

# Principales métodos biotécnicos empleados en el control de plagas

Ignacio PÉREZ MORENO<sup>1</sup>

<sup>(1)</sup> Departamento de Agricultura y Alimentación. Universidad de La Rioja, Avda. De la Paz, nº 105, Edificio I.T.A., 26004 Logroño (La Rioja)

**Resumen:** Los métodos biotécnicos son mecanismos de control de plagas basados en la alteración de los procesos fisiológicos y de comunicación de las especies-plaga. Su principal atractivo radica en que permiten la reducción del uso de insecticidas convencionales. En el presente artículo se efectúa una revisión de las técnicas biotécnicas más desarrolladas

## 1. Introducción

La agricultura moderna difícilmente puede prescindir del uso de productos fitosanitarios para minimizar las pérdidas que anualmente producen las plagas en los cultivos. Aunque hay un sector minoritario, el de la agricultura ecológica, que no utiliza productos químicos de síntesis, lo cierto es que, en la mayoría de los casos, si queremos garantizar la producción necesitamos en muchas ocasiones recurrir al control químico (Coscollá, 1993). El empleo de insecticidas de síntesis ha traído consigo la aparición de importantes inconvenientes. El primer fenómeno que se observó fue la introducción de resistencias en las plagas, con lo que algunos insecticidas inicialmente muy eficaces terminaron por ser inocuos sobre determinadas poblaciones de insectos. Un efecto negativo de la aplicación de insecticidas poco selectivos es la introducción de desequilibrios en los agroecosistemas al eliminar los insectos y ácaros útiles (depredadores y parasitoides), que son capaces de regular ciertas plagas de forma natural, lo que ocasiona la aparición de nuevas plagas. Por último, hay que señalar que la utilización no controlada de plaguicidas provoca problemas de contaminación del medio ambiente, así como problemas de toxicidad para el hombre por los residuos que permanecen en las cosechas tratadas (Vives, 1988). Todos estos problemas han obligado a orientar la protección de los cultivos hacia métodos cada vez más selectivos y menos tóxicos.

A lo largo de la historia, el control de plagas ha pasado por diferentes etapas, que pueden resumirse de la siguiente forma (Carrero, 1996):

1.- Etapa clásica. Es anterior al descubrimiento de los plaguicidas orgánicos. Se caracteriza por el empleo de productos de origen natural como la nicotina, el azufre, el sulfato de cobre, los aceites minerales, etc., así como determinadas prácticas culturales. Existe un equilibrio biológico natural en el ecosistema agrícola y no hay problemas de contaminación, residuos, toxicidad, etc.

2.- Etapa de los productos orgánicos de síntesis. Comienza en 1939, cuando se descubre la acción insecticida del DDT, y llega casi hasta nuestros días. Se caracteriza por un

aumento muy importante de los productos fitosanitarios y se ponen de moda nefastos calendarios de tratamientos. Es la etapa en la que se originan todos los problemas citados anteriormente.

3.- Etapa actual o neoclásica. Surge como una necesidad ante el uso y abuso del empleo de pesticidas. Se pueden distinguir varias subetapas:

- a) Lucha química aconsejada. A partir de 1975 comienzan a funcionar en las diferentes provincias españolas las llamadas Estaciones de Avisos, cuya misión consiste en informar a nivel de comarcas o regiones sobre la evolución de las plagas y enfermedades de los cultivos más representativos, aconsejando cuándo y con qué productos se debe tratar. Es la forma que predomina en la actualidad en España.
- b) Lucha dirigida. Se caracteriza por la introducción del llamado 'umbral de tolerancia', esto es, la densidad de plaga a partir de la cual es conveniente aplicar un tratamiento, ya que los daños que va a ocasionar si no se controla, serán superiores al coste económico del tratamiento. Es necesaria la supervisión de un técnico que determina la necesidad de la intervención y los productos más eficaces y selectivos, respetando la fauna útil.
- c) Lucha integrada. Se define como 'el sistema de regulación de plagas que, teniendo en cuenta su hábitat y la dinámica de poblaciones de las especies consideradas, utiliza todas las técnicas y métodos apropiados, compatibilizando al máximo su interacción, con objeto de mantener las plagas en niveles que no originan daños económicos'. Implica, pues, la consideración simultánea de tres niveles de ecosistema agrícola: 1) el propio cultivo; 2) las plagas, enfermedades y malas hierbas asociada; y 3) los organismos antagonistas de las plagas, es decir, sus enemigos naturales. Las prin-

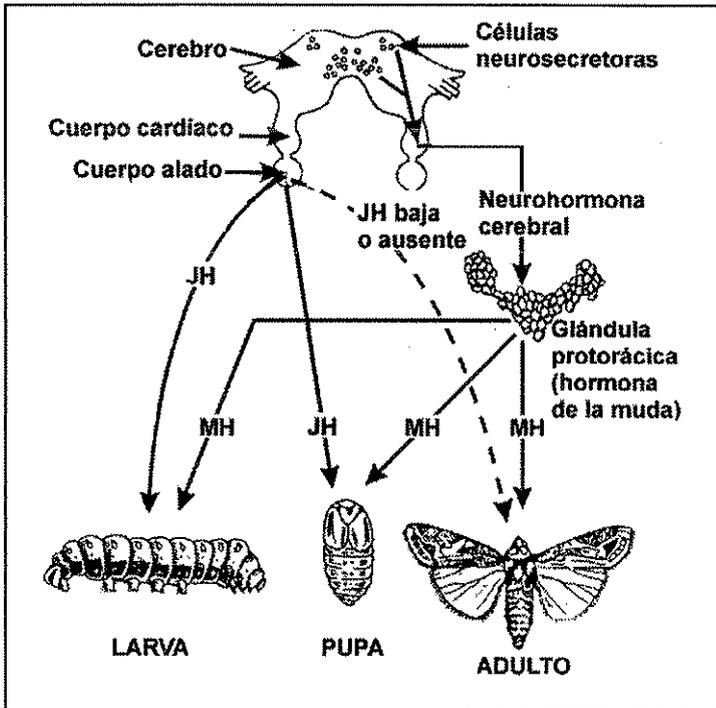


Fig. 1 Control nervioso y endocrino del desarrollo postembrionario de un lepidóptero (Hoar, 1975). JH: Hormona juvenil; MH: Hormona de la muda.

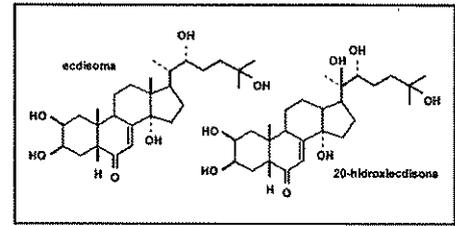


Fig. 2 Estructura química de la ecdisona y de la 20-hidroiecdisona (Bellés, 1988)

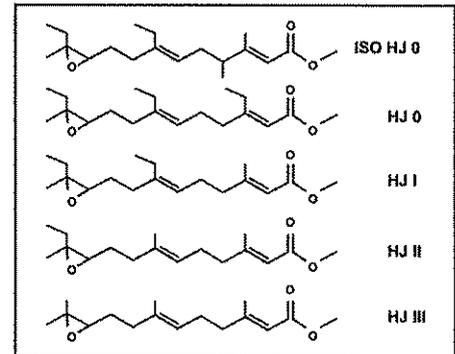


Fig. 3 Estructura química de las hormonas juveniles conocidas (Bellés, 1968)

cipales técnicas empleadas en este sistema de control son determinadas prácticas culturales, la lucha biológica y los métodos biotécnicos (Carnero *et al.*, 1988).

Con el término 'métodos biotécnicos' se designan todas aquellas formas de control de plagas que presentan una base biológica, capaces de alterar los mecanismos de comunicación y determinados procesos fisiológicos vitales de las plagas, diseñados y optimizados a partir de un conocimiento básico de dichos procesos y mecanismos. Con estos métodos se pretende la reducción del uso de insecticidas convencionales, mucho más problemáticos. A continuación, se detallan los principales métodos biotécnicos que existen en la actualidad. Solamente se han considerado aquellas técnicas que se encuentran más desarrolladas y que, estando comercializadas, tienen un uso más extendido. Por lo tanto, han quedado fuera técnicas como la utilización de antagonistas de la hormona juvenil (precoenos), anti-ecdisonas, inhibidores del curtido de la cutícula, compuestos antiapetentes, métodos autocidas, etc. Se han considerado, igualmente, los insecticidas microbiológicos, a pesar de tratarse, más bien, de un método de lucha biológica.

## 2. Hormonas endocrinas y control del desarrollo

Para comprender el modo de acción de algunos métodos biotécnicos de control de plagas, es preciso conocer el mecanismo endocrino que regula el desarrollo de los insectos. La vida de los insectos comprende dos períodos distintos: un período larvario, en el que se alimenta y crece mediante mudas sucesivas; y un período de vida adulta, en el que principalmente se reproduce. Durante el período larvario, la presencia de una cutícula externa rígida no le permite crecer de una forma continua, por lo que se tiene que despojar de su vieja cutícula a intervalos más o menos regu-

lares, para formar otra nueva y más amplia. Antes de alcanzar la fase de adulto, los individuos inmaduros sufren complejas transformaciones que reciben el nombre de metamorfosis. Existen dos tipos de metamorfosis: la metamorfosis sencilla o desarrollo heterometábolo, en la que la fase de larva pasa directamente al estado de adulto; y la metamorfosis compleja o desarrollo holometábolo, en la que la larva está separada del estado de adulto por una fase de pupa en la que las estructuras larvarias sufren una fuerte modificación para formar los tejidos del adulto.

Tanto el crecimiento como el desarrollo postembrionario de los insectos están controlados por su sistema endocrino y regulados por una amplia serie de factores ambientales (fotoperíodo, temperatura, humedad, nutrición, etc.). Las glándulas endocrinas producen hormonas, es decir, mensajeros químicos que son secretados directamente en la hemolinfa, actuando en lugares diferentes a los de su origen.

En el cerebro de los insectos, concretamente en el protocerebro, existen una serie de células llamadas células neurosecretoras. Estas células forman, generalmente, dos grupos centrales y, en algunos casos, también grupos laterales. Presentan un cuerpo celular que contiene acumulaciones variables de material secretor. De este cuerpo parte un largo axón que termina en una serie de ramificaciones acabadas en pequeñas vesículas. Los axones de cada grupo de células constituyen un haz que termina en un órgano neurohemal denominado cuerpo cardíaco, generalmente situado detrás del cerebro. Se sabe que existe un transporte de sustancias desde las células neurosecretoras hasta los cuerpos cardíacos, a través de dichos axones (De la Fuente, 1994).

Detrás de los cuerpos cardíacos y conectados con ellos mediante nervios, se localizan un par de cuerpos ovoidales o esféricos, denominados cuerpos alados, de naturaleza secretora. Forman parte del complejo retrocerebral, que queda conectado a la parte posterior del cerebro y se sitúa sobre la aorta y el tubo digestivo.

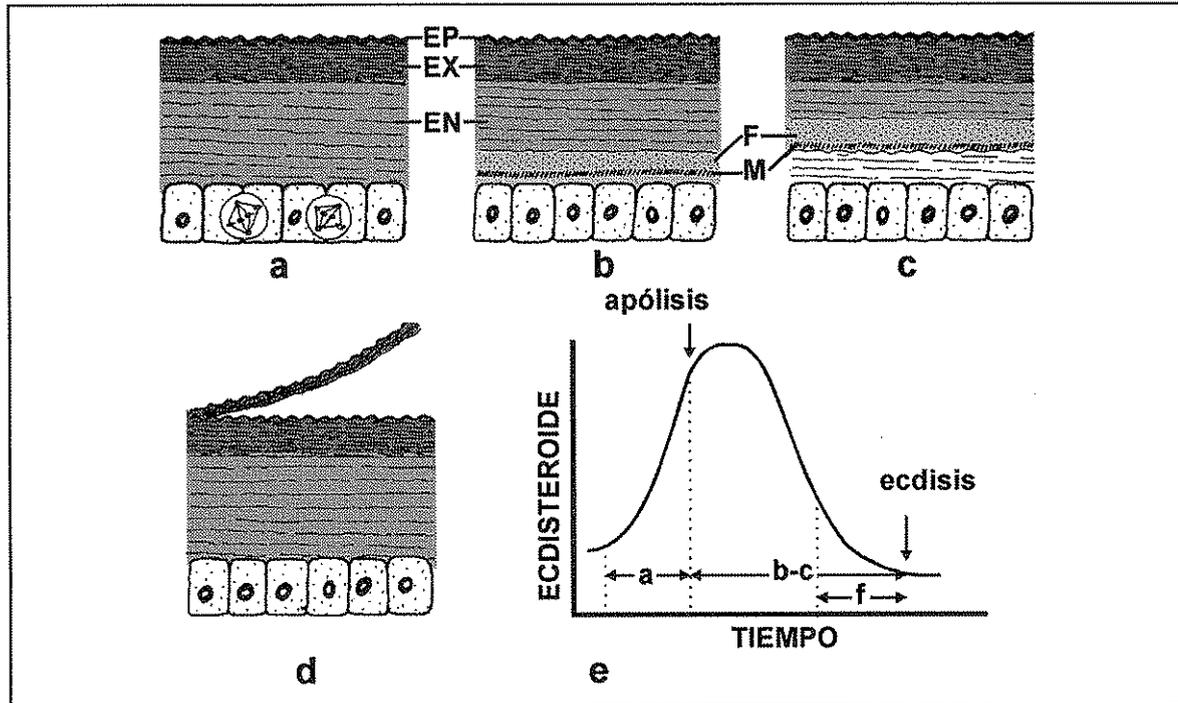


Fig. 4. Fases características del proceso de muda (modificado de Bellés, 1988). a: etapa de preparación; b: apólis; c: digestión de la cutícula vieja; d: écdisis; e: correlación de estas etapas con la concentración de hormonas de la muda; f: etapa de pigmentación.

Por último, existen en los insectos pterigotos otras glándulas endocrinas denominadas glándulas protorácicas, mientras que en los apterigotos su papel fisiológico es asumido por las glándulas tentoriales o ventrales (De la Fuente, *op. cit.*). Las glándulas protorácicas se sitúan en la parte anterior del tórax, aunque en algunas especies también pueden ocupar parte de la zona basal de la cápsula cefálica y la región cervical (Bellés, 1988).

Existen, por tanto, tres zonas de producción hormonal y, al menos, tres tipos de hormonas que regulan el desarrollo postembrionario y el crecimiento (Figura 1). Las células neurosecretoras producen la llamada hormona cerebral o protoracicotrópica. Esta hormona puede ser liberada directamente o puede ser conducida, vía axónica, hasta los cuerpos cardíacos, donde se libera en la hemolinfa del insecto. Su liberación provoca la activación de las glándulas protorácicas, que responden con la secreción de otra hormona, la llamada hormona de la muda o ecdisona (Figura 2), que induce a las células epidérmicas hacia la iniciación de la muda. Se trata de un ecdisteroide que, una vez liberado, es hidrolizado en los tejidos periféricos, convirtiéndose en 20-hidroxiecdisona (Figura 2), el metabolito más activo (Marco y Tomás, 1988).

Los cuerpos alados, por su parte, segregan la denominada hormona juvenil (HJ). Se han identificado 5 clases de hormonas juveniles, todas ellas con una estructura similar de tipo sesquiterpénico (Figura 3): la iso HJ 0, HJ 0, HJ I y HJ II únicamente se han hallado en lepidópteros, mientras que la HJ III ha sido identificada, además, en especies de otros órdenes como ortópteros, dictiópteros o coleópteros (Bellés, 1988).

Durante el período larvario del insecto, existe un equilibrio entre ecdisona y HJ, que determina las características de cada estado de desarrollo. Para que se produzca la muda es necesario que exista una determinada concentración de ecdisona. Antes de su inicio, se produce un aumento en la concentración de ecdisteroides en la hemolinfa, el cual se

correlaciona con las cuatro etapas básicas en que se divide el proceso (Figura 4) (Bellés, *op. cit.*):

- etapa de preparación, en la cual las células epidérmicas experimentan una activación, apareciendo fenómenos de síntesis de ADN, división celular y diferenciación de estructuras especializadas (sedas, escamas, etc.);
- apólis, en la que se forma una membrana ecdisal sobre la epidermis y se segrega un líquido enzimático encargado de digerir la vieja cutícula;
- digestión de la mayor parte de la cutícula vieja y formación progresiva de una nueva cutícula; y
- écdisis, en la que el insecto se desprende del resto de cutícula vieja no digerida.

Algunos procesos de pigmentación de la nueva cutícula pueden tener lugar antes de la écdisis, y después de la misma se completa la esclerotización, adquiriendo las características rígidas normales.

Es la concentración de HJ la que determina las características del nuevo estado de desarrollo que aparecerá con la nueva muda. Si esta concentración se encuentra a unos niveles que resultan activos, el nuevo estado de desarrollo será una larva o una pupa, pero si la concentración de HJ se encuentra por debajo de este nivel activo, el nuevo estado que surge de la muda es el adulto. La HJ presenta, por tanto, una acción represora de la metamorfosis del insecto, es decir, la diferenciación de las células epidérmicas para constituir un exoesqueleto de pupa o de adulto requiere la presencia de ecdisona y la ausencia de HJ.

Este tipo de control ha sido descrito en varios grupos de insectos, sin embargo, no es universal. Se han citado variaciones, tanto morfológicas como fisiológicas, que eran de esperar, dado que los procesos evolutivos han alcanzado, muy a menudo, objetivos similares por caminos diferentes (Hoar, 1975).

### 3. Reguladores del crecimiento de los insectos (RCI)

Bajo esta denominación se incluyen una serie de sustancias que actúan, de alguna manera, sobre el sistema endocrino de los insectos, por lo que alteran su desarrollo. La principal ventaja que presentan esos productos es su carácter relativamente específico, por lo que resultan inocuos para los animales superiores, siendo además débilmente tóxicos para la fauna depredadora y parásita que habita en los ecosistemas agrícolas, al menos en teoría. En líneas generales, carecen de acción sobre los insectos adultos, por lo que los tratamientos deben ir dirigidos sobre las formas inmaduras. Se dividen en dos grupos principales: los juvenoides o análogos de la HJ y los agonistas de la ecdisona o compuestos aceleradores de la muda (MAC).

#### 3.1. Juvenoides

Una vez comprobado el importante papel regulador que juega la HJ en el desarrollo de los insectos (Williams, 1956), se propuso su empleo como insecticida al comprobar la aparición de efectos morfogenéticos en la metamorfosis del gusano de seda tras la aplicación de extractos activos de esta hormona obtenidos a partir del abdomen del macho del satúrnido *Hyalophora cecropia* (Viñuela *et al.*, 1991).

Pocos años después, se produjo el descubrimiento de la primera sustancia vegetal con actividad análoga a la HJ, debido a una casualidad. Hacia 1964, el profesor C. M. Williams de la Universidad de Harvard, invitó a su colega checo, el profesor K. Sláma, a una estancia en EE.UU para estudiar la fisiología del heteróptero *Pyrhcoris apterus*. El profesor Sláma llevó consigo una colonia de este insecto, pero cuando esta colonia se intentó reproducir en el laboratorio norteamericano resultó un fracaso. El desarrollo postembrionario de *Pyrhcoris apterus* presenta cinco fases juveniles, que se suelen denominar ninfas. Pues bien, Sláma, que había criado sin ningún problema durante años las chinches en Checoslovaquia, no obtenía el mismo éxito en la Universidad de Harvard, ya que casi ninguna ninfa experimentaba la muda que daba lugar al adulto. Lo máximo que conseguía era ninfas de sexta edad que, por supuesto, eran deformes y estériles. Después de numerosos intentos con diferentes condiciones, probaron a cambiar el papel que recubría el interior de las cajas de cría y descubrieron que éste era el causante de su fracaso. En dicho papel había, pues, un factor que inhibía el desarrollo de adultos. La especie vegetal de la que procedía era *Abies balsamea*. En este árbol se detectó un compuesto terpénico, que en un principio se denominó 'factor papel' y posteriormente juvabiona, con una estructura y un efecto muy similar al de la HJ. Se comprobó que la acción de la juvabiona era específica sobre algunas familias de insectos e inactiva sobre otras, lo que implicaba la posibilidad de respetar a los insectos depredadores y otros insectos beneficiosos (Viejo, 1990).

Más tarde, otros investigadores descubrieron en distintas plantas otras sustancias parecidas a la HJ de los insectos, todas de naturaleza terpénica, algunas de ellas muy activas. Al conjunto de tales compuestos vegetales se les llama fitojuvenoides. Una vez conocidas las estructuras químicas de las HJ de los insectos y de muchos fitojuvenoides, se han sintetizado varios miles de compuestos con estructuras más o menos análogas y que reciben el nombre de juvenoides. Algunos de ellos se han introducido en el mercado, empleándose en el control de diversas plagas.

La administración en la última fase larvaria de HJ o de juvenoides provoca anomalías en la metamorfosis que se traducen en la aparición de individuos con caracteres morfológicos intermedios entre larva y pupa. A mayor dosis o mayor actividad del compuesto, estos individuos pueden mostrar mayor número de caracteres juveniles, llegando incluso a la inducción de larvas supernumerarias, es decir, larvas que alcanzan una edad o estado larvario superior al que alcanzarían de forma natural. En tratamientos dirigidos sobre la fase pupal se obtienen efectos similares de inhibición total o parcial de la metamorfosis. En este caso, aparecen adultos con caracteres pupales. Si la especie es heterometábola, al administrar el compuesto en el estado de última ninfa se obtienen individuos con caracteres intermedios entre ninfa y adulto tras la muda imaginal.

Estos efectos morfogenéticos constituyen la base de la aplicación potencial de los juvenoides como agentes insecticidas, puesto que los individuos intermedios descritos resultan casi siempre inviábiles (Figura 5). Por otra parte, los efectos fisiopatológicos de estos compuestos no se restringen a la inhibición de la metamorfosis, sino que pueden alterar también otras funciones ejercidas por las HJ naturales. Por ejemplo, en huevos depositados recientemente pueden interrumpir la embriogénesis, por lo que manifiestan un efecto ovicida (Figura 5); en la larva de algunos lepidópteros pueden inducir de forma artificial la diapausa. Además, la función gonadotrópica que manifiestan las HJ en los adultos, puede resultar alterada por la hiperestimulación que supone una concentración elevada de juvenoides, dando como resultado la esterilización temporal o permanente de estos individuos (Coll, 1988). Igualmente, algunos de ellos provocan en los adultos tratados una importante pérdida de fertilidad, habiéndose observado gran mortandad de sus huevos (Charmillot & Pasquier, 1992).

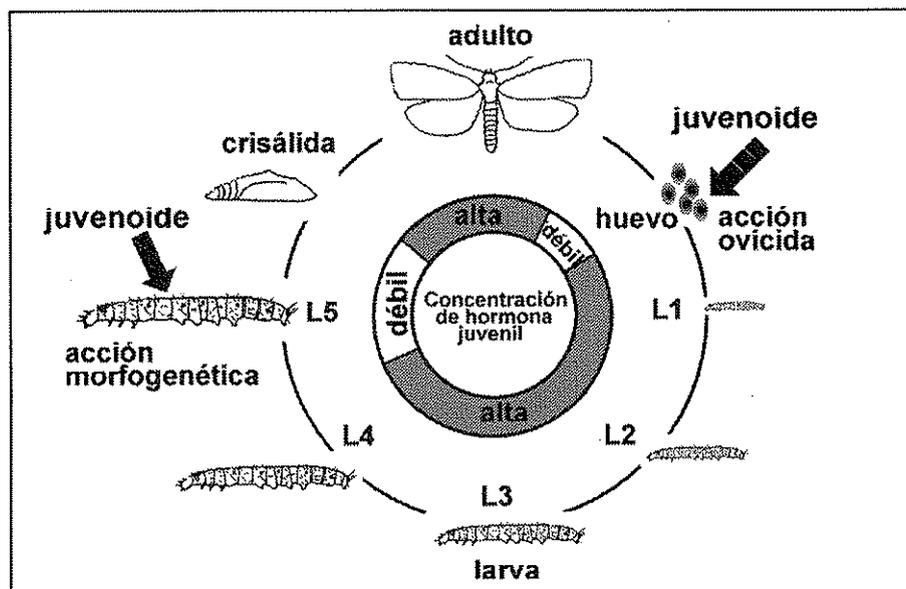
A pesar de las ventajas, sobre todo ecológicas y toxicológicas, que suponen estos productos, el uso práctico de los juvenoides no está muy extendido, ya que su eficacia depende del momento de aplicación, que debe ser muy preciso, y por otro lado existe el peligro de inducción a la producción de estadios larvarios supernumerarios, lo que aumentaría el problema en caso de que sean las larvas las formas dañinas para el cultivo (Viñuela *et al.*, 1991). En España están registrados tres productos de este tipo: fenoxycarb, metopreno y kinopreno.

El fenoxycarb (Figura 6) está homologado para el control de diversas plagas de lepidópteros y homópteros de los frutales (*Cydia molesta*, *Cydia pomonella*, *Adoxophyes orana*, *Quadraspidiotus perniciosus*, *Cacopsylla pyri*, etc.), así como de viñedo (*Lobesia botrana*) y olivo (*Saissetia oleae*); el metopreno (Figura 6) se emplea contra algunas plagas del tabaco (*Lasioderma serricornis*, *Ephestia kuehniella*); mientras que el kinopreno se utiliza en cultivos florales y ornamentales para controlar pulgones y aleuródidos (Yagüe & Bolívar, 1996).

Por otra parte, existe una serie de compuestos llamados juvenógenos, que una vez en el interior del insecto sufren una activación metabólica, liberando una molécula con actividad de HJ. Estas sustancias surgieron como respuesta a la elevada volatilidad que presentaban algunos juvenoides en condiciones de campo, pues muchos juvenoides presentan vidas medias de pocos minutos una vez aplicados, transformándose en metabolitos inactivos (Coll, 1988).

El empleo práctico de los juvenoides como agentes de control de plagas presenta una problemática de tipo técnico, debido a sus características de persistencia (alta volatilidad, liposolubilidad, degradabilidad), que ha sido resuelta, en parte, recurriendo a sistemas de aplicación adecuados a las

Fig. 5. Esquema de la actividad de los juvenoides sobre las diferentes etapas del desarrollo del insecto (modificado de Charmillot & Bloesch, 1987)



propiedades indicadas (microencapsulación, formulación especial). A pesar de ello, y debido a que el período de sensibilidad a los efectos morfogenéticos es muy corto (fase previa a la metamorfosis), es necesaria una cierta repetitividad de las aplicaciones para asegurar su eficacia.

Hay que considerar también, que los objetivos del control se cumplen para las plagas cuyos adultos hay que reducir o eliminar, puesto que la alteración de la metamorfosis se manifiesta en la primera generación de adultos. Por el contrario, cuando la plaga se manifiesta a nivel de larva, el tratamiento puede ser contraindicado, ya que existe la posibilidad de aparición de larvas supernumerarias perfectas y viables, mayores y más voraces.

En resumen, el control de plagas por medio de este tipo de compuestos se efectúa esencialmente en tres etapas:

- 1) a nivel de embriogénesis, mediante el bloqueo del desarrollo embrionario (efecto ovicida) e inducción de esterilidad, que se dan particularmente en homópteros;
- 2) por acción sobre la diapausa, modificando el calendario normal tanto para la inducción como para la terminación de la misma a destiempo; y
- 3) acción sobre la morfogénesis, que salvo casos excepcionales, es impracticable por no verse afectada la etapa destructiva o afectarse en sentido contrario al deseable.

### 3.2. Compuestos aceleradores de la muda (MAC)

En 1966 se descubrió la acción insecticida de diversos esteroides análogos a la hormona de la muda, es decir, compuestos que al aplicarlos sobre las formas larvares de algunos insectos inducían la muda, pero con un resultado letal. A estos compuestos se les denomina ecdisoides o ecdisteroides y se dividen en dos grandes grupos: los de origen animal o zooecdisteroides, y los de origen vegetal o fitoecdisteroides. Debido a la complejidad de sus moléculas y a la

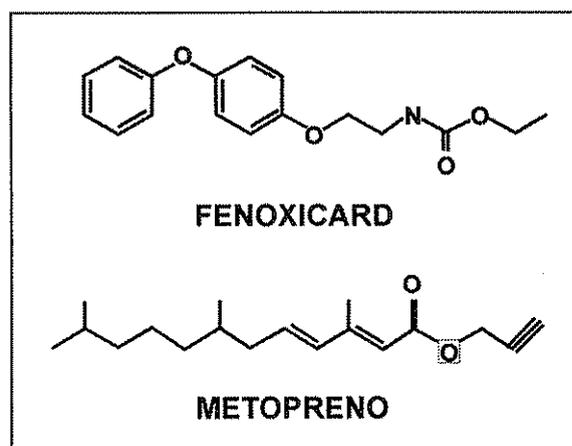


Fig. 6. Estructura química de los juvenoides fenoxicard y metopreno (Primo Yufera, 1991)

dificultad con que penetran a través de la cutícula de los insectos, la industria química apenas ha prestado atención a estos productos (Marco y Tomás, 1988).

Recientemente, ha aparecido un grupo de sustancias no esteroidales que se caracteriza por provocar en los insectos el mismo efecto que la hormona de la muda, a pesar de presentar una estructura química diferente (Wing *et al.*, 1988). Se les denomina compuestos aceleradores de la muda o MAC. Por el momento sólo existe una molécula comercializada, el tebufenocida. Pertenece a la familia química de las diacilhidracinas (= benzhidracinas) y es especialmente activo sobre lepidópteros, variando su eficacia en función de la especie tratada. Estos compuestos actúan principalmente por ingestión y en menor medida por contacto. El primer efecto que producen sobre las larvas es una parada de la alimentación, entre 2 y 4 horas después de la ingesta, lo que provoca la detención de los daños. Poco después, comienzan los acontecimientos que preceden a la muda: apólisis y digestión enzimática de la cutícula. A nivel de las células epidérmicas, la colocación de la cutícula nueva se ve perturbada como consecuencia de una alteración en la producción de la endocutícula. La nueva cutícula que se forma presenta un menor espesor y no está esclerotizada. El insecto es incapaz de liberarse de su antigua cutícula y, por tanto, de consumir la muda.

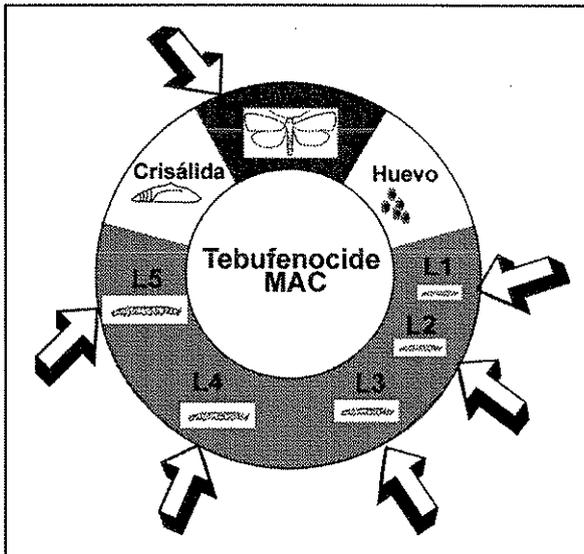


Fig. 7. Esquema de la actividad del tebufenocida sobre las diferentes etapas del desarrollo del insecto (modificado de Charmillot *et al.*, 1994)

Los efectos morfológicos de la hormona de la muda son el resultado de la activación de genes que codifican unas proteínas cuticulares por intermedio de un factor de transcripción. El efecto de la hormona natural está limitado en el tiempo y esta limitación es necesaria para que se desarrolle la cascada de acontecimientos que conducen a la muda. Únicamente las primeras etapas requieren la hormona de la muda, mientras que por el contrario, las últimas etapas tienen lugar únicamente si la hormona de la muda desaparece (Figura 4). En el caso de los MAC, la molécula permanece presente en los tejidos durante un período de tiempo mucho más largo que la hormona, por lo que mantiene la activación de los genes que codifican los acontecimientos precoces, e impide la expresión de los genes que codifican los acontecimientos siguientes. En estas condiciones, el insecto no puede completar la muda.

La toxicidad sobre los insectos adultos es poco importante, pudiendo perturbar el desarrollo de los ovarios e inhibir la puesta (Wing *et al.*, 1988). Sobre la reproducción, sus efectos no están establecidos claramente. La existencia de hormona de la muda en el embrión explica una actividad ovicida de estos compuestos. Al igual que ocurre durante el desarrollo postembrionario, se produciría el bloqueo de los receptores de la hormona de la muda y la prevención de las mudas embrionarias, lo que implicaría la muerte del embrión. Tales efectos han podido ser observados sin que se pueda considerar como principal esta actividad ovicida (Mauchamp, 1996).

Los ensayos llevados a cabo en laboratorio sobre dos especies de polilla de la vid, *Lobesia botrana* y *Eupoecilia ambiguella*, indican que el tebufenocida no ejerce ningún efecto ovicida, cualquiera que sea la edad de los huevos tratados. Confirman, por contra, que la actividad larvicida se manifiesta en todos los estados, aunque es mucho más eficaz sobre larvas de corta edad (Figura 7). En los adultos provoca una reducción de la fecundidad (Charmillot *et al.*, 1994b). Además de emplearse en el control de estos dos lepidópteros se aplica eficazmente sobre otras especies, como *Cydia pomonella*, *Adoxophyes orana* (Charmillot *et al.*, 1994a) y *Thaumetopoea pityocampa* (Jousseame, 1997).

#### 4. Inhibidores del crecimiento de los insectos (ICI)

Este grupo de sustancias lo integran todas aquellas moléculas que interfieren en el mecanismo de formación de la nueva cutícula del insecto durante la muda, principalmente por inhibir la síntesis de la quitina. Algunos investigadores los incluyen dentro del grupo de los reguladores del crecimiento de los insectos, debido a que poseen una acción de efecto retardado, que no se manifiesta hasta la primera muda después del tratamiento (Cohen, 1987), mientras que otros los consideran un grupo aparte, ya que no regulan el crecimiento, sino que inhiben un proceso vital como es la deposición de cutícula (Grosscurt & Jongmsa, 1987). Son considerados como selectivos, ya que su acción se restringe a mecanismos propios de artrópodos, sin poner en peligro otras formas de vida. Los efectos sobre artrópodos beneficiosos son poco importantes, sobre todo si se aplican en el momento adecuado.

La cutícula, que es segregada por las células epidérmicas, se diferencia en dos capas principales: procutícula y epicutícula (Figura 8). La procutícula, con unas 200  $\mu$  de espesor, está constituida por proteínas y quitina, diferenciándose de abajo a arriba en endocutícula, flexible y de aspecto laminar, y en exocutícula, esclerotizada y de aspecto granular. La endocutícula está compuesta por proteínas diversamente orientadas y fibras de quitina, formando capas de 0,1 a 1  $\mu$  de grosor (Richards & Davies, 1983). La exocutícula, por su parte, es la responsable de la rigidez y dureza de la cutícula. Está formada, igualmente, por proteínas y quitina, pero las proteínas se encuentran endurecidas. Sobre la procutícula se encuentra la epicutícula, de 1 a 4  $\mu$  de espesor, con una estructura compleja: la epicutícula interna, que consta de lipoproteínas curtidas; la epicutícula externa, formada por un lípido polimerizado y con un componente proteico; la cera, que consta de hidratos de carbono de cadena larga, ésteres de ácidos grasos y alcoholes; y en algunos insectos, una capa de cemento. Las distintas capas son segregadas sucesivamente: primero la epicutícula externa, luego la interna, después comienza la formación de la procutícula, y horas antes de la ecdisis la capa de cera que, como la procutícula, seguirá depositándose durante la intermuda. Mediante un proceso de curtido, en virtud del cual las proteínas estructurales se unen entre sí mediante puentes fenólicos, la cutícula adquiere sus características fundamentales: impermeabilidad de la epicutícula y rigidez de la exocutícula (Santiago, 1988).

Los inhibidores del crecimiento actúan específicamente sobre la cutícula de los insectos, evitando la incorporación de las unidades de N-acetilglucosamina en el polímero de quitina. Además, tienen una acción citostática sobre las células epidérmicas que la producen (Beeman, 1982). Pueden tener efectos secundarios, alterando el metabolismo de los ácidos nucleicos y hormona de la muda (Mauchamp & Perrineau, 1987).

El descubrimiento de estos compuestos data de principios de los años setenta, cuando los laboratorios de Philips-Duphar encontraron los primeros inhibidores de la síntesis de la quitina: las benzoilfenilureas (Figura 9). Los efectos letales de estos compuestos se manifiestan en los estados inmaduros, concretamente en el momento de la muda. Se observan anomalías en la endocutícula, que presenta interrupción de su crecimiento y pérdida de la apariencia laminar como consecuencia de la inhibición de la síntesis de quitina, tal como ya se ha señalado. La menor

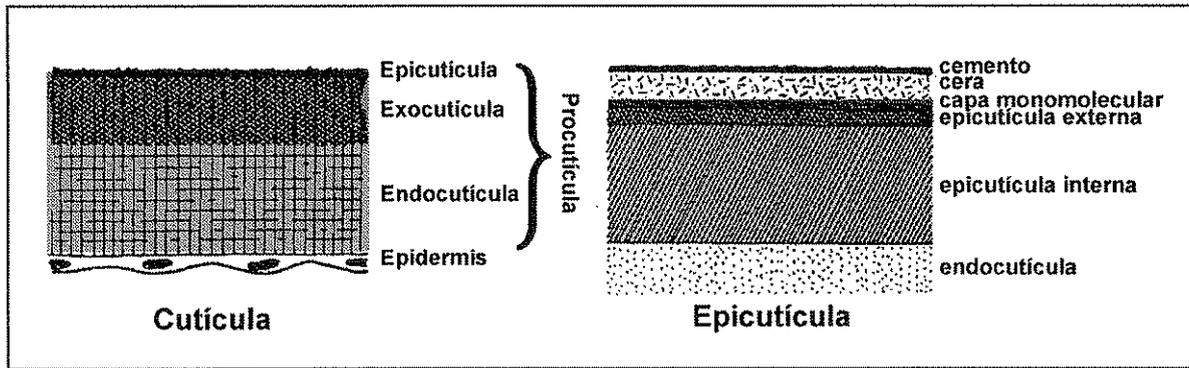


Fig. 8. Estructura de la cutícula y de la epicutícula (Santiago, 1988)

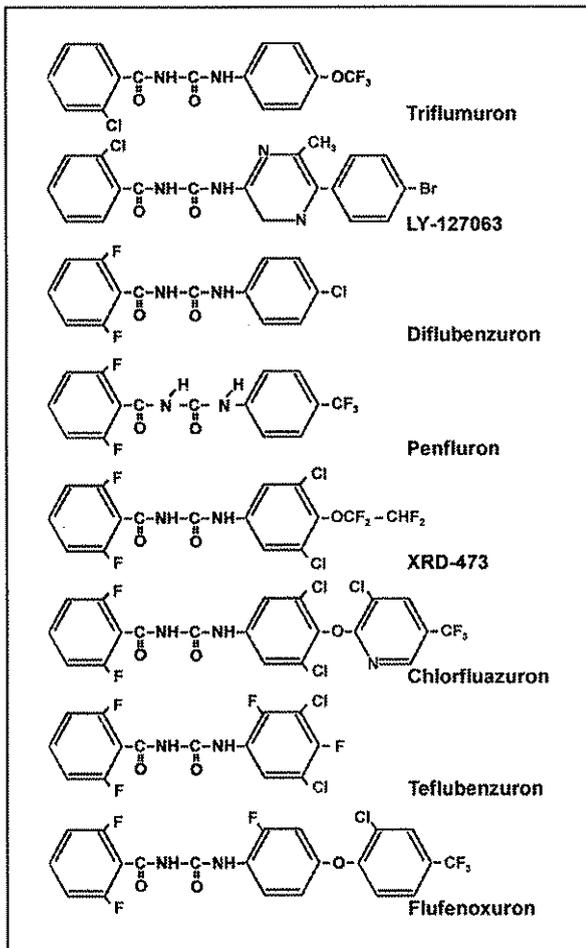


Fig. 9. Estructura química de algunas benzoilfenilureas (Santiago, 1988)

*Spodoptera exigua*. En los individuos tratados, el proceso de la muda se inicia con la apólisis, pero se interrumpe y no llega a completarse la ecdisis. La interrupción de la ecdisis puede ser completa, muriendo el insecto dentro de la cutícula vieja, o por el contrario se inicia pero no llega a completarse, deteniéndose en cualquier momento del proceso. En algunos casos, se interrumpe la ecdisis larva-pupa apareciendo individuos que se asemejan a los intermedios larva-pupa inducidos por los juvenoides. Esto podría hacer pensar en un mimetismo con los juvenoides, pero la diferencia se encuentra en que las benzoilfenilureas afectan a todas las fases larvarias (Figura 10), mientras que los juvenoides sólo actúan sobre la última (Santiago, 1988).

Las benzoilfenilureas presentan, además, efecto ovi-cida. La aplicación directa de estos productos sobre huevos se manifiesta por la incapacidad que muestran las larvas para salir del huevo, aunque a veces rompan la cubierta, debido a la alteración de la síntesis de la cutícula embrionaria. Por otra parte, los huevos puestos por adultos tratados presentan idénticos efectos (Charmillot & Pasquier, 1995). Los adultos tratados pueden presentar trastornos en su potencial reproductor, como malformaciones en su genitalia externa, esterilidad o anomalías en testículos y ovarios. Finalmente, los adultos procedentes de larvas que sobreviven a los tratamientos pueden presentar alteraciones en su fecundidad o en su capacidad copuladora (Santiago, 1988).

Muestran actividad sobre un elevado número de especies de insectos de muy diversos órdenes: ortópteros, isóp-teros, malófagos, tisanópteros, hemípteros, lepidópteros, coleópteros, dípteros e himenópteros. Hay incluso algunos productos, como el flufenoxurón, que son activos sobre ácaros (Gómez Barona, 1991).

En España, las benzoilfenilureas comercializadas son: clorfluazurón, diflubenzurón, teflubenzurón, triflumurón, hexafluazurón y flufenoxurón. Se emplean sobre numerosas plagas, principalmente de lepidópteros (*Leucoptera scitella*, *Anarsia lineatella*, *Pandemis heperana*, *Lobesia botrana*, *Thaumetopoea pityocampa*, *Lymantria dispar*, *Spodoptera littoralis*, *Autographa gamma*, etc.), y en el caso del flufenoxurón, también sobre algunas especies de ácaros (*Panonychus ulmi*, *Eotetranychus carpini*, *Tetranychus urticae*).

Aparte de las benzoilfenilureas, hay otros compuestos que inhiben la síntesis de quitina, así como toda una serie de productos con acción sobre la cutícula cuyo modo exacto de actuación se desconoce por el momento. Entre estos productos hay que destacar: los acaricidas clofentezín, flubenzimina y hexitiazox (Baillod *et al.*, 1986), el insecticida buprofezín y los antibióticos nucleósidos peptidilos polioxina-d y nikomicina (Viñuela *et al.*, 1991).

presencia de quitina en los individuos tratados parece ser que se debe a la inhibición de un enzima, la quitina sintetasa, aunque este punto no está claro (Ishaaya, 1990). También, se ha sugerido la posibilidad de que exista una inhibición del transporte de los precursores de la quitina hasta su lugar de actuación, en la membrana apical de los microvilos epidérmicos (Reynolds, 1987).

La principal actividad insecticida de las benzoilfenilureas es larvicida por ingestión, aunque también exhiben un pequeño efecto larvicida por contacto en algunos casos, siendo elevado en los lepidópteros *Spodoptera littoralis* y

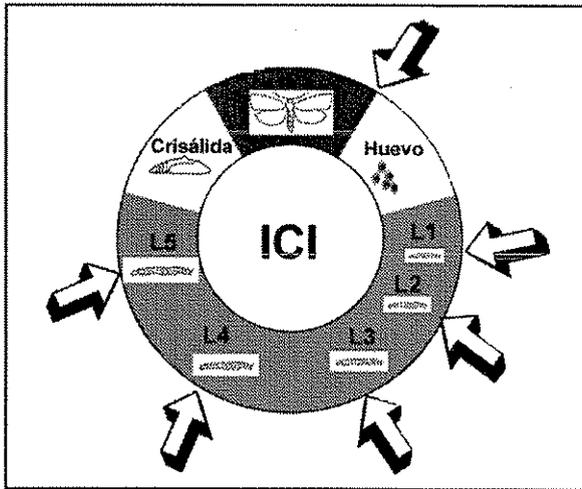


Fig. 10. Esquema de la actividad de los ICI sobre las distintas fases de desarrollo del insecto (modificado de Charmillot & Pasquier, 1995)

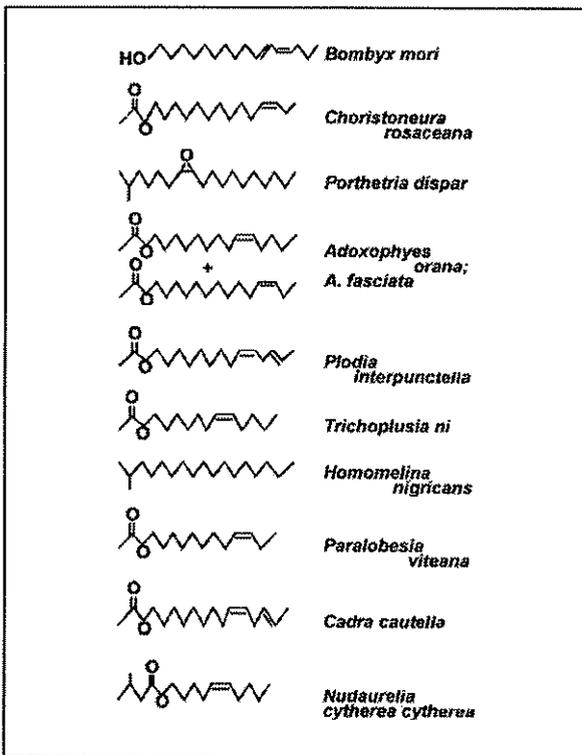


Fig. 11. Estructura química de algunas feromonas sexuales de lepidópteros (Guerrero, 1988)

### 5. Feromonas de insectos

Los insectos utilizan el sentido del olfato en una amplia gama de pautas de comportamiento. Es por ello que se sirven de mensajes odoríferos en la comunicación entre individuos de la misma especie. Estos mensajes odoríferos los constituyen las feromonas. Las feromonas son sustancias emitidas al exterior por los insectos y captadas por otros individuos de la misma especie en los que provocan una reacción específica, por ejemplo, un comportamiento definido o un proceso de desarrollo. Estas sustancias son únicamente uno de los diferentes tipos de compuestos semioquímicos que

producen los insectos. El término compuesto semioquímico se utiliza para definir cualquier compuesto portador de información entre organismos. Si el mensaje es intraespecífico, el compuesto semioquímico es una feromona, mientras que si es interespecífico, se trata de una alelomona. Un mismo compuesto puede actuar como feromona y alelomona al mismo tiempo (Birch & Haynes, 1990).

La sensibilidad olfativa de los insectos frente a las feromonas y alelomonas es espectacularmente alta, especialmente en lo referente a concentraciones y direcciones. Se producen en glándulas exocrinas, es decir, glándulas de secreción externa. Su síntesis puede ser continua, pero su liberación al exterior es un proceso controlado de forma muy precisa que se produce únicamente bajo condiciones ambientales y fisiológicas específicas. Son detectadas por el individuo receptor a través de las sensilas olfativas localizadas, principalmente, en las antenas, aunque también se han encontrado en los palpos maxilares o labiales.

Según el efecto que producen, se conocen feromonas sexuales, de alarma, de pista, de agregación, etc. Debido a su especificidad, sensibilidad y nula toxicidad, representan una alternativa potencial a la utilización de insecticidas convencionales para el control de plagas, especialmente las feromonas sexuales y las de agregación.

#### 5.1. Feromonas sexuales

Son aquellos compuestos semioquímicos que, emitidos generalmente por la hembra, inducen un comportamiento de atracción y de cópula en los machos de la misma especie. La primera feromona sexual identificada y aislada fue la de la hembra del gusano de seda, *Bombyx mori*, en 1960. Actualmente se conocen más de 300 feromonas sexuales de lepidópteros. En coleópteros las investigaciones se han centrado en los escolítidos de las coníferas, los curculiónidos fitófagos y las especies que atacan el grano almacenado. Los otros órdenes de insectos han sido menos estudiados, aunque se conocen bastantes feromonas de cochinillas, pulgones y cucarachas (Carrero, 1996).

Las feromonas producidas por las hembras de los lepidópteros han sido hasta ahora las más estudiadas. En general, son hidrocarburos alifáticos de cadena lineal, de 10 a 18 átomos de carbono con una o dos insaturaciones de tipo doble enlace y un grupo funcional como alcohol, acetato o aldehído (Figura 11). Si tenemos en cuenta las isomerías cis, trans y óptica, así como las proporciones variables de los componentes, se comprende la enorme gama de posibilidades que se ofrecen para asegurar, en cuanto a su formulación solamente, una especificidad funcional de estas sustancias (Durán, 1988).

Los estudios exhaustivos sobre estos compuestos y sobre los comportamientos que inducen indican que estas feromonas, generalmente, se componen de más de un compuesto químico. A veces, componentes distintos son responsables de estimular diferentes fases implicadas en los comportamientos de localización de la pareja y del cortejo. La mezcla exacta de componentes mayoritarios casi siempre es única para una especie dada, lo cual propicia el aislamiento reproductivo respecto a otras especies estrechamente relacionadas con ella (Birch & Haynes, 1990). Las distintas sustancias que intervienen en la emisión feromonal se clasifican en primarias o secundarias según su mayor o menor concentración. La acción de los compuestos primarios está relacionada con la atracción a larga distancia, mientras que los secundarios determinan la secuencia de comportamiento

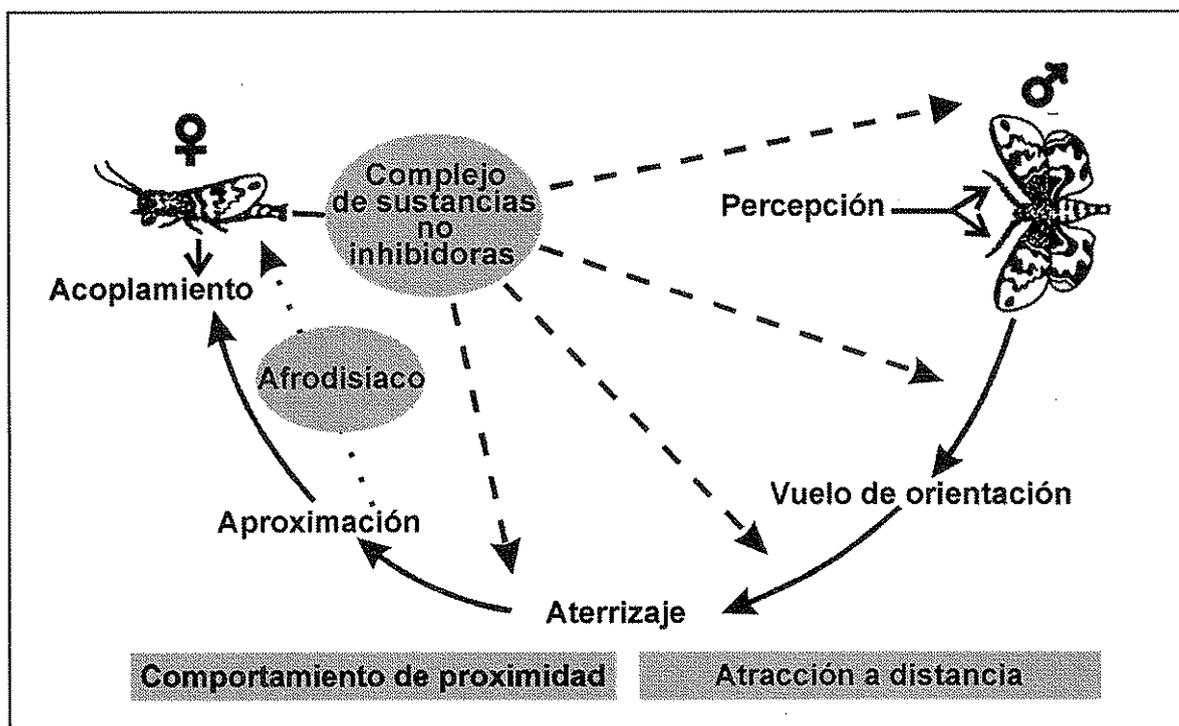


Fig. 12. Esquema de la secuencia de comportamiento provocado por las feromonas sexuales en los lepidópteros (modificado de Audemard, 1989)

y aproximación de los individuos atraídos, es decir, son los causantes de las respuestas a corta distancia.

Las feromonas producidas por los machos han sido menos estudiadas y son también aldehídos, ésteres, alcoholes, etc., de estructura variable. Su actividad puede variar desde inhibir la aproximación de otro macho hasta actuar como compuestos afrodisíacos, es decir, induciendo un cierto comportamiento de cópula, aceptación y respuestas de las hembras, una vez que éstas han atraído al macho mediante un atrayente sexual. En general, son compuestos que actúan a corta distancia (Guerrero, 1988). Según Audemard (1989), el esquema de comportamiento sexual del macho puede resumirse en las siguientes fases (figura 12):

- 1) Percepción del olor feromonal. El macho responde mediante la erección de las antenas. Ocurre a concentraciones muy leves de feromonas, por acción de los compuestos primarios.
- 2) Vuelo de orientación. Vuelo en zig-zag para encontrar la pista de mayor concentración de feromona.
- 3) Aterrizaje. Motivado por altas concentraciones debido a la proximidad de la hembra.
- 4) Aproximación a la hembra. Respuesta provocada por los compuestos secundarios. Como ya se ha comentado, los machos de algunas especies emiten sustancias afrodisíacas que son captadas por la hembra antes del acoplamiento. Estas sustancias juegan un papel importante en el aislamiento químico entre especies que viven en el mismo medio y utilizan la misma feromona.
- 5) Acoplamiento y movimientos copulatorios.

En aquellas especies en las que la hembra utiliza, aparentemente, un sólo compuesto, las diferentes fases del comportamiento de la secuencia sexual del macho varían solamente en función del gradiente de concentración de esta sustancia, sin excluir otro tipo de relaciones acústicas, visuales o táctiles.

Los compuestos feromonales comenzaron a ser sintetizados por el hombre a partir de los años setenta y, desde entonces, vienen siendo utilizados en el campo de la protección vegetal. Se pueden emplear de diferentes formas:

1) Control del vuelo (monitoring) de los insectos potencialmente nocivos para los cultivos mediante las llamadas trampas sexuales. Son dispositivos que capturan machos de la especie, siendo atraídos mediante feromona sexual sintética. Estas trampas permiten establecer el comienzo de los vuelos de los machos adultos, su variación durante el período de actividad y los distintos máximos poblacionales a lo largo del ciclo biológico. Su principal utilidad reside en que permiten predecir con cierta exactitud el momento más adecuado para realizar tratamientos con insecticidas. Son muy útiles cuando se emplean productos de tipo RCI o ICI, en los que la fecha de la aplicación es clave para la eficacia del tratamiento.

2) Lucha por captura masiva o 'mass trapping'. Sólo se utiliza en condiciones muy particulares y para ciertas especies. Consiste en multiplicar el número de trampas sexuales por unidad de superficie con la intención de capturar la mayoría de los machos y reducir el número de acoplamientos. No obstante, se ha comprobado que incluso capturando un 90 o 95% de los machos, los restantes pueden atender suficientemente a las hembras que solicitan el acoplamiento. Por lo tanto, este método únicamente es eficaz en

medios con baja densidad poblacional de insecto a combatir, de manera que los daños sean inferiores a los tolerados (Durán, 1988).

3) Método de confusión sexual. Consiste en desorientar a los machos con el fin de impedir el encuentro de los dos sexos y la reproducción, mediante la emisión permanente en la atmósfera del cultivo a proteger y sus alrededores de feromona sexual sintética del insecto plaga. Los comportamientos afectados por la difusión de feromona no son bien conocidos. Han sido planteadas varias hipótesis (Charmillot, 1984; Audemard, 1989):

- 1) La exposición permanente a un nivel de feromona sintética relativamente elevado puede provocar una saturación de los receptores antenales del macho, de manera que no puede responder a las emisiones de las hembras.
- 2) Las múltiples fuentes de emisión de feromona sintética repartidas por el medio, competirán con la emisión de feromona natural realizada por la hembra, lo que dificulta la localización de ésta por parte del macho.
- 3) Camuflaje de la feromona sexual emitida por la hembra, que es enmascarada por la feromona sintética.
- 4) No reconocimiento, por parte del macho, del olor feromonal natural completo en sus proporciones normales, ya que la difusión de uno o varios de los componentes sintéticos modifican esta proporción.

Para poder aplicar con éxito esta técnica de control de plagas, es necesario que se cumplan una serie de condiciones:

- a) Conocer el complejo feromonal del insecto y poder sintetizarlo en cantidades suficientes.
- b) Los adultos del insecto deben desplazarse de forma limitada, ya que en las especies que recorren largas distancias después del acoplamiento, la técnica no es eficaz. Es necesario asegurarse de que la feromona sintética no modifica el comportamiento de los adultos en este sentido.
- c) La concentración de feromona sintética en la atmósfera será lo suficientemente intensa
- d) La densidad de población del insecto debe ser lo suficientemente baja con el fin de evitar encuentros aleatorios entre los dos sexos.
- e) El área protegida será lo bastante amplia y relativamente aislada de fuentes de contaminación exteriores.

Las feromonas sexuales sintéticas deben tener una formulación adecuada que les proteja de la degradación y asegure una emisión superior o igual a un mínimo durante el tiempo suficiente. Dependiendo de la naturaleza química del atractivo y del soporte empleado, se añade un antioxidante. Existen diferentes tipos de soportes de difusión (Audemard, 1989): micro y macrocápsulas; microfibras y fibras capilares huecas de material plástico cerradas por los extremos; tubos y ampollas de cloruro de polivinilo (PVC) o de polietileno (PE)

impregnados o cargados de feromona; cintas poliestratificadas en plástico, compuestas por una capa reservorio situada entre dos capas barrera; otros tipos de difusores de caucho, plástico o a base de absorbentes en los que la feromona está incluida o impregnada; etc.

La concentración de feromona en la atmósfera depende de la difusión a partir de los emisores instalados en el cultivo, de su degradación en el aire y de las corrientes de convección atmosféricas (Charmillot, 1984). La difusión de la feromona depende de su estructura química, del tipo de difusor, de la concentración de feromona en el difusor, de la temperatura y del viento. Por su parte, la degradación de la feromona sintética en la atmósfera es función de su naturaleza química (dobles enlaces), de la luz (fotodescomposición) y de la temperatura. Por último, la convección o evacuación de la feromona fuera del cultivo varía según la velocidad del viento, la densidad de vegetación, el estrato vegetativo y la forma y dimensión de la parcela.

Las principales ventajas que presenta esta técnica de control son: inocuidad para la fauna auxiliar (depredadores y parasitoides, principalmente); baja o nula toxicidad sobre el medio ambiente; el tiempo de trabajo requerido para la aplicación de este sistema de lucha no es mayor al empleado para un tratamiento insecticida tradicional (Neumann & Gasser, 1988); existen indicios fundados de que con el uso continuo de feromonas se puede obtener una reducción del número total de tratamientos insecticidas que son aplicados contra plagas secundarias.

Por contra, los principales inconvenientes son: no es eficaz contra especies que recorren largas distancias después del acoplamiento; las parcelas deben estar aisladas o comprender grandes superficies y los bordes protegidos por una red de difusores; debido a que la técnica tiene carácter preventivo, el cultivo no está protegido de los ataques y su eficacia depende, sobre todo, de la densidad de población del insecto plaga.

El método de confusión sexual ha sido experimentado contra más de una docena de especies de lepidópteros, siendo los resultados obtenidos excelentes, similares a los de tratamientos con insecticidas químicos. Algunas de ellas son: *Clysia ambiguella* y *Lobesia botrana* en viña; *Cydia pomonella*, *Grapholita molesta* y *Zeuzera pyrina* en frutales; *Pectinophora gossypiella* en algodón; etc.

## 5.2. Feromonas de agregación

Se definen como aquellos compuestos semioquímicos que, producidos por insectos de uno o ambos sexos de una especie, inducen un comportamiento agregativo de los miembros de esa especie (Gasol, 1988). Se diferencian de las sexuales en que son producidas por individuos de un sexo, normalmente la hembra, y respondidas por individuos de ambos.

En realidad se trata de complejos feromonales, ya que en la mayoría de los casos es un sistema multicomponente el que induce la respuesta agregativa (Figura 13). La agregación en los insectos puede tener distintas finalidades: protección, reproducción, colonización, alimentación o varias de ellas simultáneamente. En algunas especies las feromonas de agregación pueden actuar, también, como feromonas sexuales. En la actualidad se conoce la existencia de feromonas de agregación en seis órdenes distintos de insectos, pero las más estudiadas han sido las de los coleópteros escolítidos, debido a que forman plagas forestales muy importantes.

Los escolítidos son coleópteros que habitan en los tejidos subcorticales de los árboles y producen grandes

pérdidas en bosques de coníferas. La feromona de agregación de estos insectos induce la colonización de nuevos árboles, lo que propaga la plaga. El ataque está regulado por un sistema químico en el que actúan compuestos liberados por los propios árboles junto con las feromonas de agregación, lo que produce la atracción de individuos de ambos sexos. En general, el mecanismo de agregación de los escolítidos puede dividirse en dos fases: atracción primaria y atracción secundaria. Los insectos emergidos de un árbol atacado se dispersan buscando nuevas fuentes alimentarias, de manera aleatoria o controlada, en respuesta a compuestos volátiles emanados de los árboles (normalmente terpenos), dando lugar a la atracción primaria. Los pioneros que llegan al árbol-huésped emiten feromonas de agregación, producidas en el intestino posterior y tubos de Malpighio, después de que la alimentación ha comenzado, ya que es preciso para su biosíntesis la ingesta de un compuesto precursor proporcionado por el propio árbol. La liberación de las feromonas de agregación al exterior se realiza junto con las deyecciones del insecto (Carrero, 1996), lo que induce la colonización masiva del árbol y da lugar a la atracción secundaria, que se incrementa a medida que van llegando más individuos. Sin embargo, si el nivel de infestación es elevado, la atracción secundaria puede verse inhibida por la emisión de feromonas de antiagregación, dando como resultado la disminución de individuos y favoreciendo la colonización de otros árboles (Gasol, 1988).

Las feromonas de agregación ofrecen dos perspectivas de utilización práctica: como método de seguimiento (monitoring) o como método de control de plagas (captura masiva). La captura masiva con estas feromonas ha sido ampliamente utilizada sobre algunas plagas. Para que sea eficaz son precisas ciertas condiciones: feromonas correctamente dosificadas, emisores de larga duración, estrategia adaptada a la biología del insecto, no reinfección por áreas vecinas y un diseño adecuado de las trampas empleadas, ya que deben ser capaces de atrapar gran número de insectos y ser duraderas y de fácil limpieza (Primo Yufera, 1991).

En los coleópteros, las feromonas de agregación han tenido una mayor aplicación en experiencias de trapeo masivo que las feromonas sexuales, atrayentes en general de machos de lepidópteros. Uno de los casos en que se han aplicado con éxito las feromonas de agregación en el control de plagas se da en Noruega y Suecia, con el escolítido *Ips typographus*. En 1979 se dispusieron en Noruega un total de 600.000 trampas en una superficie de 4 millones de hectáreas, capturándose un promedio de 4.850 insectos por trampa. Se calculó que el número de árboles muertos en un año se redujo de 3.000.000 a 200.000. Otros programas de control destinados a controlar el escolítido de las coníferas, *Dendroctonus brevicomis*, y el del olmo, *Scolytus multistriatus*, han resultado moderadamente prometedores (Guerrero, 1988).

## 6. Insecticidas microbiológicos

Dentro de los enemigos naturales de las plagas, existe un grupo de microorganismos que constituyen los llamados agentes patógenos de los artrópodos. Estos microorganismos son capaces de infectar diferentes especies de insectos, produciéndoles enfermedades que les ocasionan la muerte. Su aplicación sobre las plagas se realiza de igual forma que si se tratara de un insecticida químico, es decir, en pulverización o en espolvoreo, por lo que se les llama insecticidas microbiológicos. El primer insecticida de este tipo se patentó en 1950, aunque la existencia de estos microorganismos se conocía

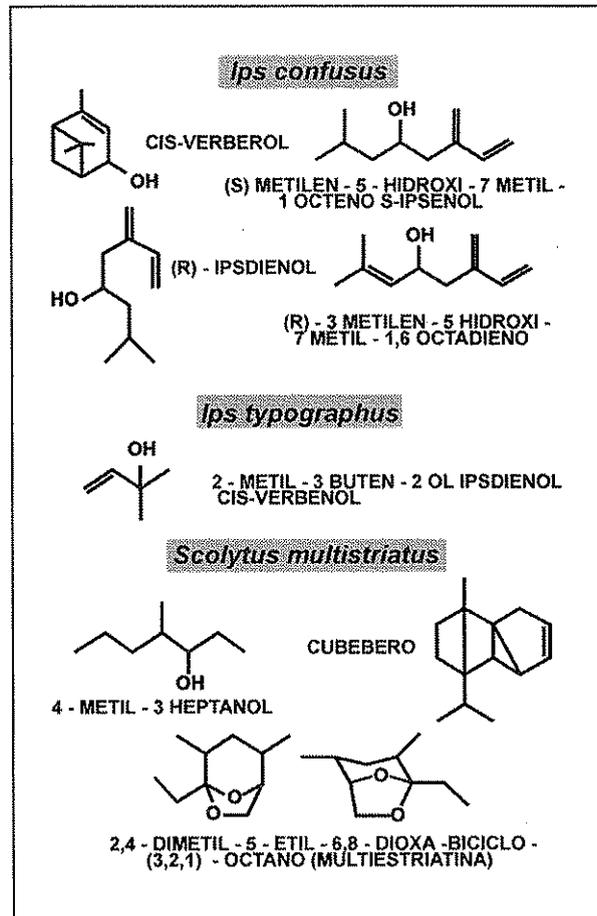


Fig. 13. Estructura química de algunas feromonas de agregación de coleópteros escolítidos (Primo Yufera, 1991)

desde mucho antes. Desde entonces, la comercialización y el uso de estos agentes de control ha aumentado de modo exponencial. En 1987 ya se conocían más de 100 especies de bacterias y 400 de hongos parásitos de insectos y ácaros. También se habían descrito algunos virus, protozoos y nematodos entomopatógenos. Sin embargo, los organismos de protección ambiental sólo habían aprobado 18 de estos microorganismos para su uso como insecticidas (Pijoan 1991a).

En general, los insecticidas microbiológicos presentan tres limitaciones comerciales básicas: baja persistencia en el medio, alta especificidad y lentitud de acción. Su baja persistencia puede corregirse mediante un tipo de formulación adecuada. Su limitado espectro de acción, sin embargo, les confiere una gran ventaja: la gran seguridad ambiental, por ser inofensivos para el hombre y otros organismos que no sean objeto de su control.

### 6.1. Insecticidas microbiológicos: bacterias

Uno de los microorganismos más utilizados en el control de plagas es la bacteria *Bacillus thuringiensis*. Se trata de una especie compleja, de la que se han descrito 34 serovares distintos (Barjac & Frachon, 1990). Su acción insecticida se debe, principalmente, a una toxina conocida con el nombre de  $\delta$ -endotoxina. Cuando la bacteria forma esporas, asociadas a éstas aparecen unos corpúsculos cristalinos formados por proteínas. Los cristales proteínicos son de formas diversas, variando según los diferentes serovares (Lereclus *et al.*, 1993).

El principal componente de esta inclusión cristalina es la  $\delta$ -endotoxina. En general, hay un solo cristal por espora, pero en algunos serovares de *B. thuringiensis*, hay dos o más. Además, las  $\delta$ -endotoxinas de los distintos serovares no son iguales, siendo cada una específica de un grupo de insectos. Se han descrito serovares que afectan a las larvas de lepidópteros, dípteros y coleópteros. Los principales serovares que se comercializan son (Martínez, 1992): el serovar *kurstaki*, que afecta principalmente a las larvas de lepidópteros, aunque también es eficaz para el control de algunos coleópteros, como *Leptinotarsa decemlineata* (Lopategi *et al.*, 1994); el serovar *tenebrionis*, cuya actividad larvicida está restringida al orden coleópteros, en concreto a la familia crisomélidos y a determinados curculiónidos; y el serovar *israelensis*, que actúa sobre aquellas familias de dípteros cuyas larvas se desarrollan en el agua, como son los mosquitos y simúlidos, siendo también susceptibles algunos quironómidos y tipúlidos. Todas las formulaciones comercializadas de *B. thuringiensis* contienen, normalmente, una mezcla de esporas viables y cristales proteínicos, o simplemente cristales.

Para que *B. thuringiensis* actúe sobre los insectos es preciso que ingieran el cristal proteínico. Los cristales, una vez en el intestino medio de la larva, se disuelven gracias al pH fuertemente alcalino que existe ( $\text{pH} > 8$ ). A continuación, se produce la activación de la toxina mediante enzimas proteolíticas (proteasas) que existen en el intestino, apareciendo la  $\delta$ -endotoxina. Las condiciones que se precisan para que la toxina llegue a actuar son las responsables de la especificidad de esta bacteria, incluso de la susceptibilidad entre individuos de una misma especie: el pH y las proteasas del intestino difieren entre especies de insectos y, en menor medida, entre individuos de la misma especie; la calidad nutritiva del alimento puede afectar la salud y la susceptibilidad del insecto a la toxina; el crecimiento larvario implica la reducción de la relación superficie/volumen del intestino medio, por lo que las células intestinales resultan menos accesibles para la toxina a medida que la larva es de mayor edad (Martín, 1994).

Una vez liberada la  $\delta$ -endotoxina se produce su asociación con los receptores específicos presentes en las membranas de las células del intestino medio. No se conoce con exactitud como actúa la toxina sobre estas células, pero sí se sabe que provoca un cambio en la permeabilidad del intestino, lo que ocasiona la mezcla del contenido intestinal con la hemolinfa del insecto, produciéndole la muerte por septicemia. Es evidente que las toxinas de los diferentes serovares de *B. thuringiensis* puede tener diferentes modos de acción en una determinada especie. Igualmente, el cristal proteínico de un serovar de *B. thuringiensis* puede tener distintos modos de actuar para diferentes especies de insectos. Después de que el insecto susceptible ingiere el cristal proteínico, el primer efecto que se suele apreciar consiste en una parada de su alimentación (efecto inapetente). A continuación entra en un estado de letargo y finalmente muere. En resumidas cuentas, las razones que determinan la especificidad de *B. thuringiensis* son las siguientes:

- 1.- Es necesario que el insecto se encuentre en estado larvario, preferiblemente en las primeras fases.
- 2.- El pH del intestino medio debe ser alcalino. Todos los insectos lo tienen, pero no los animales superiores, por lo que la bacteria les resulta inocua.
- 3.- Es necesario que exista el enzima específico (proteasa) que activa la toxina. La ausencia de este

enzima puede ser la causa por la que no afecte a las abejas y a otros insectos beneficiosos.

- 4.- Deben existir los receptores específicos de la toxina en las células del intestino medio.

Aunque el factor letal de la bacteria (el cristal) parece ser una toxina, hay otras razones por las que *B. thuringiensis* es considerada como un patógeno de los insectos. Una de ellas es el sinergismo espora-cristal. En algunos insectos, una combinación espora-cristal resulta más letal que su actividad por separado. Heimpel & Angus (1960) clasifican las larvas de los lepidópteros en función de su respuesta a *B. thuringiensis*:

Tipo I. Las especies de este grupo mueren sólo con ingerir el cristal proteínico. La muerte les llega rápidamente, en minutos u horas. A este grupo pertenecen, por ejemplo, *Bombix mori* y *Manduca sexta*.

Tipo II. Las larvas de este tipo mueren, igualmente, al ingerir únicamente el cristal, pero se observa sinergia espora-cristal, es decir, la presencia de esporas junto con el cristal incrementa la mortalidad a una dosis de cristal determinada. Especies de este grupo son *Lymantria dispar*, *Tricoplusia ni*, *Pieris rapae* y *Plutella xylostella*.

Tipo III. En este caso, las larvas mueren al ingerir sólo esporas, aunque puede haber cierta sinergia con el cristal. Se trata de un grupo poco estudiado. Una especie de este tipo es *Galleria mellonella*.

Algunos serovares de *Bacillus thuringiensis* producen, además, otra toxina que puede ser empleada en el control de plagas: la  $\beta$ -exotoxina. Es tóxica para larvas de muchos lepidópteros, dípteros y coleópteros. También para mamíferos, incluido el hombre, afectando a la biosíntesis de RNA. Puede estar presente en determinados formulados comerciales, lo que está prohibido en algunos países (Primo Yufera, 1991).

El gen que codifica la producción de la  $\delta$ -endotoxina en *B. thuringiensis* puede ser incorporado mediante técnicas de ingeniería genética al genoma de una planta cultivada, por lo que esa planta adquiere resistencia frente a las plagas sensibles a esta toxina, obteniéndose una planta transgénica. Esto se ha conseguido en diversos cultivos: tabaco, tomate, algodón, patata, maíz, etc. El principal problema que presentan estas plantas transgénicas es la posibilidad de aparición de resistencias, al igual que ocurre con los insecticidas químicos, es decir, individuos resistentes a la toxina de *B. thuringiensis* y que, por lo tanto, van a sufrir un proceso de selección natural, llegando a predominar sobre los individuos susceptibles (Nuez y Ruiz, 1997).

Otras bacterias entomopatógenas utilizadas en el control de plagas son: *Bacillus popilliae*, empleada en el control del escarabajo japonés *Popillia japonica*, plaga de las coníferas en Japón y USA, y también de *Popillia quadriguttata* en China; y *Bacillus sphaericus*, que presenta un gran potencial de futuro en la lucha contra los mosquitos (Pijoan, 1991a).

## 6.2. Insecticidas microbiológicos: virus

Los virus entomopatógenos actúan por diseminación en las poblaciones de insectos, dando lugar a una epizootia. Esta contaminación se propaga a las generaciones siguientes

y, si las condiciones son adecuadas, el efecto insecticida se prolonga a cosechas sucesivas. La acción se ejerce sobre las larvas, que se paralizan y mueren, siendo el efecto mayor cuando se contaminan en el primer estadio, ya que los virus se van multiplicando a través de las diferentes mudas y aumenta su poder de infección (Primo Yufera, 1991).

La mayoría de los virus entomopatógenos encontrados pertenecen al grupo de los baculovirus. Estos se caracterizan por infectar invertebrados y tener forma de bastón, con una envoltura exterior lipoproteica por encima de la cápsida, y ADN bicatenario. También, existen reovirus entomopatógenos, caracterizados por tener forma icosaédrica, casi esférica, infectar vertebrados, invertebrados y plantas, carecer de envoltura lipoproteica y poseer un genoma ARN bicatenario.

Se agrupan en tres grandes grupos: los NPV (virus de la polihedrosis nuclear) o subgrupo A de los baculovirus; los GV (virus de la granulosis) o subgrupo B de los baculovirus; y los CPV (virus de la polihedrosis citoplasmática), que pertenecen al grupo de los reovirus.

Los NPV son particularmente infecciosos e integran la mayor parte de los virus entomopatógenos. Se multiplican en el núcleo de las células infectadas y producen una proteína cristalina poliédrica, que incluye varias partículas víricas (Primo Yufera, 1991). La mayoría son específicos de himenópteros sínfitos (avispa minadoras de la madera), aunque algunos de ellos son capaces de infectar determinadas especies de lepidópteros. Los NPV de sínfitos se emplean en bosques de coníferas, mientras que los de lepidópteros se utilizan en el control de las orugas de especies del género *Heliothis*, *Lymantria* y *Spodoptera*, así como sobre *Mamestra brassicae*, *Neodiprion lecontei* o *Trichoplusia ni*. Existe un tipo de NPV que infectan arañas rojas (*Panonychus citri* y *Panonychus ulmi*), pero presentan como inconveniente la necesidad de transmitir la enfermedad vírica mediante ácaros infectados (Pijoan, 1991b).

Los virus de la granulosis (GV) presentan una gama de huéspedes más reducida que las de los NPV. Se utilizan en el control del lepidóptero *Cydia pomonella*, plaga de manzanos y perales (Trematerra *et al.*, 1997). Se multiplican, igualmente, en el núcleo de la célula y producen una inclusión granular que incluye una sola partícula vírica.

Los virus de la polihedrosis citoplasmática (CPV) se multiplican en el citoplasma de las células infectadas y producen una proteína cristalizada en poliedros, en cuyo corpúsculo se incluyen varias partículas víricas. Se emplean en el control de lepidópteros (*Taumatocopa pityocampa*, *Dendrolimus spectabilis*) y, en menor medida, de algunos dípteros, himenópteros y coleópteros. En condiciones naturales no son tan potentes como los NPV, pero si se aplican en spray son mucho más infecciosos. Son especialmente útiles en silvicultura, donde se pretende una regulación de las plagas a más largo plazo.

### 6.3. Insecticidas microbiológicos: hongos

Se conocen unas 400 especies de hongos capaces de provocar enfermedades tanto en insectos como en ácaros, sin embargo, hasta ahora únicamente se ha prestado atención a unas 20 de ellas. La mayoría se incluyen en 12 géneros: *Lagenidium*, *Entomophaga*, *Neozygites*, *Entomophthora*, *Erynia*, *Aschersonia*, *Verticillium*, *Nomuraea*, *Hirsutella*, *Metarhizium*, *Beauveria* y *Paecilomyces* (Van Driesche & Bellows, 1996). Pertenecen a diferentes grupos sistemáticos, siendo los más abundantes los hongos entomoftorales (zomicetos) y los hongos imperfectos (deuteromicetos). Actualmente, su empleo como agentes de control de plagas se centra en los hongos imperfectos. Estos hongos son habitantes característicos del suelo, por lo que sus huéspedes suelen ser insectos que pasan alguna parte de su ciclo en este medio (Keller, 1991). Sin embargo, las formulaciones comerciales se emplean, también, en el control de plagas aéreas.

Los hongos entomopatógenos no son tan específicos como las bacterias y los virus. Este tipo de organismos presenta grandes exigencias ambientales, especialmente en lo que respecta a la humedad y a la temperatura, aunque las formulaciones comerciales incorporan diversos coadyuvantes que disminuyen tales inconvenientes (Prior, 1993). Las esporas perduran e infectan generaciones sucesivas de insectos de modo que, cuando la infección se establece, sus efectos duran varios años y, en algunos casos, sus efectos son mejores a partir del segundo año. La infección se produce por adherencia de las esporas sobre la cutícula del insecto. Las esporas germinan emitiendo un tubo que penetra a través de la cutícula y produce la colonización del insecto por el micelio. La perforación de la cutícula se produce gracias a un sistema enzimático de quitinasas, proteasas y lipasas (Primo Yufera, 1991). Se sabe que estos hongos producen compuestos más o menos tóxicos, que aceleran la muerte del huésped.

El hongo entomopatógeno más utilizado en el control de plagas es *Beauveria bassiana*. Se trata de un hongo que produce diversos principios activos, entre los que destaca la beauvericina. Se utiliza contra diferentes órdenes de insectos: coleópteros (*Leptinotarsa decemlineata*, curculiónidos), homópteros (*Trialeurodes vaporariorum*), lepidópteros (*Cydia pomonella*, *Ostrinia nubilalis*) y ortópteros (langostas).

Otro hongo muy utilizado es *Metarhizium anisopliae*. Esta especie produce unos compuestos insecticidas de alta eficacia denominados destruxinas, siendo las más importantes las llamadas destruxinas A y B (Pijoan, 1991b). Se emplea en el control de coleópteros (melolónidos, elatéridos, curculiónidos) homópteros (cicadélidos), lepidópteros (*Cydia pomonella*) y langostas.

Por último, *Verticillium lecanii* es un hongo que infecta pulgones (especialmente *Aphis gossipy*) y otros homópteros, como cochinillas y moscas blancas (Keller, 1991).

### Bibliografía

- AUDEMARD, H. 1989. La confusión sexuelle des mâles. Une nouvelle technique de lutte contre les lépidoptères nuisibles. *Phytoma*, 413: 26-32.
- BAILLOD, M., GUINARD, E. & ANTONIN, PH. 1986. Une nouvelle génération d'acaricides spécifiques inhibiteurs de croissance. *Revue suisse Vitic. Arboric. Hort.*, 18(4): 213-219.
- BARJAC, H. & FRANCHON, E. 1990. Classification of *Bacillusthuringensis* strains. *Entomophaga*, 35(2): 233-240.
- BEEMAN, R. W. 1982. Recent advances in mode of action of insecticides. *Ann. Rev. Entomol.*, 27: 253-281.
- BELLÉS, X. 1988. Las hormonas endocrinas de los insectos. Bases conceptuales para el diseño de insecticidas biorracionales. En: *Insecticidas biorracionales*. Ed. C.S.I.C. Madrid. pp.: 15-67.
- BIRCH, M. C. & HAYNES, K. F. 1990. *Feromonas de insectos*. Oikos-Tau. Barcelona. 96 págs.

- CARNERO, A. ESPINO, A., HERNÁNDEZ, M. & BARROSO, J. 1988. *La lucha integrada, una nueva estrategia para combatir las plagas*. Hojas divulgadoras, n° 12/88 HD. M.A.P.A. 20 págs.
- CARRERO, J. M. 1996. *Lucha integrada contra las plagas agrícolas y forestales*. Ed. Mundi-Prensa. Madrid. 256 págs.
- CHARMILLOT, P. J. 1984. Possibilités et limites de la lutte contre les insectes au moyen des attractifs sexuels. *Revue suisse Vitic. Arboric. Hortic.*, **16**(2): 69-74.
- CHARMILLOT, P. J. & BLOESCH, R. 1987. Un régulateur de croissance d'insectes (RCI) homologué pour son action ovicide contre le carpocapse des prunes *Grapholita funebrana* Tr. *Revue suisse Vitic. Arboric. Hortic.*, **19**(2): 87-92.
- CHARMILLOT, P. J. & PASQUIER, D. 1992. Modification de la fertilité du carpocapse *Cydia pomonella* à la suite du contact des adultes avec un régulateur ou un inhibiteur de croissance d'insectes. *Entomol. exp. appl.*, **63**: 87-93.
- CHARMILLOT, P. J. & PASQUIER, D. 1995. Le lufenurón, un nouveau produit sélectif pour lutter au printemps contre les tordeuses de la pelure, les noctuelles et les arpensteuses. *Revue suisse Vitic. Arboric. Hortic.*, **27**(2): 129-133.
- CHARMILLOT, P. J. & PASQUIER, D. & ALIPAZ, N. J. 1994a. Le tébufénozide, un nouveau produit sélectif de lutte contre le carpocapse *Cydia pomonella* L. et la tordeuse de la pelure *Adoxophyes orana* F.v.R. *Revue suisse Vitic. Arboric. Hortic.*, **26**(2): 123-129.
- CHARMILLOT, P. J., FAVRE, R., PASQUIER, D., RHYN, M. & SCALCO, A. 1994b. Effet du régulateur de croissance d'insectes (RCI) tébufénozide sur les oeufs, les larves et les papillons des vers de la grappe *Lobesia botrana* Den. & Schiff, et *Eupoecilia ambiguella* Hb. *Bulletin de la Société Entomologique suisse*, **67**: 393-402.
- COHEN, E. 1987. Interference with chitin biosynthesis in insects. En: *Chitin and Benzoylphenyl ureas*. Wright, J.E. & Retnakaran, A. (eds.). Dr. Junk Pub. The Netherlands. pp.: 43-73.
- COLL, J. 1988. Hormonas juveniles, juvenoides y juvenógenos. En: *Insecticidas biorracionales*. Ed. C.S.I.C. Madrid. pp.: 87-112.
- COSCOLLÁ, R. 1993. *Residuos de plaguicidas en alimentos vegetales*. Mundi-Prensa. Madrid. 205 págs.
- DE LA FUENTE, J. A. 1994. *Zoología de artrópodos*. Interamericana - McGraw-Hill. Madrid. 805 págs.
- DURÁN, J. E. 1988. Utilización de feromonas sexuales sintéticas en la protección de cultivos en España. *Fruticultura profesional*, **19**: 158-162.
- GASOL, V. 1988. Feromonas de agregación. En: *Insecticidas biorracionales*. Ed. C.S.I.C. Madrid. pp.: 315-344.
- GÓMEZ BARONA, J. A. 1991. Cascade. *Agrishell, Revista de Fitopatología y Agricultura*, **47**: 8-11.
- GROSSCURT, A. C. & JONGSMA, B. 1987. Mode of action and insecticidal properties of diflubenzuron. En: *Chitin and Benzoylphenyl ureas*. Wright, J.E. & Retnakaran, A. (eds.). Dr. Junk Pub. The Netherlands. pp.: 75-99.
- GUERRERO, A. 1988. Feromonas sexuales de insectos. En: *Insecticidas biorracionales*. Ed. C.S.I.C. Madrid. pp.: 272-296.
- HEIMPEL, A. M. & ANGUS, T. A. 1960. Bacterial Insecticides. *Bacteriol. Rev.*, **24**: 266-288.
- HOAR, W. S. 1975. *Fisiología general y comparada*. Ed. Omega. Barcelona. 855 págs.
- ISHAAYA, I. 1990. Benzoylphenyl ureas and other selective insect control agents. Mechanism and application. En: *Pesticides and alternatives*. Casida, J.E. (ed.). Elsevier Science Pub. Amsterdam. pp.: 365-376.
- JOUSSEAME, C. 1997. Mimic: un nuevo insecticida para el control de *T. pytiocampa* de los pinos. *PHYTOMA España*, **92**: 108-112.
- KELLER, S. 1991. Les maladies fongiques des ravageurs et leur importance pratique. *Revue suisse Vitic. Arboric. Hortic.*, **23**(5): 299-310.
- LERECLUS, D., DELÉCLUSE, A. & LECADET, M. M. 1993. Diversity of *Bacillus thuringiensis* Toxins and Genes. En: *Bacillus thuringiensis, An environmental Biopesticide: Theory and Practice*. Entwistle, P.F., Cory, J.S., Bailey, M.J. & Higg, S. (eds.). John Wiley & Sons Ltd. pp.: 37-69.
- LOPATEGI, A., SALAZAR, J. & RENOBALLES, M. 1994. Control del escarabajo de la patata con productos comerciales basados en el *Bacillus thuringiensis*. *Sustrai*, **35**: 40-43.
- MARCO, M. P. & TOMÁS, J. 1988. Hormonas de muda y antagonistas. En: *Insecticidas biorracionales*. Ed. C.S.I.C. Madrid. pp.: 179-226.
- MARTÍN, P. A. W. 1994. An iconoclastic view of *Bacillus thuringiensis* ecology. *American Entomologist*, summer: 85-90.
- MARTÍNEZ, R. 1992. El *Bacillus thuringiensis* en el control de plagas de olivo, vid y forestal. *PHYTOMA España*, **40**: 146-153.
- MAUCHAMP, B. 1996. ¿Qué hay de nuevo sobre los reguladores del crecimiento de los insectos?. *PHYTOMA España*, **79**: 46-49.
- MAUCHAMP, B. & PERRINEAU, O. 1987. Chitin biosynthesis after treatment with benzoylphenyl ureas. En: *Chitin and Benzoylphenyl ureas*. Wright, J.E. & Retnakaran, A. (eds.). Dr. Junk Pub. The Netherlands. pp.: 101-109.
- NEUMANN, J. & GASSER, A. 1988. Experiencias de Basf en el control de plagas en los cultivos perennes mediante la técnica de confusión. *Fruticultura profesional*, **19**: 146-150.
- NUEZ, F. & RUIZ, J. J. 1997. ¿Constituyen los cultivos transgénicos un riesgo para el hombre o el ambiente?. *PHYTOMA España*, **91**: 7-16.
- PÍOAN, M. 1991a. El control microbiológico de las plagas (1ª parte). *Fruticultura Profesional*, **36**: 28-35.
- PÍOAN, M. 1991b. El control microbiológico de las plagas (2ª parte). *Fruticultura Profesional*, **37**: 52-57.
- PRIMO YUFERA, E. 1991. *Ecología química. Nuevos métodos de lucha contra insectos*. Ed. Mundi-Prensa. Madrid. 191 págs.
- PRIOR, C. 1993. Los bioplaguicidas contra las langostas. *Mundo Científico*, **134**(13): 369-371.
- REYNOLDS, S. E. 1987. The cuticle, growth and moulting in insects: the essential background to the action of acylurea insecticides. *Pestic. Sci.*, **20**: 131-146.
- RICHARDS, O. W. & DAVIES, R. G. 1983. *Tratado de entomología Imms. Vol. 1: Estructura, fisiología y desarrollo*. Ed. Omega. Barcelona. 438 págs.
- SANTIAGO, C. 1988. Insecticidas que inhiben la formación de la cutícula. En: *Insecticidas biorracionales*. Ed. C.S.I.C. Madrid. pp.: 252-269.
- TREMATERRA, P., MANCINI, M. & TANNO, M. 1997. Efficacia del virus della granulosis nel controllo di *Cydia pomonella* in un meieto a cultivar plurime condotto ad agricoltura biologica. *Informatore Fitopatologico*, **9**: 61-64.
- VAN DRIESCHE, R. G. & BOLLOWS, T. S. 1996. *Biological Control*. Chapman & Hall. New York. 539 págs.
- VIEJO, J. L. 1990. Mecanismos defensivos de las plantas ante los insectos. *Quercus*, **57**: 18-19.
- VIÑUELA, E., BUDIA, F. & DEL ESTAL, P. 1991. Los insecticidas reguladores del crecimiento y la cutícula. *Bol. San. Veg. Plagas*, **17**: 391-400.
- VIVES, J. M. 1988. Control de plagas de insectos. Problemas y alternativas. En: *Insecticidas biorracionales*. Ed. C.S.I.C. Madrid. pp.: 3-14.
- WING, K. D., SLAWECKI, R. A. & CARLSON, G. R. 1988. RH 5849, a Nonsteroidal Ecdysone Agonist: Effects on Larval Lepidoptera. *Science*, **241**: 470-472.
- YAGÜE, J. & BOLIVAR, C. 1996. *Guía práctica de insecticidas, acaricidas y nematocidas*. Coeditan Mundi-Prensa y Maraipa, S.L. Madrid. 364 págs.