarán preferentemente aquellas cepas que muestren mayor eficacia en los ensayos in vivo, con resultados consistentes en las distintas repeticiones, con dosis efectiva mínima baja, con mecanismos de biocontrol conocido (a ser posible sin mediación de metabolitos secundarios) y con tolerancia a otros productos fitosanitarios. Los aislados seleccionados deberán ser inoculados en ensayos realizados con la planta a proteger y en distintas condiciones, para verificar su carencia de poder patógeno y de fitotoxicidad para plantas cultivadas. También se deberá evaluar su eficacia en distintos patosistemas y condiciones ambientales, con métodos y dosis de inoculación del patógeno similares a las de las infecciones en campo o con inóculo natural.

Los estudios toxicológicos constituyen una parte importantísima de la fase final de selección, dado que serán el principal factor limitante para el registro y la comercialización del agente de biocontrol. Se requerirá que la toxicidad aguda por vía oral en rata sea superior a  $10^{11}$  ufc/kg y será necesario determinar la dosis letal media ( $DL_{50}$ ) y la dosis letal límite ( $DL_1$ ), la ausencia de irritación dérmica, ocular y por inhalación en cobaya o conejo y según los casos, se evaluará la hipersensibilidad retardada y la ausencia de producción de metabolitos secundarios tóxicos y de genotoxicidad (Montesinos, 2002).

El uso comercial de agentes de control biológico apropiados para las distintas bacteriosis de los cultivos requerirá la selección de nuevas cepas de distintas especies, con mecanismos múltiples de actuación específicos para los patógenos diana y si es posible que incluyan la inducción de resistencia sistémica. En muchos casos se requerirá el tratamiento con varios productos con actuación complementaria, previa realización de estudios que demuestren su compatibilidad en el hábitat de la planta, durante los períodos de tiempo necesarios para garantizar la estabilidad del biocontrol.

## **UTILIZACIÓN COMERCIAL Y APLICACIÓN DE LOS AGENTES DE CONTROL BIOLÓGICO**

La utilización comercial de bacterias como agentes de control biológico de bacteriosis es todavía reducida a escala general, aunque hay algunas excepciones. En la Unión Europea, no hay todavía ningún producto registrado de este tipo y los disponibles en Estados Unidos se resumen en el cuadro 1.

El modelo más conocido y que se describe con detalle en otro apartado de este capítulo, es el de la lucha biológica contra *A. tumefaciens* mediante la utilización de las cepas K84 y K1026, comercializadas en varios países. Otro modelo de más reciente comercialización, pero también muy estudiado, es el de la cepa A506 de *Pseudomonas fluorescens*, para el control de *E. amylovora*, que también se describe en otro apartado, pero que se comercializa sólo en Estados Unidos.

CUADRO 1. Agentes de control biológico autorizados en Estados Unidos para el control de enfermedades de plantas causadas por bacterias fitopatógenas<sup>(1)</sup>

Agente de biocontrol	Producto comercial	Patógeno	Huéspedes	Formulación
<i>Agrobacterium radiobacter</i> K84	Norbac 84-C Galltrol-A	<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	Frutales, rosas y otras ornamentales	Cultivos en agar, suspensiones acuosas
<i>Agrobacterium radiobacter</i> K1026	NoGall	<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	Frutales, rosas y otras ornamentales	Bacterias en turba
<i>Bacillus subtilis</i> QST713	Rhapsody y otros	<i>Streptomyces scabies</i> y otros	Patata y otros	Suspensión acuosa
<i>Pseudomonas fluorescens</i> A506	BlightBan A506 y otros	<i>Erwinia amylovora</i>	Frutales	Polvo mojable
<i>Pseudomonas fluorescens</i> 1629RS	Varios	<i>Pseudomonas syringae</i> / <i>Erwinia amylovora</i>	Frutales	Polvo mojable
<i>Pseudomonas syringae</i> 742RS	Varios	<i>Pseudomonas syringae</i> / <i>Erwinia amylovora</i>	Frutales	Polvo mojable

<sup>(1)</sup>Información recogida de la Environmental Protection Agency de los Estados Unidos (Mayo 2004) (<http://www.epa.gov/pesticides/biopesticides/ingredients/index.html>)

Los métodos de producción, formulación y aplicación de los productos biológicos deben ser optimizados en cada caso, para conseguir una mayor colonización y supervivencia de los microorganismos implicados, tanto durante el almacenamiento como después del tratamiento. Dado que la actuación de las bacterias suele ser más eficaz durante la fase logarítmica de su crecimiento, deberán favorecerse las condiciones más apropiadas para la multiplicación bacteriana.

Por ello, los productos bacterianos para control biológico son de más delicado manejo que los pesticidas tradicionales. Deben ser conservados en las condiciones adecuadas para cada uno, de manera que no disminuyan las poblaciones bacterianas y éstas se encuentren en el estado apropiado para desarrollar todos sus mecanismos de actuación, una vez en contacto con el huésped. Asimismo, la compatibilidad con otros tratamientos del cultivo debe ser estudiada previamente, para evitar casos de incompatibilidad.

La tendencia actual es tratar los agentes de control biológico con los mismos criterios que los pesticidas tradicionales, pero existen importantes diferencias respecto a los momentos de aplicación, a los efectos de las condiciones ambientales en la eficacia del tratamiento y al manejo y almacenamiento de los productos. La más importante se refiere a los momentos de aplicación, ya que los agentes de biocontrol no suelen tener eficacia curativa, por lo que sólo deben ser aplicados para prevenir los

ataques bacterianos, es decir, antes de la infección. Recientemente se considera, que al igual que con los pesticidas, en muchos casos, no será suficiente realizar una sola aplicación del producto biológico sino que pueden ser necesarios varios tratamientos para lograr el nivel de control deseado y/o en formulaciones mezcladas con otros productos de control.

El aspecto comercial supone un freno a las expectativas de desarrollo del control biológico, debido a los costes de patente y registros de nuevos productos, especialmente en la Unión Europea. El apoyo social y político a la reducción en el uso de los pesticidas tradicionales debería ir acompañado de unas mayores inversiones públicas y privadas en la investigación para la puesta a punto de nuevos productos eficaces y cuyo impacto real sobre el medio ambiente sea evaluado en distintas condiciones.

En la actualidad, en la Unión Europea sólo hay dos productos biológicos para el control de patógenos registrados para su uso comercial, y hay nueve solicitudes en fase de registro. Dos bacterias (*Pseudomonas chlororaphis* MA342 como biofungicida y *Bacillus subtilis* QST713 como biofungicida y contra algunas bacteriosis de hortalizas), cinco hongos (un insecticida y cuatro fungicidas) y dos virus (insecticidas) (Montesinos, 2002 y 2003)

### **CONTROL BIOLÓGICO DE *Erwinia amylovora***

El control biológico del agente causal del fuego bacteriano de las rosáceas se ha seleccionado como un ejemplo de los métodos a utilizar para luchar contra una bacteria que vive y afecta a la parte aérea de las plantas (Van der Zweet y Beer, 1994). Distintos métodos han sido ensayados por varios autores, pero en los últimos años algunos de ellos ya se han integrado en las prácticas del control integrado de la enfermedad en ciertas zonas de Estados Unidos (Johnson y Stockwell, 2000).

*Erwinia amylovora* es la bacteria fitopatógena responsable del fuego bacteriano de las rosáceas (figura 2), considerada como la enfermedad más grave que puede afectar al peral, manzano, níspero y a otras rosáceas ornamentales (Van der Zweet y Beer, 1994). Esta bacteriosis está presente en Norteamérica y en la mayoría de los países europeos, y está considerada como una bacteria de cuarentena en la Unión Europea. Sin embargo, aunque en España fue detectada en 1995, las drásticas medidas de erradicación tomadas en la mayoría de los focos detectados desde entonces han logrado contener, al menos de momento, la diseminación generalizada de la enfermedad (López *et al.*, 2002).

Los métodos de control químico de la enfermedad se basan en la utilización de antibióticos (estreptomycin y oxitetraciclina), no autorizados en la Unión Europea, salvo excepciones y frente a los que se han detectado resistencia en distintos casos

(Jones y Schnabel, 1998). Dado que no existen variedades resistentes de interés comercial y que las medidas profilácticas son necesarias, pero no suficientes, la lucha biológica presenta un gran interés potencial para ser utilizada en un control integrado de esta bacteriosis.

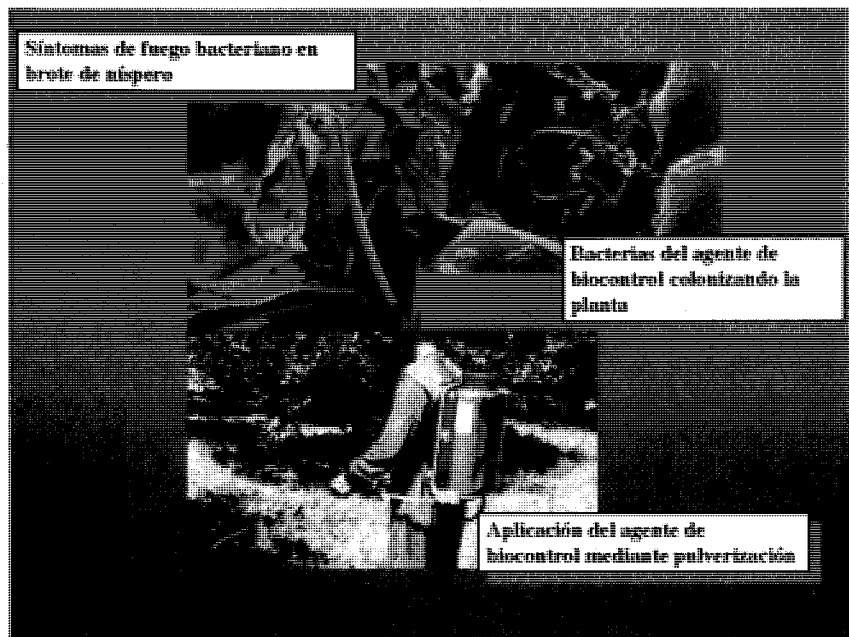


FIGURA 2. Control biológico de *Erwinia amylovora*

En este modelo la selección de agentes de biocontrol con buena eficacia se ha basado en el estudio de las interacciones entre las poblaciones del patógeno y de las bacterias seleccionadas, especialmente en los estigmas (Beer *et al.*, 1984) y en ensayos in vivo o ex vivo (Cabrefiga *et al.*, 2002). Se han escogido los pistilos porque juegan un papel fundamental en el ciclo biológico de la bacteria y proporcionan el inóculo para las infecciones secundarias. En ellos, las poblaciones de los agentes de biocontrol tienen que ser capaces de suprimir el establecimiento de las poblaciones del patógeno mediante distintos mecanismos (Johnson *et al.*, 1993, Wilson y Lindow, 1993). La colonización de los estigmas por el agente de biocontrol debe ser muy eficaz y su población debe alcanzar  $10^5$ - $10^6$  ufc/Flor, para poder controlar el patógeno. Como los estigmas son ricos en nutrientes, resultan apropiados para que en ellos sobrevivan las bacterias durante un período de alrededor de una semana, necesario para impedir la infección por *E. amylovora*.

Se ha utilizado generalmente la inoculación previa de bacterias epífitas y colonizadoras eficientes, que utilizan mecanismos de exclusión competitiva o antagonismo debido a la producción de antibióticos. Se han ensayado cepas de *P. fluorescens*, principalmente competidoras y de *Pantoea agglomerans* (*Erwinia herbicola*), productoras de antibióticos. Los mecanismos de efectividad de las cepas de *P. agglomerans* agentes de control residen en la producción de antibióticos antibacterianos y antifúngicos de amplio espectro (Ishimaru *et al.*, 1988) y en la colonización efectiva de los estigmas de la flor, que es por donde se inician las infecciones. En cambio, en los ensayos con aislados de *P. fluorescens*, no parece ser importante la antibiosis contra *E. amylovora* y el mecanismo de control que parece operar es el de exclusión competitiva, fundamentado en una preutilización de los recursos nutricionales disponibles en el pistilo y nectarios de la flor (Johnson y Stockwell, 2000).

### **Control biológico con las cepas A506 y C9-1**

La cepa A506 de *P. fluorescens* ha sido objeto de numerosos ensayos de control del fuego bacteriano en Estados Unidos y existe una licencia de la Environmental Protection Agency (EPA) que permite su utilización. Esta cepa está comercializada desde 1996 en Estados Unidos como BlightBan A506 por Plant Health Technologies, Boise, Idaho. Fue aislada de peral en California y se ha mostrado eficaz en dicho estado y en Oregon y Washington (Johnson y Stockwell, 2000). Además, también es capaz de disminuir los daños por heladas debidos a las cepas productoras de núcleos de condensación de hielo de *Pseudomonas syringae* (Lindow, 1992; Lindow *et al.*, 1996) y las lesiones en lenticelas de las peras causadas por otras bacterias epífitas. Se trata de un agente que coloniza eficazmente las flores con las poblaciones requeridas (figura 2) y se ha observado la correlación inversa entre el porcentaje de flores colonizadas por la cepa A506 y el porcentaje de flores con síntomas (Johnson *et al.*, 1993).

La cepa C9-1 de *P. agglomerans* fue aislada de manzano en Michigan y se ha ensayado con éxito en Oregon y Washington, pero todavía no ha sido autorizada por la EPA para ser comercializada. Otras cepas de la misma especie, como Eh 252 (Vanneste *et al.*, 1992), Eh 1087 (Kearns y Hale, 1996) o Eh 325 (Pusey, 1997) han demostrado su eficacia en distintos ensayos y su efectividad en la producción de antibióticos inhibidores de *E. amylovora* y/o en la competencia por nutrientes y por espacio (Johnson y Stockwell, 2000), pero no son utilizadas a escala comercial.

La eficacia de la cepa A506 y de algunas de las cepas *P. agglomerans* y *E. herbicola* más ensayadas se muestran en el cuadro 2, pero el nivel de control logrado es, generalmente, inferior al de la estreptomycin, que es el antibiótico más utilizado frente a esta enfermedad en Estados Unidos y otros países.

Se observa que la eficacia media de los distintos agentes de biocontrol oscila entre el 40 y el 83%, lo que sugiere que el control biológico de *E. amylovora* debe

ser complementado con métodos profilácticos, genéticos, químicos y culturales, para lograr la mayor eficacia.

CUADRO 2. Eficacia media del biocontrol de *Erwinia amylovora* en flores<sup>(1)</sup>

Cepa biocontrol	Producto comercial	Huésped media	% Eficacia	Referencia
<i>Pantoea agglomerans</i> Eh1087		Manzano	70 – 80	Kearns y Hale, 1996
<i>Pseudomonas fluorescens</i> A-506	BlightBan A-506	Peral	40 – 60	Lindow <i>et al.</i> , 1996
<i>Pantoea agglomerans</i> C9-1		Peral	50 - 80	Ishimaru <i>et al.</i> , 1988
<i>Pantoea agglomerans</i> EH252		Peral	55	Stockwell <i>et al.</i> , 2002
<i>Pantoea agglomerans</i> Eh325		Manzano	73 -79	Pusey, 2002

<sup>(1)</sup>Modificado de Cabrefiga *et al.*, 2002.

La necesidad de evaluar la eficacia en flores de las distintas cepas ha hecho desarrollar métodos de obtención de gran cantidad de este material para los ensayos en laboratorio (Pusey, 1997), pero los ensayos definitivos son los que se realizan en condiciones de campo. Se ha evaluado la dinámica de las poblaciones del patógeno y de los antagonistas individuales y de mezclas de los mismos. Ello es debido a que se ha observado cierta inconsistencia en los resultados obtenidos con algunas cepas, que se ha atribuido a la baja colonización de los estigmas por antagonistas individuales y se supone que el problema se resolvería estableciendo «comunidades de antagonistas» (Johnson y Stockwell, 2000). Especialmente interesante podría ser la combinación de cepas de *P. fluorescens* A508 y *P. agglomerans* Eh C9-1, ya que tienen mecanismos complementarios de actuación y difieren en su tolerancia a la desecación y a los rayos UV, sus temperaturas máximas de crecimiento en cultivo y su capacidad para utilizar fuentes de C y de N. Sin embargo, su uso combinado no ha conseguido mayor eficacia que el individual, por motivos aún desconocidos.

Se ha propuesto que la distribución y establecimiento de los antagonistas en las flores de las plantaciones de peral y manzano podrían realizarse mediante el empleo de abejas, colocando un distribuidor de inóculo bacteriano a la entrada de la colmena. El inóculo bacteriano podía estar liofilizado o consistir en una mezcla de polen y bacterias desecado (Thomson *et al.*, 1992; Vanneste, 1996). Sin embargo, no parece evidente que la distribución de los agentes de biocontrol por este método lograra aumentar significativamente su eficacia en el control de las infecciones primarias, aunque sí en las secundarias (Johnson y Stockwell, 2000).

También se ha abordado en Estados Unidos la compatibilidad de los agentes de biocontrol con los tratamientos antibióticos habituales, (stockwell *et al.*, 1996) para integrar el nuevo método de control en las estrategias convencionales de control químico. Se recomienda realizar dos tratamientos, con la cepa A506 sola o mezclada con un mutante de Eh C9-1 resistente a la estreptomicina, entre el 25 y el 90% de la floración, para obtener un control del 50-60%. Ambos tratamientos pueden ser combinados con la estreptomicina, pero no con la oxitetraciclina (Johnson y Stockwell, 2000). Su utilización a escala comercial no está todavía muy extendida, ya que su eficacia no ha sido elevada en algunos casos.

### CONTROL BIOLÓGICO DE *Agrobacterium tumefaciens*

El control biológico de *A. tumefaciens* es el mejor ejemplo de un modelo eficaz de biocontrol, que se realiza en el sistema radicular de las plantas y que ha mantenido su vigencia durante más de 30 años.

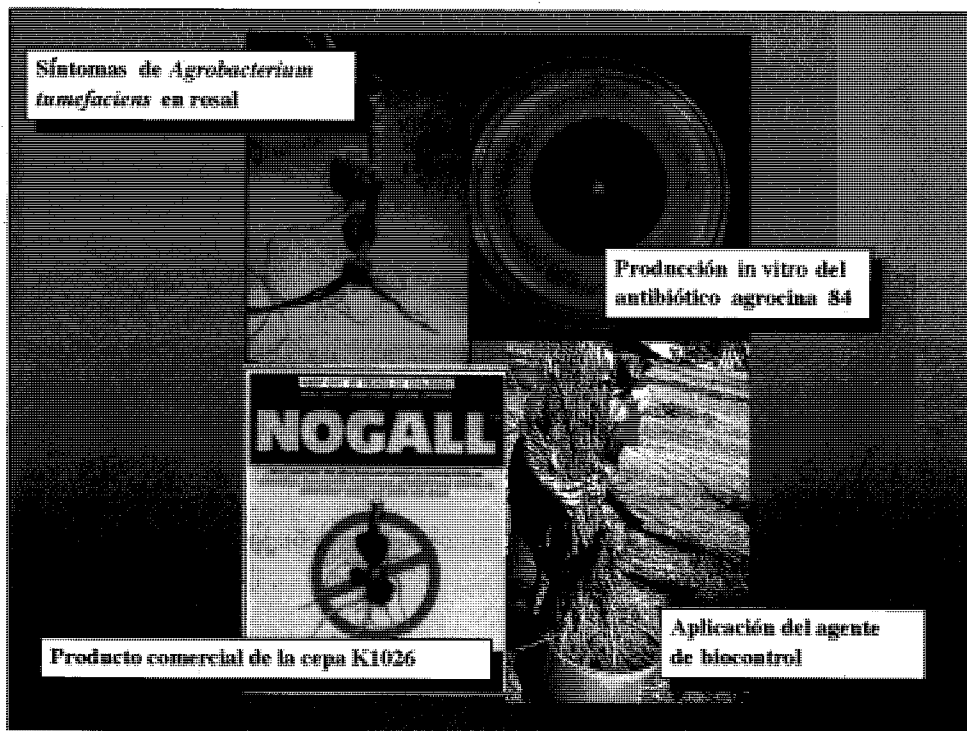


FIGURA 3. Control biológico de *Agrobacterium tumefaciens* mediante la utilización de la cepa de control K1026

*Agrobacterium tumefaciens* es la bacteria fitopatógena causante de tumores en cuello, raíces, y a veces en la parte aérea, de gran número de plantas cultivadas (figura 3). Esta enfermedad, denominada en inglés *crown gall*, se encuentra distribuida por los cinco continentes y posee uno de los espectros más amplios de plantas hospedadoras de la patología vegetal; pues es capaz de producir tumores en 643 especies de 331 géneros vegetales (De Cleene y Deley, 1976). En España, los patrones frutales más afectados son los híbridos melocotonero x almendro y los de manzano, melocotonero, almendro, cerezo y peral. Otras especies como nogal, vid, rosál, sauce y chopo también son frecuentemente afectadas (López *et al.*, 1994; López *et al.*, 2000).

### Control biológico con las cepas K84 y K1026

Las medidas preventivas de control de *A. tumefaciens*, tales como la disminución de fuentes de inóculo, la desinfección del suelo y la utilización de material vegetal no contaminado, son fundamentales pero no son suficientes en la mayoría de los casos (López *et al.*, 1994). Además, la lucha química contra esta bacteria se ha mostrado prácticamente ineficaz, a pesar de los numerosos ensayos realizados con distintos productos (López *et al.*, 1994). La utilización de la cepa K84 de *Agrobacterium* sp., no patógena, como agente de control biológico de esta enfermedad, se ha mostrado como un método muy eficaz de control de la misma. Esta cepa fue seleccionada en Australia en 1972, porque cuando se coinoculó en proporción 1:1 con una cepa patógena en las raíces de plantas, impidió totalmente la aparición de tumores (Kerr 1972; New y Kerr, 1972).

En la cepa K84, el plásmido pAgK84 codifica la síntesis de un antibiótico altamente específico, la agrocina 84, que inhibe el crecimiento de algunas cepas patógenas de *A. tumefaciens* y bloquea su unión a las células del huésped, (Ellis *et al.*, 1979; Smith y Hindlay, 1978) (figura 3). Este plásmido también codifica la resistencia a dicho antibiótico (Ryder *et al.*, 1987). Las cepas patógenas de *A. tumefaciens* pueden ser sensibles o resistentes *in vitro* a la agrocina 84. En las primeras fases de utilización del método se observó una correlación entre la sensibilidad de las cepas de *A. tumefaciens* a la agrocina 84 *in vitro* y el control biológico de las mismas por la cepa K84. Por ello, se afirmó que el control biológico se realizaba gracias a la producción del antibiótico (Kerr y Htay, 1974) y actualmente se sabe que la producción de la agrocina 84 es el principal factor de la eficacia de la cepa K84. Sin embargo, los éxitos obtenidos con la cepa K84 en suelos o plantas inoculadas con cepas resistentes al antibiótico, muestran que el control biológico es más complejo de lo que inicialmente se suponía y que otros mecanismos deben actuar *in vivo* (Penyalver *et al.* 2000).

La cepa K84 ha mostrado una gran eficacia en ensayos realizados en más de 12 países de los cinco continentes y en más de 20 huéspedes durante los últimos 30



años (López *et al.*, 1994; Penyalver *et al.*, 2000). En distintos ensayos se ha demostrado que K84 puede utilizarse para tratar semillas, raíces, esquejes, estaquillas, cicatrices foliares, injertos y plantas enteras (figura 3), ya que se obtienen buenos resultados en la mayoría de los casos. Generalmente, el tratamiento aconsejado es la inmersión de las semillas o estaquillas, inmediatamente antes de la plantación, en una suspensión acuosa de la cepa K84, o bien la pulverización de las plantas. La cepa K84 se ha mostrado eficaz en distintas especies vegetales, pero este método de control biológico no debe ser utilizado en vid, ni manzano, por su ineficacia en estos huéspedes.

Hasta ahora, el mayor problema potencial en la utilización de este sistema de control biológico con la cepa K84 residía en la posibilidad de transmisión de plásmidos entre la cepa K84 y los distintos *A. tumefaciens* patógenos del suelo, lo que conllevó la aparición de nuevas cepas patógenas, no controlables por la cepa K84 (Vicedo *et al.*, 1993) y que se aislaron en distintos ensayos. Actualmente, se dispone de una cepa K84 modificada, denominada K1026, que es incapaz de transferir el plásmido pAgK84 a cepas patógenas y sigue siendo tan eficaz como su cepa parental K84 en el control de la enfermedad (Penyalver *et al.*, 2000).

Los ensayos de eficacia comparada entre K84 y K1026 han demostrado en todos los casos una similar eficacia de K1026 en campo (Penyalver *et al.*, 2000), como se muestra en el cuadro 3.

CUADRO 3. Eficacia media comparada de los agentes de control biológico K84 y K1026 contra *Agrobacterium tumefaciens*

País	Huésped	% Eficacia media K84	% Eficacia media K1026	Referencia
España	Híbrido melocotonero x almendro GF677	95	97	Penyalver <i>et al.</i> , 2000
	Cerezo	84	90	
Túnez	Almendro	97	97	A. Boubaker, comunicación personal
Marruecos	Almendro	100	95	A. Benjama, comunicación personal
Estados Unidos	Manzano	71	100	L. Moore, comunicación personal
	Híbrido albaricoquero x melocotonero	94	100	
	Peral	90	100	
	<i>Prunus tomentosa</i>	100	100	
	Nogal	100	100	
Australia	Almendro	83	74	Jones y Kerr, 1989
China	Cerezo		70	Wang <i>et al.</i> , 2000

## Producción, comercialización y toxicidad

La cepa K1026 fue registrada como biopesticida en Australia en 1989 y comercializada con el nombre comercial de Nogall® por Bio-Care Technology Pty. Ltd., Somersby, Australia (figura 3). La formulación de este producto es a base de turba y contiene un mínimo de 10<sup>9</sup> bacterias por gramo y con un período de caducidad de seis meses. En 2000 fue registrada también en Estados Unidos y está en vías de registro en la Unión Europea.

El tratamiento con K1026 no tiene ninguna dificultad de aplicación y está perfectamente integrado entre los tratamientos normales de plantación de las distintas especies (Figura 3). La información disponible apoya el registro de la cepa K1026 para el control biológico de *A. tumefaciens* en los países de la Unión Europea. Además, debido a sus ventajas sobre la cepa K84, debería ser usada en lugar de dicha cepa, para un control más efectivo y duradero de *A. tumefaciens*. Mientras no se disponga de productos bactericidas más eficientes o de patrones resistentes, la lucha biológica contra *A. tumefaciens* utilizando la cepa modificada genéticamente K1026, parece el método más aconsejable por su sencillez y eficacia. Sin embargo, no hay que olvidar que la lucha contra esta bacteriosis debe ser abordada en un programa integrado que incluya métodos profilácticos junto a los biológicos.

Los estudios de toxicidad previos a la utilización comercial de la cepa K84 en varios países demostraron su inocuidad para plantas, animales y humanos (Moore y Warren, 1979). Su manejo y aplicación no supone ningún riesgo para la salud de los aplicadores y no produce irritación en la piel, ojos, nariz, etc. El tratamiento no supone riesgos para el medio ambiente, ya que simplemente se incorporan a las raíces mayores poblaciones de una cepa no patógena aislada del suelo. En el caso de la cepa K1026, se pueden aplicar los mismos argumentos, ya que únicamente se distingue de su cepa parental K84 en que está desprovista de los genes *tra* del pAgK84, lo que impide su transferencia por conjugación, pero no lleva ninguna información genética foránea. Además, ambas cepas son incapaces de crecer a 37°C y la agrocinina 84 producida por ellas únicamente afecta a cepas de *Agrobacterium* spp, mientras que otras especies bacterianas no son afectadas.

También cabe destacar que durante la utilización comercial de la cepa K84 desde 1972 y de la cepa K1026 desde 1989, no se ha detectado ningún problema con la salud humana ni con el medio ambiente.

## CONCLUSIONES

El control biológico de bacterias fitopatógenas es todavía un método más potencial que real, (si excluimos el caso de *A. tumefaciens*) dada la escasa cantidad de

productos utilizados en la práctica y el bajo número de organismos registrados a nivel mundial. Existe, sin embargo, una demanda política y social de nuevos agentes de biocontrol, pero con eficacia estable en distintas condiciones y cultivos. Ello implica que sean capaces de utilizar mecanismos múltiples, pero específicos, de manera que su impacto sobre la microbiota y el medio ambiente sea mínimo. Deberán además ser inocuos para plantas, animales y seres humanos y compatibles con los tratamientos químicos habituales. Ello exigirá un gran esfuerzo en investigación y en la selección de nuevas cepas que cumplan las exigencias actuales, ya que muchos de los microorganismos seleccionados en el pasado no tienen la alta eficacia y baja toxicidad requeridas en la actualidad.

La integración de varios agentes en un sistema múltiple de biocontrol, apropiado para proteger frente a varios patógenos es un ideal que se debería poder conseguir. De esta forma, se crearían comunidades bacterianas vivas y activas capaces de atacar al patógeno en múltiples frentes y estimular las defensas de la planta. Es necesario recordar que los cultivos constituyen ecosistemas cuya estabilidad depende de la diversidad de sus miembros (Mahaffee, 2001) y análogamente el uso de múltiples agentes de biocontrol puede colaborar a dicha estabilidad. Además, será necesario estudiar el comportamiento de las comunidades bacterianas, de las cuales los agentes de biocontrol son sólo una parte, para poderlas manipular en beneficio de la eficacia del control de los patógenos.

La lucha contra bacteriosis requiere un planteamiento integrado que incluya todo tipo de medidas preventivas, genéticas, culturales, químicas que disminuyan el nivel de inóculo presente y/o la receptividad de la planta al ataque bacteriano, y permitan el cultivo en las condiciones menos favorables para la enfermedad (López y Montesinos, 1996). En este contexto, el control biológico debe integrarse como un método más que contribuya a una menor incidencia de las distintas bacteriosis.

Por ello, incluso en aquellos casos como en el control de *A. tumefaciens* en los que se dispone de un método eficaz de control biológico, la lucha debe ser abordada en un contexto que incluya métodos profilácticos junto con biológicos y el uso de patrones o especies poco susceptibles a la enfermedad. Sólo de esta forma se incrementa la eficacia del control al disminuir el inóculo potencial y aumentar la resistencia del huésped.

## **AGRADECIMIENTOS**

Se agradecen las comunicaciones personales de A. Boubaker, A. Benjama y L. Moore y a todos los miembros del equipo, especialmente a J. Piquer y C. I. Salcedo, sus contribuciones. R. Peñalver tiene un contrato del Ministerio de Ciencia y Tecnología para la incorporación de investigadores al sistema español de Ciencia y Tecnología (Programa Ramón y Cajal). Se agradece la financiación de los proyectos AGL 2004-07799-C03-02-AGR y RTA04-109 del Ministerio de Educación y Ciencias.

## BIBLIOGRAFÍA

- ANDERSEN, G. L.; MENKISOGLU, O. y LINDOW, S. E. (1991). Occurrence and properties of copper-resistant strains of *Pseudomonas syringae* isolated from fruit trees in California. *Phytopathology*, 81:345-53.
- ANDREWS, J. H. (1992). Biological control in the phyllosphere. *Annual Review of Phytopathology*, 30: 603-635.
- BALDWIN, B. C. y RATHMELL, W. G. (1988). Evolution of concepts for chemical control of plant disease. *Annual Review of Phytopathology*, 26: 265-83.
- BEER, S. V.; RUNDLE, J. R. y NORELL, J. L. (1984). Recent progress in the development of biological control for fire blight. *Acta Horticulturae*, 151: 195-092.
- CABREFIGA, J.; BONATERRA, A. y MONTESINOS, E. (2002). Prospección, selección y ensayos de control biológico del fuego bacteriano mediante bacterias antagonistas. *Phytoma España*, 144: 95-98.
- COOK, R. J. y BAKER, K. F. (1983). *The nature and practice of biological control of plant pathogens*. APS Press. Saint Paul (EUA), 539 pp.
- COOKSEY, D. A. (1990). Genetics of bactericide resistance in plant pathogenic bacteria. *Annual Review of Phytopathology*, 28: 201-219.
- DE CLEENE, M. y DELEY, J. (1976). The host range of crown gall. *Botanical Gazette*, 42: 389-466.
- DUFFY B.; SCHOUTEN, A. y RAAIJMAKERS, J. (2003). Pathogen self-defense: mechanisms to counteract microbial antagonism. *Annual Review of Phytopathology*, 41: 501-538.
- ELLIS, J. G.; KERR, A.; VAN MONTAGU, M. y SCHELL, J. (1979). *Agrobacterium* genetic studies on agrocin 84 production and the biological control of crown gall. *Physiological Plant Pathology*, 15: 311-319.
- FRAVEL, D. R. (1989). Role of antibiosis in the biocontrol of plant diseases. *Annual Review of Phytopathology*, 26: 75-91.
- GLICK, B. R. y BASHAN, Y. (1997). Genetic manipulation of plant growth-promoting bacteria to enhance biocontrol of phytopathogens. *Biotechnology Advances*, 15: 353-378.
- ISHIMARU, C. A.; KLOS, E. J. y BRUBAKER, R. R. (1988). Multiple antibiotic production by *Erwinia herbicola*. *Phytopathology*, 78 (6): 746-750.
- JOHNSON, K. B. y STOCKWELL, V. O. (2000). Biological control of fire blight. En: *Fire blight. The disease and its causative agent, Erwinia amylovora*. Coord. VANNESTE, J. L. 319-329 pp. CABI Publishing. Wallingford (Reino Unido).

- JOHNSON, K. B.; STOCKWELL, V. O.; BURGETT, D. M.; SUGAR, D. y LOPER, J. L. (1993). Dispersal of *Erwinia amylovora* and *Pseudomonas fluorescens* by honeybees from hives to apple and pear blossoms. *Phytopathology*, 83: 479-484.
- JONES, D. A. y KERR, A. (1989). *Agrobacterium radiobacter* K1026 a genetically engineered derivative of strain K84, for biological control of crown gall. *Plant Disease*, 73: 15-18.
- JONES, A. L. y SCHNABEL, E. L. (1998). Streptomycin and oxytetracycline resistance determinants detected among bacteria from Michigan apple orchards and their potential importance. *Acta Horticulturae*, 489: 673.
- KEARNS, L. P. y HALE, C. N. (1996). Partial characterization of an inhibitory strain of *Erwinia herbicola* with potential as a biocontrol agent for *Erwinia amylovora*, the fire blight pathogen. *Journal of Applied Bacteriology*, 81: 369-374.
- KEEL, E. y HAAS D. (2003). Regulation of antibiotic production in *Pseudomonas* spp. and implication for biological control of plant diseases. *Annual Review of Phytopathology*, 41: 117-154.
- KERR, A. (1972). Biological control of crown gall: seed inoculation. *Journal of Applied Bacteriology*, 35: 493-497.
- KERR, A. y HTAY (1974). Biological control of crown gall through bacteriocin production. *Physiological Plant Pathology*, 4: 37-44.
- LEONG, J. (1985). Siderophores: their biochemistry and possible role in the biocontrol of plant pathogens. *Annual Review of Phytopathology*, 24: 187-209.
- LINDOW, S. E. (1992). Integrated control of frost injury, fire blight and fruit russet of pear with a blossom application of an antagonistic bacterium. *Phytopathology*, 82: 1129.
- LINDOW, S. E.; MCGOURTY, G. y ELKINS, R. (1996). Interactions of antibiotic with *Pseudomonas fluorescens* A506 in the control of fire blight and frost injury of pear. *Phytopathology*, 96: 841-848.
- LÓPEZ, M. M.; CUBERO, J.; LLOP, P.; PEÑALVER, R. y VICEDO, B. (2000). Tumores bacterianos de los frutales de hueso y pepita. En: *Enfermedades de los frutales de pepita y de hueso*. Coord. MONTESINOS, E.; MELGAREJO, P.; CAMBRA, M. A. y PINOCHET, J. 45-47 pp. Mundi-Prensa. Madrid (España).
- LÓPEZ, M. M.; LLOP, P.; DONAT, V.; PEÑALVER, J.; RICO, A.; ORITZ, A.; MURILLO, J.; LLORENTE, I.; BADOSA, E. y MONTESINOS, E. (2002). Chronicle of a disease foretold (that advances slowly): the 2001 Spanish situation. *Acta Horticulturae*, 590: 35-38.

- LÓPEZ, M. M. y MONTESINOS, E. (1996). Enfermedades causadas por bacterias fitopatógenas. En: *Patología Vegetal*. coord. LLÁCER, G.; LÓPEZ, M. M.; TRAPERO, A. y BELLO, A. 515-558 pp. SEF y Phytoma España. Valencia (España).
- LÓPEZ, M. M.; PEÑALVER, R.; PIQUER, J. y VICEDO, B. (1994). Tumores en cuello y raíces de frutales causados por *Agrobacterium tumefaciens*: epidemiología y control. *Fruticultura Profesional*, 67: 11-33.
- MAHAFFEE, W. F. (2001). Biological control of woody ornamental diseases. En: *Diseases of woody ornamentals and trees in nurseries*. Coord. JONES, R. K. y BENSON, D. M. 435-441 pp. APS Press. Saint Paul (EUA).
- MOLINA, L., CONSTANTINESCU, F., MICHEL, L., REIMMANN, C., DUFFY, B. y DÉFAGO, G. (2003). Degradation of pathogen quorum-sensing molecules by soil bacteria: a preventive and curative biological control mechanism. *FEMS Microbiology Ecology*, 45: 71-81.
- MONTESINOS, E. (2002). Desarrollo de aplicaciones y protección legal de microorganismos para el control biológico de enfermedades y plagas. *Phytoma España*, 144: 6-12.
- MONTESINOS, E. (2003). Development, registration and commercialization of microbial pesticides for plant protection. *International Microbiology*, 6: 245-252.
- MONTESINOS, E. y BELTRÁ, R. (1996). Las bacterias fitopatógenas. En: *Patología Vegetal*. coord. LLÁCER, G.; LÓPEZ, M. M.; TRAPERO, A. y BELLO, A. 491-513 pp. SEF y Phytoma España. Valencia (España).
- MONTESINOS, E. y LÓPEZ M. M. (1996). Métodos de control de las bacteriosis. En: *Patología Vegetal*. coord. LLÁCER, G.; LÓPEZ, M. M.; TRAPERO, A. y BELLO, A. 653-678 pp. SEF y Phytoma España. Valencia (España).
- MOORE, L. W. y WARREN, G. (1979). *Agrobacterium radiobacter* strain 84 and biological control of crown gall. *Annual Review of Phytopathology*, 17: 163-179.
- MURILLO, J. y RODRÍGUEZ-PALENZUELA, P. (1996). Biología molecular de las interacciones entre plantas y bacterias fitopatógenas. En: *Patología Vegetal*. Coord. LLÁCER, G.; LÓPEZ, M. M.; TRAPERO, A. y BELLO, A. 559-586 pp. SEF y Phytoma España. Valencia (España).
- NEW, P. B. y KERR, A. (1972). Biological control of crown gall: field measurements and glasshouse experiments. *Journal of Applied Bacteriology*, 35: 279-287.
- PENYALVER, R.; VICEDO, B. y LÓPEZ, M. M. (2000). Use of the genetically engineered *Agrobacterium* strain K1026 for biological control of crown gall. *European Journal of Plant Pathology*, 106: 801-810.

- PUSEY, P. L. (1997). Crab apple blossoms as a model system for fire blight biocontrol research. *Phytopathology*, 87: 1096-1102.
- PUSEY, P. L. (2002). Biological control agents for fire blight of apple compared under conditions limiting natural dispersal. *Plant disease*, 86: 639-644.
- RAMANMOORTHY, V.; VISWANATHAN, R.; RAGUCHANDER, T.; PRAKASAM, V. y SAMIYAPPAN, R. (2001). Induction of systemic resistance by plant growth promoting rhizobacteria in crop plants against pests and diseases. *Crop protection*, 20: 1-11.
- RYDER, M. H.; SLOTA, J. E.; SCARIM, A. y FARRAND, S. K. (1987). Genetic analysis of agrocin 84 production and immunity in *Agrobacterium* spp. *Journal of Bacteriology*, 169: 4184-4189.
- SMITH, V. A. y HINDLAY, J. (1978). Effect of agrocin 84 on attachment of *Agrobacterium tumefaciens* to cultured tobacco cells. *Nature*, 276: 498-500.
- STOCKWELL, V. O.; JOHNSON, K. B.; LOPER, J. E. (1996). Compatibility of bacterial antagonists of *Erwinia amylovora* with antibiotics used to control fire blight. *Phytopathology*, 86: 834-840.
- STOCKWELL, V. O.; JOHNSON, K. B.; SUGAR, D.; LOPER, J. E. (2002). Antibiosis contributes to biological control of fire blight by *Pantoea agglomerans* strain Eh252 in orchards. *Phytopathology*, 92: 1202-1209.
- THOMSON, S. V.; HANSES, D. R.; FLINT, K. M. and VANDENBERG, J. D. (1992). Dissemination of bacteria antagonistic to *Erwinia amylovora* by honey bees. *Plant Disease*, 76: 1052-1056.
- VAN DER ZWEET, T. y BEER, S. V. (1994). *Fire blight. Its nature, prevention, and control: A practical guide to integrated disease management*. U.S. Department of Agriculture Information Bulletin No. 631. EUA, 83 pp.
- VANNESTE, J. L. (1996). Honey bees and epiphytic bacteria to control fire blight, a bacterial disease of apple and pears. *Biocontrol News and Information*, 17: 67-78.
- VANNESTE, J. L.; YU, J. y BEER, S. V. (1992). Role of antibiotic production by *Erwinia herbicola* Eh252 in biological control of *Erwinia amylovora*. *Journal of Bacteriology*, 174: 2785-2796.
- VICEDO, B., PEÑALVER, R.; ASINS, M. J. y LÓPEZ, M. M. (1993). Biological control of *Agrobacterium tumefaciens*, colonization, and pAgK84 transfer with *Agrobacterium radiobacter* K84 and the Tra- mutant strain K1026. *Applied Environmental and Microbiology*, 59: 309-315.
- VON BODMAN, S. B.; BAUER, W. D. y COPLIN, D. L. (2003). Quorum sensing in plant-pathogenic bacteria. *Annual Review of Phytopathology*, 41: 455-482.

- WANG, H. Y.; WANG, H. M.; WANG, J. H. y Ng, T. (2000). The pathogen of crown gall disease on flowering cherry and its sensitivity to strain K1026. *European Journal of Plant Pathology*, 106: 475-479.
- WELLER, D. M.; RAAIJMAKER, J. M.; MCSPADDEN, B. B. y THOMASHOW, L. S. (2002). Microbial populations responsible for specific soil suppressiveness to plant pathogens. *Annual Review of Phytopathology*, 40: 309-348.
- WILSON, M. y LINDOW, S. E. (1993). Interaction between the biological control agent *Pseudomonas fluorescens* strain A506 and *Erwinia amylovora* in pear blossoms. *Phytopathology*, 83: 117-123.





# CONTROL BIOLÓGICO DE NEMATODOS FITOPARÁSITOS

SOLEDAD VERDEJO LUCAS

Departamento de Protección Vegetal,  
Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentàries,  
Carretera de Cabrils - s/n, 08348 – Cabrils (Barcelona)

soledad.verdejo@irta.es

Los nematodos fitopatógenos son parásitos obligados que causan daños a los cultivos y pérdidas de producción dependiendo principalmente de los niveles poblacionales del nematodo al inicio del cultivo, la susceptibilidad del mismo, la intensidad con que se realizan y de la temperatura del suelo. En general, los síntomas que producen son inespecíficos y similares a los que ocasionan otras enfermedades del suelo o deficiencias nutricionales. Estos síntomas se manifiestan por un retraso en el crecimiento inicial, clorosis, menor vigor, menor tamaño de los frutos y senescencia precoz. Por ello, es necesario realizar análisis nematológicos para identificar la etiología del problema y cuantificar los niveles poblacionales de los nematodos que infestan un campo; si éstos superan los umbrales de daño económico, habrá que adoptar medidas de control.

La protección contra nematodos comienza con las medidas preventivas que tienen como objetivo la exclusión de los nematodos de zonas donde no existen. Para ello, la mejor táctica es utilizar material vegetal y sustratos libres de nematodos y plantar en suelos vírgenes. Cuando los nematodos se encuentran presentes en una zona, la estrategia es reducir los niveles poblacionales en pre-plantación. Las tácticas a emplear incluyen la preparación del terreno, la fumigación, la solarización, el vapor de agua, la utilización de la resistencia vegetal y la termoterapia o quimioterapia del material vegetal. Las medidas post-plantación son de tipo paliativo, ya que no existen métodos curativos, y están dirigidas a reducir la tasa de multiplicación del nematodo. Las tácticas incluyen el uso de nematicidas, agentes de control biológico, rotación de cultivos y enmiendas orgánicas. Estas tácticas pueden aplicarse simultánea o secuencialmente y la eficacia de las mismas debe evaluarse durante varias campañas consecutivas, puesto que las actuaciones llevadas a cabo en un cultivo pueden repercutir en los siguientes cultivos o campañas (Verdejo-Lucas, 1999).

Actualmente, el control de los nematodos se realiza principalmente mediante el uso de fumigantes del suelo y nematicidas. Sin embargo, diversas regulaciones gubernamentales prohíben o restringen el uso de los productos químicos por sus efectos nocivos para el hombre y medio ambiente por lo que será necesario utilizar métodos alternativos de control. La rotación de cultivos, que tradicionalmente formaba la base de la mayoría de los programas de control, ha perdido atractivo para los agricultores ya que la economía impone la especialización y la intensificación como medio de mantener la rentabilidad de las explotaciones. La resistencia vegetal reduce eficazmente los niveles de infestación de los nematodos, pero el uso continuado de la misma puede dar lugar al desarrollo de poblaciones virulentas que sobrepasan la resistencia, o bien, provocar cambios en la dominancia relativa de las especies en comunidades poli-específicas favoreciendo el desarrollo de especies secundarias. Estas limitaciones son bien conocidas por lo que la integración de varias medidas de control será necesaria para reducir la dependencia del control químico.

## **CONTROL BIOLÓGICO DE NEMATODOS**

El control biológico se puede definir como aquél que consigue una reducción de los niveles poblacionales de los nematodos mediante la acción de organismos vivos en condiciones naturales, o a través de la manipulación del entorno, o bien por la introducción de antagonistas. Entre los numerosos organismos que atacan nematodos y reducen sus niveles se encuentran los protozoos; las bacterias; los hongos formadores de trampas que atrapan los estadios vermiformes libres en el suelo; los hongos parásitos de hembras, quistes, huevos o de estadios vermiformes; los nematodos depredadores de otros nematodos y una serie de organismos entre los cuales se incluyen ácaros, colémbolos y otros invertebrados como tardígrados, turbelarios y oligoquetos (Stirling, 1991). Las características que debe reunir un agente de control biológico (ACB) de nematodos fitoparásitos son similares a las de otros patógenos o insectos del suelo e incluyen alta virulencia para el nematodo, especificidad por el huésped, producción de estructuras de resistencia capaces de persistir en el suelo durante largos periodos de tiempo en ausencia del nematodo o en condiciones desfavorables, rápida colonización del suelo (agentes microbianos) o capacidad para la búsqueda activa de la presa (depredadores), facilidad para su cultivo o cría y producción a gran escala, bajo coste, facilidad de almacenamiento y aplicación, compatibilidad con agroquímicos y prácticas agrícolas habituales, y por último y no menos importante, seguridad para el hombre y el entorno.

La idea de controlar nematodos mediante sus antagonistas surge en 1920, paralelamente al reconocimiento de los nematodos como patógenos de las plantas. Los

nematodos depredadores y los hongos formadores de trampas se estudiaron en primer lugar como potenciales ACB y se hicieron importantes avances en cuanto a su taxonomía y ecología, aunque los resultados sobre su eficacia como ACB no fueron muy alentadores (Stirling, 1991). En la década de los cincuenta, decae el interés en el control biológico debido al descubrimiento de los nematicidas que proporcionaban resultados espectaculares permitiendo así demostrar las pérdidas de rendimiento de cosecha causadas por los nematodos. El interés en el control biológico no vuelve a resurgir hasta finales de los setenta cuando se describe la bacteria *Pasteuria penetrans* Sayre & Starr como patógeno de nematodos y se comercializan los primeros productos basados en hongos nematófagos, aunque estos no persistirían en el mercado. Hoy en día existe un renovado interés en el control biológico motivado por un lado por la necesidad de encontrar alternativas al bromuro de metilo, y por otro, debido al desarrollo de sistemas productivos tales como la producción integrada o agricultura ecológica que promueven la utilización de mecanismos naturales para regular las poblaciones de los patógenos, y a su vez prohíben el uso de productos químicos como método de control.

Los mecanismos de control incluyen la explotación (parasitismo directo o depredación), competencia, antibiosis, resistencia inducida y lisis. En general, los nematólogos, al igual que los entomólogos han centrado sus estudios en la explotación investigando la acción de depredadores, parásitos y patógenos, mientras que los patólogos también han demostrado la importancia de la competencia, la protección cruzada y la resistencia inducida como mecanismos implicados en el control biológico de las enfermedades. Los antagonistas de nematodos pueden clasificarse en tres grandes grupos de acuerdo con sus mecanismos de acción. Así, los depredadores buscan su presa de forma activa y por regla general, consumen grandes cantidades de la misma a lo largo de su vida; los parásitos crecen dentro de sus hospedadores y obtienen sus nutrientes de los mismos. A diferencia de los depredadores, estos organismos generalmente completan su ciclo de vida e incrementan su biomasa dentro del nematodo. Los parásitos que causan daño a sus hospedadores también se les consideran como patógenos. El tercer grupo está formado por una miscelánea de organismos que influyen en la abundancia de los nematodos mediante mecanismos distintos a la depredación o el parasitismo. Actualmente, se conocen pocos antagonistas dentro de este grupo, pero es plausible pensar que existan organismos que compitan con el nematodo por espacio eliminándolos de la rizosfera, que produzcan antibióticos tóxicos para el nematodo o que interfieran con la eclosión de los huevos, o bien, con la capacidad de los nematodos para localizar las raíces e iniciar la alimentación. Como ejemplo podemos citar Di Tera®, producto comercial obtenido mediante la fermentación sumergida del hongo *Myrothecium* sp. Tode cuyos metabolitos tienen acción nematicida por contacto.

## Hongos nematófagos formadores de trampas

La mayoría de las especies de este grupo de depredadores son cosmopolitas, depredan una amplia gama de nematodos aunque éstos no son su única fuente de alimentación. Su actividad depredadora depende de la especie fúngica y pueden cambiar de la fase depredadora a la saprofita y viceversa, en función de las condiciones ambientales a las que estén sometidos.

Estos hongos tienen un micelio laxo que ha sido modificado para formar órganos capaces de capturar nematodos. Se han descrito hasta seis tipos de órganos de captura diferentes como hifas productoras de una sustancia adhesiva, ramas adhesivas producidas sobre las hifas, botones adhesivos (figura 1a), anillos no constrictores, anillos constrictores (la estructura más sofisticada) formados por *Arthrobotrys dactyloides* Dreschler (figura 1b) y las redes tridimensionales cubiertas de una sustancia adhesiva formadas por *Arthrobotrys oligospora* Fres (figura 1c) que son con todo, el tipo de órganos de captura más comúnmente encontrado en la naturaleza (Stirling, 1991). Una cepa de *A. dactyloides* fue seleccionada en Australia para desarrollar una formulación comercial, la cual se evaluó como ACB de *Meloidogyne* en tomate en suelos con diferentes texturas (Stirling y Smith 1998; Stirling *et al.*, 1998). La formulación en gránulos de *A. dactyloides* reducía la severidad de la enfermedad en cuatro de los cinco ensayos de campo realizados, pero los autores concluyen que se requerirán formulaciones con mayor actividad biológica para conseguir un nivel de control del nematodo similar al que proporcionan los nematocidas.

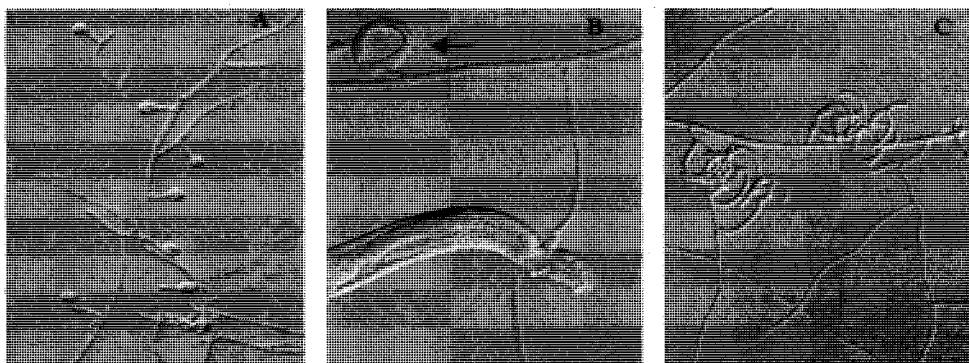


FIGURA 1. Hongos nematófagos formadores de trampas

- a) Microfotografía de un hongo formador de botones adhesivos.
- b) Microfotografía de un nematodo atrapado en un anillo constrictor constituido por tres células a partir de la hifa
- c) Microfotografía de las redes adhesivas producidas por *Arthrobotrys oligospora* Fres (Fotos B. A. Jaffee).

### Grupo de la bacteria *Pasteuria penetrans*

Contiene un grupo de bacterias inusuales que forman endosporas y micelio, son Gram positivo, cosmopolitas y parásitos obligados de nematodos fitoparásitos y de otros invertebrados (Sayre y Starr, 1988). Su ciclo de vida depende enteramente de los tejidos vivos de su huésped y consta de las siguientes fases: las esporas inmóviles (figura 2a y b) se adhieren a los estadios vermiformes libres en el suelo durante su desplazamiento hacia las raíces de la planta, germinan (figura 2e) a través de un tubo germinativo dentro de la cavidad corporal del nematodo, y a partir de este tubo se desarrolla una colonia en forma de roseta que sufre fragmentaciones sucesivas hasta dar lugar a (figura 2f y g) las esporas que son liberadas de nuevo al medio por ruptura de la cutícula del nematodo. La proliferación de la bacteria en el interior del nematodo (figura 2b, c, d y e) impide su reproducción, sin embargo, éste no muere, y es frecuente observar individuos repletos de esporas que conservan (figura 2b, d y e) el estilete y bulbo medio inalterados, estructuras ambas fundamentales para su alimentación. En algunos nematodos como *Meloidogyne* y *Heterodera*, el ciclo de vida de la bacteria se completa en el estadio de hembra adulta, mientras que en otros, como *Tylenchulus semipenetrans* Cobb y *Tylenchorhynchus cylindricus* Cobb, se completa en los estadios larvarios (Galeano *et al.*, 2003; Sorribas *et al.*, 2000). El tamaño y número de esporas producidas por individuo es función del tamaño del nematodo (Ciancio, 1995a); por ejemplo, en las especies de *Meloidogyne* cuyas hembras tienen forma de pera, se producen hasta dos millones de esporas por individuo, mientras que en *T. cylindricus*, cuyos adultos son vermiformes, se producen unas 300 esporas por individuo.

En España, la bacteria se ha encontrado en seis géneros de nematodos fitoparásitos en condiciones naturales, los cuales parasitaban tomate, kiwi, cítricos o frutales de hueso y pepita (Verdejo-Lucas *et al.*, 1997 y 2003). La frecuencia de aparición de *Pasteuria* era mayor en cultivos perennes que en anuales; la bacteria aparecía en un 35% y 50% de las parcelas de kiwi y cítricos prospectadas, respectivamente, mientras que en cultivos hortícolas su incidencia era inferior al 6%, quizás debido a que la fumigación del suelo es una práctica habitual en los cultivos hortícolas intensivos. Asimismo, hay que tener en cuenta que en hortícolas la interacción antagonista-patógeno se interrumpe periódicamente al terminar el cultivo, circunstancia desfavorable para el control biológico. Por ejemplo, el porcentaje de individuos de *Pratylenchus neglectus* (Rensch, 1924) Filipjev & Schuurmans Stekhoven con esporas adheridas era menor cuando se trabajaba el suelo inmediatamente después de arrancar el cultivo de judía verde que cuando se dejaba el suelo en barbecho sin trabajar, probablemente debido a que el trabajo del suelo reducía el número de nematodos que potencialmente podían ser parasitados (Ornat *et al.*, 1999).

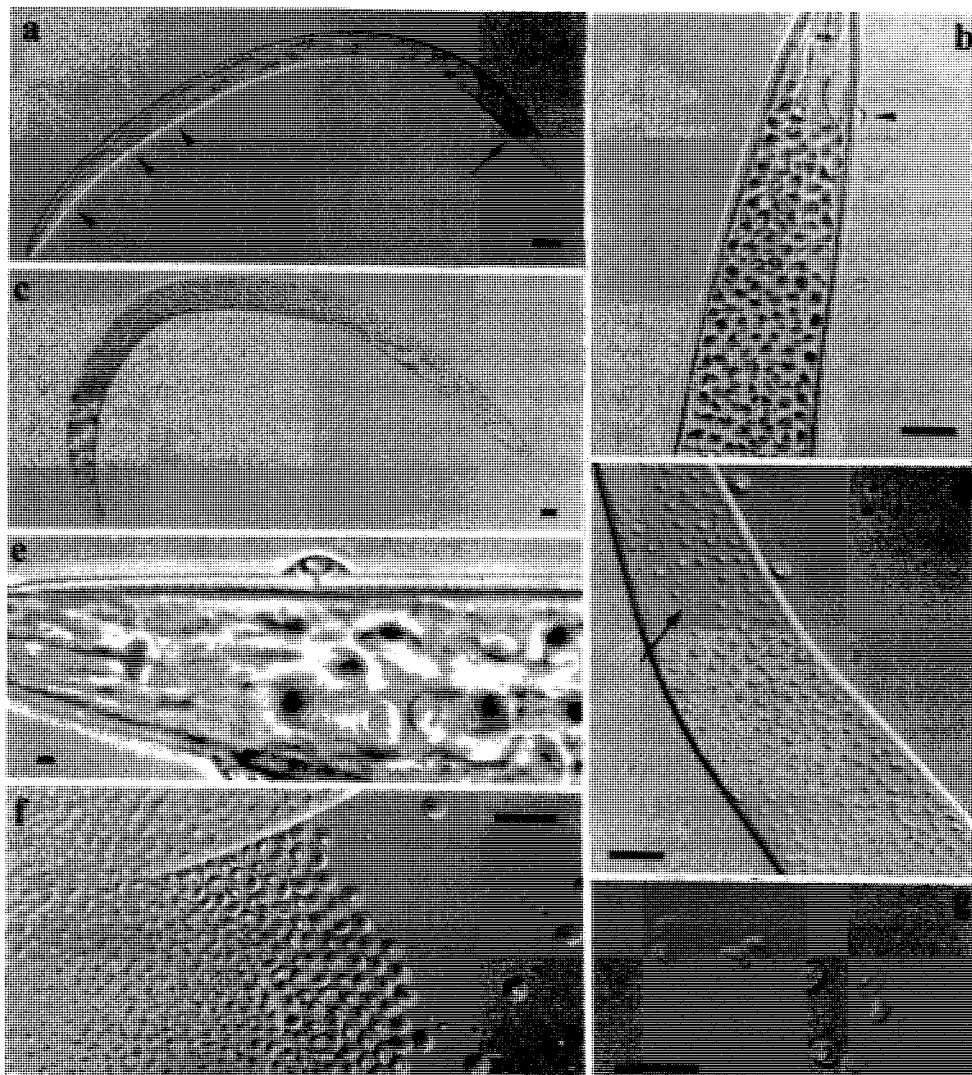


FIGURA 2. Parasitismo de *Tylenchorhynchus cylindricus* Cobb por *Pasteuria*  
a-c) microfotografías de las endosporas  
adheridas a la superficie y llenando el cuerpo del nematodo  
d) Espécimen repleto de esporas mostrando el bublo medio.  
e) La espora penetra la cutícula del nematodo a través de tubo germinativo  
f) Endosporas maduras liberadas al medio  
por ruptura de un nematodo parasitado  
g) Endosporas inmaduras con la pared del esporangio  
todavía adherida a la espora  
Barras de escala: A-D, y F-G= 10 $\mu$ m; E= 1 $\mu$ m. (Fotos M. Galeano).

Dado que el potencial de control biológico de un aislado de *P. penetrans* depende en cierto modo de la gama de nematodos que puede atacar, la compatibilidad bacteria-nematodo ha recibido considerable atención. Así, cuando se evaluó la capacidad de adherencia de las esporas de 11 aislados de *P. penetrans* de diversos orígenes a 18 poblaciones de cuatro especies de *Meloidogyne* aisladas en España se puso de manifiesto que existían aislados de la bacteria capaces de adherirse a una amplia gama de nematodos huésped, mientras que otros eran altamente específicos y sólo se adherían a la especie del nematodo de la cual se habían aislado (Español *et al.*, 1997). Por tanto, será necesario seleccionar aislados altamente virulentos y compatibles con las poblaciones locales del nematodo.

*Pasteuria penetrans* reúne varias de las características deseables en un ACB; la bacteria no sólo impide la reproducción del nematodo sino que además reduce la infectividad de los juveniles portadores de esporas. Se estima que se necesitan al menos cinco esporas por nematodo para que la infección tenga éxito, pero cuando el número de esporas adheridas es superior a 20, la movilidad del nematodo disminuye, lo que conlleva una reducción de la invasión radicular (Stirling, 1984). Además, las esporas pueden tolerar la desecación sin pérdida aparente de la infectividad (Stirling y Wachtel, 1980), y también muestran una alta tolerancia a las fluctuaciones de temperatura y humedad del suelo. Sin embargo, el carácter de parásito obligado de *P. penetrans* puede limitar su aplicabilidad como ACB. La principal barrera para su desarrollo comercial ha sido la imposibilidad de cultivarlo in vitro fuera de su nematodo huésped y por tanto, su producción a gran escala. Stirling y Wachtel (1980) desarrollaron un método de producción in vivo en plantas de tomate infectadas con el nematodo y la bacteria; las raíces de las mismas se dejan secar al aire y se pulverizan, utilizando ese polvo como inóculo de la bacteria. Las esporas así producidas mantienen su virulencia para el nematodo en diversas situaciones de campo (Stirling, 1984; Tzortzakakis *et al.*, 1999). Recientemente se ha logrado hacer germinar las esporas in vitro y obtener crecimiento vegetativo (Hewlett *et al.*, 2002), por lo que en un futuro próximo quizás pueda producirse *P. penetrans* a gran escala. No obstante, en Japón se ha comercializado *P. penetrans* obtenida por el método de Stirling y Wachtel (1980). Por otra parte, *P. penetrans*, como parásito obligado, mantiene una relación densidad-dependiente con su nematodo huésped la cual ha sido demostrada en diversas asociaciones bacteria-nematodo en diferentes cultivos (Ciancio, 1995b; Spaul 1984; Verdejo-Lucas 1992;) por tanto la dependencia de un número mínimo de nematodos para su supervivencia puede restarle eficacia como método de control.

Entre los factores ambientales, la temperatura es el factor que más influye en las interacciones patógeno-huésped, por lo que se ha estudiado su efecto en la interacción *P. penetrans-Meloidogyne javanica* (Treub) Chitwood tanto en invernadero (Stirling, 1981) como en cultivo in vitro en ausencia de organismos contaminantes



(Verdejo y Jaffee, 1988). Cuando estos cultivos se exponían a temperaturas de 21°, 25°, 28° o 30°C hasta que el nematodo acumulaba 630 grados día (base 10°C), las hembras sanas (figura 3a) producían un número similar de huevos (500-600 huevos por hembra) independientemente de la temperatura de incubación. Sin embargo, las hembras parasitadas producían mayor número de esporas conforme incrementaba la temperatura, y este incremento iba desde 14 a 77, 185 y 156 x 10<sup>3</sup> esporas por hembra a temperaturas de 21°, 25°, 28° y 30° C, respectivamente.

Cuando se estimó la relación entre la temperatura y la producción diaria de huevos y de esporas mediante análisis de regresión se constató que (figura 3bB) la bacteria y el nematodo responden de forma diferente a la temperatura mostrando una divergencia en cuanto a sus umbrales de temperatura basal y a su tasa de crecimiento. Así, la bacteria no producía esporas por debajo de 20°C, pero por encima de este umbral, la producción de esporas era mucho más rápida que la producción de huevos. Esta divergencia en la respuesta a la temperatura entre el parásito y el huésped tiene importantes implicaciones epidemiológicas ya que la eficacia de *P. penetrans* como ACB a temperaturas próximas a 20°C será limitada puesto que su tasa de crecimiento es mucho más lenta que la del nematodo. También explicaría la mayor abundancia de la bacteria en zonas tropicales y subtropicales con temperaturas medias más altas que en zonas de clima templado donde las oscilaciones térmicas son mayores tanto entre estaciones como entre el día y la noche.

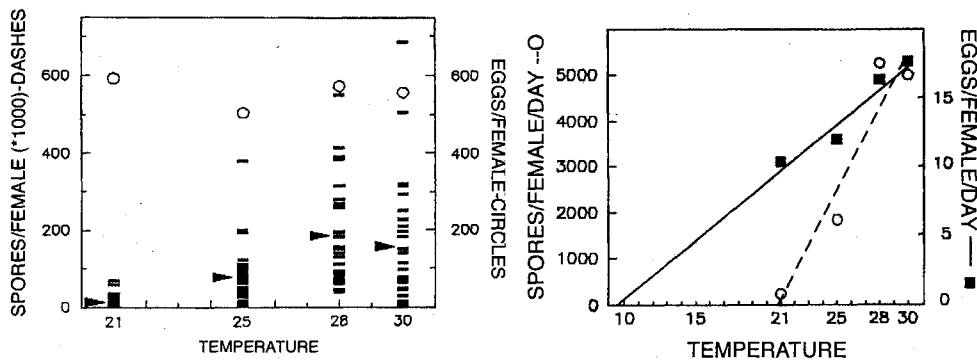


FIGURA 3. Efecto de la temperatura sobre la interacción entre *Pasteuria penetrans* Sayre & Starr y *Meloidogyne javanica* (Treub) Chitwood en tomate en cultivos monoxénicos  
a) Producción de huevos del nematodo (círculos) y esporas por hembra de la bacteria (bandas negras) después de que el nematodo acumulara 630 grados día (base 10°C). Las puntas de flecha indican los valores promedio de producción de esporas para cada temperatura  
b) Relación entre la temperatura y la producción diaria de huevos por el nematodo (línea continua) y de esporas por la bacteria (línea discontinua)

## Hongos nematófagos endoparásitos de hembras y huevos

Las hembras y los huevos de los nematodos endoparásitos son probablemente los estadios del ciclo de vida más vulnerables al ataque de los antagonistas ya que permanecen expuestos sobre la superficie de la raíz durante largos periodos de tiempo (Kerry, 1980). La mayoría de los estudios se han realizado con nematodos de los quistes (*Heterodera*, *Globodera*) que retienen los huevos dentro del cuerpo de las hembras y con nematodos de las agallas (*Meloidogyne*) que depositan los huevos en una matriz gelatinosa externa al cuerpo de la hembra. La figura 4 muestra una hembra de *Heterodera avenae* Wollenweber infectada por *Nemaphthora gynophila* Kerry & Crump (figura 4a) y un huevo de *Meloidogyne* infectado por *Pochonia chlamydosporia* Gams (ex *Verticillium chlamydosporium*) (figura 4b). *Nemaphthora gynophila* es un patógeno obligado de hembras de *H. avenae* y este hongo constituye un ejemplo de control natural que ha dado lugar a suelos supresivos al nematodo en cereales del Reino Unido y Europa del norte (Kerry, 1987). No obstante, este hongo no ha podido cultivarse in vitro y su actividad antagonista depende en gran medida de la humedad del suelo.

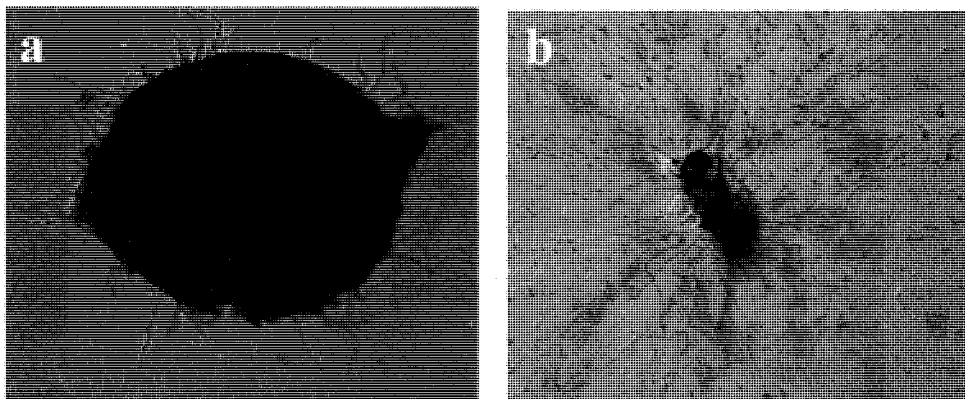


FIGURA 4. Hongos nematófagos de hembras y huevos

- a) Microfotografía de una hembra de *Heterodera avenae* Wollenweber infectada por *Nemaphthora gynophila* Kerry & Crump (Foto B. A. Kerry)
- b) Microfotografía de un huevo de *Meloidogyne javanica* (Treub) Chitwoodi parasitado por *Pochonia chlamydospora* Gams. Obsérvese cómo emergen las hifas del hongo desde el interior del huevo (Foto S. Verdejo Lucas)

Los hongos parásitos de huevos son parásitos facultativos que pueden cultivarse in vitro y cuya supervivencia en el suelo parece no depender de la presencia de los

nematodos. La incidencia de estos hongos en cultivos hortícolas intensivos infestados con *Meloidogyne* se determinó en las provincias de Almería y Barcelona, y ésta fue de 37% y 45% respectivamente (Verdejo-Lucas *et al.*, 2002a). Entre las especies fúngicas identificadas cabe destacar la presencia de *P. chlamydosporia*, un hongo cosmopolita, patógeno de nematodos fitoparásitos, que produce estructuras de resistencia denominadas clamidosporas y es capaz de colonizar la rizosfera del cultivo. Este hongo ha sido ampliamente investigado por su potencial como agente de control biológico (Kerry, 2000) y se ha encontrado parasitando *H. avenae* y *H. schachtii* Schmidt además de *Meloidogyne* en España (Páez-Sánchez, 1998; Olivares-Bernabeu y López-Llorca, 2002). Aislados españoles del hongo crecen entre 15° y 30°C, y es 25°C su temperatura óptima de crecimiento. Sin embargo, a temperaturas por debajo de los 10°C o por encima de los 30°C su crecimiento es muy escaso o nulo (Verdejo-Lucas *et al.*, 2002b). Temperaturas del suelo inferiores a los 10°C tienen lugar durante los meses de invierno en invernaderos no calefactados tales como los que existen en el litoral barcelonés (Verdejo-Lucas *et al.*, 2003a), por lo que el hongo tendrá dificultad para desarrollarse durante esa época del año. Para determinar las condiciones óptimas para la aplicación del hongo, se estudió la influencia de la época (otoño *versus* primavera), momento de aplicación (pre- *versus* post-transplante), la frecuencia de las aplicaciones (pre- *versus* pre- y post-transplante), y el efecto de las aplicaciones múltiples de *P. chlamydosporia* sobre los niveles de *M. javanica* en invernaderos infestados naturalmente por el nematodo. Los resultados mostraron que *P. chlamydosporia* mantenía su virulencia para el nematodo en condiciones de campo, sobrevivía en la rizosfera aunque a niveles bajos durante la campaña agrícola (al menos nueve meses) era compatible con las prácticas agronómicas habituales en los invernaderos y reducía la severidad de la enfermedad (Ornat *et al.*, 2003; Sorribas *et al.*, 2003; Verdejo-Lucas *et al.*, 2003a). Sin embargo, se requieren aplicaciones múltiples del hongo durante el cultivo y el nivel de control del nematodo es insuficiente en suelos con altos niveles de infestación. Los resultados de un estudio comparativo sobre la eficacia de un aislado nativo de *P. chlamydosporia* frente a uno introducido mostraron que ambos aislados tenían un comportamiento similar en condiciones controladas de laboratorio e invernadero. No obstante, en condiciones de campo el aislado nativo, pero no el introducido, incrementaba el porcentaje de parasitismo después de efectuar aplicaciones múltiples del mismo, y el nativo era más abundante y frecuente en la rizosfera que el introducido, por lo que se concluyó que el aislado nativo estaba mejor adaptado a las condiciones ambientales locales que el introducido (Sorribas *et al.*, 2003).

Recientemente, los estudios de control biológico se han ampliado a *T. semipenetrans*, parásito de cítricos cuya hembra deposita los huevos en una matriz gelatinosa sobre la superficie de la raíz. En Cataluña, el potencial antagonista de *T. semipenetrans* existente de forma natural en los cítricos puede considerarse

alto puesto que la incidencia de los hongos nematófagos era del 65% y la de *Pasteuria*, del 50% en las parcelas prospectadas (Verdejo-Lucas *et al.*, 2003b). *Paecilomyces lilacinus* (Tom Samson), considerado como un saprofito, también parasita hembras y huevos de nematodos y destacó por ser la especie más frecuente y abundante en la prospección realizada. Este hongo también se ha aislado de *H. schachtii* en España, pero no se encontró asociado a *Meloidogyne* en cultivos hortícolas (Olivares-Bernabeu y López-Llorca, 2002; Verdejo-Lucas *et al.*, 2002). En la actualidad, *P. lilacinus* es el único hongo antagonista que se aplica como ACB en parcelas comerciales y comercializa en varios países (Neethling, 2002; Córdoba, 2003).

### **Hongos nematófagos endoparásitos de estadios vermiformes**

Las esporas inmóviles de estos hongos se encuentran en el suelo y se adhieren a la cutícula de los estadios vermiformes de los nematodos cuando éstos se desplazan en el suelo en busca de una planta huésped. Las esporas penetran en el interior del nematodo, las hifas se desarrollan colonizando el interior del mismo y el nematodo muere al cabo de unos días. El hongo emerge del cadáver del nematodo para esporular finalmente en el suelo. *Hirsutella rhosilinesis* Minter & Brady es la especie más estudiada de este grupo. Este hongo tiene una gama de nematodos huésped amplia, un ciclo de vida simple y se puede cultivar en el laboratorio, lo que ha permitido realizar estudios detallados sobre su biología y epidemiología. Así, el parasitismo de los nematodos por *H. rhosilinesis* depende de los niveles del nematodo por lo que las poblaciones del hongo se extinguirán localmente a no ser que exista un número mínimo de nematodos disponibles (umbral de densidad del huésped). Por otra parte, las epidemias naturales que causa este hongo en las poblaciones del nematodo se desarrollan lentamente y sólo después de largos periodos de niveles altos del nematodo huésped (Jaffee, 1992 y 1993).

### **AGRADECIMIENTOS**

Parte de las investigaciones referidas en este capítulo han sido financiadas por la Unión Europea proyecto FAIRV CT97-3444 y el Instituto Nacional de Investigaciones Agrarias proyecto RTA02-068.

### **BIBLIOGRAFÍA**

CIANCIO, A. (1995a). Phenotypic adaptations in *Pasteuria* spp. nematode parasites. *Journal of Nematology*, 27: 328-338.

- CIANCIO, A. (1995b). Density-dependent parasitism of *Xiphinema diversicaudatum* by *Pasteuria penetrans* in a naturally infested field. *Phytopathology*, 85: 144-149.
- CÓRDOBA, A. (2003). Seguridad de *Paecilomyces lilacinus*. *Nematropica*, 33 (Resumen) (en prensa).
- ESPAÑOL, M.; VERDEJO-LUCAS, S.; DAVIES, K.G. y KERRY, B. R. (1997). Compatibility between *Pasteuria penetrans* isolates and *Meloidogyne* populations from Spain. *Biocontrol Science and Technology*, 7: 219-230.
- GALEANO, M.; VERDEJO-LUCAS, S. y CIANCIO, A. (2003). Morphology and ultrastructure of a *Pasteuria* form parasitic in *Tylenchorhynchus cylindricus* (Nematoda). *Journal of Invertebrate Pathology*, 83: 83-85.
- HEWLETT, T. E.; GERBER, J. F.; SMITH, K. S. y WHITE, J. H. (2002). In vitro culture of *Pasteuria penetrans*. *Nematology*, 4: 152-153 (Resumen).
- JAFFEE, B. A. (1992). Population biology and biological control of nematodes. *Canadian Journal of Microbiology*, 38: 359-364.
- JAFFEE, B. A. (1993). Density-dependent parasitism in biological control of soil-borne insects, nematodes, fungi and bacteria. *Biocontrol Science and Technology*, 3: 235-246.
- KERRY, B. R. (1980). Biocontrol: Fungal parasites of female cyst nematodes. *Journal of Nematology*, 12: 253-259.
- KERRY, B. R. (1987). Biological Control. En: *Principles and practice of nematode control in crops*. coord. BROWN, R. H. y KERRY, B. R. 233-263 pp. Academic Press. Sydney (Australia).
- KERRY, B. R. (2000). Rhizosphere interactions and exploitation of microbial agents for the biological control of plant-parasitic nematodes. *Annual Review of Phytopathology*, 38: 423-441.
- NEETHLING, D. (2002). The commercialisation of *Paecilomyces lilacinus* as an agent for the control of plant-parasitic nematodes. *Nematology*, 4: 152 (Resumen).
- OLIVARES-BERNABEU, C. M. y LÓPEZ-LLORCA, L. V. (2002). Fungal egg-parasites of plant-parasitic nematodes from Spanish soils. *Revista Iberoamericana de Micología*, 19: 104 -110.
- ORNAT, C.; SORRIBAS, F. J. y VERDEJO-LUCAS, S. (2003). Effect of kale and lettuce on survival of *Pochonia chlamydosporia* in a plastic house infested with *Meloidogyne javanica*. *IOBC wprs Bulletin*, 26: 107-112.

- ORNAT, C.; VERDEJO-LUCAS, S.; SORRIBAS, F. J. y TZORTZAKAKIS, E. A. (1999). Effect of fallow and root destruction on survival of root-knot and root-lesion nematodes in intensive vegetable cropping systems. *Nematropica*, 29: 5-16.
- PÁEZ-SÁNCHEZ, J. I. (1998). *Estudios sobre el nematodo de quiste de los cereales Heterodera avenae Wollenweber 1924*. Tesis doctoral. Universidad de Sevilla. Sevilla (España).
- SAYRE, R. M. y STARR, M. P. (1988). Bacterial diseases and antagonism of nematodes. En: *Diseases of nematodes*. Vol. 1. coord. POINAR, G. O. y JANSSON, H. B. 69-101 pp. CRC Press. Boca Raton (EUA).
- SORRIBAS, F. J.; ORNAT, C.; GALEANO, M. y VERDEJO-LUCAS, S. (2003). Evaluation of a native and introduced isolate of *Pochonia chlamydosporia* against *Meloidogyne javanica*. *Biocontrol Science and Technology*, 13: 707-714.
- SORRIBAS, F. J.; VERDEJO-LUCAS, S.; FORNER, J. B.; ALCAIDE, A.; PONS, J. y ORNAT, C. (2000). Seasonality of *Tylenchulus semipenetrans* Cobb and *Pasteuria* sp. in citrus orchards in Spain. *Journal of Nematology*, 32: 622-632.
- SPAULL, V. W. (1984). Observations on *Bacillus penetrans* infecting *Meloidogyne* in sugar cane fields in South Africa. *Revue de Nématologie*, 7: 277-282.
- STIRLING, G. R. (1981). Effect of temperature on infection of *Meloidogyne javanica* by *Bacillus penetrans*. *Nematologica*, 27: 458-462.
- STIRLING, G. R. (1984). Biological control of *Meloidogyne javanica* with *Bacillus penetrans*. *Phytopathology*, 74: 55-60.
- STIRLING, G. R. (1991). *Biological control of plant parasitic nematodes*. CAB International. Wallingford (Reino Unido). 282 pp.
- STIRLING, G. R. y SMITH, L. J. (1998). Field test of formulated products containing either *Verticillium chlamydosporium* or *Arthrobotrys dactyloides* for biological control of root-knot nematodes. *Biological Control*, 11: 231-239.
- STIRLING, G. R.; SMITH, L. J.; LICASTRO, K. A.; EDEN, L. M. (1998). Control of root-knot nematode with formulations of the nematode-trapping fungus *Arthrobotrys dactyloides*. *Biological Control*, 11: 224-230.
- STIRLING, G. R. y WACHTEL, M. F. (1980). Mass production of *Bacillus penetrans* for the biological control of root-knot nematodes. *Nematologica*, 26: 308-312.
- TZORTZAKAKIS, E. A.; VERDEJO-LUCAS, S.; ORNAT, C.; SORRIBAS, F. J. y GOUMAS, D.E. (1999). Effect of a previous resistant cultivar, oxamyl, and *Pasteuria penetrans* on population densities of *Meloidogyne javanica* in greenhouse grown tomatoes in Crete, Greece. *Crop Protection*, 18: 159-162.

- VERDEJO LUCAS, S. (1992). Seasonal population fluctuations of *Meloidogyne* spp. and *Pasteuria penetrans* in kiwi orchards. *Plant Disease*, 76: 1275-1279.
- VERDEJO LUCAS, S. (1999). Nematodes. En: *Integrated pest and disease management in greenhouse crops*. Coord. ALBAJES, R.; GULLINO, M. L.; VAN LENTEREN, J. C. y ELAD, Y. 61-68 pp. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht (Holanda).
- VERDEJO LUCAS, S.; ESPAÑOL, M.; ORNAT, C. y SORRIBAS, F. J. (1997). Occurrence of *Pasteuria* sp. in the northeastern Spain. *Nematologia Mediterranea*, 25: 109-112.
- VERDEJO LUCAS, S. y JAFFEE, B. A. (1998). Reproduction of *Pasteuria penetrans* in a tissue-culture system containing *Meloidogyne javanica* and *Agrobacterium rhizogenes*-transformed roots. *Phytopathology*, 78: 1284-1286.
- VERDEJO LUCAS, S.; ORNAT, C.; SORRIBAS, F. J. y STCHIEGEL, A. (2002a). Species of root-knot nematodes and fungal egg parasites recovered from vegetables in Almería and Barcelona. *Journal of Nematology*, 34: 405-408.
- VERDEJO LUCAS, S.; SORRIBAS, F. J.; ORNAT, C.; GALEANO, M. y LÓPEZ-LLORCA, L. (2002b). Control biológico de *Meloidogyne* en cultivos hortícolas mediante hongos nematófagos. *Phytoma España*, 144: 124-127.
- VERDEJO LUCAS, S.; SORRIBAS, F. J.; ORNAT, C. y GALEANO, M. (2003a). Evaluating *Pochonia chlamidosporia* in a double-cropping system of lettuce and tomato in plastic houses infested with *Meloidogyne javanica*. *Plant Pathology*, 52: 521-528.
- VERDEJO LUCAS, S.; SORRIBAS, F. J.; STCHIEGEL, A. M.; GENÉ, J.; PASTOR, J.; PONS, J.; ORNAT, C. y GUARRO, J. (2003b). Survey of *Tylenchulus semipenetrans*, *Pasteuria* sp, and fungal antagonists in citrus orchards of Catalonia, Spain. *Nematropica* 33 (en prensa).



**EL CONTROL BIOLÓGICO  
EN ACCIÓN**





# CONTROL BIOLÓGICO EN LA POSTCOSECHA DE FRUTAS

INMACULADA VIÑAS ALMENAR  
Área de Postcosecha. CeRTA. Centro UdL-IRTA,  
Avda. Rovira Roure, 191, 25198 Lleida  
ivinas@tecal.udl.es

Las frutas son un grupo de alimentos especialmente interesante en la dieta humana porque aportan sustancias nutritivas esenciales como son vitaminas y minerales. Asimismo, contienen antioxidantes y fibra que son considerados importantes para la salud humana y el bienestar. Pero la fruta, al ser un producto perecedero, precisa de una tecnología lo más adecuada posible para su conservación, preservándose en el tiempo sus características organolépticas y su apariencia en términos de frescura, color y tersura. Se precisan estrategias para la protección cuali-cuantitativa de los frutos, ante la necesidad de poder distribuir en el tiempo un producto perecedero con el objeto de satisfacer las necesidades del consumidor, ya que algunas variedades de frutas presentan su máximo consumo en periodos del año muy lejanos a los de su producción, y ante el legítimo derecho del sector comercial de beneficiarse del valor añadido que supone el incremento de precios de las ventas que se realiza en los meses posteriores a los de la producción de las frutas.

Los mohos son los principales agentes causantes de podredumbres en la fruta conservada en cámara frigorífica. La utilización de productos químicos de síntesis es el sistema más usado para el control de las podredumbres fúngicas, pero actualmente cada vez son mayores las objeciones de orden higiénico-sanitarias que éstos plantean ya que los fungicidas se presentan como potenciales agentes oncogénicos cuando son aplicados en las frutas y verduras. Debido al grave problema que representan los residuos de productos químicos para la salud humana, las legislaciones de diferentes estados, y en especial los más desarrollados, han establecido una serie de límites máximos de residuos (LMR) bastante restrictivos, en muchos casos por debajo de los recomendados por el *Codex Alimentarius*, comisión de la FAO/OMS creada en 1963. La existencia de diferencias entre los estados miembros de la Unión Europea, con respecto a los contenidos máximos permitidos de estos residuos de

plaguicidas, representa en algunos casos una barrera para el comercio y en especial para las exportaciones de nuestra fruta al resto de los países de la Unión Europea. Para eliminar estos obstáculos y favorecer la libre circulación de mercancías, el consejo de la UE en la directriz 76/895/CEE y la modificada en la 89/186/CEE, intenta uniformizar las legislaciones de los diferentes estados, objetivo que no se ha conseguido todavía, ya que queda por regular la mayoría de los plaguicidas.

La sociedad actual se encuentra ante un dilema a este respecto, por un lado hay una demanda creciente de productos de alta calidad, con buen aspecto físico y estado sanitario adecuado, lo que representa obtener fruta lo más limpia posible y por lo tanto libre de podredumbres. Por otro lado, la mayoría de los métodos utilizados de forma habitual para controlar plagas y enfermedades son poco adecuados por todos los problemas ambientales y de salud que comportan.

Toda esta problemática ha hecho reflexionar a la opinión pública que solicita productos cada vez menos tóxicos y un medio ambiente menos contaminado. La preocupación es creciente en estos temas y lo que actualmente puede suponer un incremento en el precio de venta de los productos obtenidos mediante métodos respetuosos con el medio ambiente, puede llegar a ser, en los próximos años, una razón *sine qua non* de venta. En esta línea, muchas cadenas de supermercados europeas están exigiendo a los productores normas mucho más estrictas de producción y manejo de la fruta, un ejemplo claro es la reciente aparición de las normas EUREP que vienen a unirse a las de Análisis de Peligros y Puntos de Control Crítico de la Administración Sanitaria o a las de producción integrada de algunas Comunidades Autónomas.

La Unión Europea sensible a esta problemática determinó en su Consejo del 27 de noviembre de 1990 (L 350/71) que una serie de plaguicidas que son perjudiciales para los consumidores no podrá ser utilizada por el riesgo que presentan para la salud humana. Asimismo, en 1991, el Parlamento europeo votó a favor de la total prohibición de los tratamientos de frutas y verduras en postcosecha con pesticidas, tan pronto como existan alternativas económicamente viables.

## **SISTEMAS ALTERNATIVOS A LOS PRODUCTOS QUÍMICOS DE SÍNTESIS**

Existe una necesidad urgente de desarrollar nuevos y efectivos métodos de control de las enfermedades de postcosecha que sean aceptados por el consumidor y que no supongan un riesgo para la salud humana y el ambiente.

En los últimos años se ha multiplicado el interés de los investigadores y de la industria de agroquímicos en buscar métodos alternativos a los pesticidas de postcosecha.

Para buscar un sistema alternativo hay que tener en cuenta los siguientes conceptos preliminares:

- El nuevo sistema de control, a la larga, no ha de generar los mismos problemas ni otros peores que los surgidos con los productos químicos de síntesis.
- Se tiene que introducir paralelamente el concepto de umbral de daño económico, es decir, convivir con un nivel de daño que sea compatible con nuestra estrategia comercial, no hay que pensar en niveles de control totales.
- El concepto de control ha de ir relacionado con el de calidad, ya que los sistemas alternativos no han de actuar negativamente contra el concepto global de calidad, el cual incluye la no presencia de residuos químicos perjudiciales para la salud
- Se tiene que educar a los consumidores, para que entiendan que la apariencia exterior no es siempre síntoma de «buena» fruta.

Entre las alternativas existentes destaca la utilización de:

- Atmósferas controladas, que disminuyen la intensidad de respiración y de la mayoría de las reacciones de maduración de la fruta (El-Goorani y Summer, 1989; Sitton y Patterson, 1992).
- Tratamientos de calor (Spotts, 1984; Artés, 1994).
- Medidas profilácticas, que se utilizan en campo para reducir el riesgo de problemas por mohos (Palazón y Rodríguez, 1977) y en las centrales hortofrutícolas para reducir las fuentes de inóculo (Sus y Viñas, 1990).
- Pesticidas naturales (El-Ghaouth *et al.*, 2000) y sustancias no tóxicas o de muy bajo riesgo (Smilanick *et al.*, 1995).
- Inducción de resistencia en el huésped, mediante el uso de bajas dosis de luz ultravioleta (Wilson *et al.*, 1994), microorganismos antagónicos (Wisniewski y Wilson, 1992) y compuestos naturales (Sticher *et al.*, 1997)
- Agentes de control biológico (Janisiewicz y Roitman, 1988; Viñas *et al.*, 1998; Usall *et al.* 2001; Nunes *et al.* 2002)
- Otros sistemas que están en fase inicial de estudio pero que son menos factibles por su baja efectividad, elevado coste, compleja aplicación, efectos secundarios, etc. son los tratamientos con gases (Sanderrmann *et al.*, 1998), revestimientos (Frazier y Westhoff, 1993) e irradiación con rayos gamma (Al-Bachir, 1999).

De todas estas alternativas el control biológico aparece como la más prometedora tanto por sí misma, ya que se basa en técnicas naturales, o como una estrategia de control integrado para reducir el uso de pesticidas. Así mismo, el uso de técnicas no químicas y tratamientos con fungicidas de bajo riesgo toxicológico para personas y poco impacto ambiental serán en el futuro una alternativa que solucionará, en parte, esta necesidad. Aunque siempre se tiene que tener en cuenta, que para disminuir de

forma significativa el riesgo a causa de las enfermedades fúngicas, es fundamental la reducción del inóculo fúngico en la central hortofrutícola, a través de una buena desinfección y el uso de fungicidas no selectivos (carbonato sódico, bicarbonato sódico, clorina activa y ácido sórbico entre otros). También serán de gran ayuda las técnicas de conservación y manejo que minimicen el daño a la fruta, utilizando condiciones de almacenamiento óptimas para mantener la resistencia del huésped.

## **CONTROL BIOLÓGICO DE ENFERMEDADES**

El término control biológico o biocontrol de enfermedades ha experimentado desde el comienzo de su utilización cambios en cuanto a su contenido y definición; la más aceptada actualmente es la indicada por Baker (Baker, 1987) que define al control biológico como «la reducción del inóculo o de la actividad productora de enfermedad del patógeno, debido a uno o más organismos, incluida la planta huésped y excluido el hombre». De esta definición se desprenden un gran número de posibles vías a explorar en la búsqueda del control de las enfermedades de postcosecha de frutas y verduras.

Cook (1982) propuso agrupar los diferentes aspectos del control biológico de los patógenos de las plantas en tres grandes apartados:

- Reducción de las poblaciones del patógeno mediante el uso de microorganismos antagónicos, que destruyen el inóculo del patógeno y reducen el vigor y la agresividad de éste.
- Protección de la superficie de las plantas a través del establecimiento del microorganismo en las heridas o en las superficies del material vegetal, que actúan como barrera debido a una acción de competencia, producción de antibióticos o parasitismo del patógeno.
- Establecimiento de los microorganismos no patogénicos o de los agentes de biocontrol entre la planta o área infectada y el patógeno, estimulando la resistencia de la planta o bien ocupando el área infectada, evitando así que el patógeno pueda utilizar los nutrientes o desplazándolo de la lesión.

### **Microorganismos antagónicos como agentes de biocontrol en postcosecha**

Para controlar las enfermedades de postcosecha mediante la utilización de microorganismos antagónicos existen dos posibles vías. Podemos estimular y manejar antagonistas que ya existen sobre la superficie del fruto o bien podemos introducir artificialmente antagonistas contra los patógenos. Se ha demostrado que existen antagonistas naturales en la filosfera y rizosfera de las plantas que pueden

suprimir el desarrollo de la enfermedad. También se ha sugerido que ciertas poblaciones microbianas existentes sobre la superficie de plantas, pueden estar en realidad bajo el control genético de la planta. Si éste es el caso, existe la posibilidad de manipular tales poblaciones con el objetivo de modificar la genética del huésped.

Existen tres factores por los que la utilización de antagonistas introducidos artificialmente en el ambiente de postcosecha puede constituir un área excepcionalmente productiva. Primero, una de las principales razones del fracaso de los agentes de biocontrol en el pasado ha sido la incapacidad para controlar las condiciones ambientales, pero bajo las condiciones de almacenamiento de los productos recolectados, las condiciones ambientales están controladas. Segundo, es a menudo difícil dirigir los agentes de biocontrol hacia los lugares efectivos, pero los productos recolectados no presentan este problema ya que las áreas de aplicación de los agentes de biocontrol son más limitadas de lo que puedan ser las plantas completas, por lo que se hace más fácil dirigir tales agentes. Tercero, el alto valor que tienen los productos recolectados puede hacer que la aplicación con los agentes de biocontrol, sea económicamente factible aunque su coste sea superior a los procedimientos habituales. Además hay que tener en cuenta que el precio de venta al público de los productos químicos no contempla algunos costes importantes que asume la administración o el consumidor final, como son la cura de intoxicaciones, de enfermedades crónicas, la eliminación de los residuos o el deterioro del medio ambiente producidos por la utilización de estos productos químicos.

A la hora de seleccionar un microorganismo como agente para el control biológico en postcosecha, además de estudiar su poder inhibitorio se han de tener en cuenta muchas otras características (Wilson y Wisniewski, 1989):

1. Estabilidad genética.
2. Efectividad a bajas concentraciones.
3. Poca exigencia en cuanto a requerimientos nutricionales (incluido en bajas temperaturas y en almacenamiento bajo condiciones controladas).
4. Gran capacidad de crecimiento.
5. Efectivo para un gran número de patógenos y para diversas frutas y vegetales.
6. Capacidad de reproducirse en medios de crecimiento económicos.
7. Formulación estable en el tiempo.
8. Facilidad de aplicación.
9. No producción de metabolitos secundarios que sean tóxicos para personas y animales.
10. Resistencia a los pesticidas.
11. Compatibilidad con otros tratamientos químicos o físicos.
12. No patogénico sobre el huésped.

Todo antagonista en potencia para ser eficaz contra mohos de postcosecha ha de tener pues la habilidad de colonizar y persistir con comodidad a niveles afectivos, ser compatible con otras prácticas, procesos y productos químicos de postcosecha y ser efectivo a bajas temperaturas y en algunos casos en condiciones de atmósfera controlada. Además, el organismo ha de ser producible a gran escala utilizando productos de bajo coste. Si se cumplen todas las premisas, los microorganismos serán potencialmente comercializables.

Según Droby y Chalutz (1994), el conocimiento del modo de acción de los antagonistas es importante por toda una serie de razones: para la optimización de los métodos y los momentos de aplicación de los antagonistas; para el desarrollo de formulaciones apropiadas que incrementen su utilización, pues proporciona una buena base para seleccionar nuevos antagonistas efectivos y finalmente, para el registro de los agentes de biocontrol para su posterior uso comercial.

Los principales modos de acción descritos son: competencia por los nutrientes y/o el espacio, por producción de antibióticos y otros inhibidores, por inducción de procesos de resistencia en el huésped, por interacción directa con el patógeno y por efecto del pH.

Las principales ventajas del control mediante antagonistas en relación con otros sistemas de lucha se pueden resumir en:

1. Son más seguros en comparación con los principales productos químicos utilizados actualmente, ya que los microorganismos no se acumulan en los alimentos. Pero el ensayo de la inocuidad de algunos microorganismos es muy caro y ésta ha sido hasta el momento una importante limitación en la utilización de algunos agentes en la lucha biológica.
2. Los microorganismos utilizados como agentes de control pueden ser más persistentes a lo largo del tiempo que los productos químicos, ya que los primeros no alteran de manera sustancial los principales aspectos del patógeno. Aunque no se puede aplicar en todos los casos.
3. Los agentes microbianos producen un efecto insignificante en el balance ecológico, particularmente porque no destruyen a los enemigos naturales de las especies patógenas, a diferencia de algunos pesticidas que además favorecen la aparición de nuevas enfermedades (Griffiths, 1981), o producir el efecto *boomerang* por el cual los patógenos surgen con más fuerza que antes de utilizar el plaguicida.
4. La utilización de microorganismos en el control de las enfermedades es muy a menudo compatible con otros sistemas de lucha, incluidos los productos químicos.

### *Etapas de un programa de control biológico*

Para definir un sistema biológico que controle a una determinada enfermedad, se han de considerar muchos factores, entre otros podemos citar la capacidad de mantenerse por sí mismo en la planta, y en qué condiciones ambientales se adaptará mejor y podrá obtener unos niveles de población suficientes para competir con la microflora existente.

Para que un microorganismo se convierta en un agente de control biológico y se pueda comercializar, como un producto más, es necesaria la colaboración entre grupos de investigación y empresas del sector agroquímico y ha de seguirse una serie de investigaciones y etapas algunas muy costosas:

- Descubrimiento e identificación del agente de biocontrol.
- Realización de los ensayos de eficacia a varios niveles.
- Realización de los ensayos de seguridad, tanto para el Hombre, como para el medio ambiente, y para los organismos que no ha de controlar.
- Estudio de la estabilidad genética del agente de biocontrol, ya que durante su utilización no habría de perder su virulencia.
- Estudio de su potencial para la producción en masa.
- Formulación del agente de biocontrol con elementos que incrementen su eficacia.
- Realización de ensayos de estabilidad y caducidad del producto.
- Estudio del mercado potencial.
- Evaluación de los costes del producto.
- Realización de análisis de inversiones.
- Realización de ensayos a escala comercial.
- Patentar el agente de biocontrol.
- Registrar el agente de biocontrol.
- Comercialización y venta del pesticida biológico a los usuarios.

En el desarrollo de un sistema de control biológico, una vez descubierto el antagonista, se debe seguir trabajando con el objetivo de incrementar su eficacia, aumentar su espectro de acción sobre patógenos y aplicación en diferentes frutos. Así se aumentan los principales factores que determinan que un agente de biocontrol sea o no factible: su fiabilidad y rentabilidad económica. Un modo de aumentar la eficacia de un antagonista es, en general, aumentar su concentración de aplicación, sin embargo, esto hace que el control biológico sea más caro. Además existe un límite de producción de masa microbiana a partir del cual es muy difícil aumentar.

Basándose en los posibles mecanismos de acción anteriormente señalados y en las interacciones microbianas existentes en la fruta, hay dos estrategias que posiblemente permitirán el incremento de la eficacia del agente de biocontrol: (i) manipu-



lación del ambiente nutricional y (ii) desarrollo de mezclas de antagonistas. Otra posible opción, juntamente con las anteriores, es su combinación con otros sistemas de control.

### Situación actual del control biológico en postcosecha de frutas

Hay muchos ejemplos recientes de solicitudes de patentes de microorganismos para el control de enfermedades de postcosecha la mayoría en los EEUU: las bacterias *Pseudomonas cepacia* y *P. syringae*, el hongo *Acremonium breve*, o las levaduras *Pichia guilliermondii*, *Debaryomyces hansenii*, *Candida oleophila* y *Candida sake* (CPA-1). En Europa cabe destacar las patentes de *Candida sake* (CPA-1) y de la bacteria *Pantoea agglomerans* (CPA-2) (figura 1), estos agentes de biocontrol han sido desarrollados por el grupo de patología del Área de Postcosecha del centro UdL-IRTA para su uso comercial en postcosecha de frutas.

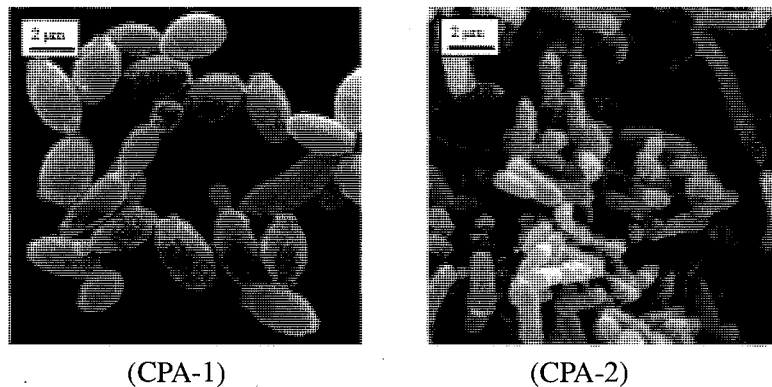


FIGURA 1. Microfotografías al microscopio electrónico de barrido (SEM) de células de dos agentes de biocontrol: la levadura *Candida sake* (CPA-1) y la bacteria *Pantoea agglomerans* (CPA-2), patentados para su uso comercial en postcosecha de frutas

En el caso de los Estados Unidos existe una normativa específica de registro de los agentes de biocontrol, que consiste en una serie de niveles de estudios toxicológicos, cada vez más largos y costosos en su realización. Si el agente de biocontrol supera con éxito el primer nivel, que es el de menor toxicología, ya se acepta y no requiere la realización de más estudios toxicológicos. Esta gran diferencia de costos y tiempo es principalmente debida al gran interés por parte de la EPA (Agencia de Protección Medio-ambiental) de los Estados Unidos, en facilitar la aparición de pesticidas biológicos. Este hecho ha comportado que a principios de

1996 hayan aparecido tres productos biológicos en el control de las enfermedades de postcosecha de fruta, Bio-save 100, 110 y 1000, formulados con la bacteria *Pseudomonas syringae*, comercializados por la empresa EcoScience y Aspire con la levadura *Candida oleophila* y comercializado por Ecogen Inc. Cabe indicar que estos productos de agentes de biocontrol de las enfermedades de postcosecha de fruta ya han aparecido en el mercado de los Estados Unidos, y desde 1997 se están utilizando fundamentalmente en producción orgánica.

En la Unión Europea, existe una normativa para el registro de los microorganismos, pero que tiene muy poca similitud con respecto a la de Estados Unidos, fundamentalmente por su gran complejidad, coste elevado y número de años necesarios para obtener su registro.

La dificultad de registrar en Europa contrasta con las ayudas que reciben los grupos de investigación para desarrollar agentes de biocontrol. Éste es el caso de nuestro equipo de investigación del Área Postcosecha del Centro UdL-IRTA, el cual viene trabajando en el control biológico de enfermedades de postcosecha de fruta desde 1989. Durante estos 15 años se han aislado y ensayado más de 1500 microorganismos para determinar su capacidad de control frente al hongo *Penicillium expansum*, el principal agente causal de podredumbres en fruta de pepita. Más del 40% de los microorganismos ensayados mostró una cierta capacidad antagónica (>15% de reducción de la podredumbre), pero solamente el 9,8% redujo el nivel de podredumbre por encima del 50%. Después de realizar y evaluar los resultados de un ensayo de efectividad a mayor escala que el anterior, se seleccionaron 5 microorganismos como potenciales agentes de biocontrol, para determinar posteriormente su capacidad inhibidora a temperatura de frigoconservación y a diferentes relaciones O<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub>.

La cepa que mostró mayor capacidad inhibidora, fue identificada como *Candida sake* (Saito y Ota Van Uden y Buckley). Esta levadura procede de la superficie de manzanas y ha sido aislada por investigadores del laboratorio de Patología del Área de Postcosecha del Centro UdL-IRTA de Lleida. Está concedida la patente española, europea y diversos países en el ámbito internacional. La especie *C. sake* es un microorganismo epifítico de diversos materiales vegetales (manzanas, uvas, tomates, etc.) y no se encuentra asociada a animales de sangre caliente.

La cepa de *C. sake* muestra una gran capacidad inhibidora del desarrollo de las principales enfermedades de postcosecha tanto en manzanas como en peras. Esta cepa de levadura está muy adaptada a las bajas temperaturas y a las condiciones de atmósferas modificadas que son las habituales en las centrales hortofrutícolas, obteniéndose en estas condiciones, óptimos resultados en el control de un gran número de hongos patógenos causales de podredumbres en diversas variedades de fruta en postcosecha. En condiciones de conservación de la fruta en atmósfera controlada, la cepa de *C. sake* a la concentración de  $2.4 \times 10^6$  ufc/ml, mostró una excelente capa-

cidad de reducción de la podredumbre causada por *P. expansum*. A la concentración de 3% O<sub>2</sub>, el antagonista mostró la máxima capacidad de control, por lo que se obtuvo niveles del 97% de reducción de la podredumbre.

Con la finalidad de evaluar su efectividad en aplicaciones prácticas comerciales, se han realizado ensayos durante tres campañas en colaboración con la empresa de agroquímicos Sipcam Inagra S.A., detentora de los derechos de explotación de la cepa *C. sake* y con la supervisión del Servicio de Protección de los Vegetales del Departament d'Agricultura, Ramaderia i Pesca de Lleida, aplicando una concentración de 10<sup>7</sup> ufc/ml del agente de biocontrol mediante *drencher* a la fruta recién recolectada. Después de 5 meses de conservación en atmósfera controlada, se observó que la fruta tratada con *C. sake* mostraba una gran capacidad de control de las principales enfermedades de postcosecha, incluso mejor que la obtenida con la dosis de empleo habitual de un fungicida de postcosecha. Los niveles de podredumbre de ambos tratamientos fueron estadísticamente inferiores a los observados con la fruta sin ningún tratamiento. (Usall *et al.* 2001).

Actualmente, la cepa de *C. sake* se encuentra en los trámites previos a su registro europeo que son necesarios para su futura comercialización.

Así mismo, hemos desarrollado un sistema integrado de control de podredumbres en postcosecha de cítricos. La magnitud de los problemas asociados a la utilización de fungicidas de síntesis en post-recolección de los cítricos, ha motivado a escala mundial un interés creciente por la búsqueda de métodos alternativos de control. Compuestos antifúngicos de bajo riesgo e impacto ambiental, como los carbonatos o el polisulfuro de calcio combinados o no con calor, agentes de control biológico y combinaciones de calor con bajas dosis de fungicidas, son sistemas investigados actualmente en España y en Estados Unidos que presentan muy buenas perspectivas de aplicación comercial a corto y medio plazo. En ensayos de laboratorio realizados en Lleida y en otros ensayos a escala comercial efectuados en California, se pudo observar la efectividad de los baños en tanque, de soluciones acuosas de carbonatos, bicarbonatos y polisulfuros de calcio, para el control de los hongos *Penicillium digitatum* y *P. italicum* que es parecida a la que se obtiene con los fungicidas actuales, mejorándose su efectividad si se utiliza a una temperatura alrededor de 45°C. Algunas de las ventajas son su bajo coste, el hecho de que difícilmente puede utilizarse su aplicación como una barrera comercial, y que la ausencia de residuos que pudieran afectar a la salud humana mejora la comercialización de la fruta.

Asimismo, investigadores del laboratorio de Patología del Área de Postcosecha del Centro UdL-IRTA de Lleida han aislado de la superficie de manzanas al antagonista *Pantoea agglomerans* (CPA-2). Esta bacteria además de ser eficaz en el control de los principales mohos causales de podredumbre en fruta de pepita (Nunes *et al.*, 2002), es eficaz en el control de *Penicillium digitatum* y *P. italicum* en cítricos (Usall *et al.* 2001). La patente está concedida en España y en Europa.

En ensayos de efectividad del antagonista *Pantoea agglomerans* (CPA-2) solo y en combinación con soluciones de bicarbonatos y carbonatos para el control de *Penicillium digitatum* y *P. italicum* en naranjas y mandarinas en condiciones de 20°C y en condiciones de refrigeración (3°C) han sido satisfactorios. El antagonista a la concentración de  $2 \times 10^8$  ufc/ml controla a los patógenos *Penicillium digitatum* y *P. italicum* en naranjas. Es de resaltar que la concentración de antagonista necesaria para obtener un control satisfactorio es más baja que la recomendada para la aplicación comercial del Bio-save 1000 (producto ya registrado para cítricos y comercializado en Estados Unidos) y por consiguiente, nuestro agente de biocontrol puede ser considerado viable para su uso comercial. El control mejoraba hasta el 100% cuando se adicionaba bicarbonato sódico al 2% en condiciones de refrigeración (3°C) y a 20°C se alcanzaba el 97,6% (Teixidó *et al.* 2001).

Así mismo, es de resaltar que la unidad de Patología del Área de Postcosecha ha coordinado el proyecto europeo: *Development of biocontrol agents for commercial application against postharvest diseases of perishable foods* ([www.biopostharvest.com](http://www.biopostharvest.com)) ejecutado durante los años 2000-2004, contando con la participación de otros 9 centros de investigación europeos. En este proyecto han participado investigadores que son expertos en diferentes campos y especialistas en: tecnología de alimentos, patología vegetal, micología, procesos industriales y técnicas de marcaje molecular. También se contó con dos empresas interesadas en los productos de control biológico como substitutos de los productos químicos de síntesis, así como una plataforma industrial formada por un grupo de seis centrales hortofrutícolas de diferentes países de Europa. El objetivo clave del proyecto ha sido el desarrollo de cuatro agentes de biocontrol de demostrada eficacia en el control de las principales enfermedades de postcosecha hasta alcanzar una etapa donde los agentes se podrán comercializar en estrecha colaboración con las empresas del sector.

### **Perspectivas futuras**

Los microorganismos antagonísticos se pueden considerar como «fungicidas vivos» en el control de las enfermedades de postcosecha de frutas. La trayectoria que se debe seguir desde el laboratorio a su producción comercial tiene varios obstáculos económicos y biológicos.

El mercado potencial de los antagonistas es enorme, lo que justifica la investigación y desarrollo necesario para lograr su comercialización. Sin embargo, la especificidad de un antagonista puede limitar su comercialización desde el punto de vista económico, incluso aunque éste sea altamente eficaz. Pero éste no es un serio inconveniente debido a que la creciente retirada de los fungicidas sintéticos del mercado, ha hecho reconsiderar la utilización de nuevas alternativas.

En los sistemas de postcosecha, la investigación sobre el manejo de poblaciones de antagonistas en frutos, especialmente en heridas, es esencial para poder hacer predicciones sobre el comportamiento de los agentes utilizados en control biológico. Es muy importante conocer los mecanismos que utilizan los agentes antagonísticos, para así poder incrementar su efectividad.

Es imprescindible conocer la estabilidad genética y la supervivencia de los agentes implicados en el control biológico. Asimismo, se deberán determinar las mejores condiciones para una producción industrial y las formulaciones más adecuadas para la aplicación de los microorganismos antagonísticos a escala comercial.

Un aspecto muy importante en la comercialización de los agentes de biocontrol es la aceptación por parte de la sociedad de la aplicación de microorganismos «vivos» en los alimentos. Esta idea no es nueva, ya que desde tiempos muy antiguos, las fermentaciones mediante microorganismos han sido un método importante para preservar los alimentos. La adición de microorganismos en la preparación del pan y en productos derivados de la leche ha sido ampliamente aceptada. Por esto es importante dar a conocer a la sociedad, de forma clara y sencilla, a los biofungicidas como una alternativa segura y efectiva al uso de los fungicidas sintéticos.

## BIBLIOGRAFÍA

- AL-BACHIR, M. (1999). Effect of gamma irradiation on storability of apples (*Malus domestica* L.). *Plant Foods for Human Nutrition*, 54: 1-11.
- ARTÉS, F. (1994). Tratamientos térmicos y gaseosos alternativos a los tratamientos químicos de postcosecha. *Fruticultura Profesional*, 66: 36-43.
- BAKER, K. F. (1987). Evaluating concepts of biological control of plants pathogen. *Annu. Rev. Phytopathol*, 25: 67-85.
- BASHI, E. y FOKKEMA, N. (1977). Some environmental factors limiting growth of *Sporobolomyces roseus*, an antagonist of *Cochliobolus sativus*, on wheat leaves. *Transactions of the British Mycological Society*, 68: 17-25.
- BLAKEMAN, J. P. y BRODIE, D. S. (1976). Inhibition of pathogens by epiphytic bacteria on aerial plant surfaces. En: *Microbiology of aerial plant surfaces*. DICKINSON C. H. & PREECE T. F. (Eds). 529-557 pp. Academic Press, Londres (Reino Unido).
- COOK, R. J. (1982). Progress toward biological control of plant pathogens with special reference to take-all of wheat. *Agriculture and Forestry Bulletin*, 5: 22.
- DROBY, S. y CHALUTZ, E. (1994). Mode of action of biocontrol agents of postharvest diseases. In: *Biological control of postharvest diseases: Theory and practice*.

- WILSON C. L. & WISNIEWSKI M. E. (eds). 63-75 pp. CRC Press, Boca Raton, FL (EEUU).
- EL-GHAOUTH, A.; SMILANICK, J. L.; BROWN, G. E.; IPPOLITO, A.; WISNIEWSKI, M. y WILSON, C. L. (2000). Application of *Candida saitoana* and glycochitosan for the control of postharvest diseases of apple and citrus fruit under semi-commercial conditions. *Plant Disease*, 84: 243-248.
- EL-GOORANI, M. A. y SUMMER, N. F. (1989). Effects of modified atmospheres on postharvest pathogens of fruits and vegetables. En: *Horticultural Reviews*. JANICK J. (ed.). pp: 412-461, AVI. Westport, (EEUU).
- FRAZIER, W. Z. y WESTHOFF, D. C. (1993). *Microbiología de los alimentos*. Ediciones Acribia, Zaragoza (España), 681 pp.
- GRIFFITHS, E. (1981). Iatrogenic plant diseases. *Annu. Rev. Phytopathol.*, 19: 69-82.
- JANISIEWICZ, W. J. y ROITMAN, J. (1988). Biological control of blue-mold and gray-mold on apple and pear with *Pseudomonas cepacia*. *Phytopathology*, 78: 1697-1700.
- NUNES, C.; USALL, J.; TEIXIDÓ, N.; FONS, E.; VIÑAS, I. (2002). Postharvest biological control by *Pantoea agglomerans* (CPA-2) on Golden Delicious apples. *Journal of Applied Microbiology*, 92: 247-255.
- PALAZÓN, I. y RODRÍGUEZ, C. (1977). Las podredumbres de la fruta conservada en cámara frigorífica. *Cuaderno INIA*, 5: 1-92.
- SANDERRMANN JR. H.; ERNST, D. y HELLER, W. M.; LANGEBAEELS, C. (1998). Ozone: an abiotic elicitor of plant defence reactions. *Trends in Plant Science*. 3: 47-50.
- SITTON, J. W. y PATTERSON, M. E. (1992). Effect of high carbon dioxide and low oxygen controlled atmospheres on postharvest decays of apples. *Plant Disease*, 76: 992-995.
- SMILANICK, J. L.; MARGOSAN, D. A. y HENSON, D. J. (1995). Evaluation of heated solutions of sulfur dioxide, ethanol, and hydrogen peroxide to control postharvest green mold of lemons. *Plant Disease*, 79: 742-747.
- SPOTTS, R. A. (1984). Environmental modification for control of postharvest decay. En: *Postharvest pathology of fruits and vegetables: Postharvest losses in perishable crops*. ed. MOLINE, H. E. 67-72 pp. University of California Bulletin 1914, Berkeley (EEUU).
- SUS, V. y VIÑAS, I. (1990). Effect of disinfection of the fungal contamination of apple fruits stone-rooms. Evaluation of disinfectants in *Penicillium expansum* control. *MAN*, 8: 95-102.

- STICHER, L.; MAUCH-MANI, B. y MÉTRAUX, J. P. (1997). Systemic acquired resistance. *Annual Review of Phytopathology*, 35: 235-270.
- TEIXIDÓ, N.; USALL, J.; PALOU, L.; ASENSIO, A.; NUNES, C. y VIÑAS, I. (2001). Improving control of green and blue molds on oranges by combining *Pantoea agglomerans* (CPA-2) and sodium bicarbonate. *European Journal of Plant Pathology*, 107: 685-694.
- USALL, J.; TEIXIDÓ, N.; SMILANICK, J. y VIÑAS, I. (2001). Biological control of *Penicillium digitatum* in postharvest of citrus fruits with antagonistic bacteria *Pantoea agglomerans*. *Acta Horticulturae*, 553: 377-381.
- USALL, J.; TEIXIDÓ, N.; TORRES, R.; OCHOA, X. y VIÑAS, I. (2001). Pilot tests of *Candida sake* (CPA-1) applications to control postharvest blue mold on apple fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 21: 147-156.
- VIÑAS, I.; USALL, J.; TEIXIDÓ, N. y SANCHIS, V. (1998). Biological control of major postharvest pathogens on apple with *Candida sake*. *International Journal of Food Microbiology*, 40: 9-16.
- WILSON, C. L.; EL-GHAOUTH, A. E.; CHALUTZ, E.; DROBY, S.; STEVENS, C.; LU, J.Y.; KHAN, V. y ARUL, J. (1994). Potential of induced resistance to control postharvest diseases of fruits and vegetables. *Plant Disease*, 78: 837-844.
- WILSON, C. L. y WISNIEWSKI, M. E. (1989). Biological control of post-harvest diseases of fruits and vegetables: an emerging technology. *Annual Review of Phytopathology*, 27: 425-441.
- WISNIEWSKI, E. y WILSON, C. L. (1992). Biological control of postharvest diseases of fruits and vegetables: Recent advances. *HortScience*, 27: 94-98.

# CONTROL BIOLÓGICO DE PLAGAS EN CÍTRICOS

FERRAN GARCIA MARÍ

Institut Agroforestal Mediterrani, ETSE Agrònoms, Universitat Politècnica de  
València, Camí de Vera 14, 46022- València,  
fgarciam@eaf.upv.es

El control biológico consiste en el uso de poblaciones de parasitoides, depredadores, patógenos, antagonistas o competidores para suprimir poblaciones de plagas, haciéndolas así menos abundantes y en consecuencia menos perjudiciales (Van Driesche y Bellows, 1996). Se pueden agrupar en tres las estrategias que se utilizan para la aplicación de enemigos naturales al control de poblaciones de insectos perjudiciales. El primero consiste en la importación y establecimiento permanente de especies exóticas de depredadores o parásitos. Éste es conocido como el control biológico clásico. Cuando una plaga posee enemigos naturales eficaces en una zona pero estos no pueden actuar de forma adecuada debido a determinadas características del agroecosistema pueden aplicarse métodos para permitir la acción de los enemigos naturales autóctonos. Es el método de conservación. Finalmente, los depredadores pueden ser incrementados de forma artificial y transitoria por el hombre en un área definida consiguiéndose el control biológico por el método del incremento de enemigos naturales.

El control biológico de plagas tiene una larga tradición en el cultivo de los cítricos. Numerosas especies de parásitos y depredadores viven en nuestras parcelas de cítricos regulando de forma eficaz las poblaciones de muchos insectos fitófagos. Los tres procedimientos reconocidos de empleo del control biológico, introducción, incremento y conservación de enemigos naturales, han sido aplicados con éxito. La entrada continua de nuevas plagas ha llevado al desarrollo de varios programas de importación de insectos útiles en nuestro país. Se emplean también las sueltas masivas de insectos útiles y las técnicas de conservación, entre las que destaca la selección de los plaguicidas por su impacto en la entomofauna auxiliar.



## ORÍGENES DEL CONTROL BIOLÓGICO EN CÍTRICOS

En el origen del control biológico de plagas se encuentra un caso de control biológico en cítricos, el de la cochinilla acanalada *Icerya purchasi* (Maskell) (Homoptera: Margarodidae) que se llevó a cabo en 1888 en California introduciendo desde Australia al depredador *Rodolia cardinalis* (Mulsant) (Coleoptera: Coccinellidae) y al parasitoide *Cryptochaetum iceryae* (Williston) (Diptera: Tachinidae). Otro hito en el control biológico de plagas de cítricos consistió en el empleo del coleóptero coccinélido *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant (Coleoptera: Coccinellidae) para controlar al cotonet *Planococcus citri* (Risso) (Homoptera: Pseudococcidae) (DeBach y Rosen, 1991).

En España se importaron ambos insectos desde 1927 en el Insectario de Burjassot (Valencia), el primer centro de nuestro país y uno de los primeros de Europa dedicado a la importación y multiplicación de insectos útiles (del Rivero, 1996). El control biológico de plagas en cítricos en nuestro país se vio marcado decisivamente en épocas más recientes con la introducción en 1973 del parasitoide *Cales noacki* Howard (Hymenoptera: Aphelinidae) para combatir a la mosca blanca algodonosa de cítricos *Aleurothrixus floccosus* (Maskell) (Homoptera: Aleyrodidae), plaga introducida unos años antes y que amenazaba con destruir el rendimiento económico del cultivo (Grupo de trabajo de cítricos, 1977).

## PRINCIPALES ORGANISMOS UTILIZADOS EN CONTROL BIOLÓGICO

Los enemigos naturales u organismos beneficiosos más importantes en cítricos pueden separarse en dos grandes grupos, parasitoides y depredadores. Entre los parasitoides destacan cuatro familias de himenópteros: bracónidos, afelínidos, eulófidos y encértidos. Los bracónidos incluyen parasitoides de pulgones como *Lysiphlebus testaceipes* Cresson (Hermoso de Mendoza *et al.*, 1998). Los afelínidos incluyen numerosos organismos beneficiosos de plagas de cítricos, destacando parásitos de moscas blancas (*Cales noacki*, *Encarsia strenua* Silvestri, *Eretmocerus debachi* Rose & Rosen) (Soto *et al.*, 1999) y de cochinillas diaspíidas (varias especies de *Aphytis*) (Rodrigo *et al.*, 1996). La familia de los eulófidos (*Citrostichus phyllocnistoides* Narayanan) parasita al minador de cítricos (Vercher *et al.*, 2000). La familia de los encértidos incluye especies del género *Metaphycus*, que son enemigos naturales de cóccidos lecnánidos, y los parasitoides de cotonet *Anagyrus pseudococci* Girault y *Leptomastix dactylopii* Howard (Melià y Blasco, 1980).

Entre los depredadores destacan la familia de coleópteros coccinélidos, neurópteros crisópidos y coniopterígidos, dípteros cecidómidos y ácaros fitoseidos. Los coccinélidos son depredadores de pulgones (*Propylea quatuordecimpunctata* (L.)),

cochinillas (*Cryptolaemus montrouzieri*, *Rodolia cardinalis*), moscas blancas (*Clitostethus arcuatus* Rossi) y ácaros (*Stethorus punctillum* Weise). Los neurópteros (*Chrysoperla carnea* (Stephens), *Conwentzia psociformis* Curtis, *Semidalis aleyrodiformis* (Stephens)) se alimentan de todo tipo de microartrópodos. Los dípteros cecidómidos (*Aphidoletes aphidimyza* Rondani) se alimentan de pulgones y los ácaros fitoseidos (*Euseius stipulatus* (Athias-Henriot) y *Amblyseius californicus* (McGregor)) son depredadores de ácaros tetraníquidos (García-Marí *et al.*, 1984; García-Marí *et al.*, 1994; Llorens, 1990a; 1990b; Llorens y Garrido, 1992; Alvis, 2003).

## INTRODUCCIÓN DE ENEMIGOS NATURALES

La introducción de enemigos naturales se conoce también como control biológico clásico e incluye una serie de pasos o etapas sucesivas como la correcta identificación taxonómica de la plaga, la selección del lugar donde se buscarán enemigos naturales, la correcta identificación de los enemigos naturales candidatos para la introducción, la exploración, colección y envío, el proceso de cuarentena, cría y pruebas de seguridad, la colonización en campo, la determinación del establecimiento y por último la evaluación de la eficacia del organismo introducido.

El control biológico clásico se practica desde hace más de 100 años con resultados dispares. En bastantes ocasiones se han conseguido éxitos espectaculares, mientras que en otros casos no ha funcionado. En un reciente trabajo recopilatorio sobre los factores que condicionan su éxito o fracaso (Stiling, 1993) se indica que los principales problemas son la falta de adaptación climática de los enemigos naturales introducidos, su interferencia con la fauna nativa (por depredación, parasitismo o competencia), la ausencia de fauna o flora nativa y razas de enemigos naturales poco adaptadas. Globalmente se considera que, de todos los proyectos de control biológico por introducción, han tenido algún éxito medible el 40%.

Uno de los proyectos más importantes y de mayor duración de control biológico clásico en plagas de cítricos a nivel mundial lo constituye el del piojo rojo de California *Aonidiella aurantii* Maskell (Homoptera: Diaspididae). Se inicia ya en 1900 cuando se introduce en California (donde *A. aurantii* había sido descubierto en 1870) el afelínido *Aphytis chrysomphali* (Mercet) procedente de la zona mediterránea, llegando a controlar bien a la plaga en la zona costera. En 1941 se introduce *Comperiella bifasciata* Howard (Hymenoptera: Encyrtidae) desde China, en 1948 *Aphytis lingnanensis* Compere también desde China, y en 1949 aparece espontáneamente una raza de un endoparásito que atacaba al piojo de San José y que se adapta a parasitar al piojo rojo de California, *Encarsia perniciosi* Tower (Hymenoptera: Aphelinidae). En 1956 se introduce el parasitoide quizá más eficaz de todos, *Aphytis*

*melinus* DeBach, adaptado a climas más cálidos y secos que las otras especies. Las especies de *Aphytis* son ectoparásitos, mientras que *C. bifasciata* y *E. perniciosi* son endoparásitos. En todas las zonas del mundo donde se cultivan cítricos suelen coexistir un endo y un ectoparásito, variando las especies según las condiciones climáticas. Así, en la zona costera de California predominan en la actualidad *A. lingnanensis* y *E. perniciosi*, mientras que en el interior se encuentran *A. melinus* y *C. bifasciata* (DeBach y Rosen, 1991).

CUADRO 1. Plagas introducidas en los cítricos españoles (Península e Islas Baleares) en los últimos 40 años

nº	Especie	Nombre común	Introducción		Plagas Actuales
			Año	Lugar	
1	<i>Aphis spiraecola</i>	pulgón verde	1964	Valencia	sí
2	<i>Aleurothrixus floccosus</i>	mosca blanca algodonosa	1968	Málaga	sí
3	<i>Panonychus citri</i>	ácaro rojo	1981	Alicante	sí
4	<i>Aonidiella aurantii</i>	piojo rojo de California	1986	Andalucía	sí
5	<i>Dialeurodes citri</i>	mosca blanca	1987	Alicante	
6	<i>Parabemisia myricae</i>	mosca blanca japonesa	1989	Málaga	
7	<i>Paraleyrodes minei</i>	mosca blanca	1990	Málaga	
8	<i>Ceroplastes floridensis</i>	caparreta blanca de Florida	1992	Málaga	
9	<i>Phyllocnistis citrella</i>	minador de hojas	1993	Málaga	sí
10	<i>Chrysomphalus aonidum</i>	piojo rojo de Florida	1999	Valencia	
11	<i>Eutetranychus orientalis</i>		2001	Málaga	
12	<i>Eutetranychus banksi</i>		2001	Huelva	
13	<i>Unaspis yanonensis</i>		2001	Girona	

Fuente: elaboración propia.

Las introducciones de insectos beneficiosos se realizan normalmente como respuesta a invasiones de nuevas plagas que han ido produciéndose con regularidad. En los últimos 40 años se calcula que se han introducido 13 nuevas plagas de cítricos en la España peninsular (cuadro 1). Se estima que la mitad de las especies de fitófagos que actualmente constituyen plagas más o menos importantes en nuestras parcelas de cítricos se han introducido en los últimos 40 años. Las especies invasoras han entrado en muchos casos sin los enemigos naturales que las controlan en su zona de origen, por lo que se ha recurrido a la importación de especies beneficiosas. En España el control biológico clásico se inicia a principios de siglo XX en el insectario de Burjassot, con la introducción de *Rodolia cardinalis* y *Cryptolaemus montrouzieri* para el control de cochinilla acanalada y cotonet respectivamente. Durante el primer tercio del siglo XX se registran cinco programas de introducción para combatir otras tantas plagas de cítricos (cuadro 2). En los años setenta se registra el

mayor ritmo de introducciones, con siete proyectos de introducción, destacando en 1973 las introducciones de *Cales noacki* y *Amitus spiniferus* para el control de la mosca blanca algodonosa. En los últimos años se llevan a cabo cuatro proyectos de introducción, destacando el que tal vez ha sido más intenso y costoso de todos, la introducción de varias especies de parasitoides para controlar el minador de hojas de cítricos, que ha culminado con el establecimiento permanente del eulófido *Citrostichus phyllocnistoides* (García-Marí *et al.*, 2004), el cual ha reducido de forma sustancial las poblaciones del minador.

CUADRO 2. Insectos útiles introducidos en España para el control biológico de plagas de cítricos. EC = éxito completo; ES = éxito sustancial; EP = éxito parcial; NE = no establecido

nº	Año	Enemigos naturales	Plaga	Procedencia	Resultado
1	1908	<i>Rhyzobius lophantae</i>	diaspídeos		EP
2	1922	<i>Rodolia cardinalis</i>	<i>Icerya purchasi</i>	Portugal, Francia, Italia	EC
3	1927	<i>Cryptolaemus montrouzieri</i> <i>Leptomastix dactylopii</i>	<i>Planococcus citri</i>	Francia	ES
4	1931	<i>Opius humilis</i> <i>Diachasma tryoni</i> <i>Diachasma fullawayi</i>	<i>Ceratitidis capitata</i>		NE
5	1936	<i>Comperiella bifasciata</i>	<i>Chrysomphalus dyctiospermi</i>		NE
6	1970	<i>Psytalia concolor</i>	<i>Ceratitidis capitata</i> , <i>Bactrocera oleae</i>	Francia	NE
7	1973	<i>Cales noacki</i> <i>Amitus spiniferus</i> <i>Eretmocerus paulistus</i>	<i>Aleurothrixus floccosus</i>	California	ES
8	1976	<i>Aphytis melinus</i>	<i>Chrysomphalus dictyospermi</i> <i>Aonidiella aurantii</i>	Francia	EP
9	1976	<i>Aphytis lepidosaphes</i>	<i>Lepidosaphes beckii</i>		EP
10	1978	<i>Lysiphlebus testaceipes</i>	<i>Aphis gossypii</i>	Francia	EP
11	1979	<i>Metaphycus helvolus</i> <i>Metaphycus bartletti</i>	<i>Saissetia oleae</i>	Francia	EP
12	1979	<i>Encarsia inquirenda</i>	<i>Insulaspis gloverii</i>	México	EC
13	1985	<i>Typhlodromus occidentalis</i>	<i>Tetranychus urticae</i>	California	NE
14	1990	<i>Aphytis lingnanensis</i>	<i>Aonidiella aurantii</i>		NE
15	1993	<i>Eretmocerus debachi</i>	<i>Parabemisia myricae</i>	Italia	EC
16	1996	<i>Ageniaspis citricola</i>	<i>Phyllocnistis citrella</i>	Australia, Marruecos	ES
	1996	<i>Quadrastichus</i> sp.		Italia	
	1996	<i>Semiela cher petiolatus</i>		Marruecos	
	1998	<i>Citrostichus phyllocnistoides</i>		China	

Fuente: Jacas *et al.*, 2000 y elaboración propia.

## INCREMENTO DE ENEMIGOS NATURALES

La liberación de poblaciones de enemigos naturales en el medio puede ser de dos tipos, inoculativa o inundativa. En el primer caso se introduce una población limitada y se espera a que se reproduzca en el campo para ejercer su acción. En las liberaciones inundativas son los propios individuos que se liberan los que van a controlar a la plaga.

Existen tanto en Europa como en América varias empresas que comercializan enemigos naturales para el control biológico de plagas de cítricos (Cranshaw *et al.*, 1996; Van Lenteren *et al.*, 1997). Quizás la especie más utilizada es *Cryptolaemus montrouzieri*, que se cría sobre su presa *Planococcus citri*, y éste a su vez se cría sobre brotes de patatas germinadas. Las tasas de liberación varían desde dos adultos por metro cuadrado introducidos dos veces con un intervalo de dos semanas a diez por metro cuadrado cuando se introducen una sola vez en focos de la plaga. Contra el mismo fitófago se comercializa también el parasitoide encírtido *Leptomastix dactylopii*, para el que se recomienda introducir cada dos semanas de una a dos avis-  
pas por metro cuadrado en infestaciones ligeras o elevadas respectivamente. Ambas especies se liberan desde hace muchos años en España por parte de servicios oficiales y desde hace algunos años también por particulares.

Otra especie que se cría en grandes cantidades en insectarios y se comercializa masivamente para el control del piojo rojo de California es *Aphytis melinus*. Se recomienda su liberación en niveles de 5 a 100 adultos por planta infestada. *Metaphycus helvolus* se comercializa para el control biológico de cóccidos lecánidos, por lo que realizarse de dos a tres liberaciones de 5 a 10 parasitoides por planta infestada a intervalos de dos a tres semanas. En nuestro país no existen, de momento, empresas dedicadas a la comercialización de estas especies.

## CONSERVACIÓN DE ENEMIGOS NATURALES

En el cultivo de los cítricos los enemigos naturales tienen gran importancia como agentes de control para evitar la multiplicación de las poblaciones de fitófagos y contribuyen de forma decisiva a evitar muchas plagas. Existen actualmente algunas plagas que causan perjuicios importantes al cultivo y deben aplicarse medidas de control de varios tipos para evitar sus daños, caso de la mosca de la fruta *C. capitata*, de los diaspíridos (en particular del piojo rojo de California *A. aurantii*) o de la araña roja *T. urticae* en clementinos, pero existen muchas más especies de insectos o ácaros fitófagos que son plagas solo de forma ocasional o son plagas potenciales, es decir, que causan daños muy reducidos que no justifican ninguna medida de control. La mayoría de estos fitófagos se mantienen a niveles bajos gracias al control biológico que ejercen los enemigos naturales establecidos en nuestras parcelas cultivadas. La estrategia de

conservación en control biológico incluye todas las acciones que se pueden realizar para permitir la acción de esta entomofauna autóctona beneficiosa.

Uno de los factores fundamentales para permitir la acción de los enemigos naturales en los cultivos de cítricos es el manejo adecuado de plaguicidas. Existen grandes diferencias en la selectividad de los productos fitosanitarios. Los plaguicidas pueden dar lugar a fenómenos de proliferación de plagas relacionados en parte con la eliminación de enemigos naturales. Existen plaguicidas que son selectivos por sí mismos y ello se determina mediante ensayos normalizados de campo y laboratorio, pero también los plaguicidas pueden hacerse selectivos por la forma de emplearlos. Para conseguir esta selectividad de uso se puede recurrir a emplear dosis reducidas, a aplicar formulados selectivos (los enemigos naturales son menos sensibles a productos sistémicos, microencapsulados, cebos o a los que actúan por ingestión), a alternar en el espacio o en el tiempo, a utilizarlos en épocas en que los enemigos naturales son menos sensibles o al empleo de razas de enemigos naturales resistentes a determinados plaguicidas. Mediante numerosos ensayos de campo y laboratorio se tiene actualmente una idea bastante precisa del impacto de los plaguicidas autorizados en el cultivo de los cítricos sobre nuestras principales especies de enemigos naturales (Grupo de Trabajo de Cítricos, 1995; Jacas-Miret y Garcia-Marí, 2001).

Otro método de conservación de enemigos naturales consiste en suministrarles alimentos y hábitats alternativos o suplementarios. Incluye el mantenimiento de una cubierta vegetal en las parcelas o en los márgenes, los setos vivos y el policultivo. En general estos métodos incrementan la diversidad y proporcionan diversos recursos como polen, néctar, melaza, refugio, microclimas adecuados o hábitats para presas alternativas. En general las cubiertas vegetales pueden tener efectos positivos o negativos sobre las plagas y sus enemigos naturales dependiendo del tipo de cubierta vegetal y de la zona en que nos encontremos.

Por último, se pueden crear microclimas favorables a los enemigos naturales mediante el manejo del agua, del suelo o con cortavientos. El polvo es un factor negativo desde el punto de vista del control biológico así como las hormigas, que deben eliminarse de los cultivos ya que protegen a los fitófagos productores de melaza (DeBach y Rosen, 1991). En Australia y Sudáfrica se ha comprobado que los cortavientos de *Eucalyptus torelliana* F. Muell. ayudan al control biológico de ácaros fitófagos con ácaros fitoseidos (Grout y Stephen, 1995).

## BIBLIOGRAFÍA

- ALVIS, L. (2003). *Identificación y abundancia de artrópodos depredadores en los cultivos de cítricos valencianos*. Tesis Doctoral. Universidad Politécnica de Valencia. Valencia. 189 pp.

- CRANSHAW, C.; SCLAR, D. C. y COOPER, D. (1996). A review of 1994 pricing and marketing by suppliers of organisms for biological control of arthropods in the United States. *Biological Control*, 6: 291-296.
- DEBACH, P. y ROSEN, D. (1991). *Biological Control by Natural Enemies*. Cambridge University Press. Cambridge, 440 pp.
- DEL RIVERO, J. M. (1996). *Cítricos en la memoria. Crónicas y estudios*. Ed. Servicio de Publicaciones. Universidad Politécnica de Valencia, 418 pp.
- GARCIA-MARÍ, F.; SANTABALLA, E.; FERRAGUT, F.; MARZAL, C.; COLOMER, P. y COSTA-COMELLES, J. (1984). El ácaro rojo *Panonychus citri* (McGregor): Incidencia en la problemática fitosanitaria de nuestros agrios. *Bol. Ser. Plagas*, 9: 191-218.
- GARCIA-MARÍ, F.; COSTA COMELLES, J. y FERRAGUT, F. (1994). Manejo de plagas de ácaros en cítricos. *Phytoma España*, 58: 63-72.
- GARCIA-MARÍ, F.; VERCHER, R.; COSTA-COMELLES, J.; MARZAL, C. y VILLALBA, M. (2004). Establishment of *Citrostichus phyllocnistoides* (Hymenoptera: Eulophidae) as a biological control agent for the citrus leafminer *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae), in Spain. *Biological Control*, 29: 215-226.
- GROUT, T. y STEPHEN, P. R. (1995). New windbreak tree contributes to integrated pest management of citrus. *Citrus J.*, 5: 26-27.
- GRUPO DE TRABAJO DE CÍTRICOS. (1977). La lucha en España contra la mosca blanca de los cítricos *Aleurothrixus floccosus* Mask. *Bol. Ser. Plagas*, 3: 87-100.
- GRUPO DE TRABAJO DE CÍTRICOS. (1996). *Informe de la reunión. Reuniones anuales de los grupos de trabajo fitosanitarios*. Ed. Ministerio de Agricultura. Madrid. pp. 15-31.
- HERMOSO DE MENDOZA, A.; PÉREZ, E.; CARBONELL, E. A. y REAL, V. (1998). Sampling methods to establish percentages of species and population patterns in citrus aphids. En: *Aphids in natural and managed ecosystems. Proceedings, 5<sup>th</sup> International Symposium on Aphids*. Eds. J. M. NIETO y A. G. DIXON, 561-568 pp. Universidad de León, León (España).
- JACAS-MIRET, J. A. y GARCIA-MARÍ, F. (2001). Side-effects of pesticides on selected natural enemies occurring in citrus in Spain. *IOBC/wprs Bulletin*, 24: 103-112.
- JACAS, J.; GARRIDO, A.; HERMOSO DE MENDOZA, A. y VERDÚ, M. J. (2000). La estación de cuarentena para la introducción de insectos útiles del IVIA: un paso adelante en la protección de nuestros cultivos. *Comunitat Valenciana Agrària*, 16: 57-62.

- LLORENS, J. M. (1990a). *Homóptera I. Cochinillas de los cítricos y su control biológico*. Ediciones PISA. Alicante, 260 pp.
- LLORENS, J. M. (1990b). *Homóptera II. Pulgones de los cítricos y su control biológico*. Ediciones PISA. Alicante, 170 pp.
- LLORENS, J. M. y GARRIDO, A. (1992). *Homóptera III. Moscas blancas y su control biológico*. Ediciones PISA. Alicante, 203 pp.
- MELIÀ, A. y BLASCO, J. (1980). Los cóccidos perjudiciales a los cítricos de Castellón y sus parásitos. *Fruits*, 35: 551-554.
- RODRIGO, E.; TRONCHO, P. y GARCIA-MARÍ, F. (1996). Parasitoids (Hym.: Aphelinidae) of three scale insects (Hom.: Diaspididae) in a citrus grove in Valencia, Spain. *Entomophaga*, 41 (1): 77-94.
- SOTO, A.; OHLENSCHLÄGER, F. y GARCIA-MARÍ, F. (1999). Situación del control biológico de las moscas blancas de cítricos *Aleurothrixus floccosus*, *Parabemisia myricae* y *Dialeurodes citri* en la Comunidad Valenciana. *Levante Agrícola*, 349: 475-484.
- STARY, P.; MICHELENA, J. M. y MELIÀ, A. (1985). *Lysiphlebus testaceipes* Cresson 1880. Un parásito de áfidos y agente de control biológico en España (Hym.: Aphididae). *Graellsia*, 41: 131-135.
- STILING, P. (1993). Why do natural enemies fail in Classical biological control programs? *American Entomologist*, Spring: 31-37.
- VAN DRIESCHE, R. G. y BELLOWES, T. S. (1996). *Biological control*. Chapman & Hall. Nueva York (EEUU), 539 pp.
- VAN LENTEREN, J. C.; ROSKAM, M. M. y TIMMER, R. (1997). Commercial mass production and pricing of organisms for biological control of pests in Europe. *Biological Control*, 10: 143-149.
- VERCHER, R.; GARCIA-MARÍ, F.; COSTA-COMELLES, J.; MARZAL, C. y GRANDA, C. (2000). Importación y establecimiento de parásitos del minador de hojas de cítricos *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae). *Bol. San. Veg. Plagas*, 26: 577-591.
- VIGGIANI, G. (1988). Citrus pests in the Mediterranean Basin. *Proceedings of the Sixth International Citrus Congress*. Vol. 3. Balaban Publishers, Rehovot, Israel. 1067-1073 pp.





# CONTROL BIOLÓGICO DE PLAGAS EN CULTIVOS HORTÍCOLAS DE INVERNADERO

ROSA GABARRA AMBERT

Departamento de Protección Vegetal, Centro de Cabrils,  
Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentàries,  
Cra. de Cabrils s/n, 08348 Cabrils (Barcelona)

rosa.gabarra@irta.es

En España, los cultivos hortícolas se producen tanto al aire libre como bajo invernadero y su producción está localizada principalmente en el litoral mediterráneo. La mayor superficie de cultivos bajo invernadero se halla en el sudeste español. Los invernaderos que se utilizan son, en general, de plástico con aberturas laterales y/o cenitales y sin calefacción. Tienen una serie de características comunes que marcan de una manera muy importante el control de plagas y la utilización del control biológico. Entre otras cabe destacar las siguientes: permanecen abiertos la mayor parte del día a partir de la primavera, lo que facilita un intercambio continuo de insectos; el cultivo se hace sin interrupción a lo largo del año con especies sensibles a las diferentes plagas polífagas. A menudo, estos cultivos de invernadero coexisten con cultivos hortícolas al aire libre que también son huéspedes de las mismas plagas y enemigos naturales.

Las importantes pérdidas de cultivo que han provocado, en los últimos años, diferentes virus transmitidos por trips y moscas blancas (*Tomato Spotted Wilt Virus* (TSWV) o virus del bronceado del tomate y por el complejo del *Tomato Yellow Leaf Curl Disease* (TYLCD) o virus de la cuchara, respectivamente, han marcado profundamente la estrategia de control de plagas en estos cultivos. La necesidad de disminuir al máximo las poblaciones de insectos vectores ha llevado a un incremento muy importante tanto del número de tratamientos insecticidas como de materias activas que se han utilizado. Esta elevada presión de tratamientos ha producido la aparición de numerosas resistencias a insecticidas y ha conducido a la selección de plagas con mayor capacidad para desarrollar resistencias, como parece que sería el caso de *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Homoptera: Aleyrodidae).

## CONTROL BIOLÓGICO DE PLAGAS

Para la aplicación eficiente del control biológico de plagas en cultivos de invernadero es necesario primero conocer cuáles son las plagas principales y secundarias que aparecen en el cultivo cuando no está sometido a continuos tratamientos insecticidas. También es necesario tener unos conocimientos básicos de su biología así como de los daños que producen en el cultivo. Por ejemplo, la mosca blanca *B. tabaci* succiona más savia, produce más melaza y transmite un mayor número de virus que la mosca blanca de los invernaderos *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) (Homoptera: Aleyrodidae), el lepidóptero *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae), que penetra en los frutos de tomate, causa mayores daños que *Chrysodeixis chalcites* (Esper) (Lepidoptera: Noctuidae) que se alimenta sobretodo de hojas.

También es necesario conocer los depredadores, parasitoides y entomopatógenos que pueden estar asociados a las diferentes plagas. Este conocimiento puede permitir conservar la fauna útil que ha colonizado el invernadero y determinar si es necesario o no hacer sueltas adicionales. Las diferentes plagas van apareciendo a lo largo del cultivo y, por lo tanto, debe hacerse una evaluación periódica de la abundancia relativa y de la distribución en el invernadero de cada plaga así como de la fauna útil asociada a la misma. Esta evaluación es la que permite tomar las decisiones necesarias para aplicar el control biológico, entre otras tendríamos, enemigo natural a inocular o aumentar, dosis a utilizar, como distribuirla etc. Entre la bibliografía que puede aportar información sobre la identificación y la biología de las plagas y de los enemigos naturales en los diferentes cultivos hortícolas cabe destacar las siguientes referencias y páginas web: Malais y Ravensberg (1991), Albajes *et al.* (1999), Rice *et al.* (2001), <http://desaveal.ual.es/sifa/>, <http://www.biobest.es>, <http://www.koppert.nl>, <http://www.syngenta-bioline.co.uk>.

Cuando en un cultivo coexisten plagas que pueden controlarse mediante el control biológico con otras que sólo pueden controlarse mediante tratamientos fitosanitarios es necesario escoger una materia activa que sea eficaz en el control y que tenga el menor efecto residual sobre la fauna útil. Esta misma precaución debe tenerse cuando se utilizan insectos polinizadores en el cultivo. La información respecto al efecto residual sobre la fauna útil de la mayor parte de los fitosanitarios que pueden utilizarse en estos cultivos puede encontrarse en <http://www.biobest.es>, <http://www.koppert.nl> y <http://www.syngenta-bioline.co.uk>

La utilización eficaz del control biológico de las plagas que pueden afectar a un determinado cultivo hortícola protegido debe ir asociada a un programa de Control Integrado de Plagas (CIP). Éste debe tener en cuenta diferentes aspectos como son: la aplicación de métodos culturales adecuados, la utilización de las variedades existentes resistentes a virus y la aplicación de tratamientos con productos químicos

específicos (naturales o de síntesis) para el control de las plagas para las que no hay métodos biológicos disponibles. También es necesario tener definidos los métodos de diagnóstico y seguimiento adecuados para cada plaga y sus enemigos naturales. Estos programas CIP pueden ser diferentes según el cultivo, el ciclo e incluso el área geográfica.

## MÉTODOS CULTURALES

Para el control de plagas en cultivos de invernadero es necesario aplicar todos los métodos culturales disponibles que nos permitan evitar la proliferación de insectos plaga y los virus que éstos son capaces de transmitir; estas buenas prácticas agronómicas son imprescindibles cuando se aplica el control biológico.

Los invernaderos antes de iniciar el cultivo deben estar limpios de plantas y restos vegetales. Si en el cultivo precedente ha habido poblaciones importantes de insectos que pupan en el suelo (por ejemplo trips, minador, algunos noctuidos) debe evitarse su supervivencia mediante un período libre de cultivo, la limpieza o el arado del suelo. También es importante eliminar las malas hierbas cercanas a los invernaderos que puedan hospedar insectos plaga o que sean plantas reservorio de virus, para evitar colonizaciones tempranas y fuentes de inóculo. En el caso de que los márgenes de los invernaderos se estén utilizando para la conservación de fauna útil, será necesario evaluar el margen para determinar si efectivamente los beneficios de su mantenimiento son superiores al riesgo en que se incurre. Otro elemento importante es utilizar sólo plantel libre de plagas y de virus y, siempre que sea posible, con pocos residuos de insecticidas. Una vez instalado el cultivo debe evitarse levantar cultivos adyacentes afectados por las plagas y los virus que pueden atacar al nuevo cultivo. También es importante hacer una buena gestión del abonado, teniendo en cuenta que las plantas excesivamente nitrogenadas facilitan la proliferación de algunas plagas (por ejemplo moscas blancas). Otro elemento a tener en cuenta es la necesidad de sacar del invernadero y destruir los brotes, hojas viejas y frutos dañados hasta el final del cultivo. Uno de los mecanismos más eficientes que hay para el control de algunos virus es la eliminación de las plantas afectadas, ya que constituyen una importante fuente de inóculo. Un factor importante en la sanidad vegetal de un cultivo de invernadero es una buena gestión del clima y la ventilación, que puede disminuir la proliferación de enfermedades y por lo tanto la aplicación de funguicidas para su control. Hay que tener en cuenta que muchos funguicidas son tóxicos para la fauna útil.

La colocación de mallas en los puntos de ventilación de los invernaderos se está utilizando para evitar la entrada de *B. tabaci*. Su uso puede ser recomendable en zonas de alta incidencia de virus, pero en este caso es importante asegurarse que su tamaño realmente evita la entrada del vector. Cuando se utilicen, deben cumplirse

aún más las buenas prácticas culturales dado que debe recordarse que en zonas de clima suave las plagas normalmente entran y salen de los invernaderos, en cambio con las mallas son incapaces de salir. Por lo tanto, si las introducimos con el plantel o estaban en el suelo del invernadero no podrán salir y por lo tanto pueden causar más daños. Cuando se utilizan mallas es importante mantener las puertas cerradas y a ser posible utilizar doble puerta de malla.

Otro aspecto a considerar es que en el área mediterránea habitualmente hay importantes poblaciones de fauna útil que colonizan espontáneamente los invernaderos y que facilitan el control biológico de las plagas. La colocación de mallas en las aberturas puede impedir la entrada de estos enemigos naturales y deberá, por lo tanto, tenerse en cuenta a la hora de calcular las dosis de fauna útil. En consecuencia, en aquellos cultivos en los que no es de esperar una entrada importante de insectos vectores de virus no es recomendable la utilización de mallas ya que al impedir la entrada de los enemigos naturales de mayor tamaño que la luz de la malla se está dificultando el control biológico de algunas plagas.

## **PLAGAS Y SUS ENEMIGOS NATURALES**

En el cuadro 1 se indican las principales plagas que afectan a los diferentes cultivos hortícolas de invernadero y los enemigos naturales asociados a las mismas según el cultivo. También se indica el grado de utilización del control biológico.

### **Moscas blancas**

Las moscas blancas *B. tabaci* y *T. vaporariorum* son dos de las principales plagas en cultivos protegidos. *Bemisia tabaci*, es la especie que actualmente produce más daños, sobre todo porque es el vector de importantes virus, como el de la cuchara en tomate y diferentes virus que afectan a cucurbitáceas. Esta mosca blanca está presente en todo el litoral mediterráneo y coexiste con la mosca blanca de los invernaderos, *T. vaporariorum*, en algunas zonas y cultivos. La proporción de ambas en cultivo de tomate es variable siendo *T. vaporariorum* la especie más abundante en el nordeste español y *B. tabaci* la más abundante en el sudeste. Las poblaciones de *B. tabaci* que afectan a los cultivos hortícolas y ornamentales protegidos son resistentes a numerosos insecticidas.

### ***Enemigos naturales***

Los parasitoides más abundantes sobre moscas blancas son *Eretmocerus mundus* Mercet (Hymenoptera: Aphelinidae) sobre *B. tabaci* y *Encarsia spp.* (Hymenoptera: Aphelinidae) sobre *T. vaporariorum*.

CUADRO 1. Plagas principales de los cultivos hortícolas y los enemigos naturales más utilizados en el litoral mediterráneo mediante inoculación (1), conservación (2) o aumentación

(3). En la columna de cultivos está indicado el grado de utilización del control biológico \* poco utilizado, \*\* medianamente utilizado y \*\*\* muy utilizado. También se indica la zona del litoral español en el que se utiliza. Sudeste (a), Nordeste (b), ambas zonas (c)

Especies plaga	Enemigos naturales utilizados				Cultivos
	Parasitoides	Depredadores específicos	Depredadores polífagos		
Moscas blancas	<i>Bemisia tabaci</i>	<i>Eretmocerus mundus</i> <sup>1,2,3</sup> <i>Encarsia pergandiella</i> <sup>2</sup>		<i>Macrolophus caliginosus</i> <sup>1,2,3</sup> <i>Nesidiocoris tenuis</i> <sup>2</sup> <i>Dicyphus tamaninii</i> <sup>2</sup> <i>Orius spp.</i> <sup>2</sup>	Tomate, ***, b Cucurbitáceas, *, c Pimiento, ***, a Judía, *, c Berenjena, *, c
	<i>Trialeurodes vaporariorum</i>	<i>Encarsia formosa</i> <sup>1</sup> <i>Encarsia pergandiella</i> <sup>2</sup>			
Trips	<i>Frankliniella occidentalis</i>		<i>Amblyseius cucumeris</i> <sup>1</sup>	<i>Orius laevigatus</i> <sup>1,2,3</sup> <i>O. majusculus</i> <sup>1,2,3</sup> <i>O. albidipennis</i> <sup>1,2,3</sup> <i>M. caliginosus</i> <sup>2</sup>	Pimiento, ***, a Cucurbitáceas, *, c Berenjena, *, c Judía, *, c
Minadores de hoja	<i>Liriomyza bryoniae</i> <i>L. trifolii</i> <i>L. huidobrensis</i>	<i>Diglyphus isaea</i> <sup>1,2,3</sup> <i>Dacnusa sibirica</i> <sup>1</sup> <i>Chrysonotomyia formosa</i> <sup>2</sup>		<i>M. caliginosus</i> <sup>2,3</sup>	Tomate, ***, b Judía, *, c
	Pulgones	<i>Macrosiphum euphorbiae</i> <i>Myzus persicae</i>	<i>Aphidius ervi</i> <sup>1,2,3</sup> <i>Aphelinus abdominalis</i> <sup>2,3</sup>	<i>Aphidoletes aphidimyza</i> <sup>2,3</sup>	<i>M. caliginosus</i> <sup>1,2,3</sup>
<i>Aphis gossypii</i>		<i>Aphidius colemani</i> <sup>1,2,3</sup> <i>Lysiphlebus testaceipes</i> <sup>2</sup>	<i>A. aphidimyza</i> <sup>2,3</sup>	<i>Orius spp.</i> <sup>2</sup>	Cucurbitáceas, *, c Pimiento, *, c
<i>Nasonovia ribisnigri</i>			Sírfidos <sup>2</sup> <i>Orius spp.</i> <sup>2</sup> Míridos <sup>2</sup>		Lechuga, *, c
Lepidópteros	<i>Helicoverpa armigera</i> <i>Chrysodeixis chalcites</i> <i>Plusia gamma</i>	<i>Trichogramma evanescens</i> <sup>2</sup> <i>Telenomus sp.</i> <sup>2</sup> <i>Cotesia spp</i>		<i>M. caliginosus</i> <sup>1,2,3</sup> <i>D. tamaninii</i> <sup>2</sup>	Tomate, ***, b Berenjena, *, c Pimiento, *, c Lechuga, *, c Judía, *, c
	<i>Spodoptera exigua</i>				Pimiento Cucurbitáceas
Acaros	<i>Tetranychus urticae</i>		<i>Phytoseiulus persimilis</i> <sup>1,2,3</sup> <i>Neoseiulus californicus</i> <sup>1,2</sup> <i>Feltiella acarisuga</i> <sup>1</sup>	<i>M. caliginosus</i> <sup>2,3</sup>	Cucurbitáceas, *, c Pimiento, ***, a Judía, *, c
	<i>Aculops lycopersici</i>				Tomate
	<i>Polyphagotarsonemus latus</i>				Pimiento

*Eretmocerus mundus* es autóctono y específico de *B. tabaci*. Se han encontrado importantes poblaciones naturales en invernaderos de tomate, pepino, pimiento y ornamentales, incluso en invernaderos en los que se habían aplicado múltiples tratamientos insecticidas. Otras especies autóctonas que parasitan ambas especies de moscas blancas son *E. tricolor*, *E. lutea* y *E. transvena*. También está ampliamente instalado en nuestra área el parasitoide de origen exótico *E. pergandiella*, que fue introducido en el Mediterráneo a principios de los 80, y que también parasita ambas especies de mosca blanca.

Los depredadores polífagos *Macrolophus caliginosus* (Wagner), *Dicyphus taminii* Wagner y *Nesidiocoris tenuis* (Reuter) (Heteroptera: Miridae) consumen todos los estados de desarrollo de ambas especies de moscas blancas y ejercen un buen control de las dos especies de mosca blanca. En el nordeste español, el depredador *M. caliginosus* coloniza espontáneamente los invernaderos de tomate sometidos a pocos tratamientos insecticidas. Su conservación o su aumentación, cuando las poblaciones naturales son insuficientes, permiten controlar las poblaciones de moscas blancas tanto en cultivos de primavera como de otoño. Los antocóridos del género *Orius* también colonizan naturalmente los invernaderos de pimiento y cucurbitáceas y son capaces de alimentarse de todos los estados de desarrollo de ambas moscas blancas. En algunos invernaderos también se han observado poblaciones abundantes de adultos de *Coenosia spp.* (Díptera: Muscidae) que son depredadores polífagos capaces de depredar sobre los adultos de moscas blancas y minadores. Aunque su actividad es muy vistosa, poco se conoce del impacto final de este depredador sobre la plaga.

*Eretmocerus mundus* se produce comercialmente y, con la introducción de este parasitoide, se ha conseguido un buen control de *B. tabaci* en cultivo de tomate y pimiento. Aunque también se comercializa la especie exótica *E. eremicus*, que se ha introducido en diferentes invernaderos de nuestro país, los resultados disponibles indican que esta especie puede ser desplazada por las poblaciones naturales de *E. mundus* (Stansly et al., 2004). Aunque *E. eremicus* tiene la capacidad de parasitar ambas especies de moscas blancas, parece poco recomendable su inoculación dado que no se conoce la interacción que puede tener con las poblaciones autóctonas de *E. mundus*.

Para el control de *T. vaporariorum* se ha utilizado durante muchos años la inoculación de *E. formosa* y aún está siendo utilizada en invernaderos del norte de Europa. En el nordeste español se utilizó en invernaderos de tomate hasta mediados de los años 90 para el control de *T. vaporariorum*, aunque es capaz de parasitar *B. tabaci* su eficacia es mucho menor. Dejó de utilizarse debido a que las poblaciones naturales del parasitoide exótico *E. pergandiella* colonizaban los invernaderos produciendo una elevada mortalidad de *E. formosa*, tanto mediante la alimentación como mediante la producción de machos. Esta interacción producía una disminución de la eficacia del control biológico de la mosca blanca. Aunque *E. pergandie-*

lla también compite con *E. mundus* no se conoce el efecto de esta interacción sobre el control de la plaga.

El depredador polífago *M. caliginosus* está disponible comercialmente y se utiliza su introducción tanto inoculativa como aumentativa para el control de ambas moscas blancas en cultivos de tomate, cucurbitáceas y berenjena. La mayor eficacia de este depredador se alcanza después de la primera generación en el cultivo, este período puede ser en primavera de 5 a 8 semanas, por este motivo se recomienda su introducción cuando las poblaciones de la plaga son muy bajas. En algunos cultivos, épocas del año o densidad inicial de plaga elevada se recomienda su utilización conjuntamente con sueltas adicionales de un parasitoide, *E. formosa* para *T. vaporariorum* y *E. mundus* para *B. tabaci*.

Diferentes especies de *Orius* son capaces de alimentarse de moscas blancas, su utilización va ligada al control de trips y no se conoce la importancia del control que ejercen sobre moscas blancas en los diferentes cultivos y a las diferentes densidades de insectos plaga.

Los hongos entomopatógenos *Verticillium lecanii* (A. Zimmerm.) Viégas, *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin y *Paecilomyces fumosoroseus* (Wize) Brown & Smith también se comercializan para el control de moscas blancas. Su eficacia va muy ligada a humedades relativas elevadas lo que hace que a veces se obtengan resultados muy variables. Por otro lado, la compatibilidad de estos entomopatógenos con parasitoides y depredadores es poco conocida.

## Trips

*Frankliniella occidentalis* (Pergande) (Thysanoptera: Thripidae) es plaga en numerosos cultivos hortícolas. En algunos causa daños directos sobre todo en pimiento y en cucurbitáceas, especialmente en pepino. En otros como tomate y lechuga es más importante su acción como transmisor del virus del bronceado del tomate que como daño directo.

## Enemigos naturales

Aunque se han encontrado algunos parasitoides sobre *F. occidentalis*, éstos en general tienen poca importancia. Los depredadores polívoros del género *Orius*: *O. albidipennis* (Reuter), *O. laevigatus* (Fieber), *O. majusculus* (Reuter), *O. minutus* (L) y *O. niger* (Wolf) (Heteroptera: Anthocoridae) son los enemigos naturales más eficaces en el control de esta plaga. De estos depredadores se hallan importantes poblaciones naturales en cultivos de pimiento, cucurbitáceas, fresa y lechuga sometidos a pocos tratamientos insecticidas de amplio espectro. La abundancia y distribución de las diferentes especies de estos depredadores



depende de la época del año, de la intensidad de los tratamientos insecticidas aplicados, del área geográfica y del cultivo. También existen abundantes poblaciones de *Neoseilus cucumeris* (Oudemans) y *Amblyseius barkeri* (Hughes) (Mesostigmata: Phytoseiidae), estos ácaros fitoseidos depredan sobre todo larvas de primer estadio de desarrollo y son eficaces en el control de los trips.

En la actualidad se están produciendo comercialmente *O. laevigatus*, *O. majusculus* y *O. albidipennis* así como el fitoseido *N. cucumeris*. En cultivo de pimiento de invernadero se está aplicando el control biológico de trips mediante la inoculación conjunta de *O. laevigatus* y de *N. cucumeris* en unas 2000 ha de invernadero del sudeste español (Castañé, 2002). Los depredadores polífagos *M. caliginosus* y *D. tamaninii* también se alimentan de trips y aunque su utilización normalmente se asocia al control de moscas blancas, cuando están instalados en un cultivo de tomate impiden la proliferación de trips.

### **Minadores de hoja**

En Europa están citadas tres especies en cultivos hortícolas: *Liriomyza bryoniae* (Kantelbach), *L. trifolii* (Burguess) y *L. huidobrensis* (Blanchard) (Diptera: Agromyzidae). Actualmente la especie que causa más daños es *L. bryoniae* que es una plaga importante sobre todo en cultivo de tomate. Una característica importante de los minadores de hoja es que el tiempo de desarrollo de la larva es muy corto lo que dificulta su control tanto químico como biológico.

### **Enemigos naturales**

El parasitoide autóctono *Diglyphus isaea* (Walker) es muy abundante y eficaz en el control de *Liriomyza*. También en el sudeste español es abundante el parasitoide *Chrysonotomyia formosa* (Westwood) (Hymenoptera: Eulophidae). Los adultos de *D. isaea* están disponibles comercialmente y con dosis relativamente bajas puede obtenerse un buen control de la plaga. Aunque algunas empresas comercializan *D. isaea* mezclado con *Dacnusa sibirica* Telenga, no parece recomendable la utilización de esta mezcla dada la falta de información que hay sobre la eficacia de la utilización de *D. sibirica* en el área mediterránea. En cultivo de tomate en el nordeste español, durante muchos años se ha utilizado la conservación y la aumentación de *D. isaea* cuando las poblaciones naturales del parasitoide eran bajas. En los últimos años se ha observado una disminución de las poblaciones naturales de *D. isaea* que podría ser debida al aumento de las poblaciones naturales del depredador polífago *M. caliginosus* que depreda las larvas del minador y posiblemente también las parasitadas por *D. isaea*.

## **Pulgones y sus enemigos naturales**

Sobre los cultivos hortícolas se pueden encontrar diferentes especies de pulgones (Homoptera: Aphidae), las más importantes son *Macrosiphum euphorbiae* (Thomas) y *Myzus persicae* (Sulzer) en tomate, *Aphis gossypii* Glover en cucurbitáceas y pimiento y *Nasonovia ribisnigri* (Mosley) en lechuga. En cultivos hortícolas con pocos tratamientos insecticidas de amplio espectro se encuentran importantes poblaciones naturales de parasitoides. Los más abundantes son *Aphidius matricariae* Haliday, *A. ervi* (Haliday) (Hymenoptera: Braconidae) y *Aphelinus abdominalis* (Dalman) (Hymenoptera: Aphelinidae) en tomate y *Aphidius spp.* y *Lisipilebus testaceipes* Cresson (Hymenoptera: Braconidae) sobre *A. gossypii* en cultivos de cucurbitáceas. Sobre *N. ribisnigri* se han hallado algunos parasitoides, pero parecen poco eficaces. Un problema importante que entorpece la utilización de parasitoides en el control de pulgones es la colonización espontánea de diferentes especies de hiperparasitoides que a menudo ocurre a principios de verano y que reduce las poblaciones de parasitoides primarios. Comercialmente pueden adquirirse diferentes especies de parasitoides de pulgones, cabe destacar por su eficacia *Aphidius colemani* (Haliday) para el control de *A. gossypii*. También se hallan importantes poblaciones espontáneas del depredador *Aphidoletes aphidimyza* (Rondani) (Diptera: Cecidomyiidae) en cultivos de solanáceas y cucurbitáceas. Este depredador se comercializa en estado de pupa, en cultivos de cucurbitáceas se recomienda su utilización conjuntamente con *A. colemani*. En cultivo de lechuga los enemigos naturales más abundantes son los coccinélidos, los sírfidos y los antocóridos. Debido a su ciclo de cultivo tan corto, parece poco viable realizar introducciones de enemigos naturales. En este sentido parece más adecuado para optimizar la instalación de depredadores la preparación de márgenes atractivos para estos enemigos naturales y favorecer así la colonización natural.

Los míridos *M. caliginosus* y *D. tamaninii* también se alimentan de pulgones y pueden completar su ciclo de desarrollo alimentándose sólo de estas presas. Sin embargo, no suelen inocularse para el control de pulgones, aunque una vez instalados en el cultivo son capaces de evitar la proliferación de los focos de pulgón.

## **Lepidópteros y sus enemigos naturales**

Las especies de lepidópteros que causan mayores daños en cultivos hortícolas son los noctuidos *Helicoverpa armigera* (Hübner), especialmente en tomate, y *Spodoptera exigua* (Hübner), especialmente en pimiento. El control de estas dos especies resulta especialmente difícil dada su capacidad de penetrar en el fruto. Se hace, por lo tanto, imprescindible llevar a cabo un buen seguimiento de los huevos y larvas de primeros estadios para poder aplicar no sólo control biológico sino también para realizar un control químico eficaz. También causan daños los noctuidos

plusinos *Chrysodeixis chalcites* (Esper) y *Autographa gamma* (L.) aunque son mucho más fáciles de controlar ya que se alimentan casi exclusivamente de hoja.

Los enemigos naturales más abundantes de estas especies de lepidópteros plaga son los parasitoides de huevos *Trichogramma evanescens* (Westwood) (Hymenoptera: Trichogrammatidae) y *Telenomus spp.* (Hymenoptera: Scelionidae). Los porcentajes de parasitismo natural sobre huevos de *H. armigera* y de *C. chalcites* puede llegar a ser muy importantes. Por ejemplo, superiores al 80% en los meses de agosto septiembre en cultivos de tomate al aire libre en los que se aplicaba un programa de control integrado. Sobre larvas, el parasitismo natural normalmente es muy inferior y las especies de parasitoides más comunes son *Itoplectis spp.* (Hymenoptera: Ichneumonidae) y *Cotesia spp.* (Hymenoptera: Braconidae).

*Macrolophus caliginosus* también es un importante depredador de huevos de lepidópteros y en campos con poblaciones importantes de este depredador puede llegar a encontrarse hasta el 70% de huevos de *H. armigera* depredados. Sin embargo, cuando hay abundancia de diferentes plagas sobre el mismo cultivo es muy difícil poder predecir la capacidad de control de estos depredadores polípagos sobre *H. armigera*, dado que los huevos están muy dispersos en la planta, tienen una duración del desarrollo muy corto y este lepidóptero es capaz de causar pérdidas elevadas de cosecha con niveles poblacionales bajos (Gabarra *et al.*, 2000).

También es común encontrar en diferentes cultivos hortícolas larvas de lepidópteros muertas por virus y bacterias, especialmente en otoño, sin embargo, su presencia es muy variable.

Aunque se han hecho diferentes ensayos de eficacia de la introducción inundativa de *T. evanescens* para el control de *H. armigera*, este método de control no se está aplicando actualmente. La aplicación de tratamientos con *Bacillus thuringiensis* (Berliner) es el método de control biológico más eficaz para el control de *H. armigera* y otros plusinos. Para obtener un buen control con este tratamiento es imprescindible conseguir un buen recubrimiento de la planta y aplicarlo cuando están presentes los primeros estadios de desarrollo del lepidóptero. La adición de mojanteres en el caldo parece que incrementa su eficacia y persistencia. En cambio, para el control de *S. exigua* la eficacia de *B. thuringiensis* es mucho menor. (ver capítulo 4).

### Ácaros y sus enemigos naturales

Los ácaros que causan daños más importantes en cultivos hortícolas son las arañas rojas *Tetranychus spp.* (Prostigmata: Tetranychidae), especialmente en cultivos de cucurbitáceas y en algunas solanáceas, el ácaro del bronceado *Aculops lycopersici* (Masse) (Prostigmata: Eriophyidae), que afecta sobre todo a tomate y cuya importancia se ha incrementado en los últimos años, y *Polyphagotarsonemus latus* (Banks) (Prostigmata: Tarsonemidae) que afecta sobre todo a pimiento.

Para obtener un buen control de estos ácaros es muy importante la localización de los primeros focos en el cultivo. En el caso de *A. lycopersici* y *P. latus* la manera más fácil de detectarlos por la coloración pardusca que toman los tallos, las hojas y los frutos en el caso de *A. lycopersici* y por la deformación de los brotes en el caso de *P. latus*.

Los enemigos naturales autóctonos que depredan *Tetranychus spp.* son los fitoseidos *Amblyseius californicus* (Mc Gregor) y *Phytoseiulus persimilis* (Athias-Henriot) (Mesostigmata: Phytoseiidae) y el depredador específico *Feltiella acarisuga* (Vallot) (Diptera: Cecidomyiidae). Los depredadores polífagos también ejercen una importante acción sobre la araña roja y, aunque es difícil cuantificar su acción sobre esta plaga se ha observado un aumento brusco de sus poblaciones cuando desaparecen por ejemplo las poblaciones de *M. caliginosus*.

Diferentes empresas comercializan *A. californicus*, *P. persimilis* y *F. acarisuga*, en algunos cultivos y con determinados niveles de daños se recomienda utilizar una especie o más de una dependiendo de los niveles de plaga. A menudo se recomienda hacer la inoculación en los primeros focos. *Phytoseiulus persimilis* es muy sensible a la humedad relativa baja, por lo que no se aconseja su utilización cuando ésta es inferior al 60%. En cultivo de tomate no se consigue un buen control con este depredador y algunas empresas comercializan una raza de *P. persimilis* especial para tomate con el que parece que se obtienen mejores resultados (Malais y Ravensberg, 1991).

Por lo que respecta a *A. lycopersici* y *P. latus*, ni se conocen bien sus enemigos naturales autóctonos ni actualmente están disponibles enemigos naturales eficaces para su control por lo que cuando aparecen síntomas de estas plagas se recomiendan tratamientos con acaricidas específicos poco tóxicos para los enemigos naturales.

## DEPREDADORES POLÍFAGOS

Como hemos visto en los apartados anteriores los depredadores polífagos, sobre todo míridos y antocóridos, se encuentran a menudo asociados a las plagas de los cultivos de invernadero mediterráneos. El hecho de que estos enemigos naturales sean capaces de alimentarse de más de un estado de desarrollo de una determinada plaga y de más de una especie de plaga simplifica la utilización del control biológico en cultivos protegidos. Si tomamos como ejemplo el cultivo de tomate de invernadero, en un momento determinado podemos tener ataques de dos especies de mosca blanca, minadores de hoja, dos especies de lepidópteros, dos especies de pulgones y una especie de eriófidos. En esta situación el depredador *M. caliginosus* es capaz de alimentarse de todas las plagas presentes. En muchos casos ejercen una importante acción preventiva controlando algunas plagas desde su aparición en el

cultivo e impidiendo su proliferación. Ésta es una de las cualidades que valoran más los agricultores que utilizan estos enemigos naturales en sus invernaderos.

Una característica importante a tener en cuenta es que míridos y antocóridos, además de depredar diferentes artrópodos, se alimentan también de la planta. Este carácter les permite instalarse en el cultivo cuando las densidades de presa son muy bajas o inexistentes. Sin embargo, algunas especies pueden llegar a causar daños económicos con su alimentación, normalmente cuando la densidad de presa es muy baja o inexistente. Un ejemplo lo tendríamos en el depredador *D. tamaninii* que causa daños en fruto de tomate a bajas densidades de presa.

Algunas de las incógnitas asociadas a la utilización de estos enemigos naturales son la falta de información disponible sobre su preferencia entre las diferentes plagas presentes en un cultivo determinado, su interacción con otros enemigos naturales, la posible aparición de daños así como los factores que determinan su instalación en el cultivo.

## INTERACCIÓN ENTRE ENEMIGOS NATURALES

Como hemos visto en los cultivos hortícolas coexisten numerosas plagas, muchas de ellas polífagas, y en su control a menudo interviene más de un enemigo natural (parasitoides, depredadores y entomopatógenos) que pueden ser más específicos o más polífagos. Por lo tanto, cuando en un cultivo se aplica el control biológico coexistirán, y por lo tanto interaccionan entre sí, mediante la alimentación, la reproducción o la modificación de su comportamiento, varios enemigos naturales. Así mismo, estos enemigos naturales incidirán en una o en varias de las plagas presentes en el invernadero.

Por ejemplo, en cultivo de pimiento los *Orius* puede alimentarse de trips, de moscas blancas, de pulgones, de pulgones parasitados y del depredador *A. cucumeris* que a su vez se alimenta de trips, araña roja y otros ácaros. En cultivo de tomate *Macrolophus* puede alimentarse de la mayoría de las plagas que afectan al cultivo y además de larvas de mosca blanca y de pulgones parasitados y del depredador de pulgones *A. aphidimyza*. Esta interacción puede ser positiva o negativa para el control de la plaga. Un ejemplo de interacción positiva o complementaria es la que se producía en tomate de invernadero en el que se utilizaba conjuntamente *M. caliginosus* y *E. formosa*. Se observó que el depredador tenía preferencia por depredar las larvas de mosca blanca no parasitadas y sólo cuando había muy poca mosca blanca producía una elevada mortalidad de *E. formosa*, con su utilización conjunta se conseguía un buen control de la mosca blanca. Una situación igualmente complementaria se ha observado entre *O. laevigatus* y *A. cucumeris* en cultivo de pimiento. Sin embargo, existen otras interacciones que resultan negativas para el control de la

plaga. Por ejemplo, en invernaderos de tomate en los que se introducía *E. formosa* para el control de *T. vaporariorum* se observó que las poblaciones naturales de *E. pergandiella* producían una elevada mortalidad de *E. formosa*, tanto con mediante la producción de machos como mediante la alimentación. Como consecuencia de esta interacción se producía un peor control de la plaga.

## PRESENTE Y FUTURO DEL CONTROL BIOLÓGICO

A la hora de evaluar la utilización real del control biológico pueden encontrarse diferentes niveles que van desde su utilización para el control de la mayoría de las plagas que afectan a un cultivo hasta otros casos en que su utilización se restringe sólo al control de una plaga. Éste sería el caso del uso de *B. thuringiensis* para el control de lepidópteros en muchos cultivos hortícolas.

Los enemigos naturales, producidos por diferentes empresas, más utilizados en el control biológico de plagas en cultivos de invernadero son los que permiten controlar las moscas blancas con el 33% del total, los trips con el 22% y los de ácaros con el 16%.

El control biológico mediante la inoculación de enemigos naturales está ampliamente utilizado en los invernaderos de vidrio del norte de Europa, aunque la superficie de cultivo es mucho menor que la del sur. En el área mediterránea existen programas basados en el control biológico de la mayoría de las plagas para tomate, pimiento y pepino. En España, la mayor superficie de invernaderos en las que se aplica el control biológico es el cultivo de pimiento (Castañé, 2002). En cultivo de tomate se está aplicando en el nordeste español, donde *B. tabaci* es menos abundante y hay una menor presencia de inóculo del virus de la cuchara. Una situación parecida se observa en otros países del litoral mediterráneo. La introducción en el mercado de nuevas variedades de tomate resistentes al virus de la cuchara dará, muy probablemente, un impulso a la utilización del control biológico en este cultivo.

La elevada presión de los consumidores que demandan frutas y verduras con bajos residuos de pesticidas, la necesidad de una agricultura más sostenible y por lo tanto de bajo impacto ambiental hace que cada día sea más necesaria la utilización del control biológico. Además, en cultivos como el del pimiento y el tomate, se ha observado que el control biológico basado en la aumentación de fauna útil es en muchas situaciones más eficaz que el control químico. Quedarían, sin embargo, importantes temas por resolver como por ejemplo, hallar métodos de conservación de fauna útil eficaces, mejorar el conocimiento de los enemigos naturales autóctonos, hallar métodos de control biológico para algunas plagas (por ejemplo *S. exigua* en pimiento y de *H. armigera* en tomate) así como hallar productos de origen natural eficaces para ser utilizados en agricultura ecológica.

## BIBLIOGRAFÍA

- ALBAJES R.; M. L. GULLINO, J. C. VAN LENTEREN y Y. ELAD (eds.) (1999). *Integrated Pest and Disease Management in Greenhouse Crops*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht (Países Bajos). 545 pp.
- CASTAÑÉ, C. (2002). Status of biological and integrated control in greenhouse vegetables in Spain: successes and challenges. *IOBC/WPRS Bulletin*, 25: 49-52.
- GABARRA, R.; J. ARNÓ; C. CASTAÑÉ; J. IZQUIERDO; O. ALOMAR; J. RIUDAVETS y R. ALBAJES. (2000). Fauna útil trobada en els cultius d'horta de Catalunya. *Publicació ICEA*, 6: 83-103. <http://www.iecat.net/institucio/societats/ICEstudisAgraris/pdf/Dosier6.pdf>.
- MALAI S. M. y W. J. RAVENSBERG (1991). *Conocer y reconocer. La biología de las plagas de invernadero y sus enemigos naturales*. Koppert Biological Systems. Berkel and Rodenrijs. Rotterdam (Países Bajos). 109 pp.
- RICE, S. E.; R. A. CLOYD; D. L. MAHR y C. S. SADOFF (2001). Biological control of insects and other pests of greenhouse crops. University of Wisconsin. North Central Regional Publication 581. <http://cecommerce.uwex.edu/pdfs/NCR581.PDF>
- STANSLY, P. A.; P. A. SÁNCHEZ; J. M. RODRÍGUEZ; F. CAÑIZARES; A. NIETO; M. J. LOPEZ LEYVA; M. FAJARDO y A. URBANEJA (2004). Prospects for biological control of *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) in greenhouse tomatoes of southern Spain. *Crop Protection*, 23: 701-712.



## **EL FUTURO DEL CONTROL BIOLÓGICO**







# EL FUTURO DEL CONTROL BIOLÓGICO

JOSEP JACAS MIRET,<sup>1</sup> ALBERTO URBANEJA GARCÍA<sup>2</sup>  
y JOSÉ LUIS RIPOLLÉS MOLES<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Departament de Ciències Experimentals, Universitat Jaume I,  
12071 - Castelló de la Plana, jacas@exp.uji.es

<sup>2</sup>Unidad de Entomología IVIA-CIB CSIC, Institut Valencià d'Investigacions Agràries,  
46113 -Montcada, aurbaneja@ivia.es

<sup>3</sup>E. Martinavarro S.A.  
12550 - Almassora, jlripolles@martinavarro.es

El control biológico es una estrategia de control ampliamente utilizada en España desde inicios del siglo XX. A pesar de que esta técnica cayó en desuso, en los últimos años estamos asistiendo a un renovado interés que ha hecho que los programas tanto de control biológico clásico, como inundativo e inoculativo estacional, y de conservación se hayan visto ampliamente impulsados. En este capítulo, veremos cuál puede ser el papel que estas técnicas vayan a jugar en el futuro y cuáles podrían ser las necesidades de investigación a cubrir.

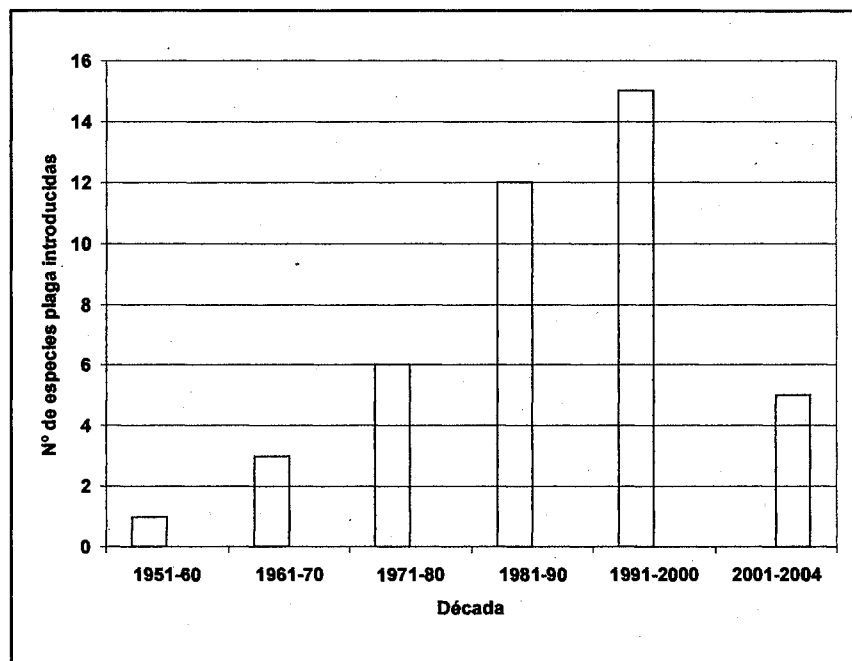
## EL FUTURO DEL CONTROL BIOLÓGICO CLÁSICO

El control biológico clásico contra plagas se ha venido utilizando en España desde comienzos del siglo pasado. Depredadores, como los coccinélidos *Rhyzobius lophantae* (Blaisdell) o *Rodolia cardinalis* (Mulsant), y parasitoides, como *Aphelinus mali* (Haldeman) (Hymenoptera: Aphelinidae), fueron introducidos durante el primer cuarto del siglo pasado, y, en la actualidad, la cifra de enemigos naturales introducidos sobrepasa los sesenta. Actualmente, el control biológico clásico vuelve a gozar de buena salud, aunque los problemas detectados con la introducción de algunas especies de enemigos naturales no suficientemente contrastadas, ha hecho que antes de la introducción haya que tener en cuenta aspectos que hasta hace bien pocos años se consideraban totalmente secundarios, y, por consiguiente, que la legislación sobre el uso de organismos exóticos para el control de plagas haya tenido que adaptarse.

### Las especies invasoras y el control biológico clásico.

Tradicionalmente, el control biológico clásico se ha desarrollado sobre especies plaga exóticas. En los últimos años, el número de especies de este tipo introducidas

en España se ha incrementado fuertemente (figura 1). Así, si durante la década de los setenta encontramos documentada la entrada de una nueva especie cada 3 años. En la actualidad están llegando una media de casi dos especies por año. El aumento y la enorme rapidez con que se producen los intercambios comerciales entre países, la entrada de material vegetal no controlado (a través, por ejemplo, del turismo o de la inmigración ilegal), o el controvertido cambio climático, pueden conducir a un importante incremento de la incidencia de este tipo de fitófagos en un futuro inmediato. En este nuevo escenario, el control biológico clásico deberá jugar un papel clave.



Fuente: elaboración propia a partir de Pérez Moreno (1999) para el período 1951-2000.

FIGURA 1. Especies de ácaros e insectos plaga introducidas en España desde mitad del siglo XX. Si la tendencia de los últimos años no se detiene, durante la primera década del siglo XXI podríamos llegar a registrar alrededor de unas veinte nuevas especies plaga

### Los beneficios del control biológico

Los beneficios de un buen programa de control biológico clásico son importantes: reduce el gasto en plaguicidas y su aplicación y puede suponer un retorno a unas

condiciones ecológicas más parecidas a las que existían antes de la introducción de la plaga. A escala mundial, se estima que a pesar de que poco más de un 10% de los programas de control biológico de artrópodos pueden considerarse un éxito (Gurr *et al.*, 2000), los beneficios que comportan son altísimos. La proporción coste: beneficio puede superar el valor 1:145 (Jetter *et al.*, 1997; Norgaard, 1988; Pickett *et al.*, 1996), y estas ganancias aumentarán año tras año, sin que sea preciso realizar intervención alguna para que el control se mantenga en el agroecosistema. La no dependencia en el uso de plaguicidas comporta una mejora de la salud de nuestros ecosistemas, tanto agrícolas como naturales, y, finalmente, una disminución de los residuos, que en último término llegan a los humanos a través de las redes tróficas, con todos los problemas asociados que este tipo de sustancias pueden provocar para nuestra salud. A pesar de ello, los programas de control biológico clásico no están exentos de riesgo.

### Los riesgos del control biológico clásico

Uno de los objetivos de cualquier programa de control biológico clásico es conseguir la naturalización del enemigo natural en cuestión en una nueva región. Como consecuencia, estas especies pasan a formar parte de la fauna residente de esa zona. Hasta fechas recientes, existía poca preocupación sobre los efectos secundarios de la instalación de estas especies, especialmente de aquéllas que se consideraba que no habían contribuido al control de la especie plaga diana, pero actualmente se dispone de estudios que demuestran que estas introducciones pueden provocar efectos no deseados que pueden aparecer a largo plazo (Lynch y Thomas, 2000), y en lugares distantes de aquéllos donde se realizó la suelta inicial. Por ejemplo, la introducción en la Cuenca Mediterránea del parasitoide *Encarsia pergandiella* Howard (Hymenoptera: Aphelinidae), un hiperparasitoide heteronomo, contra la mosca blanca de los invernaderos, *Trialeurodes vaporariorum* Westwood (Homoptera: Aleyrodidae) (Viggiani, 1994), ha resultado ser un freno importante para el control biológico de las moscas blancas en el noreste de España a causa de su efecto sobre otros parasitoides de este grupo de fitófagos (capítulo 2 de este libro; Sampson, 1999). En muchos casos, la urgencia con que se suelen poner en marcha las introducciones de enemigos naturales hace que éstos no sean evaluados convenientemente, y que los programas de control biológico se conviertan en proyectos basados en criar y soltar enemigos naturales sin un control riguroso de lo que se está introduciendo (véase el caso paradigmático del control biológico clásico desarrollado para cítricos en el estado norteamericano de Florida, Michaud, 2002).

Además de los riesgos ya expuestos, los agentes de control biológico clásico pueden suponer un riesgo sanitario por las siguientes razones:

1. Pueden estar contaminados por esporas, o cualquier otra fuente de inóculo, patógena para plantas o animales, especialmente cuando aquéllos se introducen sobre huéspedes vivos.
2. Pueden estar infectados por sus propios enemigos naturales, que los harían ineficaces y, además, podrían suponer un riesgo adicional para otras especies.
3. Algunos agentes sólo pueden transportarse con su huésped vivo, y es necesario evitar la llegada de nuevas razas de la plaga contra la que se va a introducir el agente.
4. Es posible que los agentes deban ser objeto de estudios previos para asegurar su benignidad (fundamentalmente pruebas de especificidad, pero también de adaptación climática, o su historia de vida) antes de su suelta.
5. Los enemigos naturales son con frecuencia nuevas especies para la Ciencia, por lo que hay que comprobar su identidad, y caracterizarlos de forma que sea posible reconocerlos posteriormente sin ningún tipo de duda. En esta labor, los taxónomos juegan un papel fundamental en los programas de control biológico.

Esta problemática ha promovido que últimamente en España, al igual que en la mayoría de los países de nuestro entorno, se hayan producido cambios en la legislación que regula la introducción de agentes de control biológico.

### **La regulación del control biológico clásico**

El control biológico clásico debe estar sometido a una estricta regulación, que garantice su bondad, aunque no es deseable que la burocracia llegue a extremos como los que se dan en la actualidad, por ejemplo, en Hawaii (Messing y Purcell, 2001), que lo hacen prácticamente imposible. En España, la introducción de enemigos naturales exóticos debe ser autorizada por el Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, previo informe del Ministerio de Medio Ambiente. Así queda reflejado en la Ley de Sanidad Vegetal (figura 2) (Anónimo, 2002), cuyas bases son el Código de conducta para la importación de enemigos naturales de la FAO (FAO, 1996), así como los protocolos elaborados por la OEPP (Organización Europea y Mediterránea para la Protección Vegetal) (OEPP, 1999 y 2000). Éstos exigen la preparación de un dossier que las autoridades competentes deben aprobar previamente a la entrada del enemigo natural, así como un segundo dossier para permitir su suelta en campo. En el contexto fitosanitario de la Unión Europea, la autorización para la suelta sería otorgada por los distintos Estados miembros, teniendo en cuenta el punto de vista del resto de estados de la Unión. Se prevé asimismo la creación de una lista positiva para especies ya introducidas en algún Estado miembro para que en ulteriores introducciones, éstas fueran aceptadas sin necesidad de una nueva revi-

sión. Este procedimiento es muy parecido al empleado por países con mayor tradición en el empleo del control biológico clásico, como EUA, Australia, o Nueva Zelanda.

La obtención de la información exigida en los dossiers hace que sea necesario establecer laboratorios de confinamiento, unos protocolos de cuarentena y formar a personal capaz de seguirlos correctamente. Para algunos enemigos naturales, esa información puede obtenerse en un periodo corto de tiempo, pero para aquéllos más desconocidos, pueden pasar meses, e incluso años, en confinamiento, antes de que finalmente se pueda autorizar su suelta.

<b>CAPÍTULO IV</b>	<b>DISPOSICIONES TRANSITORIAS</b>
<p data-bbox="379 831 719 869"><b>Medios biológicos y otros medios de defensa fitosanitaria.</b></p> <p data-bbox="341 891 568 913">Artículo 44. Medios biológicos</p> <p data-bbox="341 936 756 1160">1. La introducción en el territorio nacional, distribución y liberación de organismos de control biológico exóticos, requerirán la autorización previa del Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, previo informe del Ministerio de Medio Ambiente sobre el posible impacto ambiental y afección a la biodiversidad, tanto cuando su fin sea la realización de ensayos de campo para investigación y desarrollo, como cuando sea la liberación para control biológico o su liberación como producto fitosanitario biológico, de conformidad con la normativa que reglamentariamente se establezca.</p> <p data-bbox="341 1160 767 1261">2. La cría o producción y la distribución, comercialización y liberación de organismos de control biológico no exóticos, requerirá la comunicación previa al Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, conforme a las normas que reglamentariamente se establezcan.</p> <p data-bbox="341 1261 756 1346">3. Las autorizaciones a que se refiere el apartado 1 y las comunicaciones previas a que se refiere el apartado 2, se inscribirán en el Registro Oficial de Productos y Material Fitosanitario.</p>	<p data-bbox="823 831 1249 869"><b>Primera.</b> Importación y liberación de agentes exóticos de control biológico.</p> <p data-bbox="823 891 1249 1059">En tanto no se establezcan normas relativas a importación, distribución y liberalización de organismos exóticos de control biológico, el Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación ejercerá sus funciones, teniendo en cuenta los principios establecidos en el Código de Conducta para la Importación y Liberación de agentes exóticos de Control Biológico de la Organización Mundial para la Agricultura y la Alimentación (FAO).</p>

FIGURA 2. Reproducción de los apartados correspondientes al control biológico de la Ley de Sanidad Vegetal (Ley 43/2002, de 20 de noviembre. BOE nº 279 de 21-11-2002)

### **La necesidad de los estudios de postcolonización en los programas de control biológico clásico**

A pesar de lo completas que hayan sido las evaluaciones realizadas antes de la introducción de un enemigo natural, siempre debería realizarse un seguimiento no sólo de la suelta y de la posterior colonización (en caso de que el enemigo se acli-

mate con éxito), sino también del impacto, tanto sobre la especie plaga objeto del control como sobre el resto del ecosistema.

Aunque en numerosas ocasiones, se ha hecho hincapié en la necesidad de cuantificar el impacto de las introducciones, la mayoría de veces, la única evaluación después de la suelta se ha limitado al típico «funciona» o «no funciona». A menos que se realice un seguimiento de las sueltas, no es posible obtener información sobre las razones del éxito o del fracaso de una introducción, y esa información sería muy útil para mejorar futuras introducciones. Un reciente estudio apunta que sólo en un 1,7% de los casos se realizaron este tipo de estudios (Lynch y Thomas, 2000). En éste y en otros trabajos en que se ha reunido la información referente a los efectos no deseados del control biológico clásico (Asquith y Miramontes, 2001; Barratt *et al.*, 2001), no hay unanimidad en cuanto a las consecuencias de las introducciones. Sin embargo, sí lo son en que hace falta mayor esfuerzo en investigación, de manera que podamos aumentar nuestra confianza en el uso de la lucha biológica clásica, una pieza clave de la agricultura actual.

## **EL FUTURO DEL CONTROL BIOLÓGICO INUNDATIVO E INOCULATIVO MEDIANTE SUELTAS ESTACIONALES**

El control biológico inundativo quizás sea el método de control de plagas y enfermedades que ha sufrido un incremento más espectacular en los últimos años. La disminución de uso de plaguicidas que se ha dado en los últimos 20 años, unido a la cada día mayor exigencia de los consumidores por un cultivo limpio y sano, ha facilitado la investigación, desarrollo y la puesta a punto en campo de estrategias de control de plagas y enfermedades, basados en la suelta inundativa de enemigos naturales. El número de especies de enemigos naturales disponibles comercialmente en todo el mundo es mayor que 125, y sigue en aumento año tras año (Anónimo, 2000; Gurr y Wratten, 2000). Las sueltas estacionales de enemigos naturales pueden dividirse en dos métodos, según sea su forma de aplicación: las inundativas y las inoculativas estacionales (capítulo 2 de este libro). De estos dos métodos son las sueltas inoculativas estacionales las que más se han desarrollado en los últimos años. En especial, ha sido en cultivos protegidos bajo invernadero donde ya son muchos los éxitos alcanzados en nuestro país mediante el uso estas técnicas (Calvo *et al.*, 2003; Lara y Urbaneja, 2002; Lara *et al.*, 2002; Sánchez, 1998; Sánchez *et al.*, 1997; Urbaneja *et al.*, 2002; Van Der Blom, 2002; Van Der Blom *et al.*, 1997). En este ámbito son varias las líneas de trabajo que se han llevado a cabo últimamente, y que deberán servir de base en los próximos años para seguir desarrollando esta estrategia de control biológico de plagas: selección, producción, control de calidad e integración.

## Selección

La selección de los enemigos naturales a utilizar en sueltas estacionales es el primer paso y fundamental a realizar antes de iniciar el proceso de producción. El proceso de cómo seleccionar la especie idónea ha sido ampliamente descrito y estudiado (Bellows y Van Driesche, 1996). Sin embargo, para su utilización como sueltas estacionales en especial son varios los atributos que deben tenerse en cuenta:

- Alta adaptación al medio donde se libere. Por ejemplo, si van a usarse en invernadero y en época calurosa, debe poder resistir las temperaturas elevadas que allí se alcanzan.
- Alta eficacia. Deben ser capaces de reducir las poblaciones de sus huéspedes antes de que alcancen niveles de plaga.
- Fácil producción y bajo coste. Su producción debe ser sencilla o al menos que el coste final del insecto sea rentable en el cultivo donde se vaya a utilizar.

En nuestro país esta etapa se ha obviado en la mayor parte de los casos y por lo general se han utilizado especies (en ocasiones exóticas) que ya estaban utilizándose con éxito en otros países, sin tener en cuenta las especies indígenas. El ejemplo más claro de este fenómeno ha tenido lugar en los cultivos de invernadero. La mayor parte de especies de enemigos naturales utilizadas en el control biológico de plagas en invernadero, fueron previamente seleccionadas para su utilización en países del norte de Europa donde se utilizaban con éxito (Van Der Blom, 2002).

En España, uno de los pocos procesos de selección «completa» de artrópodos indígenas realizado ha sido el que se ha llevado a cabo con el parasitoide de la mosca blanca *Bemisia tabaci* Gennadius (Homoptera: Aleyrodidae) por parte de Koppert Biological Systems S.L. con la colaboración de diversos organismos públicos de investigación. Para su control biológico se venía utilizando el parasitoide exótico *Eretmocerus eremicus* Rose y Zolnerowich (Hymenoptera: Aphelinidae) originario de Norte América, a pesar de su relativa baja eficacia. Tras un catálogo minucioso de los parasitoides más abundantes en campo se comprobó que el más abundante y a la vez más eficaz era *Eretmocerus mundus* Mercet (Hymenoptera: Aphelinidae) (Van Der Blom, 2002). Tras esta catalogación se realizaron diversos estudios básicos de biología, especificidad, competencia, eficacia y utilización en diversos cultivos, al mismo tiempo que se investigaba en la producción de las crías masivas (Stansly *et al.*, 2004; Téllez *et al.*, 2003; Urbaneja y Stansly, 2004). Con toda esta información fue posible la producción comercial a gran escala y su implementación en diversos planes de manejo integrado de plagas en diversos cultivos hortícolas de invernadero en España.

En el campo del control biológico de enfermedades, los capítulos 6, 8 y 9 de este libro ofrecen otros ejemplos de este tipo de selección para el control biológico de enfermedades.



## **Producción**

El proceso de producción es uno de los puntos clave que posibilitará el uso de un enemigo natural. La cría de un enemigo natural llevada a cabo sobre material vegetal es por lo general costosa ya que se requieren amplias superficies para su producción. En este punto es necesario profundizar de cara a optimizar los sistemas de producción. Una de las líneas de investigación en la que más se está trabajando, y en la que se debería de ahondar aún más, es la búsqueda de dietas alimenticias; que sustituyan a las presas vivas en el caso de las crías de depredadores (por ejemplo microencapsulados (Arijs y De Clercq, 2004)), o a la planta sobre la que se desarrolla el huésped en el caso de parasitoides (Van Emden y Rifle, 2002). Un caso extremo son las investigaciones encaminadas a la cría de endoparasitoides en medios totalmente artificiales (Fanti y Vinson, 2000). Otro punto a tener en cuenta es la tecnificación de la línea de producción y en especial el proceso de formulado final. Actualmente se requiere mucha mano de obra en esta última etapa, por lo que sería también necesaria la inversión en investigación en este proceso.

## **Control de calidad**

Alrededor del control biológico mediante sueltas inundativas ha aparecido en los últimos años un gran número de empresas privadas dedicadas a la cría de enemigos naturales y a la producción de bioplaguicidas (tanto microorganismos antagonistas de patógenos, como entomopatógenos). El gran número de enemigos naturales producidos hace necesario establecer unos criterios mínimos de calidad que los enemigos naturales producidos deben de cumplir. Por ello, en los últimos años la necesidad de regular la calidad de los enemigos naturales y de mejorar los protocolos de control de calidad, ha llevado, por ejemplo, a la creación de un grupo de trabajo específico en la Organización Internacional de Lucha Biológica e Integrada (OILB) para este tema. También ha aparecido recientemente el primer libro dedicado exclusivamente al control de calidad de enemigos naturales producidos en crías artificiales, y donde se recogen la mayor parte de avances en este campo (van Lenteren, 2003). La mayoría de los protocolos actuales se basan en el control de parámetros sencillos de evaluar como pueden ser el número de individuos por envase, su longevidad, su fecundidad, etc. Sin embargo, en los próximos años, se deberían incorporar técnicas más sofisticadas como podrían ser por ejemplo técnicas moleculares para la detección de la degeneración genética de una cría.

## **Integración**

La utilización de enemigos naturales en sueltas periódicas debe integrarse con el resto de prácticas llevadas a cabo en el cultivo (poda, riego, etc.) y en especial con

los posibles tratamientos químicos utilizados. En un manejo de plagas basado en sueltas periódicas de enemigos naturales, el conocimiento de los efectos secundarios de los plaguicidas sobre los enemigos naturales utilizados es hoy en día indispensable. Desde mediados de los años 1970, la OILB, a través del Grupo de Trabajo «Plaguicidas y Organismos Beneficiosos», ha estado desarrollando programas conjuntos para el estudio de los efectos secundarios de los plaguicidas sobre los enemigos naturales más relevantes en distintos cultivos. Muchos de sus resultados pueden consultarse en las páginas *web* de algunas compañías dedicadas al comercio de agentes de control biológico (Biobest, 2004; Koppert, 2004), y pueden servir de base a los técnicos y agricultores a la hora de intervenir químicamente contra una determinada plaga. Sin embargo, en muchas ocasiones cuando aparece un nuevo producto al mercado, solamente se conocen los efectos secundarios sobre unos pocos enemigos naturales, dejándose este trabajo a la propia experiencia de los técnicos de campo.

## **EL FUTURO DEL CONTROL BIOLÓGICO DE CONSERVACIÓN**

A pesar de que la mayor sensibilidad ecológica de nuestras sociedades modernas, a la que va ligada el gran auge que han experimentado en los últimos años las técnicas de producción integrada y ecológica, debería provocar una mayor presencia de este tipo de control biológico, esto no ha sido así. El hecho de que este método de control no se auto-perpetue, como ocurre con el control biológico clásico, ni que detrás de él se encuentre una cada vez más poderosa red de intereses industriales y comerciales, como en el caso del control biológico inundativo e inoculativo estacional, hacen que su futuro no sea contemplado con igual optimismo, y que su implementación en los países industrializados haya sido puesta seriamente en duda (Barbosa, 1998). Para que el control biológico de conservación llegue a tener el papel que le corresponde en una agricultura moderna, sería necesario que se dieran tres circunstancias. En primer lugar, hace falta que aquellos organismos que financian la investigación agrícola se comprometan y apuesten decididamente por dotar de recursos destinados a investigar en la ecología de agroecosistemas. Este requisito difícilmente se cumplirá si antes la sociedad, como consumidora, no exige que la conservación como método de control de plagas y enfermedades constituya el núcleo de la producción integrada. Finalmente, será necesaria la formación de personal cualificado capaz de diseñar y ejecutar los programas de control biológico de conservación. El enfoque holístico que implica su uso hace necesaria la intervención de especialistas en distintas disciplinas (ecología, entomología, patología, botánica, etc.) formando equipo que puedan sintetizar y sentar las bases de los programas de conservación.

Como se menciona en el capítulo 2, es mucha la investigación que hace falta para poder desarrollar verdaderas estrategias de control biológico de conservación. Se trata

de investigaciones largas y costosas que difícilmente se pueden ejecutar si no cambian los parámetros por los que se financia actualmente la investigación agrícola en nuestro país, y por los que se evalúa a los investigadores en su carrera profesional. El control biológico de conservación precisa ensayos de campo que en muchos casos deberán durar varios años y abarcar superficies suficientemente grandes para evitar efectos distorsionadores de escala. Además, este tipo de ensayos son, por su complejidad, difíciles de ejecutar y de interpretar. Por ello, a menos que exista algún tipo de aliciente, por lo general los investigadores no suelen inclinarse por esta línea de trabajo. De ahí la necesidad que la sociedad perciba la importancia de este tipo de control, que impulse a las administraciones a primar esta línea de investigación. Hasta este momento, los estudios de conservación que más tradición han tenido en los países industrializados ha sido el estudio de los efectos secundarios de los plaguicidas (capítulo 1 de este libro). Justamente tras estos estudios tan necesarios se encuentran intereses, tanto de las autoridades fitosanitarias por disminuir el impacto de estas sustancias biocidas sobre los organismos beneficiosos, como de las propias industrias fitosanitarias, que deben probar la bondad de sus preparados. Sin embargo, estos estudios no deberían conducirnos a una simplificación del problema: puesto que disponemos de plaguicidas selectivos, no hace falta preocuparse más por la conservación de los enemigos naturales. La conservación es mucho más que aplicar productos selectivos para la fauna útil. Tal como se recoge en la figura 3, los plaguicidas sólo deberían aparecer como última medida de control y la conservación tiene mucho que ver con los dos primeros pisos de la pirámide, en todo aquello que hace referencia a la manipulación del cultivo.

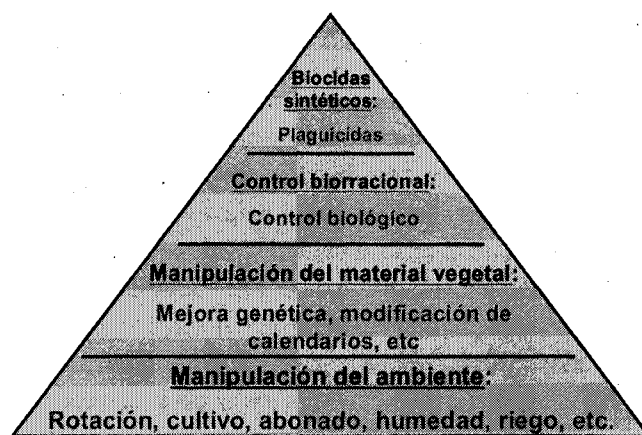


FIGURA 3. Modelo general del control integrado de plagas, enfermedades y malas hierbas. El control biológico de conservación se encuentra íntimamente ligado con los dos primeros eslabones, básicos. Los otros dos tipos de control biológico no aparecen hasta el tercer piso

Por las razones expuestas anteriormente, es fácilmente comprensible que el número de trabajos de investigación llevados a cabo sobre control biológico de conservación sea mucho menor que los realizados en los otros dos tipos de control biológico: clásico e inundativo/inoculativo. Por ello, las líneas futuras de investigación a desarrollar en conservación son hoy en día bastante amplias (capítulo 2 de este libro). Entre ellas, y aunque ya mencionadas en capítulos anteriores, haría falta profundizar especialmente en el conocimiento de los ecosistemas agrícolas y en la posible interrelación de los distintos factores (tanto bióticos como abióticos) que pueden incidir en la conservación.

## CONCLUSIONES

El control biológico de plagas y enfermedades va a continuar en el futuro siendo una de las principales estrategias de manejo contra estos agentes perjudiciales. El control biológico clásico será, sin lugar a dudas, una herramienta fundamental a utilizar tras la introducción accidental de plagas exóticas. Sin embargo, es de esperar que con la experiencia acumulada en el último siglo y con una adecuada legislación, la introducción de enemigos naturales se lleve a cabo siguiendo todos los pasos necesarios para minimizar la probabilidad de que ocurra algún efecto secundario perjudicial.

Es previsible que el control biológico inundativo e inoculativo estacional siga en aumento en los próximos años. En este apartado es necesario profundizar en las posibilidades de la fauna y los microorganismos autóctonos, por lo que los procesos de selección de especies candidatas debería verse obligatoriamente incrementado. También los métodos y técnicas de producción deberían mejorar la relación calidad/precio.

Mientras que la actividad alrededor de los tipos de control biológico anteriormente citados es de prever que se mantenga, o incluso aumente, en el futuro sin necesidad de dedicar un esfuerzo especial a ello, pensamos que el control biológico de conservación necesita una especial atención desde el mundo científico. Son aún muchas las necesidades de conocimiento dentro de este campo. Por ello, pensamos que la investigación en el control biológico de conservación debería priorizarse en los próximos años.

No se debe de olvidar tampoco que la apuesta por la investigación tanto básica como aplicada es la única forma de avanzar en éste, como en cualquier otro campo del saber. Esta investigación además, no sólo debería provenir de fondos públicos (especialmente en control biológico clásico y conservación) sino que las empresas del sector, desde multinacionales hasta pequeñas asociaciones de agricultores, deberían invertir cada día más en la investigación, desarrollo e innovación de éstas y otras estrategias de control de plagas y enfermedades.

## BIBLIOGRAFÍA

- ANÓNIMO (2000). Directory of least-toxic pest control products. *IPM Practitioner*, 22: 1-38.
- ANÓNIMO (2002). Ley 43/2002, de 20 de noviembre, de sanidad vegetal. BOE nº279 de 21-11-2002, 40970-40988 pp.
- ARIJS, Y. y DE CLERCQ, P. (2004). Liver-based artificial diets for the production of *Orius laevigatus* (Heteroptera: Anthocoridae). *Biocontrol*. (En prensa).
- ASQUITH, A. y MIRAMONTES, E. (2001). Alien parasitoids in native forests: the ichneumonid wasp community in a Hawaiian rainforest. En: *Balancing nature: assessing the impact of importing non-native biological control agents (an international perspective)*, coord. LOCKWOOD, J. A.; HOWARTH, F. G. y PURCELL, M. F. 54-67 pp. Thomas Say Publications in Entomology, ESA, Lanham (EUA).
- BARBOSA, P. (coord.). (1998). *Conservation biological control*. Academic Press. San Diego (EUA), 396 pp.
- BARRATT, B. I. P.; FERGUSON, C. M. y EVANS, A. A. (2001). Non-target effects of introduced biological control agents and some implications for New Zealand. En: *Balancing nature: assessing the impact of importing non-native biological control agents (an international perspective)*, coord. LOCKWOOD, J. A.; HOWARTH, F. G. y PURCELL, M. F. 41-53 pp. Thomas Say Publications in Entomology, ESA, Lanham (EUA).
- BELLOWS, T. S. y VAN DRIESCHE, R. G. (1996). *Biological Control*. Chapman & Hall. New York (EUA), 539 pp.
- BIOBEST BIOLOGICAL SYSTEMS (2004). *Guía de efectos secundarios*. <http://www.biobest.be>.
- CALVO, J.; GIMÉNEZ, A.; JACAS, J. y URBANEJA, A. (2003). *Feltiella acarisuga*: Primeros resultados de eficacia sobre araña roja en España. *Agrícola Vergel*, 257: 220-225.
- FANTI, P. y VINSON, S. B. (2000). In vitro rearing of *Muscidifurax zaraptor* (Hymenoptera: Pteromalidae) on artificial diets with and devoid of insect material. *Biological Control*, 18: 49-54.
- (FAO) ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA AGRICULTURA Y LA ALIMENTACIÓN (1996). *Código de conducta para la importación y liberación de agentes exóticos de control biológico*. FAO. Roma (Italia). 21 pp.
- GURR, G. y WRATTEN, S. (coord.). (2000). *Measures of success in Biological Control*. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht (Holanda), 448 pp.

- GURR, G. M.; BARLOW, N. D.; MEMMOTT, S. D.; WRATTEN, S. D. y GREATHEAD, D. J. (2000). A history of methodological, theoretical and empirical approaches to biological control. En: *Biological control: measures of success*. coord. GURR, G. y WRATTEN, S. 3-37. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht (Holanda).
- JETTER, K.; KLONSKY, K. y PICKETT, C. H. (1997). A cost/benefit analysis of the ash whitefly biological control program in California. *Journal of Arboriculture*, 23: 65-72.
- KOPPERS BIOLOGICAL SYSTEMS. (2004). *Efectos secundarios database*. <http://www.koppers.nl/s0110.html>
- LARA, L. y URBANEJA, A. (2002). Control biológico de plagas en pimiento en la provincia de Almería. *Horticultura*, 165: 86-90.
- LARA, L.; VAN DER BLOM, J. y URBANEJA, A. (2002). Instalación, distribución y eficacia de *Orius laevigatus* (Fieber) y *O. albidipennis* (Reuter) (Hemiptera: Anthocoridae) en invernaderos de pimiento en Almería. *Boletín de Sanidad Vegetal. Plagas*, 28: 253-263.
- LYNCH, L. y THOMAS, M. B. (2000). Nontarget effects in the biocontrol of insects with insects, nematodes and microbial agents: the evidence. *Biocontrol News and Information*, 21: 117-130.
- MESSING, R. H. y PURCELL, M. F. (2001). Regulatory constraints to the practice of biological control in Hawaii. En: *Balancing nature: assessing the impact of importing non-native biological control agents (an international perspective)*, coord. LOCKWOOD, J. A.; HOWARTH, F. G. y PURCELL, M. F. 3-14 pp. Thomas Say Publications in Entomology, ESA, Lanham (EUA).
- MICHAUD, J. P. (2002). Classical biological control: a critical review of recent programs against citrus pests in Florida. *Annals of the Entomological Society of America*, 94: 531-540.
- NOGAARD, R. B. (1988). Economics of the cassava mealybug (*Phaenacoccus manihoti*; Hom.: Pseudococcidae) biological control program in Africa. *Entomophaga*, 33: 3-6.
- (OEPP) ORGANIZACIÓN EUROPEA Y MEDITERRÁNEA PARA LA PROTECCIÓN VEGETAL. (1999). EPPO Standards. *Safe use of biological control. First import of exotic biological control agents for research under contained conditions*. OEPP. París (Francia), 9 pp.
- (OEPP) ORGANIZACIÓN EUROPEA Y MEDITERRÁNEA PARA LA PROTECCIÓN VEGETAL. (2000). EPPO Standards. *Safe use of biological control. Import and release of exotic biological control agents*. OEPP. París (Francia), 4 pp.

- PÉREZ-MORENO, I. (1999). Plagas introducidas en España peninsular en la segunda mitad del siglo XX. Arac-net. *Boletín electrónico de entomología*. <http://entomologia.rediris.es/aracnet/num4/entomap.htm>.
- PICKETT, C. H. J.; BALL, J. C.; CASANAVE, K. C.; KLONSKY K.; JETTER, K. M.; BEZARK, L. G. y SCHOENIG, S. E. (1996). Establishment of the ash whitefly parasitoid *Encarsia inaron* (Walter) and its economic benefits to ornamental streets in California. *Biological Control*, 6: 260-272.
- SAMPSON, C. (1999). IPM in tomatoes. En: *STING 19, Newsletter on Biological Control in Greenhouses*, coord. VAN LENTEREN, J. Holanda. <http://www.dpw.wau.nl/ento/english/sting/STING19.htm>
- SÁNCHEZ, J. A., (1998). *Bases para el establecimiento de un programa de control integrado de Frankliniella occidentalis (Pergande) en pimiento en invernadero en el sureste de España. Influencia de la temperatura sobre el potencial biótico de Orius laevigatus (Fieber) y Orius albidipennis (Reuter)*. Tesis Doctoral. Universidad Politécnica de Valencia. Valencia (España). 206 pp.
- SÁNCHEZ, J. A.; GARCÍA, F.; LACASA, A.; GUTIÉRREZ, L.; ONCINA, M.; CONTRERAS, J. y GÓMEZ, J. (1997). Response of the Anthocorid *Orius laevigatus* and *Orius albidipennis* and the Phytoseiid *Amblyseius cucumeris* for the control of *Frankliniella occidentalis* in commercial crops of sweet peppers in plastic houses in Murcia (Spain). *IOBC wprs Bulletin*, 20 (4): 177-185.
- STANSLY, P. A.; SÁNCHEZ, P. A.; RODRÍGUEZ, J. M.; CAÑIZARES, F.; NIETO, A.; LÓPEZ, M. J.; FAJARDO, M.; SUÁREZ, V. y ÚRBANEJA, A. (2004). Prospects for biological control of *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) in greenhouse tomatoes of southern Spain. *Crop Protection*, 23: 701-712.
- TÉLLEZ, M. M.; LARA, L.; STANSLY, P. A. y ÚRBANEJA, A. (2003). *Eretmocerus mundus* (Hym.: Aphelinidae), parasitoide autóctono de *Bemisia tabaci* (Hom.: Aleyrodidae): Primeros resultados de eficacia en judía. *Boletín de Sanidad Vegetal. Plagas*, 29: 511-521.
- ÚRBANEJA, A.; CAÑIZARES, P.; LÓPEZ, M. J.; SÁNCHEZ, P. A.; NIETO, A.; RODRÍGUEZ, J. M.; FAJARDO, M.; SUÁREZ, T. y STANSLY, P. (2002). Control biológico de plagas en tomate tolerante al TYLCV. *Phytoma*, 141: 60-68.
- ÚRBANEJA, A. y STANSLY, P. A. (2004). Response of *Eretmocerus mundus* to Different Instars of the whitefly *Bemisia tabaci* «biotype Q». *Biocontrol*, 49: 153-161
- VAN DER BLOM, J. (2002). La introducción artificial de la fauna auxiliar en cultivos agrícolas. *Boletín de Sanidad Vegetal. Plagas*, 28: 109-120.

- VAN DER BLOM, J.; RAMOS, M. y RAVENSBERG, W. (1997). Biological pest control in sweet pepper in Spain: Introduction rates of predators of *Frankliniella occidentalis*. *Bull. IOBC wprs Bulletin* 20 (4): 196-201
- VAN EMDEN, H. F. y KIFLE, A. T. (2002). Performance of the parasitoid *Aphidius colemani* when reared on *Myzus persicae* on a fully defined artificial diet. *Biocontrol*, 47: 607-616
- VAN LENTEREN (coord.) (2003). *Quality Control and Production of Biological Control Agents. Theory and Testing Procedures*. CABI Publishing. Wallingford (Reino Unido), 327 pp.
- VIGGIANI, G. (1994). Recent cases of interspecific competition between parasitoids of the family Aphelinidae (Hymenoptera:Chalcidoidea). *Norwegian Journal of Agricultural Science supplement*, 16: 353-359.