

Ecotoxicidad de insecticidas de uso frecuente en el cultivo del tomate, en el enemigo natural *Trichogramma achaeae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae)

R. M.^a Saelices, A. López, F. Amor, P. Bengochea, M.^a M. Fernández, A. Garzón, I. Morales, E. Velázquez, P. Medina, A. Adán, P. Del Estal, E. Viñuela, F. Budia

Desde que *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) fue detectada en 2006 como nueva plaga del cultivo de tomate en España, se han seleccionado diversos enemigos naturales para su control. En programas de control biológico, se ha estado usando el parasitoide autóctono *Trichogramma achaeae* Nagaraja & Nagarkatti (Hymenoptera: Trichogrammatidae), contra esta plaga. Sin embargo la medida de control más utilizada se basa en el uso de plaguicidas; y en el marco de los programas de Manejo Integrado de Plagas (MIP), resulta necesario conocer el efecto de los plaguicidas sobre los insectos beneficiosos para poder emplearlos de manera conjunta. En este trabajo, se han evaluado los efectos letales y subletales de varios insecticidas de uso frecuente en el cultivo de tomate sobre adultos de *T. achaeae*. Los plaguicidas se pulverizaron, bien sobre plantas de tomate, o sobre huevos de *T. absoluta*, hasta punto de goteo a la máxima concentración de campo recomendada. Se registró la mortalidad a las 24, 48 y 72 horas, así como la capacidad benéfica y el porcentaje de emergencia. Los resultados muestran la compatibilidad entre *Bacillus thuringiensis* subsp. *Kurstaki* y el parasitoide. Por el contrario, emamectina (Benzoato) e imidacloprid fueron moderadamente tóxicos para *T. achaeae*.

R. M.^a Saelices, F. Amor, P. Bengochea, M.^a M. Fernández, A. Garzón, I. Morales, E. Velázquez, P. Medina, A. Adán, P. Del Estal, E. Viñuela, F. Budia. Unidad de Protección de cultivos. Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos. Universidad Politécnica de Madrid. Ciudad Universitaria s/n. 28040. Madrid. flor.budia@upm.es
A. López. Syngenta Agro S.A. C/ Ribera del Loira 8-10. 28042. Madrid. antonio.lopez@syngenta.com

Palabras clave: *Tuta absoluta*, control biológico, *Bacillus thuringiensis*.

INTRODUCCIÓN

La polilla del tomate *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) es un insecto originario del norte del continente sudamericano que se ha ido expandiendo desde mediados del siglo XX, hacia las principales áreas de cultivo del tomate en el continente sudamericano (GARCIA-MARI y VERCHER, 2010). Esta plaga apareció por primera vez en el este de España a finales del 2006 y

posteriormente se extendió por la cuenca del Mediterráneo y Europa (DESNEUX *et al.*, 2010).

Desde la llegada de esta plaga a la cuenca mediterránea, se han descrito un conjunto de enemigos naturales endémicos, y actualmente se está evaluando su potencial para utilizarlos en el control de *T. absoluta* (DESNEUX *et al.*, 2010).

Durante los años 2007 y 2008 se seleccionó un parasitoide de huevos autóctono, *Tri-*

chogramma achaeae Nagaraja & Nagarkatti (Hymenoptera: Trichogrammatidae) y CABELLO *et al.* (2009) demostraron su potencial como parasitoide de *T. absoluta*, comprobando que tenía un comportamiento muy agresivo contra la plaga (CABELLO *et al.*, 2010). Actualmente este mismo parasitoide está siendo evaluado como potencial agente de control biológico de *Chrysodeixis chalcites* (Esper) (Lepidoptera: Noctuidae) en cultivos de banana (POLASZEK *et al.*, 2011).

El control químico ha sido hasta ahora, la principal estrategia de control para este insecto (BIELZA, 2010). Por lo tanto, la integración con otros métodos de control (culturales, biológicos y biotecnológicos) comienza a ser imprescindible, ya que el uso continuado de insecticidas químicos podría dañar a los insectos beneficiosos, aplicadores, consumidores, y al medio ambiente (GONZÁLEZ-CABRERA *et al.*, 2011).

El objetivo principal de este trabajo ha sido evaluar la toxicidad de diversos insecticidas, actualmente de uso frecuente en plantas hortícolas, sobre adultos de *T. achaeae*.

MATERIAL Y MÉTODOS

Ensayo residual: aplicación de insecticidas a hojas de tomate (Ensayos 1 y 2)

Se llevaron a cabo dos tipos de ensayos, en el primero, se evaluó el efecto de los compuestos, *Bacillus thuringiensis* subsp. Kurstaki (Costar), emamectina (Benzoato) e imidacloprid sobre adultos (procedentes de una casa comercial), evaluándose el porcentaje de mortalidad hasta 72 horas después del tratamiento. En el segundo, se evaluó el efecto de dos formulaciones distintas del compuesto *B. thuringiensis* subsp. Kurstaki (Costar y Bactur) en individuos procedentes de una cría establecida en el laboratorio. En este último se evaluó el porcentaje de mortalidad a las 24, 48 y 72 horas después del

tratamiento, el porcentaje de parasitación (porcentaje de huevos parasitados respecto al de huevos ofrecidos), y el parasitismo de las hembras (n.º de huevos/hembra y día) a las 24 horas (2.º día) y 48 horas (3.º día) del ensayo (ofreciéndoles a las hembras, huevos del huésped de sustitución *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae)), así como el porcentaje de emergencia de los adultos del parasitoide.

Para evaluar el parasitismo y el porcentaje de emergencia, se contabilizó el número de individuos emergidos y el número de huevos con agujero/s de salida. Cuando un huevo contenía claramente dos individuos de *Trichogramma* sp., o presentaba dos agujeros de salida, era contado dos veces (MORENO, 2007).

Material vegetal

Para la realización de los ensayos se utilizaron plantas de tomate (variedad Marmande). Se sembraron las semillas en semilleros situados en una cámara de germinación a 25°C de temperatura y 50% de HR. Posteriormente, cuando el tallo de las plantas alcanzó una altura de 10 a 15 cm, se trasladaron a los invernaderos de los Campos de prácticas de la Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos (Universidad Politécnica de Madrid). Allí se trasplantaron a tiestos más grandes donde permanecieron hasta alcanzar el tamaño requerido.

Insectos

Los insectos utilizados en el primer ensayo (Ensayo 1) son los proporcionados directamente por una casa comercial (TRICHOCOL; Agrobio S.L, La Mojenera, Almería, España). Los evaluados en el segundo ensayo (Ensayo 2) descienden de una población establecida en el laboratorio, a partir de los primeros.

Para la cría en el laboratorio de los mismos, se ha utilizado el huésped de sustitución *E. kuehniella* (Figuras 1 y 2).

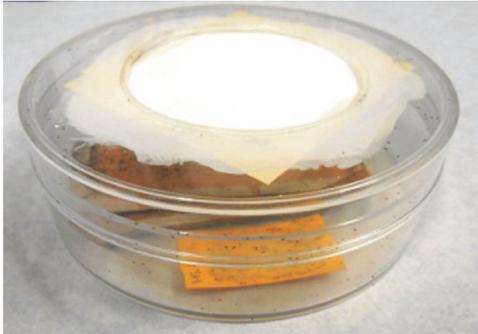


Figura 1. Caja de cría de *T. achaeae*

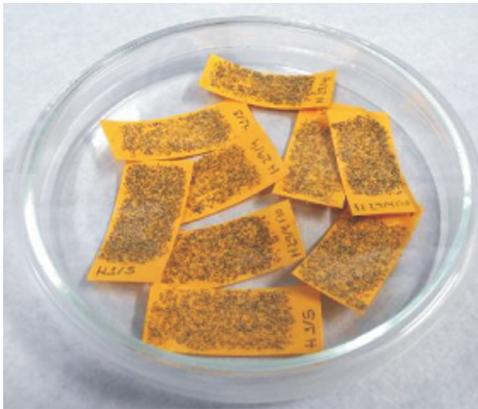


Figura 2. Huevos de *E. kuehniella* parasitados

Metodología

Los productos a evaluar se aplicaron sobre las plantas situadas en el invernadero, utilizando pulverizadores manuales hasta punto de goteo. Una vez secas (aproximadamente 3-4 horas después), se cortan los folíolos de peciolo largo (folíolos terminales), y con el fin de conservar los folíolos durante el tiempo que dura el ensayo, se introduce el peciolo en un éppendorf® con una solución de agar al 1%.

La unidad de ensayo consiste en una caja cilíndrica de plástico (7 cm de diámetro y 3 cm de altura), cuya tapa posee un orificio (1,5 cm de diámetro) cubierto con rejilla metálica para permitir una correcta ventila-

ción. Las paredes de la caja poseen dos orificios circulares, uno de ellos para insertar el éppendorf® con la hoja (por donde se pasearán y posarán los insectos) y el otro para introducir los insectos objeto de estudio (Figuras 3 y 4).

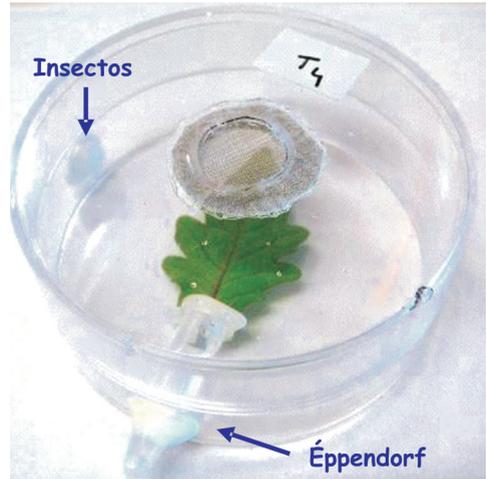


Figura 3. Caja de ensayo



Figura 4. Éppendorf inserto en el orificio de la caja de ensayo

Una vez montadas las cajas con las hojas de tomate, se procede a introducir los adultos, con la ayuda de un pincel, dado el pequeño tamaño de los mismos. En el Ensayo 1 (insectos comerciales), al ser el porcentaje de mortalidad el único parámetro evaluado, se introdujeron 5 adultos por caja, resultando indiferente el que fueran machos

o hembras, así como el número de individuos expuestos a los residuos. En cambio, en el Ensayo 2 (población de laboratorio) se expusieron a los tóxicos, 2 hembras y 2 machos por caja. La comida de los insectos consiste en gotitas de miel aplicadas con la punta de un punzón en la tapa superior de la caja, para evitar que los insectos se queden pegados.

A los insectos procedentes de la cría de laboratorio, después de 24 horas de contacto con el residuo, se les ofrecieron 20-25 huevos de *E. kuehniella* (3-4 días de edad), a las 24 horas (2.^o día) y 48 horas (3.^{er} día) después de haber estado en contacto con el residuo, con el fin de evaluar el parasitismo de las hembras (Figura 5). Estos huevos se esterilizan previamente con luz ultravioleta (TUV G15 T8; PHILIPS), ya que los individuos de *Trichogramma* pueden desarrollarse y emerger cuando se usan huevos tratados con luz UV como huéspedes (TAKADA *et al.* 2001). Cuando no se esterilizan los huevos, de éstos emergen larvas de *E. kuehniella* que se destinan al proceso de cría del huésped, llevado a cabo en el laboratorio.



Figura 5. Tarjetas de huevos de *E. kuehniella*

Tras la esterilización, los huevos se pegan en tiras rectangulares de cartulina blanca (1,5 × 0,6 cm) por medio de una solución acuosa de goma tragacanto. Se recomienda el uso de la misma por ser completamente inocua para *Trichogramma* spp., y con el fin de facilitar el manejo de huéspedes y para-

sitoides (HASSAN *et al.* 2000, HASSAN y ABDELGADER, 2001).

Para evaluar la capacidad benéfica, los huevos de *E. kuehniella* se dejaron 24 horas en contacto con las hembras y a continuación se trasladaron las tarjetas a vasitos de cristal de 3 cm de diámetro y 4 cm de altura (Figura 6) tapados con Parafilm[®], con el fin de poder hacer un seguimiento de los huevos hasta la emergencia de los adultos.

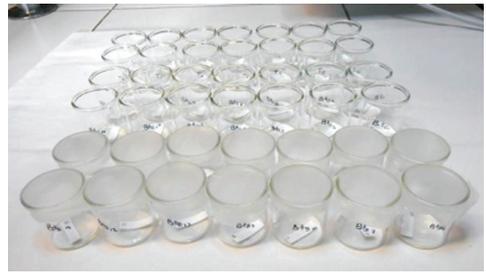


Figura 6. Vasitos con tarjetas de huevos de *E. kuehniella*

Ensayo residual: aplicación de insecticidas a huevos de *T. absoluta* (Ensayo 3)

El ensayo consistió en pulverizar huevos de *T. absoluta* (de 2-3 días de edad), con *B. thuringiensis* subsp. *Kurstaki* (Costar y Bactur) y una vez secos (aproximadamente 3-4 horas después) se ofrecieron 12 huevos a cada dos hembras de *T. achaeae* (de 24 horas de edad) para que los parasitasen.

Los huevos de *T. absoluta* se obtuvieron de plantas de tomate que fueron introducidas en jaulas de cría (60 × 60 × 60 cm), las cuales se mantenían en los invernaderos (Figura 7). Con la ayuda de una lupa y un pincel, los huevos se pegaron en cartulinas blancas (1,5 × 0,6 cm) de igual modo que se hizo con los huevos de *E. kuehniella*. La unidad de ensayo y la metodología fue la misma que en los ensayos anteriores y se introdujeron 2 hembras y 2 machos por caja, de *T. achaeae* procedentes de la cría de laboratorio, los



Figura 7. Jaulón de cría de *T. absoluta*

cuales estuvieron 24 horas en contacto con los huevos tratados para su parasitación.

Los parámetros evaluados fueron el porcentaje de mortalidad hasta las 72 horas después del tratamiento, el porcentaje de parasitación, el parasitismo de las hembras, y el porcentaje de emergencia de los adultos de *T. achaeae*.

Localización y condiciones de realización de los ensayos

Todos los ensayos y la cría de los insectos se llevaron a cabo en un insectario (cámara

climática visitable de 4,25 × 2 × 2,5 m) (Figura 8) a 25° C, 65% de humedad relativa y fotoperiodo de 16 L: 8 O con el fin de controlar tanto su estado sanitario, como su ciclo de desarrollo, excepto la cría de *T. absoluta* que se llevó a cabo en los invernaderos, también en condiciones controladas.



Figura 8. Cajas de ensayo en el insectario

Compuestos evaluados

Los compuestos evaluados en los ensayos, el nombre comercial, formulación, casa comercial y dosis máxima de campo recomendada, se recogen en el Cuadro 1. En todos los ensayos se empleó la máxima dosis de campo recomendada y se utilizó agua destilada como tratamiento control. El uso de

Cuadro 1. Compuestos evaluados: ingrediente activo, nombre comercial, formulación, casa comercial y dosis máxima de campo

Ingrediente activo	Nombre comercial	Formulación (% i.a)	Casa comercial	Dosis máxima de campo
Emamectina (Benzoato)	AFFIRM	0,855%	Syngenta	150 g/hl
<i>Bacillus thuringiensis</i> subsp. Kurstaki	COSTAR	18%	Syngenta	50 gr/hl
<i>Bacillus thuringiensis</i> subsp. Kurstaki	BACTUR 2X WP	32%	C.Q.Massó	100 gr/hl
Imidacloprid	CONFIDOR 20 LS	20%	Bayer	75 cc/hl

i.a: ingrediente activo.

estos compuestos está indicado para plagas de lepidópteros y en concreto, los formulados comerciales basados en *B. thuringiensis* se han estado usando como una alternativa a los productos químicos, empezando por la región de origen de *T. absoluta*.

Se realizaron 15 repeticiones con cada producto en el caso del ensayo con insectos comerciales (Ensayo 1), y 20 en el ensayo con insectos procedentes de la cría de laboratorio (Ensayos 2 y 3). El número de repeticiones varía en función de la disponibilidad de insectos en el momento de la realización de los ensayos.

Análisis estadístico de los resultados

Los datos se analizaron estadísticamente utilizando la aplicación informática Statgraphics® Plus Version 5.1. Las series deben ser elegidas al azar, independientes, normalmente distribuidas (hipótesis de normalidad) y con varianzas homogéneas (hipótesis de homocedasticidad). Cuando no se cumplió alguna de las hipótesis, normalidad y/o homocedasticidad se recurrió a hacer un cambio de variable con la transformación $y = \arcsen(\sqrt{x/100})$. Si después del cambio de variable no se cumplieron las premisas anteriores, se recurrió al *Test no paramétrico de Kruskal-Wallis*. Por el contrario, si las hipótesis se cumplieron tras realizar el cambio de variable y se detectaban diferencias significativas, se recurrió al *Test LSD* (mínimas diferencias significativas).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Ensayo residual: aplicación de insecticidas a hojas de tomate (Ensayos 1 y 2)

Ensayo 1

Una vez realizado el análisis estadístico comprobamos que existen diferencias sig-

nificativas entre los compuestos emamectina (Benzoato) e imidacloprid y el testigo, resultando ser moderadamente tóxicos, con mortalidades que casi alcanzan el 80% a las 24 horas en el caso de emamectina (Benzoato), y superiores al 90% a las 72 horas con ambos compuestos (Cuadro 2). Estos resultados coinciden con los obtenidos por HEWA-KAPUGE *et al.* (2003) sobre *Trichogramma brassicae* Bezdenko (Hymenoptera: Trichogrammatidae), en los que los residuos frescos de imidacloprid y emamectina resultaron ser tóxico y moderadamente tóxico, respectivamente, para el insecto cuando se expuso a hojas de tomate tratadas. En insectos expuestos a residuos de imidacloprid sobre substrato inerte, SABER (2011) registró un 100% de mortalidad a las 24 horas en adultos de *Trichogramma cacaeciae* Marchal (Hymenoptera: Trichogrammatidae), y sin embargo PREETHA *et al.* (2010), lo clasificaron como inocuo para otra especie de *Trichogramma* como *T. chilonis* Ishii (Hymenoptera: Trichogrammatidae) cuando se trató el estado más protegido del parasitoide. No obstante, para los adultos de otras familias de parasitoides como *Chelonus Blackburni* Cameron (Hymenoptera: Braconidae) y *Habrobracon hebetor* Say (Hymenoptera: Braconidae) en ensayos residuales, imidacloprid, a la dosis de campo recomendada, se clasificó como moderadamente tóxico (PREETHA *et al.*, 2010). La susceptibilidad parece estar muy relacionada con la especie y su capacidad de detoxificación, ya que adultos de otras especies de parasitoides como *Eretmocerus mundus* Mercet (Hymenoptera: Aphelinidae), *Eretmocerus eremicus* Rose & Zolnerowich (Hymenoptera: Aphelinidae) y *Encarsia formosa* Gahan (Hymenoptera: Aphelinidae), son más sensibles a estos compuestos, puesto que imidacloprid y emamectina (Benzoato) ocasionaron un 100% de mortalidad a las 24 horas en ensayos del mismo tipo (SUGIYAMA *et al.*, 2011).

Cuadro 2. Porcentaje de mortalidad de adultos de *T. achaeae* tras su exposición a hojas de tomate tratadas con distintos compuestos. Ensayo 1 (insectos comerciales)

Compuestos	% Mortalidad 24 horas ⁽¹⁾	Mortalidad 24 horas corregida (%) ⁽²⁾	% Mortalidad 48 horas ⁽¹⁾	Mortalidad 48 horas corregida (%) ⁽²⁾	% Mortalidad 72 horas ⁽¹⁾	Mortalidad 72 horas corregida (%) ⁽²⁾	CAT. OILB ⁽³⁾
Testigo	2,67 ± 1,82 a	–	20 ± 5,86 a	–	38,67 ± 7,16 a	–	–
<i>Bacillus thuringiensis</i> subsp. Kurstaki (Costar)	9,33 ± 5,81 a	6,84	29,33 ± 8,25 a	11,66	40 ± 6,17 a	2,12	1
Emamectina (Benzoato)	77,33 ± 5,81 b	76,71	96 ± 2,14 b	95	98,67 ± 1,33 b	97,88	3
Imidacloprid	46,33 ± 8,54 c	44,86	69,33 ± 6,05 c	61,66	91,67 ± 2,75 b	86,46	3
<i>K</i>	42,86	–	39,17	–	43,13	–	–
<i>P</i>	< 0,001	–	< 0,001	–	< 0,001	–	–

Los datos son la media ± el error estándar de quince repeticiones por compuesto. En cada columna los datos seguidos por la misma letra no son significativamente diferentes ($P < 0.05$; ANOVA).

(1) Se recurrió al Test no paramétrico de Kruskal-Wallis

(2) Mortalidad corregida con respecto al testigo siguiendo la fórmula de Schneider-Orelli: $M (\%) = ((M-Mcontrol) / (100-Mcontrol)) \times 100$.

(3) Categorías toxicológicas de la OILB: 1 = Inocuo (reducción < 30%), 2 = Ligeramente tóxico (reducción 30-79%), 3 = Moderadamente tóxico (reducción 80-99%), 4 = Tóxico (reducción > 99%) (Según Hassan, 1994b).

Ensayo 2

Posteriormente, con insectos procedentes de la cría en laboratorio, evaluamos dos formulaciones del insecticida biológico *B. thuringiensis* subsp. Kurstaki (Bactur y y

Costar), los cuales apenas afectan a la supervivencia de *T. achaeae*, aunque a las 72 horas, Bactur (Cuadro 3) ocasiona una mortalidad ligeramente mayor que Costar no siendo las diferencias estadísticamente significativas.

Cuadro 3. Porcentaje de mortalidad de adultos de *T. achaeae* tras su exposición a hojas de tomate tratadas con *B. thuringiensis* subsp. Kurstaki. Ensayo 2 (población de laboratorio)

Compuestos	% Mortalidad 24 horas ⁽¹⁾	Mortalidad 24 horas corregida (%) ⁽²⁾	% Mortalidad 48 horas ⁽¹⁾	Mortalidad 48 horas corregida (%) ⁽²⁾	% Mortalidad 72 horas ⁽¹⁾	Mortalidad 72 horas corregida (%) ⁽²⁾	CAT. OILB ⁽³⁾
Testigo	5,42 ± 2,51 a	–	10,42 ± 3,91 a	–	15,83 ± 4,35 a	–	–
<i>Bacillus thuringiensis</i> subsp. Kurstaki (Bactur)	7,5 ± 3,19 a	2,20	14,17 ± 3,92 a	4,19	23,92 ± 3,87 a	9,61	1
<i>Bacillus thuringiensis</i> subsp. Kurstaki (Costar)	6,25 ± 3,08 a	0,88	10 ± 3,8 a	0	16 ± 4,52 a	0,20	1
<i>F</i>	0,11	–	1,73	–	0,48	–	–
<i>g.l</i>	2; 57	–	2; 57	–	2; 57	–	–
<i>P</i>	0,0897	–	0,1870	–	0,6236	–	–

Los datos son la media ± el error estándar de veinte repeticiones por compuesto. En cada columna los datos seguidos por la misma letra no son significativamente diferentes ($P < 0.05$; ANOVA).

(1) Fue necesario realizar un cambio de variable ($y = \arcsen(\sqrt{x/100})$).

(2) Mortalidad corregida con respecto al testigo siguiendo la fórmula de Schneider-Orelli: $M (\%) = ((M-Mcontrol) / (100-Mcontrol)) \times 100$.

(3) Categorías toxicológicas de la OILB: 1 = Inocuo (reducción < 30%), 2 = Ligeramente tóxico (reducción 30-79%), 3 = Moderadamente tóxico (reducción 80-99%), 4 = Tóxico (reducción > 99%) (Según Hassan, 1994b).

El porcentaje de parasitación (porcentaje de huevos parasitados respecto al de huevos ofrecidos), y el parasitismo (n.º de huevos/hembra y día) de las hembras expuestas a los residuos de ambas formulaciones fueron similares al testigo (Cuadros 4 y 5; Figuras 9 y 10), y la emergencia de los adultos fue muy alta en todos los casos, con porcentajes entre el 89 y 95% (Cuadro 6, Figura 11). Se ha demostrado la inocuidad del insecticida biológico *B. thuringiensis* subsp. *Kurstaki* sobre diversas especies del género *Trichogramma*, y así se ha podido estimar en *T. cacaeciae* en el que tras probar varias formulaciones de este compuesto, fueron clasificadas como inofensivas en ensayos residuales sobre sustra-

to inerte en adultos (HASSAN, 1994a), o cuando se aplica directamente sobre adultos de *Trichogramma ostrinae* (Peng and Chen) (Hymenoptera: Trichogrammatidae) donde la tasa de supervivencia fue de 91,88% después de tratar los insectos con este compuesto (IN-CHEON *et al.* 2010). Así mismo, VIEIRA *et al.* (2001) y GARCÍA *et al.* (2009), evaluaron el compuesto *B. thuringiensis* var. *Kurstaki* (Dipel), sobre el estado más protegido del parasitoide *Trichogramma cordubense* Vargas & Cabello (Hymenoptera: Trichogrammatidae) después de pulverizar los huevos parasitados del huésped, no encontrando efectos en la emergencia, longevidad y fecundidad del parasitoide.

Cuadro 4. Porcentaje de huevos parasitados por adultos de *T. achaeae* tras su exposición a hojas de tomate tratadas con *B. thuringiensis* subsp. *Kurstaki*. Ensayo 2 (población de laboratorio)

Compuestos	% Huevos parasitados 2.º día ⁽¹⁾	Reducción 2.º día (%) ⁽²⁾	% Huevos parasitados 3.º día ⁽¹⁾	Reducción 3.º día (%) ⁽²⁾	CAT. OILB ⁽³⁾
Testigo	18,78 ± 7,23 a	–	34,92 ± 8,13 a	–	–
<i>Bacillus thuringiensis</i> subsp. <i>Kurstaki</i> (Bactur)	32,09 ± 7,93 a	–	36,81 ± 8,27 a	–	1
<i>Bacillus thuringiensis</i> subsp. <i>Kurstaki</i> (Costar)	26,79 ± 6,81 a	–	30,38 ± 7,82 a	13	1
<i>F</i>	0,90	–	0,16	–	–
<i>g.l</i>	2; 57	–	2; 57	–	–
<i>P</i>	0,414	–	0,849	–	–

Los datos son la media ± el error estándar de veinte repeticiones por compuesto. En cada columna los datos seguidos por la misma letra no son significativamente diferentes ($P < 0.05$; ANOVA).

(1) % Huevos parasitados respecto al de huevos ofrecidos. Fue necesario realizar un cambio de variable ($y = \arcsen(\sqrt{x/100})$)

(2) % Parasitación corregido con respecto al testigo siguiendo la fórmula de Abbott: $P(\%) = (1 - (P_{\text{tratado}}/P_{\text{control}})) \times 100$.

(3) Categorías toxicológicas de la OILB: 1 = Inocuo (reducción < 30%), 2 = Ligeramente tóxico (reducción 30-79%), 3 = Moderadamente tóxico (reducción 80-99%), 4 = Tóxico (reducción > 99%) (Según Hassan, 1994b).

Cuadro 5. Parasitismo de hembras de *T. achaeae* tras su exposición a hojas de tomate tratadas con *B. thuringiensis* subsp. *Kurstaki*. Ensayo 2 (población de laboratorio)

Compuestos	Parasitismo 2.º día (n.º huevos/♀)	Reducción 2.º día (%) ⁽¹⁾	Parasitismo 3.º día (n.º huevos/♀)	Reducción 3.º día (%) ⁽¹⁾	CAT. OILB ⁽²⁾
Testigo	8,17 ± 1,31 a	–	10,06 ± 0,71 a	–	–
<i>Bacillus thuringiensis</i> subsp. <i>Kurstaki</i> (Bactur)	7,9 ± 0,77 a	3,30	9,95 ± 0,98 a	1,09	1
<i>Bacillus thuringiensis</i> subsp. <i>Kurstaki</i> (Costar)	7 ± 8,38 a	14,32	8,38 ± 1,05 a	16,70	1
<i>F</i>	0,47	–	0,97	–	–
<i>g.l</i>	2; 23	–	2; 24	–	–
<i>P</i>	0,633	–	0,393	–	–

Los datos son la media ± el error estándar de varias repeticiones por compuesto. En cada columna los datos seguidos por la misma letra no son significativamente diferentes ($P < 0.05$; ANOVA).

(1) Parasitismo corregido con respecto al testigo siguiendo la fórmula de Abbott: $P(\%) = (1 - (P_{\text{tratado}}/P_{\text{control}})) \times 100$.

(2) Categorías toxicológicas de la OILB: 1 = Inocuo (reducción < 30%), 2 = Ligeramente tóxico (reducción 30-79%), 3 = Moderadamente tóxico (reducción 80-99%), 4 = Tóxico (reducción > 99%) (Según Hassan, 1994b).

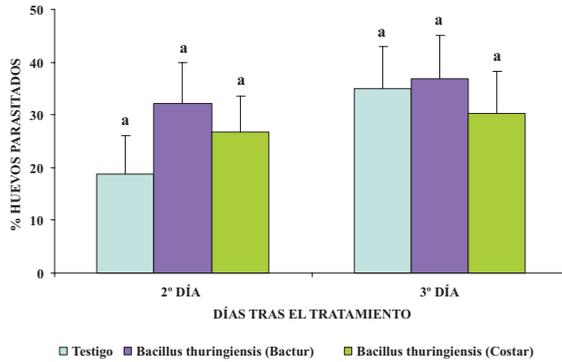


Figura 9. Porcentaje de huevos parasitados por adultos de *T. achaeae*. Ensayo 2 (población de laboratorio)

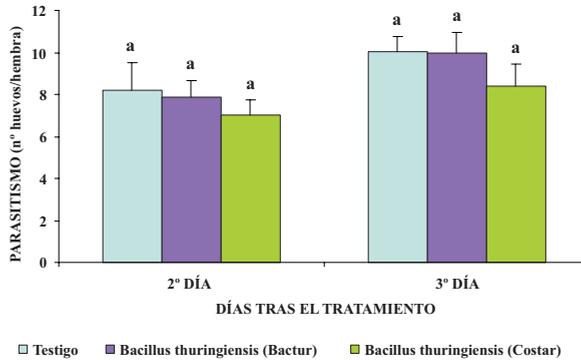


Figura 10. Parasitismo de hembras de *T. achaeae*. Ensayo 2 (población de laboratorio)

Cuadro 6. Porcentaje de emergencia de adultos de *T. achaeae* procedentes de huevos parasitados por los adultos expuestos a hojas de tomate tratadas con *B. thuringiensis* subsp. *Kurstaki*. Ensayo 2 (población de laboratorio)

Compuestos	% Emergencia 2.º día ⁽¹⁾	Reducción 2.º día (%) ⁽³⁾	% Emergencia 3.º día ⁽²⁾	Reducción 3.º día (%) ⁽³⁾	CAT. OILB ⁽⁴⁾
Testigo	94,33 ± 4,91 a	—	94,98 ± 2,96 a	—	—
<i>Bacillus thuringiensis</i> subsp. <i>Kurstaki</i> (Bactur)	95,51 ± 2,82 a	—	89,76 ± 3,49 a	5,50	1
<i>Bacillus thuringiensis</i> subsp. <i>Kurstaki</i> (Costar)	94,64 ± 3,75 a	—	92,1 ± 3,76 a	3,03	1
<i>F</i>	0,01	—	0,62	—	—
<i>g.l</i>	2; 23	—	2; 24	—	—
<i>P</i>	0,989	—	0,548	—	—

Los datos son la media ± el error estándar de varias repeticiones por compuesto. En cada columna los datos seguidos por la misma letra no son significativamente diferentes ($P < 0.05$; ANOVA).

(1) Fue necesario realizar un cambio de variable ($y = \arcsen(\sqrt{x/100})$). La emergencia está referida a los huevos que fueron parasitados el 2.º día del ensayo.

(2) La emergencia está referida a los huevos que fueron parasitados el 3.º día del ensayo.

(3) % Emergencia corregida con respecto al testigo siguiendo la fórmula de Abbott: $P(\%) = (1 - (P_{tratado}/P_{control})) \times 100$.

(4) Categorías toxicológicas de la OILB: 1 = Inocuo (reducción < 30%), 2 = Ligeramente tóxico (reducción 30-79%), 3 = Moderadamente tóxico (reducción 80-99%), 4 = Tóxico (reducción > 99%) (Según Hassan, 1994b).

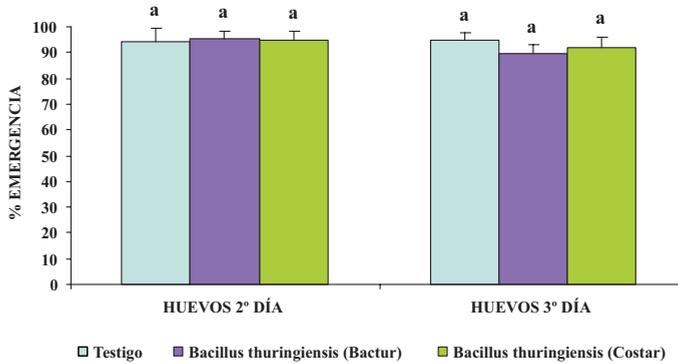


Figura 11. Porcentaje de emergencia de adultos de *T. achaeae*. Ensayo 2 (población de laboratorio)

Ensayo residual: aplicación de insecticidas a huevos de *T. absoluta* (Ensayo 3)

Ninguna de las formulaciones de *B. thuringiensis* subsp. *Kurstaki* (Bactur y Costar) afectó a la supervivencia del parasitoide (Cuadro 7) cuando se les ofreció huevos de *T. absoluta* tratados con el objetivo de evaluar su efecto en las hembras del parasitoide. Nuestros resultados coinciden con los de VIEIRA *et al.* (2001) que ofrecieron huevos de *E. kuehniella* tratados con *B. thuringiensis* subsp. *Kurstaki* a adultos de *T. cordubense*, y los valores de mortalidad fueron del 4% a las 24 horas del tratamiento, tanto en residuo fresco como en residuo de 24 horas.

En nuestros ensayos al no existir diferencias significativas en la mortalidad durante las primeras 72 horas del ensayo, se decidió alargar su evaluación hasta los 7 días para detectar posibles efectos.

El porcentaje de parasitación de las hembras expuestas al residuo resultó extremadamente bajo en todos los casos (Cuadro 8), con valores que no superan el 9%, por ello no se prosiguió con la evaluación del parasitismo, ni con la de la emergencia de los adultos. Sin embargo, se usan comercialmente varias especies de *Trichogramma*, parasitoides de huevos de lepidópteros, en más de 30 países para controlar las principales pla-

gas de 34 cultivos, a través de sueltas inundativas en aproximadamente 32 millones de hectáreas (PRATISSOLI y PARRA, 2000) como es el caso de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae), que ha resultado ser eficiente en el control de *T. absoluta* en plantaciones de tomate para la industria en áreas del noreste de Brasil.

En nuestro caso, se necesitarían más estudios en laboratorio, semicampo y campo, para comprobar el potencial de *T. achaeae* como agente de control de *T. absoluta*, ya que en ninguno de los ensayos realizados, hemos conseguido niveles de parasitación que permitan afirmar, que en nuestras condiciones este parasitoide, sea un buen agente de control biológico de *T. absoluta*, y poder así asegurar y afirmar su eficacia a nivel de campo.

Respecto a los insecticidas evaluados podemos concluir, que el insecticida biológico *B. thuringiensis* subsp. *Kurstaki*, en las formulaciones ensayadas, no es tóxico para los adultos de *T. achaeae*, ya que no compromete la supervivencia, ni la capacidad benéfica del parasitoide. Por el contrario, no es recomendable la aplicación de emamectina (Benzoato) e imidacloprid cuando *T. achaeae* se encuentre establecida en el cultivo, o bien coincida la aplicación de estos compuestos con la liberación de este enemigo natural, ya que reduciría la eficacia del parasitoide.

Cuadro 7. Porcentaje de mortalidad de adultos de *T. achaeae* cuando se les ofrece huevos de *T. absoluta* tratados con *B. thuringiensis* subsp. *Kurstaki*. Ensayo 3 (población de laboratorio)

Compuestos	% Mortalidad 1 día ⁽¹⁾	Mortalidad 1 día corregida (%)(²)	% Mortalidad 2 días ⁽¹⁾	Mortalidad 2 días corregida (%)(²)	% Mortalidad 3 días	Mortalidad 3 días corregida (%)(²)	% Mortalidad 7 días ⁽¹⁾	Mortalidad 7 días corregida (%)(²)	CAT. OHLB ⁽³⁾
Testigo	4,75 ± 2,19 a	-	6 ± 2,40 a	-	35,92 ± 4,3 a	-	69,58 ± 4,29 a	-	-
<i>Bacillus thuringiensis</i> subsp. <i>Kurstaki</i> (Bactur)	3,75 ± 2,05 a	-	11 ± 2,8 a	5,32	27,42 ± 3,91 a	-	67,5 ± 4,64 a	-	I
<i>Bacillus thuringiensis</i> subsp. <i>Kurstaki</i> (Costar)	7,5 ± 2,63 a	2,89	8,75 ± 2,74 a	-	24,17 ± 3,41 a	-	68,34 ± 3,99 a	-	I
<i>F</i>	0,69	-	0,88	-	2,43	-	0,05	-	-
<i>g-l</i>	2; 57	-	2; 57	-	2; 57	-	2; 57	-	-
<i>P</i>	0,5045	-	0,4206	-	0,0971	-	0,9550	-	-

Los datos son la media ± el error estándar de veinte repeticiones por compuesto. En cada columna los datos seguidos por la misma letra no son significativamente diferentes ($P < 0.05$; ANOVA).

(1) Fue necesario realizar un cambio de variable ($y = \arcsen(\sqrt{x/100})$).

(2) Mortalidad corregida con respecto al testigo siguiendo la fórmula de Schneider-Orelli: $M(\%) = ((M - Mcontrol) / (100 - Mcontrol)) \times 100$.

(3) Categorías toxicológicas de la OHLB: 1 = Inocuo (reducción < 30%), 2 = Ligeramente tóxico (reducción 30-79%), 3 = Moderadamente tóxico (reducción 80-99%), 4 = Tóxico (reducción > 99%) (Según Hassan, 1994b).

Cuadro 8. Porcentaje de huevos de *T. absoluta* tratados con *B. thuringiensis* subsp. *Kurstaki* parasitados por adultos de *T. achaeae*. Ensayo 3 (población de laboratorio)

Compuestos	% Huevos parasitados ⁽¹⁾
Testigo	8,40 ± 4,91 a
<i>Bacillus thuringiensis</i> subsp. <i>Kurstaki</i> (Bactur)	1,67 ± 1,30 a
<i>Bacillus thuringiensis</i> subsp. <i>Kurstaki</i> (Costar)	8,75 ± 4,78 a
<i>K</i>	0,478
<i>P</i>	0,787

Los datos son la media ± el error estándar de veinte repeticiones por compuesto. En cada columna los datos seguidos por la misma letra no son significativamente diferentes ($P < 0.05$; ANOVA).

(1) Se recurrió al Test no paramétrico de Kruskal-Wallis.

ABSTRACT

Saelices, R. M.^a, A. López, F. Amor, P. Bengochea, M.^a M. Fernández, A. Garzón, I. Morales, E. Velázquez, P. Medina, A. Adán, P. Del Estal, E. Viñuela, F. Budia. 2012. Ecotoxicity of insecticides commonly used on tomato crops on the natural enemy *Trichogramma achaeae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Bol. San. Veg. Plagas*, **38**: 95-107.

Since *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) was detected in 2006 as a new pest in tomato crops in Spain, several natural enemies have been reported to control this pest. In biological control programs, the native parasitoid *Trichogramma achaeae* Nagaraja & Nagarkatti (Hymenoptera: Trichogrammatidae) is used against *T. absoluta*. However, the most common control practice is based on use of pesticides, and in the frame of Integrated Pest Management (IPM) programs, the knowledge on the activity of insecticides towards beneficial insects is needed for its joint use. In this work, we evaluated lethal and sublethal effects of insecticides commonly applied on tomato crops on adults of *T. achaeae*. Pesticides were sprayed on tomato plants or *T. absoluta* eggs till run off at their maximum field recommended concentration. Mortality was scored after 24, 48 and 72 hours, as well as beneficial capacity and percentage of emergence. The results demonstrated the compatibility of *Bacillus thuringiensis* subsp. *Kurstaki* with the parasitoid. In contrast, Emamectin benzoate and limidacloprid were toxic to *T. achaeae*.

Key words: *Tuta absoluta*, biological control, *Bacillus thuringiensis*.

REFERENCIAS

- BIELZA, P. 2010. La resistencia a insecticidas en *Tuta absoluta* (Meyrick). *Phytoma España*, **217**: 103-106.
- CABELLO, T., GALLEGO, J. R., VILA, E., SOLER, A., DEL PINO, M., CARNERO, A., HERNÁNDEZ-SUÁREZ, E., POLASZEK, A. 2009. Biological control of the South American Tomato Pinworm, *Tuta absoluta* (Lep.: Gelechiidae), with releases of *Trichogramma achaeae* (Hym.: Trichogrammatidae) in tomato greenhouses of Spain. *IOBC/WPRS Bulletin*, Vol. **49**: 225-230.
- CABELLO, T., GALLEGO, J. R., FERNÁNDEZ, F. J., VILA, E., SOLER, A., PARRA, A. 2010. Aplicación de parasitoides de huevos en el control de *Tuta absoluta* en España. *Phytoma España*, **217**: 53-59.
- DESNEUX, N., WAJNBERG, E., WYCKHUYS, K. A. G., BURGIO, G., ARPAIA, S., NARVÁEZ-VÁSQUEZ, C.A., GONZÁLEZ-CABRERA, J., RUESCAS, D. C., TABONE, E., FRANDON, J., PIZZOL, J., PONCET, C., CABELLO, T., URBANEJA, A. 2010. Biological invasion of European tomato crops by *Tuta absoluta*: ecology, geographic expansion and prospects for biological control. *J. Pest. Sci.*, **83**: 197-215.
- GARCÍA, P.V., PEREIRA, N., OLIVEIRA, L.M. 2009. Side-effects of organic and synthetic pesticides on cold-stored diapausing prepupae of *Trichogramma cordubensis*. *Biocontrol*, **54**: 451-458.

- GARCÍA-MARÍ, F., VERCHER, R. 2010. Descripción, origen y expansión de *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). *Phytoma España*, **217**: 16-20.
- GONZÁLEZ-CABRERA, J., MOLLÁ, O., MONTÓN, H., URBANEJA, A. 2011. Efficacy of *Bacillus thuringiensis* (Berliner) in controlling the tomato borer, *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). *Biocontrol*, **56**: 71-80.
- HASSAN, S. A. 1994a. Comparison of three different laboratory methods and one semi-field test method to assess the side effects of pesticides on *Trichogramma cacoeciae*. *IOBC/WPRS Bulletin*, Vol. **17** (10): 133- 141.
- HASSAN, S. A. 1994b. Activities of the IOBC/ WPRS Working Group "Pesticides and Beneficial Organisms". *IOBC/WPRS Bulletin*, Vol. **17** (10): 1-5.
- HASSAN, S. A., HALSALL, N., GRAY, A. P., KÜHNER, C., MOLL, M., BAKKER, F. M., ROEMKE, J., YOUSIF, A., NASR, F., ABDELGADER, H. 2000. A laboratory method to evaluate the side effects of plant protection products on *Trichogramma cacoeciae* Marchal (Hymenoptera: Trichogrammatidae). En: CANDOLFI, M. P., BLÜMEL, S., FÖRSTER, R., BAKKER, F. M., GRIMM, C., HASSAN, S. A., HEIMBACH, U., MEAD-BRIGGS, M. A., REBER, B., SCHMUCK, R., VOGT, H. (eds.). 2000. Guidelines to evaluate side-effects of plant protection products to non-target arthropods. *IOBC/WPRS*, pp. 107-119.
- HASSAN, S. A., ABDELGADER, H. 2001. A sequential testing program to assess the side effects of pesticides on *Trichogramma cacoeciae* Marchal (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *IOBC/WPRS Bulletin*, Vol. **24** (4): 71-81.
- HEWA-KAPUGE, S., MCDUGALL, S., HOFFMANN, A. A. 2003. Effects of Methoxyfenozide, Indoxacarb, and other insecticides on the beneficial egg parasitoid *Trichogramma* nr. *Brassicacae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) under laboratory and field conditions. *J. Econ. Entomol.*, **96** (4): 1083- 1090.
- IN-CHEON, H., CHAN, P., DONG-KYUN, K., NA-YOUNG, J., SUN-YOUNG, J., MI-JA, S., JANG-EOK, K., YOUNG-NAM, Y., YONG-MAN, Y. 2010. Combined application of *Trichogramma ostrinae* and *Bacillus thuringiensis* for eco-friendly control of *Plutella xylostella*. *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem.*, **53** (3): 316- 322.
- MORENO, F. 2007. Evaluación del potencial del parasitoides de una población de *Trichogramma* Westwood (Hymenoptera: Trichogrammatidae) como agente de Control Biológico de *Lobesia botrana* Den. Y Schiff. (Lepidoptera: Tortricidae). Tesis Doctoral. Universidad de La Rioja. 150 pp.
- POLASZEK, A., RUGMAN-JONES, P. F., STOUTHAMER, R., HERNÁNDEZ-SUAREZ, E., CABELLO, T., DEL PINO PÉREZ, M. 2011. Molecular and morphological diagnosis of five species of *Trichogramma*: biological control agents of *Chrysodeixis chalcites* (Lepidoptera: Noctuidae) and *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae) in the Canary Islands. *Biocontrol*. [Disponible on-line en <http://www.springerlink.com/content/w013321r78140522/fulltext.pdf>. Consultado el 15 de diciembre de 2011].
- PRATISSOLI, D., PARRA, J. R. P. 2000. Fertility life table of *Trichogramma pretiosum* (Hym., Trichogrammatidae) in eggs of *Tuta absoluta* and *Phthorimaea operculella* (Lep., Gelechiidae) at different temperatures. *J. Appl. Ent.*, **124**: 339-342.
- PREETHA, G., MANOHARAN, T., STANLEY, J., KUTTALAM, S. 2010. Impact of Chloronicotinyl insecticide, Imidacloprid on egg, egg-larval and larval parasitoids under laboratory conditions. *J. Plant Protect. Research*, **50** (4): 535-540.
- SABER, M. 2011. Acute and population level toxicity of imidacloprid and fenpyroximate on an important egg parasitoid, *Trichogramma cacoeciae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Ecotoxicology*, **20**: 1476-1484.
- SUGIYAMA, K., KATAYAMA, H., SAITO, T. 2011. Effect of insecticides on mortalities of three whitefly parasitoid species, *Eretmocerus mundus*, *Eretmocerus eremicus* and *Encarsia Formosa* (Hymenoptera: Aphelinidae). *Appl. Entomol. Zool.*, **46**: 311-317.
- TAKADA, Y., KAWAMURA, S., TANAKA, T. 2001. Effects of various insecticides on the development of the egg parasitoid *Trichogramma dendrolimi* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *J. Econ. Entomol.*, **94** (6): 1340-1343.
- VIEIRA, A., OLIVEIRA, L., GARCÍA, P. 2001. Effects of conventional pesticides on the preimaginal developmental stages and on adults of *Trichogramma cordubensis* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Biocontrol Sci. Technol.*, **11**: 527-534.

(Recepción: 24 enero 2012)
(Aceptación: 29 febrero 2012)