

Efectos de dos insecticidas de síntesis y de dos bio-insecticidas sobre el defoliador del eucalipto *Gonipterus scutellatus* Gyllenhal y su agente de control biológico *Anaphes nitens* Girault

S. SANTOLAMAZZA CARBONE, F. J. FERNÁNDEZ DE ANA MAGÁN

Se han integrado los resultados de experimentos realizados en el laboratorio y en el monte para averiguar la toxicidad de cuatro insecticidas: flufenoxuron, etofenprox, azadiractina y *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*, sobre adultos, larvas y puestas del defoliador del eucalipto *Gonipterus scutellatus* y sobre los adultos de su agente de control biológico *Anaphes nitens*. En el laboratorio se midió el efecto mediante la exposición de los sujetos experimentales a hojas de *Eucalyptus globulus* previamente tratadas y la aplicación tópica de 1 µl de cada insecticida sobre las puestas. Los resultados indican que *B. thuringiensis* no ha tenido ningún efecto sobre la plaga ni sobre los parasitoides adultos. Azadiractina ha mostrado un efecto larvicida por ingestión y contacto (72.5% de mortalidad después de 7 días). El resultado más contundente lo ha provocado etofenprox, con el 100% de mortalidad de adultos y larvas de *G. scutellatus* a las 24 horas y el 93.1% de tasa de mortalidad de las puestas. A los 7 días, flufenoxuron ha producido una tasa de mortalidad de los adultos del 92.5% y del 100% de las larvas. En el laboratorio sólo etofenprox y flufenoxuron han incrementado la tasa de mortalidad de *A. nitens* (en ambos casos 97.5% a las 48 horas). En el monte se han aplicado los cuatro insecticidas en tres localidades, efectuándose un muestreo preliminar antes del tratamiento y al 7.º, 14.º y 30.º día. En cada muestreo se evaluó la tasa de parasitismo de las puestas de *G. scutellatus* y la abundancia de adultos, larvas y puestas. De los cuatro insecticidas sólo flufenoxuron y etofenprox han conseguido contener la población de la plaga, aunque etofenprox ha sido el único que también ha disminuido de manera significativa la tasa de parasitismo de las puestas a los siete días del tratamiento. En vista del desarrollo de un plan de lucha integrada contra *G. scutellatus*, flufenoxuron parece ser el producto más apropiado.

S. SANTOLAMAZZA CARBONE: Universidade de Vigo. E.U.E.T. Forestal, Campus A Xunqueira. Laboratorio de Ecoloxía. 36005 Pontevedra. E-mail: serena@uvigo.es.

F. J. FERNÁNDEZ DE ANA MAGÁN: Centro de Investigacións Forestais e Ambientais de Lourizán. Sección de Fitopatoloxía. Apartado 127-Lourizán. 36080 Pontevedra.

Palabras clave: *Gonipterus scutellatus*, *Anaphes nitens*, parasitoide, azadiractina, flufenoxuron, etofenprox, *Bacillus thuringiensis*, lucha integrada, *Eucalyptus globulus*.

INTRODUCCIÓN

Las plantaciones gallegas de *Eucalyptus globulus* (177.679 ha de masas puras) constituyen el núcleo de la producción de madera industrial a turno corto, con unas existencias de más de 15 millones de metros cúbicos maderables (Tercer Inventario Fo-

restal Nacional). La producción de madera de *Eucalyptus spp.* de Galicia constituye el 40% de la producción nacional y representa por lo tanto un recurso renovable de gran importancia económica. Estas plantaciones están sufriendo en los últimos diez años un fuerte ataque de insectos y hongos patógenos (GIL & MANSILLA, 1983; MANSILLA,

1992; LOMBARDEO & FERNÁNDEZ DE ANA MAGÁN, 1997; SANTOLAMAZZA CARBONE, 2002; FERNÁNDEZ DE ANA MAGÁN & BLANCO-DIOS, 2002), con lo que su productividad se ve seriamente amenazada, generando una gran alarma entre los silvicultores. En 1991 fue detectada en la provincia de Pontevedra la presencia de *Gonipterus scutellatus* Gyllenhal (Coleoptera: Curculionidae), defoliador australiano del eucalipto, cuyo potencial destructor de las plantaciones era ya ampliamente conocido desde principios del siglo XX (TOOKE, 1955). A finales de 1993 se ha emprendido contra *G. scutellatus* un plan de lucha biológica utilizando el mimárido australiano *Anaphes nitens* Girault (Hymenoptera: Mymaridae), endoparásitoide solitario e idiobionte de las puestas del coleóptero. El programa de lucha biológica obtuvo rápidamente buenos resultados alcanzando en las zonas tratadas el 70-80% de tasa de parasitismo (MANSILLA & PÉREZ OTERO, 1996). Sin embargo, la gran extensión de las plantaciones afectadas, la diversidad de las condiciones climáticas y ecológicas en las distintas comarcas gallegas y las fluctuaciones que la población de la plaga y del parasitoide experimentan a lo largo del año (CORDERO RIVERA *et al.*, 1999; SANTOLAMAZZA CARBONE, 2002), han determinado que en muchas plantaciones la lucha biológica no sea suficiente para contener los daños económicos, haciéndose patente la necesidad de integrarla con otros métodos de control.

La lucha integrada es un sistema de control de las enfermedades agrícolas y forestales que aplica un conjunto de métodos satisfactorios desde el punto de vista económico, ecológico y toxicológico, dando prioridad al empleo de elementos naturales de regulación. Un aspecto fundamental de la correcta gestión de un plan de lucha integrada es la conservación del enemigo natural introducido (DEBACH & ROSEN, 1991). El estudio de los posibles efectos secundarios de los insecticidas sobre los agentes de control biológico representa por lo tanto una etapa crucial e irrenunciable de la fase de pla-

nificación e integración de los métodos de control (IOBC, 2000; HILL & FOSTER, 2000; HILL & FOSTER, 2000; SUH *et al.*, 2000; TAKADA *et al.*, 2001).

En este trabajo se evalúa el potencial de los siguientes productos: etofenprox 30% EC, flufenoxuron 20% EC, *B. thuringiensis* 26% var. *kurstaki* cepa EG2424 y azadiractina 1% T/S, para su posible uso dentro de un programa de control integrado contra el gorgojo del eucalipto.

Para comprobar la toxicidad de estos productos fitosanitarios sobre la entomofauna beneficiosa (parasitoides) y sobre las plagas (hospedadores), se ha diseñado un protocolo conforme a las directivas comunitarias (IOBC, 2000) que prevé la integración de experimentos efectuados en el laboratorio y en el monte. Las pruebas de laboratorio podrían parecer por sí solas suficientes para evaluar el comportamiento de cada fitofármaco, en realidad es importante comparar esos resultados con los que se obtienen estudiando el impacto de los productos sobre las poblaciones naturales de insectos, sobre todo considerando que en el hábitat natural existen factores ambientales (temperatura, lluvia, viento) y comportamentales (período de reposo, período de vuelo, existencia de refugios) que es imposible reproducir en laboratorio (TILLMAN & MULROONEY, 2000).

El flufenoxuron ya tiene registro para su utilización contra las larvas de *G. scutellatus*, mientras que los demás productos todavía no han sido ensayados contra los distintos estadios de desarrollo de la plaga, ni han sido evaluados los efectos sobre *A. nitens*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Las características de los insecticidas utilizados, las dosis y las concentraciones se presentan en el Cuadro 1.

Para estudiar la toxicidad de los productos se ha elegido la modalidad del contacto y/o ingestión de residuos para simular las circunstancias naturales de contaminación

Cuadro 1.—Características de los insecticidas empleados en este estudio. Se presenta su forma de actuación, la dosis y la concentración utilizada en el monte. En laboratorio, la concentración utilizada es la misma

Principio activo	Forma de actuación	Concentración empleada	Dosis
Azadiractina 1%. Sustancia obtenida a partir de hojas, semillas y raíces de la planta <i>Antelaea azadirachta</i>	Actúa por ingestión y contacto sobre la actividad de la ecdisona, interfiriendo en los procesos de muda de Hemípteros Homópteros y Heterópteros, Dípteros y Coleópteros. Es efectiva contra las larvas (inhibición de la alimentación y de la muda), pero también contra los adultos (inhibición de la alimentación y de la ovoposición, infertilidad). La sustancia podría actuar también como ovicida por contacto.	20 ml materia activa + 200 ml Codacide (emulsionante) + 500 ml agua	200 ml m.a./ha
<i>Bacillus thuringiensis</i> Bacteria Gram positiva, cepa EG2424, 26%.	La bacteria produce simultáneamente con la spora un cristal proteico (cuerpo parasporal) llamado delta-endotoxina, que posee propiedades insecticidas para los miembros de los órdenes Coleoptera, Diptera y Lepidoptera. El mecanismo de acción de la bacteria es por ingestión, y actúa fundamentalmente sobre las larvas	260 ml materia activa + 200 ml Codacide (emulsionante) + 500 ml agua	1 L m.a./ha
Flufenoxuron 20%.	Antiquitinizante que actúa por contacto e ingestión principalmente sobre los estadios larvarios de insectos y ácaros. Puede tener también un efecto ovicida por contacto. Sobre los insectos adultos podría reducir la fertilidad y la actividad de alimentación. Su ámbito de utilización incluye plantaciones forestales, parques y jardines.	20 ml materia activa + 200 ml Codacide (emulsionante) + 500 ml agua	200 m.a./ha
Etofenprox 30%. Arilpropiéter con propiedades insecticidas obtenida a partir de la estructura de base de los piretroides.	Actúa por ingestión y contacto interfiriendo con el funcionamiento del sistema nervioso de los insectos mediante inhibición del transporte del sodio a lo largo de las terminaciones nerviosas. Es efectivo contra fitófagos en estadio adulto y larvario. Se utiliza comercialmente contra numerosas orugas defoliadoras de los cultivos, pero también contra algunos Coleópteros, Dípteros, Tisanópteros, Ortópteros y Hemípteros Homópteros.	90 ml materia activa + 200 ml Codacide (emulsionante) + 500 ml agua	300 ml m.a./ha

que experimentarían *G. scutellatus* y *A. nitenis* en las plantaciones tratadas.

Efectos de los tratamientos sobre *G. scutellatus*: ensayos en laboratorio

Todas las larvas y los adultos utilizados han sido recolectados en las plantaciones de eucalipto, mantenidos en laboratorio en insectarios y alimentados con hojas de *E. glo-*

bulus. Las puestas frescas se han obtenido a partir de esas colonias de adultos. La cría y los ensayos se realizaron a 19 ± 2 °C de temperatura y $70 \pm 5\%$ de humedad relativa.

Efectos de la contaminación por ingestión y contacto con hojas tratadas

Se ha comprobado la toxicidad de los cuatro insecticidas sobre adultos (N = 200) y lar-

vas de 2.º-3.º estadio de desarrollo (N = 200), expuestos durante 24 horas a brotes de *E. globulus* previamente tratados. Los brotes (de tamaño similar y provistos de 3 hojas cada uno) fueron sumergidos durante 3 s en una solución de cada fitofármaco a una concentración igual a la que se ha empleado en el monte (Cuadro 1), y luego secados al aire durante 1 hora. Como control se han utilizado brotes sumergidos en agua des-ionizada.

Para cada tratamiento (4 repeticiones) 10 adultos o 10 larvas fueron introducidos en placas de Petri de 15 cm de diámetro, provistas de un disco de papel de filtro en el fondo, sobre el cual se había colocado el brote tratado. El efecto sobre la mortalidad provocado por la ingestión y/o el contacto con las hojas tratadas se ha verificado después de 15 min., 30 min., 2 h., 24 h., 48 h. y hasta el 7.º día después de la exposición a los productos. Después de 24 horas el brote fue retirado y adultos y larvas fueron alimentados con hojas no tratadas. Para los cinco tratamientos se ha evaluado también el número de puestas depositadas y la actividad de alimentación.

Los datos han sido previamente transformados tomando el arcoseno de la raíz de la proporción de individuos muertos para cada tratamiento, después de 24 h., 3 días y 7 días. La análisis se ha realizado con un ANOVA (modelo anidado), donde el factor fijo es el tratamiento. La comparación entre tratamientos se ha efectuado luego con el test de la mínima diferencia significativa (Fisher LSD test).

Efectos de la aplicación tópica sobre las puestas

Las puestas que realizan las hembras de *G. scutellatus* están constituidas por masas de 8-10 huevos recubiertos por una cápsula oscura de materia proctodeal. Para este experimento se han utilizado cápsulas de 24-48 horas (N = 150) sobre cuya superficie se aplicó con una micropipeta 1 µl de cada solución. Para cada tratamiento se emplearon 6

puestas, efectuando cinco repeticiones. En el grupo control se ha utilizado agua des-ionizada. Durante 15 días se tomó nota del número de larvas eclosionadas, procediendo luego a la disección al estereomicroscopio de todas las cápsulas para averiguar la presencia de larvas muertas y/o de huevos no eclosionados. Conociendo el número exacto de huevos presentes en cada una de ellas se ha podido calcular la tasa de inviabilidad de las puestas (total larvas muertas/total huevos presentes cada cápsula tratada, calculado como suma de larvas vivas + larvas muertas + huevos muertos) y la proporción de huevos no desarrollados. Los datos (transformados previamente como arcoseno de la raíz de la proporción de larvas muertas o de huevos muertos) se analizaron con un ANOVA en donde el factor fijo es el tratamiento y el factor aleatorio la repetición. La comparación entre tratamientos se ha realizado con el test de la mínima diferencia significativa (Fisher LSD test).

Efectos de los tratamientos sobre *A. nitens*: ensayos en el laboratorio

Todos los adultos utilizados (N = 200) se han obtenido a partir de cápsulas parasitadas recolectadas en el monte o bien parasitadas en laboratorio. Durante la cría y los ensayos los parasitoides fueron alimentados con gotas de miel sin diluir. Para cada tratamiento (4 repeticiones) se han utilizado 10 adultos de 24-48 horas de edad. Las hojas fueron sumergidas durante 3 s. en soluciones de los distintos fitofármacos, a una concentración igual a la que se ha empleado en el monte, y luego secadas al aire durante 1 h. En cada placa de Petri de 9 cm. de diámetro se colocó una hoja tratada y 10 adultos. La mortalidad (total adultos vivos/ total adultos tratados) después del contacto con las hojas tratadas, que permanecieron en la placa durante todo el experimento, se verificó después de 15 min., 30 min., 2 h., 24 h. y 48 h. Para el grupo control las hojas fueron sumergidas en agua des-ionizada. Los datos han

sido previamente transformados como arco-seno de la raíz de la proporción de individuos muertos para cada tratamiento después de 48 horas. La análisis se ha realizado aplicando un ANOVA, donde el factor fijo es el tratamiento. La comparación entre tratamientos se ha efectuado con el test de la mínima diferencia significativa (Fisher LSD test).

Efectos de los tratamientos sobre *G. scutellatus* y *A. nitens* en el monte

El experimento se ha llevado a cabo desde el 15 de abril al 11 de junio de 2003.

Se eligieron tres plantaciones de *E. globulus*, situadas en la provincia de Pontevedra en los ayuntamientos de Campo Lameiro, Cerdedo y A Estrada (Pedre, coord. UTM: X = 546750, Y = 4710500; Caneda, coord. UTM: X = 541430, Y = 4710380; Quireza, coord. UTM: X = 546620, Y = 4715850), todas ellas a una altitud media de 500 m. y expuestas a solana, siendo esta exposición la que favorece la presencia de *G. scutellatus*. En cada localidad se han dispuesto tres bloques de cinco parcelas-tratamiento de 1000 m² cada una, distribuidas al azar. En cada bloque de parcelas se han aplicado los cuatro productos previstos, dejando la quinta parcela como testigo (no tratada). En el centro de cada parcela-tratamiento se han elegido aleatoriamente cuatro árboles jóvenes de 2-3 m. de altura que ya exhibían hojas adultas, y que han sido marcados individualmente con tarjetas de plástico. Todas las parcelas estaban separadas entre ellas por una banda arbolada de 12 m. de anchura. Este diseño experimental anidado, ha permitido comparar la varianza existente entre los distintos árboles tratados con el mismo producto, entre las tres repeticiones de cada tratamiento, entre los cinco tratamientos distintos, y finalmente entre las distintas localidades elegidas.

Antes del tratamiento se efectuó un muestreo preliminar para verificar la tasa de parasitismo de las puestas de *G. scutellatus* por parte de *A. nitens* y el número de adul-

tos, de larvas y de puestas de *G. scutellatus* presentes en cada árbol marcado. Después de la aplicación de los insecticidas en las tres localidades, los muestreos se repitieron al 7.º, 14.º y 30.º día.

Para calcular el número de adultos y de larvas de *G. scutellatus* presentes en cada árbol se procedió al conteo directo mediante inspección visual de todas las hojas. De la misma manera, todas las puestas fueron contadas, recolectadas y llevadas al laboratorio para su posterior análisis.

Del total de las puestas se procedió a la selección de una muestra aleatoria de cinco para cada árbol examinado. Para calcular la tasa de parasitismo en cada una de las cuatro fechas de muestreo, se utilizaron 20 cápsulas por cada parcela-tratamiento, es decir 60 cápsulas para cada tratamiento considerando las 3 repeticiones en cada localidad y 180 cápsulas sumando las tres localidades. Las cápsulas fueron introducidas individualmente en un vial estéril marcado y mantenidas en laboratorio a temperatura ambiente (19 ± 2 °C, $70 \pm 5\%$ HR) durante un mes para comprobar el número de larvas de *G. scutellatus* y de adultos de *A. nitens* emergidos. Considerando que de cada huevo de *G. scutellatus* sólo puede emerger o una larva de gorgojo o un adulto de parasitoide, la tasa de parasitismo se ha calculado como N.º de adultos de parasitoide/N.º de huevos presentes en cada cápsula (calculado como suma de larvas y parasitoides eclosionados).

Los datos se han analizado con un ANOVA anidado, donde el factor fijo es el tratamiento, y los factores aleatorios son localidad, bloque anidado en localidad y árbol anidado en bloque.

RESULTADOS

Efectos de los tratamientos sobre *G. scutellatus*: ensayos en el laboratorio

El porcentaje de mortalidad de los adultos se presenta en el Cuadro 2. En los tres intervalos de tiempo considerados el factor

Cuadro 2.—Tasa de mortalidad de los adultos de *G. scutellatus* (total adultos muertos/total adultos tratados \times 100) después de la exposición a los residuos

	15 min. (%)	30 min. (%)	2 h. (%)	24 h. (%)	48 h. (%)	3.º día (%)	4.º día (%)	5.º día (%)	6.º día (%)	7.º día (%)
Etofenprox	0	5	87,5	100	100	100	100	100	100	100
Flufenoxuron	0	0	10	72,5	92,5	92,5	92,5	92,5	92,5	92,5
Azadiractina	0	0	0	0	5	5	5	5	7,5	7,5
<i>B. thuringiensis</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2,5
Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

tratamiento tuvo un efecto significativo sobre la mortalidad (24 h.: $F_{4,15} = 20.13$, $P < 0.001$; 3.º día: $F_{4,15} = 106.85$, $P < 0.001$; 7.º día: $F_{4,15} = 87.03$, $P < 0.001$). Después de 24 horas del contacto con los brotes tratados, no se ha apreciado ninguna diferencia significativa entre *B. thuringiensis*, azadiractina y el grupo control, mientras que flufenoxuron y etofenprox han tenido un efecto altamente significativo sobre la mortalidad, aunque sin diferencias entre ellos. Después del tercero y del séptimo día, la situación sigue sin variaciones.

Únicamente las hembras tratadas con agua (grupo control) han puesto huevos a lo largo de la semana de observación.

La mortalidad provocada por los tratamientos en las larvas se resume en el Cuadro 3. En los tres intervalos de tiempo considerados el factor tratamiento tuvo un efecto significativo (24 h.: $F_{4,15} = 30.27$, $P < 0.001$; 3.º día: $F_{4,15} = 48.83$, $P < 0.001$; 7.º día: $F_{4,15} = 24.46$, $P < 0.001$). Al cabo de 24 horas sólo etofenprox y flufenoxuron incrementan significativamente la mortalidad, no encontrándose diferencias entre el grupo

control y los otros dos insecticidas. Al tercer día *B. thuringiensis* se acerca a la significación en comparación con el grupo control. Azadiractina tiene un efecto muy significativo, aunque de nuevo etofenprox y flufenoxuron alcanzan el resultado más importante, sin diferencias entre ellos. Al séptimo día la situación no varía.

Los adultos y las larvas tratados con etofenprox y flufenoxuron han muerto antes de empezar a alimentarse, por el simple contacto con el brote tratado, mientras que los que han sobrevivido a la aplicación de *B. thuringiensis* y azadiractina, así como los del grupo control, se han alimentado hasta el último día del ensayo.

La tasa de inviabilidad de las puestas se presenta en el Cuadro 4. El efecto del factor tratamiento fue altamente significativo ($F_{4,141} = 23.52$, $P < 0.001$). En este caso resulta clara la eficacia de *B. thuringiensis* y azadiractina respecto al grupo control, sin poderse apreciar diferencias entre ellos, aunque flufenoxuron y etofenprox siguen siendo los tratamientos más tóxicos, en este caso con la clara supremacía del último producto.

Cuadro 3.—Tasa de mortalidad de las larvas de *G. scutellatus* (larvas muertas/total larvas tratadas \times 100) después de la exposición a los residuos

	15 min. (%)	30 min. (%)	2 h. (%)	24 h. (%)	48 h. (%)	3.º día (%)	4.º día (%)	5.º día (%)	6.º día (%)	7.º día (%)
Etofenprox	0	17,5	72,5	100	100	100	100	100	100	100
Flufenoxuron	0	12,5	95	100	100	100	100	100	100	100
Azadiractina	0	5	25	50	50	50	62,5	62,5	62,5	72,5
<i>B. thuringiensis</i>	0	0	0	5	7,5	12,5	17,5	17,5	17,5	17,5
Control	0	0	0	0	0	0	2,5	2,5	7,5	7,5

Cuadro 4.-Tasa de inviabilidad de las puestas (total larvas muertas/total huevos contenidos en cada cápsula) después de cada tratamiento tóxico

	Tasa inviabilidad puestas
Etofenprox	93,1
Flufenoxuron	74,5
<i>B. thuringiensis</i>	43,3
Azadiractina	51,2
Control	23,6

El hecho de que todos los insecticidas incrementen la mortalidad de las larvas en fase de desarrollo demuestra su capacidad de penetrar la pared de la cápsula y el corion del huevo.

No se ha detectado ningún efecto significativo de los tratamientos sobre los huevos que quedaron sin desarrollarse ($F_{4,141} = 1.48$, $P = 0.210$), y es posible que el fenómeno se deba sólo a causas naturales.

Efectos de los tratamientos sobre *A. nitens*: ensayos en el laboratorio

El Cuadro 5 presenta el porcentaje de mortalidad en cada tratamiento. El factor tratamiento ha tenido un efecto significativo sobre la mortalidad (48 h.: $F_{4,15} = 29.69$, $P < 0.001$). En este caso no hubo diferencias entre el grupo control, *B. thuringiensis* y azadiractina, mientras que etofenprox y flufenoxuron aumentan significativamente la mortalidad, sin diferencias entre ellos.

Efectos de los tratamientos sobre *G. scutellatus* y *A. nitens* en el monte

La abundancia media de adultos, larvas y puestas de *G. scutellatus* a lo largo del ciclo de muestreos previos y posteriores a los tratamientos insecticidas se encuentra resumida en las Figuras 1, 2 y 3.

Antes del tratamiento no hay diferencias significativas entre las parcelas en cuanto a abundancia de adultos ($F_{4,140} = 1.53$; $P = 0.197$), larvas ($F_{4,140} = 0.11$; $P = 0.980$) y puestas ($F_{4,140} = 1.48$; $P = 0.212$). A los 7 días del tratamiento, este ha tenido un efecto significativo sobre la abundancia de los adultos ($F_{4,140} = 2.90$; $P = 0.024$), debido sin embargo al incremento de *G. scutellatus* en las parcelas tratadas con *B. thuringiensis* en las localidades de Quireza y Caneda (Figura 1). Este efecto deja de ser significativo al cabo de 14 ($F_{4,140} = 2.03$; $P = 0.093$) y luego de 30 días ($F_{4,140} = 2.18$; $P = 0.074$), aunque ahora la tendencia es a una reducción de la densidad de adultos precisamente en las parcelas testigo (Figura 1).

En cuanto a las larvas, se detecta un efecto significativo del factor tratamiento a los 7 días ($F_{4,140} = 20.35$; $P < 0.001$), debido a una reducción en las parcelas tratadas con etofenprox y flufenoxuron (Figura 2). Al cabo de 14 días, los resultados son similares ($F_{4,140} = 20.77$; $P < 0.001$) y también a los 30 días ($F_{4,140} = 11.48$; $P < 0.001$), aunque en este caso solo etofenprox sigue siendo efectivo.

Cuadro 5.-Tasa de mortalidad de los parasitoides expuestos a los residuos (total parasitoides muertos/total parasitoides tratados \times 100)

	15 min. (%)	30 min. (%)	2 h. (%)	24 h. (%)	48 h. (%)
Etofenprox	15	22,5	47,5	95	97,5
Flufenoxuron	5	5	30	80	97,5
Azadiractina	0	0	0	7,5	15
<i>B. thuringiensis</i>	7,5	10	12,5	12,5	25
Control	0	0	0	2,5	7,5

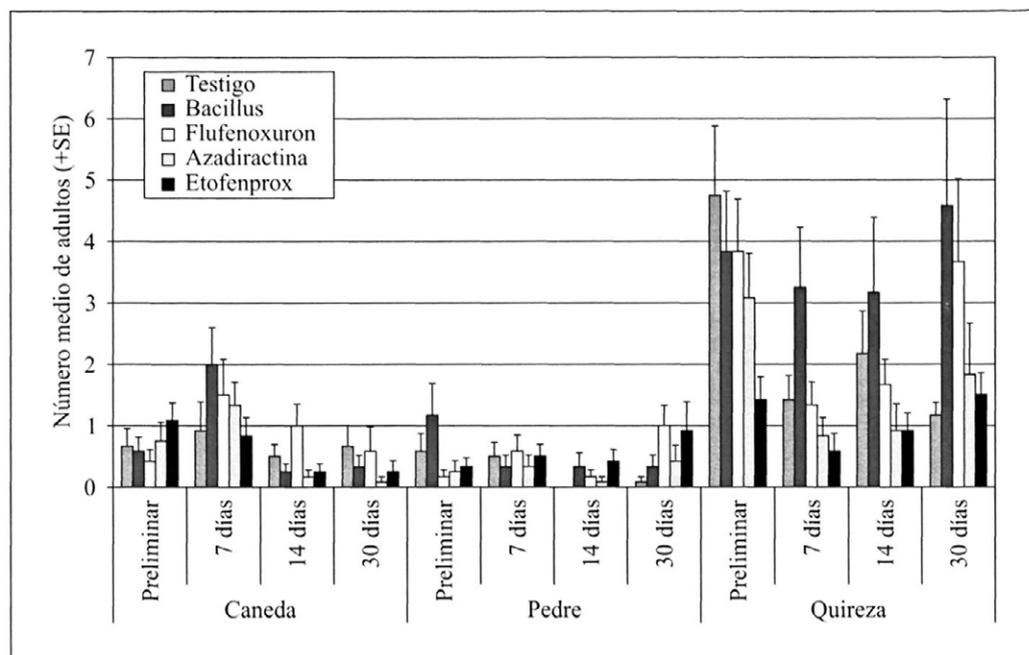


Figura 1: Número medio de adultos presentes en los 4 árboles examinados en cada parcela-tratamiento, en las tres localidades y en las cuatro fechas de muestreo.

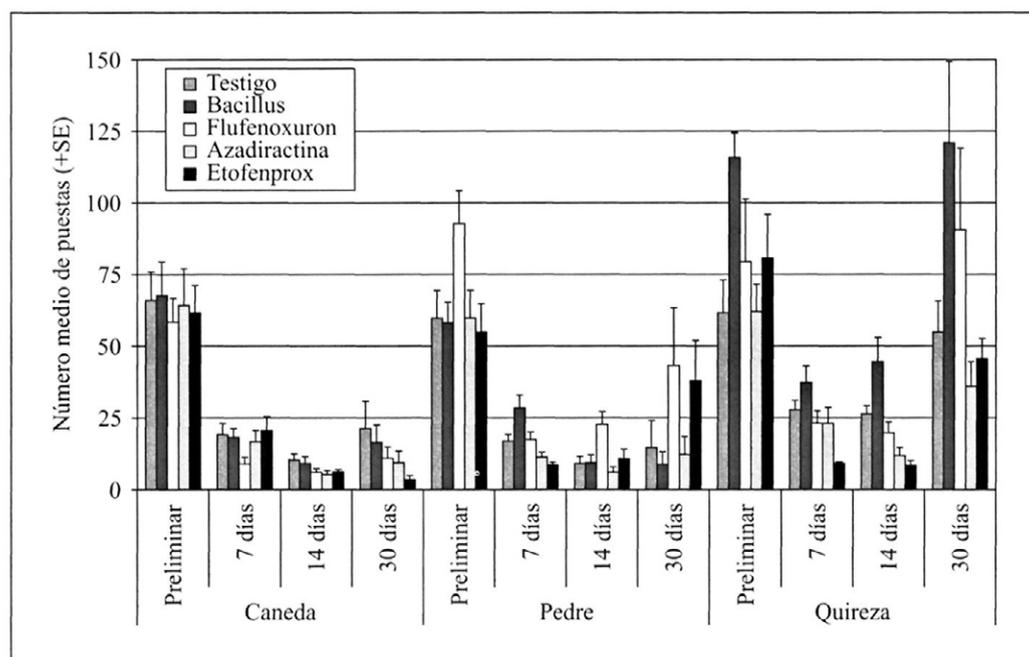


Figura 2: Número medio de puestas presentes en los 4 árboles examinados en cada parcela-tratamiento, en las tres localidades y en las cuatro fechas de muestreo.

Con respecto a las puestas, a los 7 días se observa un efecto significativo del factor tratamiento ($F_{4,140} = 7.51$; $P < 0.001$) determinado por etofenprox (Figura 3). Después de 14 días, de nuevo hay un efecto del tratamiento ($F_{4,140} = 7.49$; $P < 0.001$) debido a la reducción provocada por azadiractina y etofenprox. Finalmente, al cabo de 30 días el tratamiento es solo marginalmente significativo ($F_{4,140} = 2.30$; $P = 0.061$).

Con respecto a la tasa de parasitismo, como era previsible, en el muestreo preliminar no aparecen diferencias entre las parcelas-tratamiento ($F_{4,849} = 1.81$; $P = 0.124$) aunque existen pequeñas diferencias entre las tres localidades. También existe un efecto de la localidad ($F_{2,849} = 21.18$; $P < 0.001$) y una interacción entre localidad y repetición ($F_{6,849} = 3.10$; $P = 0.005$).

Siete días después de la aplicación de los insecticidas, se detecta un efecto significativo del factor tratamiento ($F_{4,724} = 5.78$; $P < 0.001$). El

efecto de la localidad ($F_{2,724} = 48.72$; $P < 0.001$) y la interacción entre localidad y repetición también siguen siendo significativas ($F_{6,724} = 3.14$; $P = 0.005$). Etofenprox determinó en la parcela tratada una tasa de parasitismo muy baja (17%), en comparación con flufenoxuron (40%), azadiractina (24%), *B. thuringiensis* (24%) y el grupo control (30%). Los demás productos no se distinguen del grupo control.

Catorce días después, el tratamiento no produce ningún efecto significativo ($F_{4,534} = 2.02$; $P = 0.090$), aunque el valor se encuentra muy cerca de la significación.

Al cabo de treinta días, el tratamiento sigue teniendo un efecto débil pero significativo sobre la tasa de parasitismo ($F_{4,514} = 2.59$; $P = 0.036$), aunque no es posible indicar cuál de los cuatro productos lo determina. La localidad sigue teniendo un efecto significativo ($F_{2,514} = 10.58$; $P < 0.001$) y no hay interacción entre localidad y repetición ($F_{6,514} = 1.67$; $P = 0.127$).

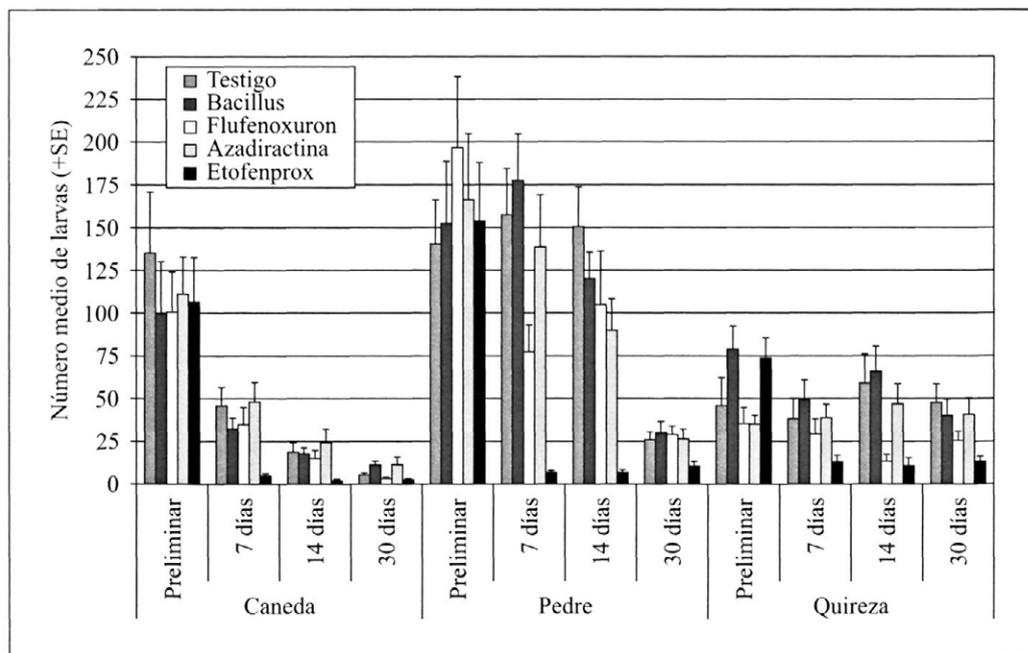


Figura 3: Número medio de larvas presentes en los 4 árboles examinados en cada parcela-tratamiento, en las tres localidades y en las cuatro fechas de muestreo.

DISCUSIÓN

El conjunto de los resultados de este estudio evidencia la importancia de integrar las pruebas de laboratorio con las pruebas en el monte para que ningún aspecto del comportamiento de los distintos fitofármacos pase desapercibido, sobre todo si el objetivo es seleccionar un producto que sea compatible con un programa de lucha integrada.

Si un insecticida se demuestra efectivo en laboratorio, pero no en el campo, es posible que la aplicación haya sido incorrecta, que la concentración del principio activo fuese insuficiente, que el producto se haya degradado demasiado rápidamente, que la plaga sea resistente o que haya podido evitar el contacto con el producto. El resultado de laboratorio en este caso debería impulsar a efectuar nuevos ensayos en el monte, modificando oportunamente tiempos y modos de aplicación.

B. thuringiensis no ha producido ningún efecto apreciable sobre la abundancia de adultos, larvas y puestas de *G. scutellatus* en el monte, y parece ser inocuo para *A. nitens*. Por otra parte en el laboratorio se ha registrado un efecto moderado sobre la viabilidad de las puestas frescas, aunque la ingestión de hojas tratadas no ha producido ningún incremento de la mortalidad en los adultos del gorgojo. En el caso de las larvas, que deberían ser el estadio más sensible a la bacteria, el efecto es casi significativo. En comparación con los otros tres insecticidas, la pobreza del resultado experimental sugiere la escasa utilidad de *B. thuringiensis* var. *kurstaki* cepa EG2424 como medio de control de la plaga, solo o en asociación con el control biológico.

Aun así, siendo este grupo de microorganismos utilizado con éxito en otros casos de lucha química o integrada de plagas agrícolas y forestales (EL YOUSFI, 1990; PASCUAL *et al.*, 1990) y siendo ampliamente apreciado por su especificidad y escasa toxicidad sobre los parasitoides (HILL & FOSTER, 2000), merecería la pena seguir ensayando sobre *G. scutellatus* con otras cepas o incluso mez-

clando distintas cepas de la bacteria que tengan diferentes tipos de deltaendotoxina, para paliar la posible resistencia bioquímica o fisiológica del insecto.

Azadiractina ha determinado en el monte una leve disminución de la abundancia de las puestas después de 14 días de la aplicación del producto, hecho que podría significar la existencia de cierto efecto de inhibición de la oviposición a cargo de las hembras de *G. scutellatus*. En el laboratorio, tal y como señala la bibliografía (AVILÉS PACHECO *et al.*, 2001; RIBA *et al.*, 2003), el efecto más importante se ha registrado sobre las larvas *G. scutellatus* que se han alimentado de hojas tratadas. Al tercer día de observación se alcanza una tasa de mortalidad del 50%, que sube ulteriormente al 72.5% en el séptimo y último día de observación. Los adultos no resultan afectados significativamente después de la ingestión de hojas tratadas, confirmándose una vez más la vocación larvicida de este fitofármaco. También se ha observado un débil efecto ovicida por contacto, mientras que la propiedad *antifeeding* (inhibición de la alimentación) no se ha manifestado en laboratorio sobre *G. scutellatus*. El producto no ha determinado ningún efecto sobre los adultos de *A. nitens* y tampoco ha modificado la tasa de parasitismo natural en el monte.

La falta de efectos secundarios sobre *A. nitens* y la existencia de cierto potencial larvicida, sugiere la posibilidad de compaginar el uso de la azadiractina con el plan de lucha biológica actualmente en acto, aunque la existencia en el mercado de otro larvicida más potente (flufenoxuron) hace reflexionar sobre la necesidad real de introducir otro producto para el mismo fin.

Después de la aplicación de flufenoxuron en el monte la abundancia de las larvas de *G. scutellatus* ha disminuido al 7.º y 14.º día después del tratamiento. No se ha detectado ningún efecto del producto sobre la abundancia de los adultos de *G. scutellatus*, aunque es importante destacar que la mortalidad de los adultos es algo muy difícil de detectar

en el monte, debido a las dimensiones del insecto y a la presencia de otros individuos en plantaciones adyacentes no tratadas que pueden desplazarse fácilmente de un árbol a otro.

El efecto conseguido en laboratorio es sin duda muy contundente: el incremento de la tasa de mortalidad de adultos y larvas de *G. scutellatus* es muy acusado ya a las 24 horas después del simple contacto con las hojas tratadas. Es interesante notar cómo este producto que ya está provisto de autorización para su uso contra *G. scutellatus*, esté descrito únicamente como larvicida por contacto e ingestión, mientras que las pruebas de laboratorio han indicado claramente que el principio activo actúa también contra los adultos de una manera comparable al etofenprox. Flufenoxuron también ha actuado de manera significativa como ovicida por contacto incrementando la tasa de inviabilidad de las puestas del gorgojo hasta el 74.5%.

A pesar de que no se ha registrado una influencia negativa de este fitofármaco sobre la tasa de parasitismo, en el laboratorio el contacto de adultos de *A. nitens* con hojas tratadas ha producido el 97.5% de mortalidad a las 48 horas. Comparando el resultado del laboratorio con el del monte se podría concluir que aunque los adultos que entran en contacto con las hojas tratadas en su mayoría no sobreviven, la llegada de otros parasitoides desde árboles no tratados podría asegurar el mantenimiento del mecanismo de control biológico.

Considerando su efectividad contra los distintos estadios de desarrollo de la plaga y la aparente ausencia de efectos negativos sobre la tasa de parasitismo natural, este insecticida resulta ser más compatible que el etofenprox con la práctica de la lucha integrada.

Etofenprox ha afectado a la abundancia de larvas y puestas de *G. scutellatus* que disminuyen de manera significativa al 7.º y 14.º día de muestreo. Contrariamente a lo ocurrido con los demás insecticidas, también la tasa de parasitismo disminuye de manera significativa al 7.º día.

Este dato es particularmente importante ya que las puestas recolectadas después de 7 días son las que efectivamente recibieron la pulverización de la solución insecticida. Cabe recordar de hecho que en cada fecha de muestreo todas las cápsulas presentes en los árboles marcados fueron contadas y recogidas, y que por lo tanto la tasa de parasitismo que se ha calculado a partir de las que se recolectaron después de 14 y 30 días, nos informa de los efectos del contacto de los parasitoides adultos con el residuo del producto presente sobre las hojas.

En todos los ensayos practicados en laboratorio ya sea sobre los distintos estadios de desarrollo de *G. scutellatus*, como sobre *A. nitens*, el producto ha resultado ser letal, con porcentajes de mortalidad que alcanzan en casi todos los casos el 100% a las 48 horas. El efecto sobre los adultos de *G. scutellatus* probablemente no se detecta en el monte por las razones ya explicadas anteriormente para el flufenoxuron, pero los resultados del laboratorio no dejan lugar a dudas sobre su potencial adulticida por contacto.

Por otra parte, la toxicidad de etofenprox sobre la fauna útil (agentes de control biológico) se encuentra ampliamente documentada en la bibliografía (TAKADA *et al.*, 2001), aunque por lo visto se podría conseguir una disminución de la mortalidad de los parasitoides aplicando el producto antes del comienzo del período de vuelo (HILSZCZAŃSKI, 1998).

En el monte sin embargo el efecto sobre la tasa de parasitismo parece ser limitada en el tiempo, seguramente gracias a la presencia de otras poblaciones de *A. nitens* en las plantaciones adyacentes no tratadas, que funcionan como reservorios. Este resultado indica como en el ámbito de un plan de lucha integrada, sería altamente recomendable mantener la aplicación de este producto siempre a pequeña escala, es decir limitándolo en el espacio (plantaciones de dimensiones reducidas) y en el tiempo (pocas aplicaciones puntuales durante el año) y manteniendo siempre en los alrededores

plantaciones no tratadas que permitan la recolonización por parte del parasitoide de las plantas que recibieron el insecticida.

Para concluir, los resultados de este estudio indican claramente la supremacía de los dos insecticidas de síntesis (etofenprox y flufenoxuron) sobre los bio-insecticidas (*B. thuringiensis* y azadiractina) desde el punto de vista del poder de control de la plaga en todos sus estadios de desarrollo, con cierta ventaja por parte del etofenprox sobre el flufenoxuron en cuanto a eficacia y rapidez. Aun así nuestros datos evidencian que el agente de control biológico no tolera el contacto con etofenprox y flufenoxuron. Por lo tanto, antes de considerar su utilización, se-

ría recomendable esclarecer en qué momento del año y del día se minimizan los efectos perjudiciales sobre los parasitoides y los otros representantes de los artrópodos beneficiosos de cultivos y plantaciones.

AGRADECIMIENTOS

A Jose Gómez Bragaña, Jaime Blanco Dios, Marina Peleteiro Ribadulla y María Durán Beloso por su ayuda en el trabajo de laboratorio y de campo, y a Adolfo Cordero Rivera por el análisis de los datos. Este estudio ha sido financiado por Agrodan S.A, Agrichem S.A., BASF, ENCE, y Rebores S.L.

ABSTRACT

SANTOLAMAZZA CARBONE S., F. J. FERNÁNDEZ DE ANA MAGÁN. 2004. Effects of two chemical insecticides and two bio-insecticides on the *Eucalyptus* snout-beetle *Gonipterus scutellatus* Gyllenhal and its biological control agent *Anaphes nitens* Girault. *Bol. San. Veg. Plagas*, **30**: 265-277

We have combined the results of experiments done in the laboratory and in the field to evaluate the toxicity of four insecticides: flufenoxuron, ethofenprox, azadirachtin and *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* on the eucalyptus snout-beetle *Gonipterus scutellatus* and its natural enemy *Anaphes nitens*. Adults and larvae of *G. scutellatus* and adults of *A. nitens* were exposed to treated leaves of *Eucalyptus globulus* in the laboratory. The weevil egg-capsules were treated topically applying 1 µl droplets of each insecticide on the surface. *B. thuringiensis* showed no activity against the different stages of the pest, or the adult parasitoids. Azadirachtin acted as a larvicide by ingestion (72.5% of mortality after 7 days). Ethofenprox showed the highest toxicity in all the experimental groups. It determined 100% of mortality of adults and larvae of *G. scutellatus* after 24 h and 93.1% of mortality rate of the egg-capsules. On the last day of observation, flufenoxuron provoked 92.5% of adult mortality and 100% of larval mortality. In the laboratory, only ethofenprox and flufenoxuron have adversely affected *A. nitens* (97.5% mortality after 48 h.).

The field experiment was done on three localities, with a preliminary sampling, and three samplings after the applications of the products, on the 7th, 14th and 30th day. In each sampling we evaluated parasitism rate and the abundance of adults, larvae and egg-capsules. Only flufenoxuron and ethofenprox reduced the pest population, but ethofenprox also significantly decreased parasitism rate after seven days. Considering the possible development of an integrated pest management plan, we suggest that flufenoxuron is the most appropriate product to be used in association with the natural enemy.

Key words: *Gonipterus scutellatus*, *Anaphes nitens*, parasitoid, azadirachtin, flufenoxuron, ethofenprox, *Bacillus thuringiensis*, integrated pest management, *Eucalyptus globulus*.

REFERENCIAS

- ALDEBIS, H.K.; VARGAS OSUNA, E. y SANTIAGO-ÁLVAREZ, C., 1994: Caracterización serológica de cepas de *Bacillus thuringiensis* Berliner aisladas de insectos españoles. *Bol. San. Veg. Plagas*, **20**: 765-769.
- AVILÉS PACHECO, R.; GONZÁLEZ GARCÍA, N.; RAMOS, N. y SOTOMAYOR, E., 2001: Efecto de NeemAzal en hojas de pimiento infestadas con huevos de *Thrips palmi* Karny (*Thysanoptera: Thripidae*). *Bol. San. Veg. Plagas*, **27**: 193-197.
- CORDERO RIVERA, A.; SANTOLAMAZZA CARBONE, S. y ANDRÉS, J.A., 1999: Life cycle and biological control of the Eucalyptus snout beetle (Coleoptera, Curculionidae) by *Anaphes nitens* (Hymenoptera, Mymaridae) in north-west Spain. *Agric. Forest Entomol.* **1**: 103-109.
- DEBACH, P. y ROSEN, D., 1991: Biological control by natural enemies, Cambridge University Press, Cambridge.
- EL YOUSFI, M., 1990: Posibilidades de tratamiento contra la procesionaria del pino mediante una preparación a base de *Bacillus thuringiensis* (Berl.) aplicada desde el suelo. *Bol. San. Veg. Plagas*, **16**: 543-547.
- FERNÁNDEZ DE ANA MAGÁN, F.J. y BLANCO-DIOS, J.B., 2002: *Mycosphaerella*, hongo defoliador del eucalipto. Actualidad Forestal de Asturias.
- FERNÁNDEZ-LARREA VEGA, O., 2002: Tecnologías de producción de *Bacillus thuringiensis*. *Manejo Integrado de Plagas y Agroecología* (Costa Rica) **64**: 110-115.
- GIL, M.C. y MANSILLA, J.P., 1983: Detección en España de *Phoracantha semipunctata* F.B. sobre *Eucalyptus globulus*. *Anales I.N.I.A., Serie Forestal* **7**: 171-192.
- HILL, T.A. y FOSTER, R.E., 2000: Effect of insecticides on the Diamondback Moth (Lepidoptera: Plutellidae) and its parasitoid *Diadegma insulare* (Hymenoptera: Ichneumonidae). *J. Econ. Entomol.* **93**: 763-768.
- HILSZCZAŃSKI, J., 1998: The effect of pesticides applied aerially to forest stands on four species of native hymenopterous parasitoids. Proceedings: Population Dynamics, Impacts, and Integrated Management of Forest Defoliating Insects. McMANUS, M.L. y LIEBHOLD, A. Editores 116-121, USDA Forest-Service.
- IOBC, B.E., 2000: Guidelines to evaluate side-effects of plant protection products to non-target arthropods, IOBC/OILB, Gent.
- LOMBARDEO, M.J. y FERNÁNDEZ DE ANA MAGÁN, F.J., 1997: Nuevos insectos perforadores asociados al eucalipto en Galicia (Coleoptera: Scolytidae y Platypodidae). *Bol. San. Veg. Plagas*, **23**: 177-188.
- MANSILLA, J.P., 1992: Presencia sobre *Eucalyptus globulus* Labill de *Gonipterus scutellatus* Gyll. (Col. Curculionidae) en Galicia. *Bol. San. Veg. Plagas*, **18**: 547-554.
- MANSILLA, J.P. y PÉREZ OTERO, R., 1996: El defoliador del eucalipto *Gonipterus scutellatus*. *Phytoma España* **81**: 36-42.
- PASCUAL, J.A.; ROBREDO, F. y GALANTE, E., 1990: Tratamientos aéreos ULV con Alfa-Cipermetrina, Diflubenzurón y *Bacillus thuringiensis* contra la procesionaria del roble (*Thaumetopoea processionea*) (Lep., Thaumetopoeidae). *Bol. San. Veg. Plagas*, **16**: 585-591.
- RIBA, M.; MARTÍ, J. y SANS, A., 2003: Influence of azadirachtin on development and reproduction of *Nezara viridula* L. (Het., Pentatomidae). *J. Appl. Entomol.* **127**: 37-41.
- SANTOLAMAZZA CARBONE, S., 2002: Ecología del comportamiento del gorgojo del eucalipto *Gonipterus scutellatus* Gyllenhal y de su parasitoide *Anaphes nitens* Girault. Universidade de Vigo. Tesis doctoral.
- SUH, C.P.C.; ORR, D.B. y VAN DUYN, J.W., 2000: Effect of insecticide on *Trichogramma exiguum* (Trichogrammatidae: Hymenoptera) preimaginal development and adult survival. *J. Econ. Entomol.* **93**: 577-583.
- TAKADA, Y.; KAWAMURA, S. y TANAKA, T., 2001: Effect of various insecticides on the development of the egg parasitoid *Trichogramma dendrolini* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *J. Econ. Entomol.* **94**: 1340-1343.
- TILLMAN, P.G. y MULROONEY, J.E., 2000: Effect of selected insecticides on the natural enemies *Coleomegilla maculata* and *Hippodamia convergens* (Coleoptera: Coccinellidae), *Geocoris punctipes* (Hemiptera: Lygaeidae), *Bracon mellitor*, *Cardiochiles nigriceps*, and *Cotesia marginiventris* (Hymenoptera: Braconidae) in cotton. *J. Econ. Entomol.* **93**: 1638-1643.
- TOOKE, F.G.C., 1955: The *Eucalyptus* snout-beetle, *Gonipterus scutellatus* Gyll. A study of its ecology and control by biological means. Entomology Memoirs Department of Agriculture Union of South Africa **3**: 1-282.

(Recepción: 6 noviembre 2003)

(Aceptación: 5 febrero 2004)