

ENEMIGOS NATURALES: PARASITOIDES CARACTERÍSTICAS DEL PARASITISMO EN INSECTOS

¿Qué es un parasitoide?

El término parasitoide fue acuñado en 1913 por el naturalista alemán O. M. Reuter para separar un amplio grupo de insectos de los parásitos estrictos. Reuter describía el parasitoide como un insecto que, durante su fase larvaria, vive dentro o sobre el cuerpo de un único hospedador, para finalmente darle muerte, originando un adulto de vida libre. De este modo, el parasitoide se distingue del parásito en que destruye a su hospedador antes de alcanzar el estado adulto, mientras que el parásito consigue su propia comida de otro organismo causándole un daño o lesión menor, sin por ello llegar a matarlo, al menos de una manera directa.



Según Godfray (1994), el parasitoide ocupa una posición intermedia entre el parásito y el depredador. Como este último, siempre mata al hospedador atacado, y como muchos parásitos, sólo requiere un único hospedador para madurar. Esto diferencia al parasitoide del depredador, el cual requiere un número elevado de presas para llegar al estado adulto.

Aunque son diversos los organismos que pueden responder a la definición de parasitoide, sólo nos referiremos a los de la clase Insecta, que se encuentran distribuidos en siete órdenes: Hymenoptera, Diptera, Coleoptera, Lepidoptera, Trichoptera, Neuroptera y Strepsiptera. En torno al 80% de las especies de parasitoides pertenecen al orden Hymenoptera, y entre el 14 y el 20%, según autores, al orden Diptera. El siguiente orden en importancia numérica son los coleópteros, seguido de los lepidópteros, y por último los restantes tres órdenes, con similar abundancia.



Los parasitoides han sido los enemigos naturales más utilizados en el control biológico clásico, y con los que más éxitos se han obtenido. Desde 1915 En que se obtuvo el primer éxito en Italia con la importación de *Encarsia berlesi* desde EEUU para el control de *Pseudaulacaspis pentagona*, se han documentado introducciones de más de 600 especies en más de 2.000 ocasiones de las que se estima que en casi la mitad de las ocasiones se han aclimatado y que una tercera parte llegan a controlar las plagas con éxito. Con depredadores los éxitos alcanzados son 3 veces menos. Estos porcentajes

éxito. Con depredadores los éxitos alcanzados son 3 veces menos. Estos porcentajes

de éxito van disminuyendo con el tiempo, debido a que cada vez hay más medios y se hacen más intentos con menor probabilidad de tener éxito.

Principales diferencias entre el parasitoide y el parásito.

Parasitoide	Parásito
Mata al hospedador	Le confiere un daño al hospedador pero no lo mata
Tamaño similar al del hospedador	Tamaño menor que el del hospedador
Vive aproximadamente el mismo periodo de tiempo que su hospedador	Vive un periodo de vida más corto que su hospedador.
La mayoría de parasitoides requieren un periodo de vida libre para reproducirse	A menudo se reproducen dentro o sobre su hospedador
Hospedador y parasitoide suelen pertenecer a la misma clase taxonómica	No suelen pertenecer a la misma clase taxonómica
La larva es la que actúa como parasitoide	Los estados inmaduros y el adulto pueden actuar como parásitos
El adulto se alimenta de fuentes azucaradas y, en algunos casos del hospedador	El adulto se alimenta del hospedador
Estilo de vida del adulto libre	Estilo de vida del adulto libre o ligada al hospedador
Ausencia de heterosis: no pasa, por diferentes estados en hospedadores alternativos a lo largo de su desarrollo	Presencia de heterosis: puede pasar por diferentes estados en hospedadores alternativos a lo largo de su desarrollo

Estrategias biológicas de los parasitoides

Historia biológica de los parasitoides.

La larva es la que tiene hábitos parasitoides. Por tanto, la hembra adulta, de vida libre, debe localizar y seleccionar el hábitat, y por lo general a sus hospedadores, para realizar la puesta. La puesta del huevo (o larva) puede realizarla directamente en el hospedador, en la superficie de la planta donde se encuentra dicho hospedador o en sus alrededores. En caso de que la hembra ponga los huevos sobre la superficie de la planta, el parasitismo tiene lugar si el hospedador ingiere estos huevos, mientras que si los pone lejos del hospedador, son las larvas de primer estado, en este caso muy activas, las responsables de su localización. En general, en los himenópteros parasitoides es la hembra adulta la que localiza al hospedador, a diferencia de la mayoría de los dípteros parasitoides en los que suele ser la larva la encargada de su búsqueda.

El proceso de selección del hospedador está formado por cuatro pasos:

- 1) selección del hábitat,
- 2) localización del hospedador,
- 3) aceptación del hospedador y
- 4) idoneidad del hospedador.

La selección del hábitat y la búsqueda y localización del hospedador suelen ser dos pasos redundantes debido a que en la mayoría de los casos la localización del

hospedador equivale a la selección del hábitat. A grandes rasgos, se considera que existen tres amplias categorías de información utilizadas en la localización de los hospedadores: las señales originadas desde el microhábitat o las plantas nutricias de los hospedadores potenciales, las señales indirectamente asociadas con la actividad del hospedador en el microhábitat y, por último, las señales procedentes directamente del hospedador. Por lo general, los parasitoides parecen mostrar una preferencia innata por los olores del microhábitat en el cual se han desarrollado.

Una vez localizado el hospedador, los parasitoides, principalmente los himenópteros, utilizan las antenas y el ovipositor para evaluar si el hospedador es apto para la puesta, para la alimentación o para ambas actividades.

Para ello recurren a una gran variedad de estímulos procedentes del hospedador que incluyen las marcas químicas aplicadas externa o internamente por otro parasitoide, la detección visual o táctil de huevos o larvas en su cutícula, la presencia de tejidos necróticos o la ausencia de movimiento, entre otras pistas. Tras la aceptación, el parasitoide puede seguir dos



estrategias. La primera consiste en clavar el ovipositor en el cuerpo del hospedador e inyectarle un veneno que puede matarlo, paralizarlo de manera definitiva o frenar su desarrollo, para a continuación poner un huevo sobre su cuerpo o próximo a él de forma que la larva que emerge se alimente del cuerpo indefenso. Este tipo de parasitoide se denomina "idiobionte". En este caso, la larva del parasitoide sólo dispone de los recursos del hospedador en el momento de la puesta

para completar su crecimiento. La segunda estrategia se basa en permitir que el hospedador continúe desarrollándose y creciendo tras la puesta, de manera que frecuentemente el hospedador completa su desarrollo larvario y muere al pupar. Este tipo de parasitoide se conoce como "koinobionte" o "cenobionte". Los parasitoides koinobiontes normalmente suspenden su desarrollo como larvas de primer estado mientras el hospedador continúa creciendo y desarrollándose, o bien empiezan a crecer evitando alimentarse de los órganos vitales de su hospedador. El hecho de que la hembra en el momento de la puesta paralice de manera definitiva (idiobionte) o temporal (koinobionte) al hospedador llevará asociado una serie de características



biológicas, fisiológicas y morfológicas en el parasitoide.

Tras la puesta, el comportamiento alimenticio de la larva que emerge define dos grupos de parasitoides: aquellos parasitoides cuyas larvas se desarrollan dentro del cuerpo de su hospedador, alimentándose desde el interior, que se denominan "endoparasitoides", y aquéllos cuyas larvas crecen y se alimentan

externamente, normalmente con las piezas bucales insertadas en el cuerpo del hospedador, que se conocen como “ectoparasitoides”.



La mayoría de los parasitoides se incluyen en uno de estos dos grupos aunque también existen especies que empiezan siendo ectoparasitoides para después atravesar el hospedador y finalizar su desarrollo internamente como endoparasitoides, y viceversa. Los idiobiontes son principalmente ectoparasitoides, si bien también existen endoparasitoides idiobiontes y ectoparasitoides koinobiontes. En el último caso, generalmente la

hembra pondrá el huevo, y la larva se desarrollará, en aquellos lugares en los que el riesgo de ser dañado físicamente o de ser eliminado por el hospedador sea mínimo. Los endoparasitoides, al introducir el huevo dentro del cuerpo del hospedador, tendrán que hacer frente a la respuesta inmunitaria del hospedador, que tenderá a encapsular el material extraño, alterando la capacidad del hospedador de reconocer al parasitoides como algo ajeno.



A.- El parasitoides hace la puesta en el interior del cuerpo o del huevo del hospedador (endoparasitismo) o en las proximidades de este, después de haberlo anestesiado (ectoparasitismo)

B.- Una varias larvas se desarrollan a expensas del hospedador que muere enseguida (idiobionte) o que sigue desarrollándose hasta que al final el parasitoides acaba con él (koinobionte).

La mayoría de los dípteros parasitoides son endoparasitoides, a excepción de los bombílidos, que se desarrollan externamente. Los dípteros, a diferencia de los himenópteros, no son capaces de inyectar veneno durante la puesta y, por tanto, ni frenan el desarrollo del hospedador, ni previenen la encapsulación de los huevos, por lo que deben utilizar otras estrategias para evitar la respuesta del sistema inmunitario de la víctima. Una posibilidad consiste en mantener el contacto con el exterior mediante un orificio en el tegumento, uniendo sus espiráculos posteriores al sistema de tráqueas del hospedador, o reconduciendo los productos de la respuesta inmunitaria para la construcción de un tubo respiratorio de forma que tenga un acceso

continuo de aire fresco (p. e. Bombyliidae, Cryptochetidae, y la mayoría de los Tachinidae, entre otros). Una segunda posibilidad es que la larva se desplace a tejidos específicos como los ganglios nerviosos, músculos o glándulas de forma que no promueva la respuesta-inmunitaria (p. e. algunos Tachinidae). Otros autores describen otras estrategias, y no sólo en los dípteros, para evitar la encapsulación.



Debido a que los idiobiontes ponen los huevos en hospedadores que han perdido cualquier mecanismo de defensa, y por tanto están expuestos a cualquier tipo de ataque, requieren que los huevos y las larvas tengan un desarrollo rápido, de manera que la larva pueda alimentarse del hospedador antes de que éste sea consumido por cualquier otro enemigo natural. Por este motivo las hembras producen huevos relativamente grandes y ricos en vitelo llamados "huevos anhidrópicos" *sensu* Flanders (1942), que aseguran su alimento en el posterior desarrollo embrionario. Sin embargo, este enriquecimiento supone un gasto fisiológico elevado para la hembra, la cual debe alimentarse de sustancias nutritivas ricas en proteínas. Estas proteínas, necesarias para la producción y maduración de los huevos, las consiguen, en la mayor parte de los casos, de la hemolinfa que fluye a través de las punciones realizadas con el ovipositor en el hospedador denominadas "picaduras alimenticias", que pueden ser independientes de las picaduras realizadas para la puesta del huevo. Cuando el parasitoide requiere alimentarse antes de realizar la puesta del primer huevo se denomina "anautógeno", en contraposición de las especies "autógenas" que pueden efectuar la puesta sin necesidad de realizar las picaduras alimenticias. Los recursos necesarios para producir estos primeros huevos proceden de las reservas acumuladas durante el periodo larvario y de la movilización de los depósitos de grasa que puedan tener las hembras en su cuerpo. Los "huevos hidrópicos" serán, por el contrario, pequeños y no tendrán suficiente vitelo para el desarrollo embrionario, por lo que el alimento requerido será absorbido directamente del hospedador a través del fino corión. Este tipo de huevos es típico de las especies koinobiontes, las cuales rara vez realizarán picaduras alimenticias.

El momento en que tiene lugar la maduración de los huevos permite clasificar a los parasitoides en dos tipos: "proovigénicos", en los que la maduración tiene lugar antes de la emergencia del adulto, y "sinovigénicos", en los que el adulto al emerger

tiene pocos o ningún huevo maduro. La hembra proovigénica emerge con su complemento de huevos completo, que irá poniendo a lo largo de una corta vida en la que los huevos no se repondrán tras la puesta. Su limitación como parasitoide radicará en el tiempo que requiere para poner los huevos, en el número fijo de huevos que almacena cuando emerge como adulto, en su longevidad y en su eficacia de búsqueda. Los huevos de las hembras sinovigénicas, por el contrario, maduran de manera continua a medida que son puestos, o son reabsorbidos para subsanar la falta de alimento en condiciones de estrés o ausencia de hospedadores. El fenómeno de reabsorción de los huevos rara vez se dará entre especies koinobiontes. Los idio-biontes son en su mayoría sinovigénicos, mientras que los koinobiontes son principalmente proovigénicos. Las especies sinovigénicas viven un mayor periodo de tiempo que las proovigénicas.

Independientemente de si realizan o no picaduras de alimentación, los parasitoides -especialmente himenópteros y dípteros- en estado adulto requieren un suministro constante de hidratos de carbono, los adultos pueden practicar el "host-feeding", es decir provocar picaduras alimenticias a las presas, lo cual les facilita la supervivencia. El "host-feeding" se ha observado en 17 familias. Hay especies que necesitan "host-feeding" para iniciar la puesta y este favorece la producción de huevos. Algunas especies realizan el "host-feeding" en el mismo organismo en el que realizan la puesta. Pero muchas especies no se alimentan del mismo organismo, habitualmente se alimentan de estados más jóvenes y realizan la puesta en estados posteriores. En este caso el "host-feeding" contribuye a aumentar el nivel de control biológico.

Estos azúcares son vitales durante las fases tempranas y tardías de la vida de la hembra ya que proporcionan la energía necesaria para llevar a cabo distintas actividades, como la búsqueda de hospedadores, además de alargar su vida e incluso aumentar su fecundidad. Sin estos azúcares, la supervivencia del adulto se reduciría a varios días o incluso horas. Los azúcares, en condiciones naturales, los obtienen del néctar (floral o extrafloral) y de la melaza procedente de distintos insectos pertenecientes en su mayoría al orden Hemiptera (pulgonos y cochinillas, entre otros).

Una de las características más llamativas de los himenópteros parasitoides es la exactitud con que realizan la puesta, junto con la morfología del ovipositor (son los únicos entre los holometábolos en retener la forma primitiva lepismátida del ovipositor y de las glándulas accesorias asociadas), lo cual permite que no sólo sean los más efectivos al atacar un hospedador no expuesto y de reducido tamaño sino que además sean capaces de atravesar su cuerpo con el ovipositor, de discriminar si el hospedador ha sido parasitado, de inyectar sustancias para paralizarlo y de modificar la fisiología y comportamiento del mismo a favor de su descendencia e incluso de alimentarse de los fluidos del hospedador que fluyen del orificio realizado. Por el contrario, el resto de órdenes parasitoides, por lo general, distribuyen sus huevos en el ambiente del hospedador y confían en la posibilidad de encuentros entre el hospedador y sus huevos o, tal y como se ha descrito, en las habilidades del primer estado larvario, tanto en la espera como en la búsqueda activa de un hospedador

adecuado. No obstante, también hay especies en los que la hembra realiza la puesta sobre el hospedador (p. e. Tachinidae), si bien en este caso carecen de un ovipositor verdadero o apendicular (típico de himenópteros), y en su lugar presentan un oviscapto extensible.

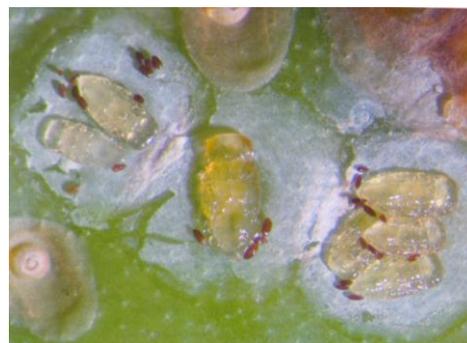
Tabla comparativa de las principales características morfológicas y biológicas de los himenópteros y los dípteros parasitoides (modificado de Quicke, 1997).

Hymenoptera	Diptera
La hembra adulta suele ser la responsable de localizar al hospedador	El primer estado larvario suele ser el encargado de localizar al
Ovipositor capaz de perforar o penetrar un sustrato duro	Oviscapto incapaz de perforar
Las mandíbulas del adulto le permiten emerger de un endurecido lugar de pupación	Los adultos carecen de mandíbulas por lo que se ven limitados a aquellos lugares donde las patas y el ptilino les permiten escapar
Adultos capaces de realizar picaduras de alimentación, host-feeding frecuente, o de alimentarse de fuentes azucaradas	Alimentación normalmente limitada a secreciones azucaradas como la melaza o el néctar. Host-feeding poco frecuente.
Reproducción principalmente arrenotoca. Pueden ajustar el sexo de la descendencia al tipo de hospedador.	Anfigónicos. Mortalidad diferencial ligada al sexo en de tamaño reducido.
Baja fecundidad.	Alta fecundidad.
Los endoparasitoides koinobiontes son normalmente oligófagos	Los endoparasitoides koinobiontes son normalmente polífagos.
Son capaces de utilizar un amplio rango de estados del hospedador	La mayoría atacan los últimos estados de hospedadores móviles y expuestos
Suelen evitar el superparasitismo	Rara vez evitan el superparasitismo
La mayoría paralizan al hospedador	La mayoría de los endoparasitoides son incapaces de paralizar al hospedador
Supervivencia del hospedador tras el ataque limitada a unas contadas excepciones	Supervivencia del hospedador tras el ataque más frecuente

Independientemente del orden, la puesta del huevo puede ser de manera individual o múltiple.



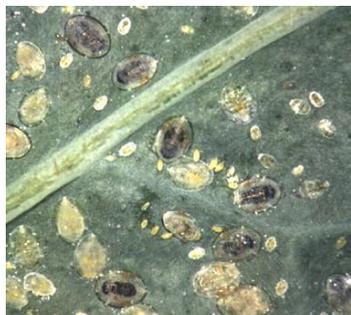
Los parasitoides que se alimentan y desarrollan de manera individual sobre un hospedador se denominan “parasitoides solitarios” mientras que aquéllos que lo hacen de manera gregaria (desde



dos hasta varios miles de individuos) sobre un único hospedador reciben el nombre de “parasitoides es gregarios”. Ambos tipos se pueden considerar como "parasitoides primarios". Si la hembra pone más de un huevo en un hospedador o si varias hembras de la

misma especie utilizan el mismo hospedador se trata de un caso de

"superparasitismo". El superparasitismo suele ser un comportamiento negativo, sobre todo si afecta a parasitoides solitarios, dado que el hospedador acostumbra a ser insuficiente para alimentar a más de un parasitoide y, como consecuencia, o bien morirán o los adultos resultantes serán de menor tamaño y por tanto, menos eficientes. Si una segunda hembra de una especie diferente pone sus huevos en el



hospedador pueden producirse dos situaciones dispares: si la larva de la segunda especie compite con la larva residente por los recursos del hospedador se habla de "multiparasitismo", y finaliza casi invariablemente con la destrucción de una de las dos especies, pero no necesariamente por un ataque de la larva ya existente. En cambio, si la larva de la segunda especie no se alimenta del hospedador sino de la larva ya existente se trata de "hiperparasitismo". El hiperparasitismo puede ser de dos

tipos: "facultativo", cuando los parasitoides son capaces de atacar a hospedadores que no han sido parasitados y sólo se desarrollan como hiperparasitoides cuando los huevos son puestos en un hospedador previamente parasitado; y "obligado" cuando los parasitoides sólo son capaces de desarrollarse como parasitoides de parasitoides. Los hiperparasitoides se conocen como "parasitoides secundarios o terciarios". Los parasitoides, principalmente los himenópteros, han desarrollado mecanismos para evitar tanto el superparasitismo como el multiparasitismo, como marcas físicas o químicas, u órganos sensitivos en el ovipositor. Sin embargo, en los dípteros parasitoides el superparasitismo está ampliamente extendido de lo que se deduce que o bien la capacidad de discriminar entre un hospedador sano y uno previamente parasitado es nula, o muy limitada, o bien existen otras restricciones filogenéticas o fisiológicas que justifican la evolución de tal comportamiento. Una posible explicación es que en numerosos casos la hembra adulta nunca entra en contacto con el hospedador, y por tanto, no es capaz de tal discriminación. Otra explicación radica en el tipo de hospedador que parasita, que en ocasiones es ágil y con mecanismos de defensa efectivos, por lo que dedicar tiempo al reconocimiento puede incrementar el riesgo de daño o muerte.

Otro tipo de parasitismo es el "cleptoparasitismo". En este caso el parasitoide requiere la presencia obligatoria de otra especie de parasitoide, pero no para alimentarse de ella. Un ejemplo serían algunos parasitoides que atacan a hospedadores que viven en el interior de madera muerta pero que carecen de ovipositor perforador para alcanzarlos. Estas especies sólo pueden utilizar insectos previamente parasitados después de que el primer parasitoide haya perforado un orificio para la puesta. En la mayoría de los casos, la segunda especie desplaza a la primera.

Algunas especies de afelínidos, denominados "afelínidos heterónomos", exhiben un comportamiento en el cual cada sexo se restringe obligatoriamente a un tipo diferente de hospedador. La hembra se desarrolla siempre como endoparasitoide de un hemíptero (p. e. un pseudocócido, diaspídido o aleiródido), mientras que el

desarrollo del macho es variable. Dentro de este desarrollo se pueden distinguir tres tipos:

1) parasitoides dífgagos, cuando el macho se desarrolla como ectoparasitoide del mismo hospedador que la hembra;

2) hiperparasitoides heterónomos, autoparasitoides o adelfoparasitoides, cuando el macho se desarrolla como hiperparasitoide de hemípteros atacando a las hembras de su propia especie (autoparasitoides obligados), de otra especie (autoparasitoides facultativos) o de otras familias de calcidoideos (alloparasitoides). Los hiperparasitoides heterónomos varían por tanto en el rango de especie parasitoide adecuada para el desarrollo del macho; y

3) parasitoides heterotróficos, cuando el macho se desarrolla en hospedadores completamente diferentes, normalmente en huevos de lepidópteros.

ESTRATEGIAS DE VIDA	
IDIOBIONTES	KOINOBIONTES
Ectoparásitos	Endoparásitos
Hospederos ocultos	Hospederos expuestos
Generalistas	Especialistas
Paralización larval duradera	Paralización larval corta
Huevos grandes	Huevos pequeños
Hembras con huevos maduros siempre	Hembras con huevos maduros puntualmente
Sinovigenia	Proovigenia
Host-feeding frecuente	Host-feeding poco frecuente
Oosorbción	No oosorbción
Adulto de vida larga	Adulto de vida corta
Hospederos más grandes que el parasitoide	Hospederos más pequeños que el parasitoide
Elección de sexo según tamaño del hospedero	No-elección de sexo
Diurnos	Diurnos y nocturnos
Dimorfismo sexual frecuente	Poco dimorfismo sexual

Tipo de reproducción

La reproducción de los artrópodos es de tipo sexual, es decir, la descendencia procede de una o de dos células de la línea germinal femenina en la partenogénesis o de dos (una masculina y otra femenina) en la reproducción anfígónica (dos gametos para formar una nueva célula, el cigoto). La reproducción normal es la anfigonia, pero la partenogénesis está ampliamente extendida. Existen tres tipos básicos de partenogénesis en función del sexo de la descendencia: “partenogénesis arrenotoca”, en la cual los ovocitos no fecundados dan lugar a machos (y los fecundados a hembras), “partenogénesis telitoca”, cuando la descendencia es toda hembra sin

necesidad de que el macho fecunde a la hembra; y “partenogénesis deuterotoca o anfitoca”, cuando las hembras no fecundadas dan lugar a machos y a hembras.

Los dípteros suelen presentar una reproducción de tipo anfigónico aunque se pueden dar algunos casos de partenogénesis. En los himenópteros existe un mecanismo de determinación de sexos conocido como “haplodiploidia” en el cual el sexo de la progenie viene definido por el número de juegos de cromosomas que recibe. La hembra se origina por la unión del esperma y del ovocito -y por tanto un juego de cromosomas viene del padre y otro de la madre-, mientras que el macho se origina de un ovocito no fecundado (partenogénesis arrenotoca) -y por tanto sólo tiene el juego de cromosomas de la madre-. De este modo, el macho es haploide, mientras que la hembra es diploide. Esta adaptación tiene una consecuencia directa y es que la hembra tiene la capacidad de escoger el sexo de la descendencia controlando la liberación del esperma desde la espermateca.

Las hembras con reproducción partenogenética telitoca producen hembras diploides, sin necesidad de ser fecundadas, a través de distintos mecanismos como pueden ser la duplicación o la fusión de gametos tras la meiosis. Por otro lado, se ha observado que la reproducción telitoca está asociada, en un gran número de especies con reproducción haplodiploide, con la presencia en los ovarios de la hembra de una bacteria endosimbionte perteneciente al género *Wolbachia* de forma que cuando se elimina dicha bacteria -mediante tratamiento térmico o antibiótico- se restaura la reproducción arrenotoca. No obstante, este fenómeno de inducción de la partenogénesis y otras alteraciones reproductivas observadas no son tan sólo exclusivos de esta bacteria, ya que existen otros factores que pueden alterar el porcentaje de sexos.

En algunos himenópteros y dípteros tiene lugar un tipo de reproducción asexual llamado “poliembriónia”, en el que a partir de uno o dos huevos pueden emerger del hospedador hasta miles de individuos de igual genotipo y sexo. Este fenómeno, que se considera un tipo de parasitismo gregario a pesar de que se parte de uno o dos huevos, se ha descrito en algunas especies pertenecientes a las familias Encyrtidae, Platygasteridae, Braconidae y Dryinidae, y va ligado en muchos casos a la reproducción por paidogénesis, en la cual el individuo en desarrollo ya está a su vez gestando.

Órdenes con especies parasitoides

Tal y como se ha indicado, el parasitismo dentro de la clase Insecta se ha observado en miembros pertenecientes a siete órdenes distintos: Hymenoptera, Diptera, Coleoptera, Lepidoptera, Trichoptera, Neuroptera y Strepsiptera. A continuación se indican las características morfológicas y biológicas más importantes de cada uno de ellos y las familias, géneros o especies que tienen un papel relevante en el control biológico de plagas haciendo un especial énfasis en aquellas presentes en nuestros cultivos.

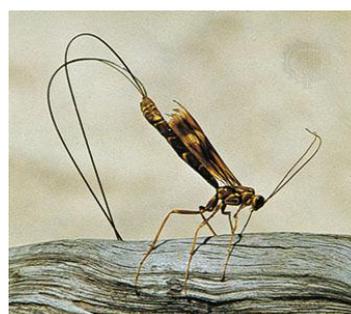
Orden	Suborden	Superfamilia	Familia
Hymenoptera	Symphyla	Orussoidea	Orussidae
	Apocrita	Trygonalyoidea	Trigonalyidae
		Evanoidea	Evaniidae
			Aulacidae
			Gasteruptiidae
		Cynipoidea	Ibaliidae
			Charipidae
			Figitidae
			Eucolidae
		Chalcidoidea	Leucospidae
			Chalcididae
			Eurytomidae
			Torymidae
			Agaoinidae
			Perilampidae
			Pteromalidae
			Signiphoridae
			Encyrtidae
			Aphelinidae
			Trichogrammatidae
			Mymaridae
			Eulophidae
			Eucharitidae
		Proctotrupoidea	Proctotrupidae
			Diapriidae
			Scelionidae
			Platygastridae
			Roproniidae
		Ceraphronoidea	Megaspilidae
			Ceraphronidae
		Ichneumonoidea	Ichneumonidae
			Braconidae
	Aculeata	Chrysoidea	Dryinidae
			Bethylidae
			Chrysididae
		Vespoidea	Tiphiidae
			Pompilidae
Diptera	Nematocera		Cecydomiidae
	Brachycera		Acroceridae
			Bombyliidae

			Nemestrinidae
	Cyclorrhapha		Phoridae
			Pipunculidae
			Conopidae
			Sarcophagidae
			Tachinidae
Coleoptera			Carabidae
			Staphylinidae
			Rhipiphoridae
			Meloidae
Strepsiptera			Mengeidae
Lepidoptera			Pyralidae
			Epipyropidae
Neuroptera			Mantispidae

Hymenoptera

El orden Hymenoptera se divide en dos subórdenes, Symphyta y Apocrita. El suborden Symphyta se trata de un grupo formado principalmente por larvas fitófagas, a excepción de la familia Orussidae que está compuesta por parasitoides de coleópteros. El suborden Apocrita se subdivide a su vez en dos grandes grupos, Parasitica y Aculeata. La división de los Parasitica se considera que es un taxón parafilético constituido casi exclusivamente por especies parasitoides, mientras que los Aculeata, taxón monofilético, son fundamentalmente especies depredadoras o recogedoras de polen, y sólo algunas especies son parasitoides.

Dentro del orden Hymenoptera, los dos taxones con mayor número de parasitoides utilizados en control biológico clásico de plagas son la superfamilia Ichneumonoidea y Chalcidoidea. La superfamilia Ichneumonoidea incluye a las familias Braconidae e Ichneumonidae, que presentan un gran número de especies con un amplio rango de hospedadores y ciclos biológicos. Sin embargo, los géneros y especies con éxito en el control biológico de plagas están restringidos dentro de estas dos familias. En los braconídeos, el éxito se basa en la lucha contra los lepidópteros, mientras que en los icneumónidos se centra en la lucha contra los himenópteros fitófagos (suborden Symphyta).





La familia Ichneumonidae está formada por insectos de talla variable, desde pequeña a muy grande, y en la mayoría de los casos alados. Las antenas tienen 13 ó más artejos, no están geniculadas y por lo general no acaban en maza. Las mandíbulas son normalmente bidentadas. Las alas anteriores presentan una nerviación característica, con la primera celda discoidal y submarginal (o cubital, según autores) unidas y, salvo raras excepciones, con la vena 2m-cu presente. El pterostigma está normalmente bien diferenciado. Las alas posteriores exhiben una celda como mínimo completamente cerrada y la vena 1 r-m se sitúa delante de la divergencia R+Rs. El gáster normalmente muestra los terguitos 2 y 3 separados.

Los icneumónidos son endoparasitoides y ectoparasitoides de larvas o pupas de diversos insectos, entre los que destacan los himenópteros y los lepidópteros, si bien también pueden atacar a coleópteros, dípteros, neurópteros, mecópteros, tricópteros y arácnidos. Por lo general, la mayoría de los icneumónidos son solitarios y biparentales. Los capullos de los icneumónidos se forman normalmente donde muere el hospedador, por lo que muchos de los que matan a su hospedador en el estado de prepupa o pupa utilizan la cámara de pupación de su huésped como refugio, que a menudo se encuentra en el suelo, debajo de la corteza, u oculta entre las hojas.

Para el hombre son importantes sobre todo como agentes reguladores de plagas forestales. Es destacable que a pesar de su gran importancia como agentes reguladores en la naturaleza (se considera que son responsables del 20% del parasitismo natural) su aplicación al control biológico de plagas agrícolas es muy escasa. A pesar de ello es un grupo muy prometedor.

En España, se ha citado como especies útiles dentro de la subfamilia **Ichneumoninae** a:



Ichneumon rudis Boyer de Fonscolombe, parasitoide de crisálidas de la procesionaria del pino (*Thaumetopoea pityocampa* Denis y Schiffermüller), y a

Ichneumon disparis (Poda), especie que parasita distintas orugas de encinas, robles, pinos, abetos y

sauces.

Erigorgus femorator Aubert, perteneciente a la subfamilia **Anomaloninae**, se considera que es más efectivo en el control de la procesionaria, y es específico de orugas.





Dentro de la subfamilia **Pimplinae** destaca *Pimpla rufipes* (Miller) (= *instigator* F.), especie típica del género, de color negro con las alas hialinas y las patas rojas, y un tamaño que oscila entre 8 y 20 mm. Este icneumonídeo parasita las orugas del tortricido de las encinas (*Tortrix viridana* L.), la lagarta peluda y la lagarta rayada o falsa lagarta *Lymantria dispar* L. y *Malacosoma neustria* (L.), respectivamente, elimántrido defoliador de frondosas y especialmente de *Quercus* sp. y *Ulmus* sp. *Euproctis chrysorrhoea* (L.), el defoliador de chopos *Leucosoma salicis* (L.), la lasiocampa del pino *Dendrolimus pini* (L.), la defoliadora de *Picea* sp. *Lymantria monacha* (L.)... Se trata, por tanto, de un parasitoide de gran importancia forestal, al igual que la especie *Pimpla turionellae* (L.) (= *examinator* F.) que además de parasitar las orugas que atacan a especies forestales, parasita la polilla y el escarabajo de los manzanos *Yponomeuta malinellus* Leller y *Anthonomus pomorum* (L.), respectivamente y la polilla de la vid *Lobesia botrana* (Denis y Schiffermüller). El género *Itoplectis* Forster también se ha descrito sobre *L. botrana*, además de sobre la polilla de los cereales *Cnephasia pumicana* (Leller), y sobre las orugas de distintos noctuidos, como *Helicoverpa armigera* (Hübner) y *Chrysodeixis chalcites* (Esper), en cultivos de tomate al aire libre.



En la subfamilia **Ophioninae** se encuentran especies de elevado interés desde el punto de vista agrario y forestal al parasitar orugas de lepidópteros y larvas de coleópteros e himenópteros fitófagos. La especie *Ophion luteus* (L.) actúa sobre diversas orugas como *D. pini*, *Cerura* (*Cerura*) *vinula* (L.) o *Lasiocampa quercus* (L.).

La subfamilia **Campopleginae** contiene varias especies importantes en el control biológico de plagas. La mayoría son endoparasitoides koinobiontes solitarios de lepidópteros, pero también pueden parasitar dípteros tenthredinoidea y raphidiidae y coleópteros fitófagos. Un ejemplo es *Hyposoter didymatar* (Thunberg), taxón que apareció en 1990 en el sur



de España sobre *Spodoptera littoralis* (Boisduval) y *Spodoptera exigua* (Hübner) y que en 1998 estaba presente no sólo en Andalucía sino también en Extremadura y Cataluña, regulando además las poblaciones de otras plagas de noctuidos



como *H. armigera*. Otros géneros importantes dentro de esta subfamilia son *Campoplex* Gravenhorst, *Venturia* Schrottky, *Bathyplectes* Forster, *Exochus* Gravenhorst o *Diadegma* Forster.

La familia **Braconidae** está constituida por insectos desde pequeños a moderadamente grandes, poco llamativos, de color negro, marrón o anaranjado, la mayoría alados, con las antenas con más de 16 artejos (hasta 100), alguna vez con 16, y rara vez con menos, no geniculadas y normalmente no acabadas en maza. La venación del ala anterior es muy variable, con la primera celda discoidal y submarginal algunas veces separada por una vena, algunas veces unidas, y con la vena 2m-cu ausente. El pterostigma está presente y normalmente bien diferenciado. Las alas posteriores presentan una celda completamente cerrada y la vena 1 r-m situada antes de la divergencia R+Rs. El gáster normalmente con los terguitos 2 y 3 fusionados.

Por lo general, los braconidos son parasitoides primarios siendo el hiperparasitismo extremadamente raro. Los hospedadores incluyen larvas y adultos de coleópteros, orugas de lepidópteros, larvas de dípteros, adultos de áfidos y ocasionalmente de hormigas. Rara vez utilizan otro himenóptero como hospedador, hecho que ocurre frecuentemente en los icneumonidos. Las especies solitarias son las más abundantes, si bien es frecuente encontrar especies gregarias. La mayor parte de los braconidos son endoparasitoides koinobiontes aunque en un elevado número de subfamilias el último estado larvario sale del hospedador para continuar alimentándose y completar su desarrollo desde el exterior. Esta larva madura, fuera del hospedador, tejerá un capullo donde pupará, con la excepción de la mayoría de los géneros de la subfamilia Aphidiinae que pupan dentro del cuerpo momificado del pulgón, así como los Rogadinae, que utilizan los restos momificados de las orugas para pupar en su interior.

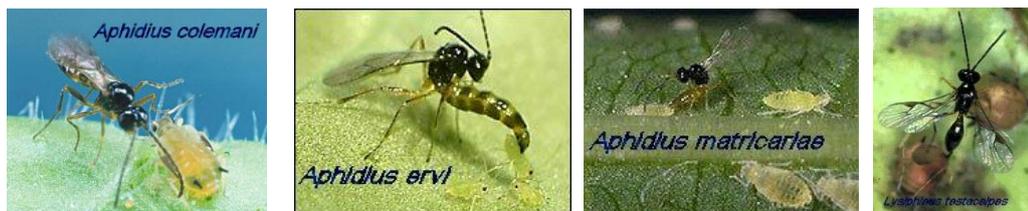
Dentro de la familia Braconidae cabría destacar una serie de subfamilias por su importancia en el control de plagas. La subfamilia **Aphidiinae** es tal vez una de las más importantes debido a que los afidiinos son endoparasitoides koinobiontes solitarios de ninfas y adultos de la superfamilia Aphidoidea.

En primavera el parasitismo sobre los pulgones suele ser muy importante y eficaz, sobre todo cuando las poblaciones de hospederos son elevadas. Cuando la temperatura aumenta los afelínidos suelen entrar en regresión debido al hiperparasitismo de otros himenópteros que limita su eficacia.



Los géneros *Praon* Haliday, *Dyscritulus* Hincks y *Protaphidius* Ashmead presentan larvas que emergen del pulgón para pupar y tejen un capullo debajo del

mismo. La mayoría de los restantes géneros, como se ha comentado previamente, pupan dentro del hospedador, el cual se encuentra firmemente adherido a la superficie de la planta. A este último tipo pertenece *Lysiphlebus testaceipes* (Cresson), afidiino ampliamente distribuido por toda la región mediterránea y parasitoide más abundante en la Comunidad Valenciana sobre los pulgones *Aphis gossypii* Glover, *Toxoptera aurantii* (Gover de Fonscolombe) V *Aphis spiraecola* Patch, si bien sobre este último no llega a completar su desarrollo. Este parasitoide presenta un amplio rango de hospedadores siendo capaz de parasitar numerosas especies de áfidos como *Aphis fabae* Scopoli, *Aphis pomi* De Geer, *Aphis punicae* (Passerini), *Aphis craccivara* Koch, etc.. También se ha introducido para el control biológico del pulgón de cereales *Schizaphis graminum*. Recientemente una línea procedente de Cuba se introdujo en Europa en principio con la finalidad de controlar a la principal especie de pulgón de los cítricos *Aphis citricola* en 1973. En 1976 fue introducida en España. A partir de 1982 empieza a encontrarse el parásito de forma natural en el campo atacando a gran número de especies de pulgones. Curiosamente según las observaciones obtenidas en el campo la acción sobre *A. citricola* no es buena ya que la evolución no se complete en nuestras condiciones. Sin embargo ejerce un control excelente sobre otras especies de pulgones de cítricos como *Toxoptera aurantii* y *Aphis gossypii*. Además del beneficio directo, puede ser de gran interés esta introducción al reducir las poblaciones de *A. gossypii* que es el principal agente transmisor de la tristeza de los cítricos en nuestro país. Otros afidiinos presentes en la Comunidad Valenciana sobre *T. aurantii* son *Praon volucre* (Haliday), *Trioxys angelicae* (Haliday) V *Lysiphlebus confusus* Tremblay et Eadv. También cabría destacar la acción de *Aphidius colemani* Viereck sobre *Hyalopterus pruni* (Geoffroy), pulgón que produce fuertes ataques sobre almendro y melocotonero.



Este bracónido se puede conseguir comercialmente junto a *Aphidius ervi* Haliday para controlar a los pulgones que frecuentemente aparecen en cultivos hortícolas y ornamentales como *A. gossypii*, *Myzus persicae* Sulzer, *Aulacorthum solani* Kaltenbach o *Macrosiphum euphorbiae* (Thomas). *Aphidius matricariae* Haliday es uno de los afidiinos más extendidos en nuestra zona siendo altamente efectivo sobre *M. persicae*. Los áfidos momificados presentan coloración variable desde marrón claro a negro. En las especies españolas, según Michelena (1985), pueden reconocerse los géneros de forma aproximada por la coloración de las momias, y así el color marrón claro corresponde a los géneros *Trioxys*, *Lysiphlebus*, *Diaretiella*, *Diaretus* y *Lipolexis*.. El género *Aphidius* presenta diferentes tonos de

marrón, así como el género *Adialytus*, mientras *Ephedrus* es negro. Por último el género *Pauesia* presenta coloración variable según la especie.



Una plaga procedente de Europa y que causa graves daños en zonas donde ha sido introducida como América y África es el pulgón de la alfalfa *Acyrtosiphon pisum*. En Europa está muy controlado por afidiidos, en especial *Aphidius ervi*. En Asia también está bajo control predominando la especie *Aphidius smithi*. El éxito en el control de esta grave plaga de la alfalfa en Norteamérica se ha conseguido mediante la introducción en zonas templadas y húmedas de la especie europea *A. ervi* mientras en las zonas secas y cálidas el mejor parásito ha resultado ser *A. smithi* procedente de la India.

La subfamilia **Microgastrinae** engloba el mayor número de especies parasitoides dentro de esta familia. Son endoparasitoides koinobiontes solitarios o gregarios de orugas y resultan muy importantes en el control natural de las poblaciones de lepidópteros. A esta subfamilia pertenecen los géneros *Apanteles* Foerster y *Cotesia* Cameron, con especies como *Apanteles vitripennis* Curtis, parasitoides muy eficaces y extendidos en el control de la lagarta peluda, o *Cotesia glomerata* (= *Apanteles glomeratus*) (L.), principal agente de control de las orugas de la mariposa blanca de la col, *Pieris brassicae* (L.), parásita a las orugas de la col *Pieris*. Es una



especie muy prolífica, depositando hasta 150 huevos dentro de una misma oruga. Estas continúan su evolución sin mostrar signos externos del parasitismo y solo al fin de su evolución se inmovilizan para transformarse en crisálidas. En ese momento las larvas del parásito que han terminado su desarrollo salen al exterior y tejen un capullo de seda amarillento sobre el despojo de su víctima. Una generación del parásito puede desarrollarse en menos de un mes y otras especies de lepidópteros pueden también ser atacadas.

Ciclo de vida de *Apanteles glomeratus*



Los géneros *Dacnusa* y *Chorebus* como parásitos de minadores agromícidos.



Otras especies de *Cotesia* importantes en el control de noctuidos plaga son *C. telengai* (Tobias), *C. plutellae* (Kurdjumov), *C. kazak* (Telenga) y *C. marginiventris* (Cresson). También destacan los géneros *Microgaster* Latreille y *Microplitis* Foerster.

Los braconinos (**Braconinae**) son ectoparasitoides idiobiontes solitarios o gregarios de larvas de coleópteros o lepidópteros y, ocasionalmente, de dípteros o himenópteros Symphyta, donde destaca el género *Bracon* con la especie *Bracon hebetor* (Say) = *Habrobracon juglandis* (Ashmead) sobre los lepidópteros *Pectinophora gossypiella* (Saunders) y *H. armigera*. Esta especie está disponible comercialmente.



Algunos braconidos han mostrado problemas de sincronización de sus ciclos con los de sus hospederos, debido al clima, disminuyendo la efectividad de la parasitación en relación con lo observado en su país de origen. Este es el caso de *Microgaster demolitor* procedente de Australia introducido en Egipto para el control de la rosquilla negra *Spodoptera littoralis*, y el de *Apanteles chilonis* procedente del Japón introducido en la zona mediterránea para el control del *Chilo suppressalis* o barrenador del arroz.

La subfamilia **Opiinae** está formada por endoparasitoides koinobiontes solitarios de larvas de dípteros ciclorrafos (la mayoría agromícidos), sobre todo de especies minadoras, y cuyo género más importante es *Opius concolor* ataca a inmaduros de dípteros tefrítidos como *Ceratitis* y *Dacus* o moscas de la fruta, y es criado masivamente y liberado de forma inundativa en varios países de la cuenca mediterránea para combatir a esas graves plagas de olivo y frutales.

Opius Wesmael. Dentro de esta subfamilia destacan cuatro especies introducidas en España para el control de la mosca de la fruta, *Ceratitis capitata* (Wiedemann): *Psytalia* (= *Opius*) *concolor* (Szépligeti), parasitoide introducido y liberado que, sin embargo no demostró suficiente efectividad en campo sobre *C. capitata*, pero sí sobre la mosca de las aceitunas, *Bactrocera* (= *Dacus*) *oleae* (Gmelin); *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead); *Diachasmimorpha tryoni* (Cameron) y el parasitoide de huevos *Fopius arisanus* (Sonan). Las dos últimas especies han sido introducidas, pero todavía no liberadas, y controlan con relativo éxito las poblaciones de este díptero en otros países.





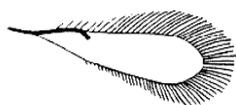
El mismo rango de hospedadores presentan las especies de la subfamilia **Alysiinae**, donde destacan los géneros *Aphaereta* Foerster y *Dacnusa* Haliday.

La subfamilia **Macrocentrinae** está representada en el género *Macrocentrus* Curtis. Los macrocentrinos son endoparasitoides koinobiontes solitarios o gregarios de orugas de lepidópteros, particularmente de tortricidos y noctuidos, al igual que los miembros de la subfamilia **Cheloninae**. Esta última con géneros como *Chelonus* Panzer, *Phanerotoma* Wesmael y *Ascogaster* Wesmael. Entre ellos, en los últimos años está adquiriendo mayor importancia en el control de noctuidos plaga en cultivos de invernadero *Chelonus inanitus* (L.).

La **superfamilia Chalcidoidea**, aunque de menor importancia numérica, contiene los grupos más relevantes para el control biológico de plagas. La mayoría de los calcidoideos son pequeños, o muy pequeños, con tegumentos fuertemente esculpidos y con reflejos metálicos azulados, verdes, bronce o púrpuras, que se pueden reconocer fácilmente por sus antenas. En común con algunos proctotrupeoideos y cerafronoideos, los calcidoideos tienen un escapo alargado que le da la apariencia acodada, similar a la de las antenas de las hormigas. El flagelo está normalmente bien diferenciado en un funículo proximal y una maza o clava apical. En especies con las alas desarrolladas, la venación alar está extremadamente reducida y no presentan celdas. Los calcidoideos (a excepción de los Mymaromatidae) pueden separarse de otros microhimenópteros con antenas y alas similares porque el pronoto no alcanza la tégula, el prepectus es visible y por la presencia de sensilios placoideos en los flagelos.



ALAS DE CHALCIDOIDEA



Mymaridae



Trichogrammatidae

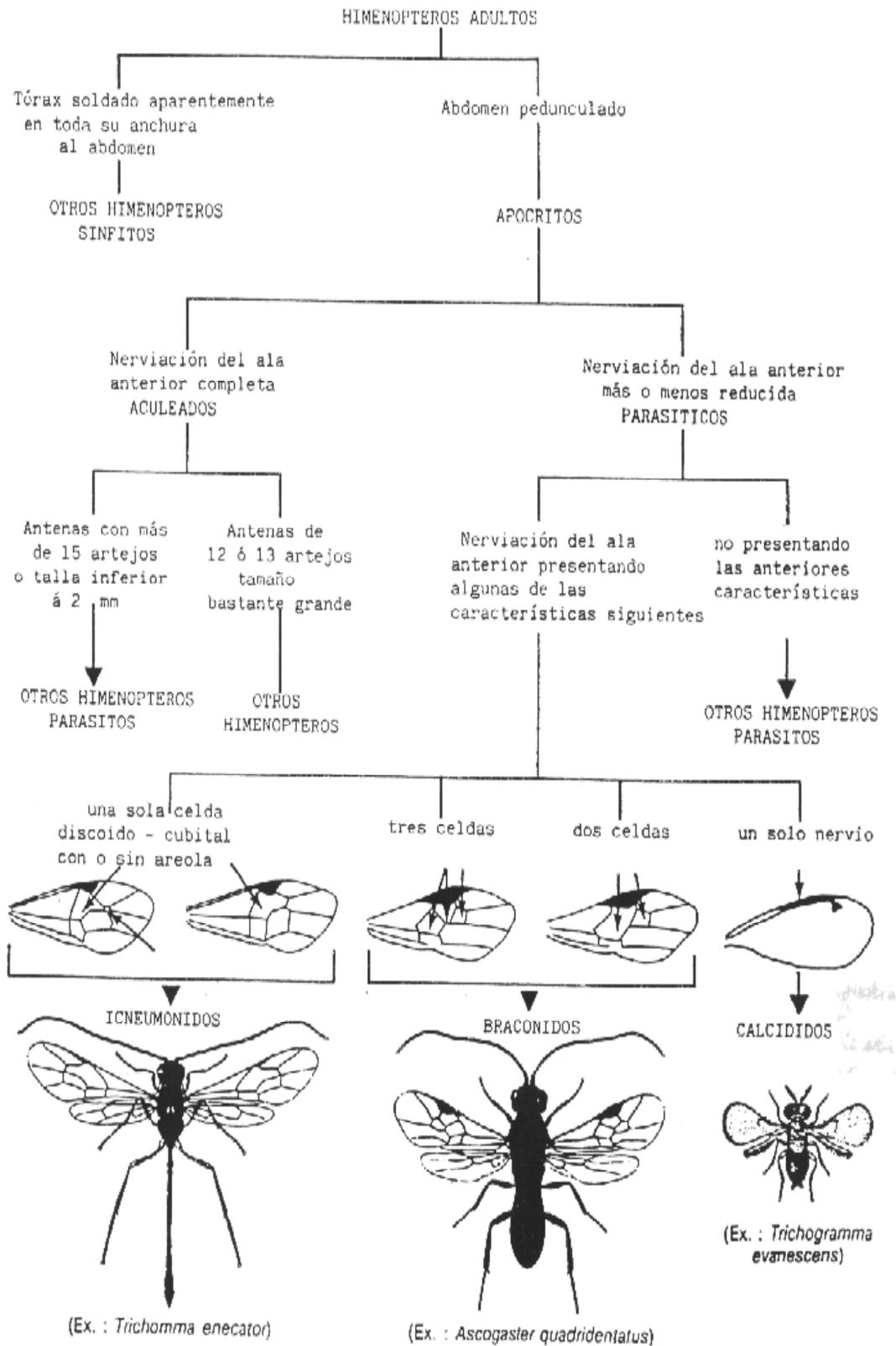


Pteromalidae

Tres tipos de alas de calcídidos , mostrando la reducida venación.

El rango de hospedadores es muy amplio; prácticamente todos los órdenes de endopterigotas, muchos exopterigotas y algunos arácnidos. Esta superfamilia contiene numerosas familias con representantes parasitoides, pero hay que destacar por su

importancia agroforestal en España las siguientes: Pteromalidae, Encyrtidae, Aphelinidae, Eulophidae, Trichogrammatidae y Mymaridae.





En la familia **Pteromalidae** se encuentran todos los tipos de desarrollo y biología expuestos. No obstante, la mayoría se pueden considerar idiobiontes y muchos se desarrollan como ectoparasitoides solitarios o gregarios de larvas y pupas de dípteros, coleópteros, himenópteros, lepidópteros y sifonápteros. Son insectos con el cuerpo desde estilizado a bastante robusto, de 1,2 a 6,7 mm de longitud y de color normalmente metálico. Las antenas presentan de 8 a 13 artejos (incluyendo más de 3 anillos). El tórax exhibe a menudo un collar pronotal evidente. Las alas casi siempre están bien desarrolladas, y el gáster está desde subpeciado a claramente peciolado.

Dentro de esta familia se halla la subfamilia **Spalangiinae**, con su único género *Spalangia* Latreille. Son parasitoides de dípteros ciclórrafos, especialmente de las familias Muscidae, Calliphoridae, Sarcophagidae y Tephritidae. Se desarrollan como ectoparasitoides solitarios de la pupa del hospedador dentro del pupario. Destacan las especies *Spalangia cameroni* Perkins y *Spalangia endius* Walter que se utilizan ampliamente en



el control biológico de las "moscas comunes", como *Musca domestica* L., aunque también pueden atacar a tefrítidos de interés comercial. En concreto, *S. cameroni* ha sido localizada por primera vez sobre *C. capitata* en la Comunidad Valenciana, junto con el pteromalino, cada vez más abundante, *Pachycrepoideus vindemmiae*

(Rondani).

Otros géneros importantes de esta familia son *Dibrachyso* Forster, *Perilampus* Latreille, *Pteromalus* Swederus, *Muscidifurax* Girault y Sanders y *Scutellista* Motschulsky. Destacan en este grupo *Dibrachys affinis* Masi y *Dibrachys cavus* (Walker), que ejercen un buen control sobre orugas y crisálidas de la polilla de la vid, *L. botrana*; y *Scutellista caerulea* (Fonscolombe) (= *cyanea* Motschulsky), especie de color azul metálico, con antenas y patas amarillas, que se comporta como ectoparasitoide de distintos cóccidos como la caparreta blanca (*Ceroplastes sinensis* Del Guercio), la caparreta negra, *Saissetia oleae* (Olivier), y la cochinilla de las higueras (*Ceroplastes rusci* L.). Esta especie también puede actuar como depredador al alimentarse de los huevos de estas especies. Se considera un auxiliar de primer orden.



La familia **Encyrtidae** es una de las más importantes en el control biológico de pseudocóccidos y cóccidos, aunque *Copidosoma koehleri* Blanchard, uno de los parasitoides principales, es altamente efectivo contra la polilla de la patata *Phthorimaea operculella* (Zeller) y *Copidosoma floridanum* (Ashmead) contra el

noctuido *C. chalcites*. Ambas especies experimentan el fenómeno de poliembrionía. Los encírtidos también pueden parasitar otros órdenes de insectos, además de ácaros, pulgas y arácnidos, e incluso actuar como hiperparasitoides de otros calcidoideos.



Los encírtidos son muy pequeños (0,5-3,5 mm), normalmente robustos, y de color metálico o con tonalidades pardas. El flagelo de la hembra es desde cilíndrico a muy ancho y aplanado. La antena de la hembra presenta de 5 a 13 artejos; la del macho de 5 a 10, y puede estar ramificada. Las alas anteriores están totalmente desarrolladas o reducidas, con la vena marginal breve y las venas postmarginal y estigmal relativamente cortas, y a menudo, subiguales en longitud. El espolón de las tibias del segundo par de patas es relativamente largo y robusto y los tarsos tienen cinco artejos, rara vez cuatro. El abdomen presenta el segundo segmento extremadamente corto y ancho, por lo que el gáster es normalmente sésil.

En España hay varios endoparasitoides que regulan en diferente medida al pseudocócido *Planococcus citri* (Risso) (*cotonet*), como son *Leptomastidea abnormis* (Girault), *Anagyrus pseudococci* (Girault) y *Leptomastix dactylopii* Howard. Este último introducido en 1977 desde Brasil.



El género *Metaphycus* Mercet también está ampliamente representado en el control de diferentes cóccidos, con especies como *M. flavus* (Howard), *M. helvolus* (Compere) y *M. lounsburyi* (Howard).



Comperiella bifasciata Howard es el endoparasitoide más importante en algunas regiones de California, Australia, Sudáfrica e Italia en el control del piojo rojo de California, *Aonidiella aurantii* (Maskell). Esta especie fue introducida por primera vez en Alzira (Valencia) en junio de 2000 con escaso éxito. Posteriormente, se han realizado nuevas sueltas en la provincia de Valencia y Castellón, si bien, a fecha de hoy, se puede indicar que este parasitoide no se ha localizado en ninguno de los muestreos. *Comperiella lemniscata* Compere y Annecke, especie morfológicamente muy similar a la anterior, se encuentra presente sobre el piojo rojo de los cítricos, *Chrysomphalus dictyospermi* (Morgan).

Dentro del género *Ageniaspis* Dahlbom, destaca la especie *Ageniaspis citricola* Logvinovskaya. Este encírtido, que parasita huevos y larvas, fue introducido en

España en 1995 para el control del minador de los cítricos, *Phyllocnistis citrella* Stainton. Sin embargo, a pesar de que alcanza elevados niveles de parasitismo, no es capaz de pasar el invierno, salvo en algunas localidades de las Islas Canarias, donde el clima subtropical permite tener brotaciones constantes en los cítricos que ofrecen un refugio para el minador y sus parasitoides.



Otras especies importantes dentro de esta familia son *Ooencyrtus telenomicida* (Vassiliev), endoparasitoide de huevos de *Nezara viridula* (L.), y *Ooencyrtus pityocampae* (Mercet), parasitoide muy abundante sobre las masas de huevos de *T. pityocampa*. Se desconoce si la especie *Ooencyrtus kuvanae* (Howard), especie introducida para el control de *L. dispar*, y que regula con éxito las poblaciones de este defoliador en otros países, ha llegado a establecerse.

La familia **Aphelinidae** es el grupo de calcidoideos más importante en



programas de control biológico, junto con los Encyrtidae. Incluye a unas 900 especies de tamaño moderado, la mayoría parasitoides de hemípteros Sternorrhyncha. Algunos afelínidos atacan a especies de Aphidoidea, Aleyrodoidea o Psylloidea, si bien la mayoría se desarrolla en los Coccoidea como endoparasitoides, ectoparasitoides o incluso como depredadores de huevos. Raramente como hiperparasitoides. Por otro lado se encuentran los afelínidos

heterónomos, cuya compleja biología ya ha sido tratada previamente.

Los afelínidos son especies muy pequeñas (0,6-1,4 mm), normalmente rechonchas y robustas o aplanadas y, ocasionalmente, alargadas. El cuerpo varía desde el amarillo pálido al marrón oscuro pero rara vez son de color brillante o metálico. Las antenas tienen de 5 a 8 artejos, con el funículo en ambos sexos con 2, 3 ó 4 artejos. Existen especies aladas y braquípteras. En las aladas, la vena marginal normalmente es alargada, la vena estigmal es muy corta y la postmarginal está ausente. Además, el ala anterior a menudo presenta una banda oblicua, sin sedas, desde la vena estigmal hasta el margen posterior. El gáster es sésil y el ovipositor está oculto o apenas visible. Los géneros más importantes son *Aphytis* Howard, *Encarsia* Forster, *Eretmocerus* Haldeman, *Cales* Howard, *Coccophagus* Westwood y *Aphelinus* Dalman.



El género *Aphytis* es un grupo cosmopolita y muy amplio de microhimenópteros que se caracterizan por tener un cuerpo robusto, de aproximadamente un milímetro de longitud, de color amarillento o grisáceo, e incluso algunas veces moteado, y que se desarrollan exclusivamente como ectoparasitoides primarios de diaspídidos. Destacan por su importancia en el control

de diaspíridos de cítricos en España las especies *A. melinus* DeBach sobre *A. aurantii*, *Ch. dictyospermi* y *Aspidiotus nerii* Bouché; *A. chrysomphali* (Mercet) sobre *Ch. dictyospermi*, *A. aurantii* y recientemente sobre *Chrysomphalus aonidum* (L.); *A. hispanicus* (Mercet) sobre *Parlatoria pergandii* Comstock y *Ch. dictyospermi*; *A. mytilaspidis* (Le Baron) sobre *Lepidosaphes ulmi* (L.); y *A. lepidosaphes* Compere sobre *Cornuaspis beckii* (Newman). Recientemente se ha liberado la especie *Aphytis lingnanensis* Compere en distintos puntos de la Península para mejorar el control de *A. aurantii*, si bien sólo parece haberse establecido en Castellón.



El género *Encarsia* parasita fundamentalmente la superfamilia Aleyrodoidea, aunque también puede actuar sobre algunos Coccoidea. La especie más importante es *E. formosa* Gahan. Este afelínido telitoco, se utiliza mundialmente para el control comercial de moscas blancas en invernaderos principalmente de tomate, pepino y fresa, aunque también de plantas ornamentales como gerbera, poinsettia y clavel de la india. De su amplio rango de hospedadores (15 especies de mosca blanca distribuidas en 8

géneros), destaca su capacidad para controlar a *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood). Este endoparasitoide es capaz de matar a través de la puesta y de las picaduras de alimentación destructivas. Parasita preferentemente el segundo y tercer estado ninfal de la mosca blanca, que adquiere una coloración negra-brillante característica. Su telitoquia está mediada por la presencia del endosimbionte *Wolbachia*. *Encarsia pergandiella* Howard, introducida en el Mediterráneo a principios de los 80, también parasita eficazmente a *T. vaporariorum* y a *Bemisia tabaci* (Gennadius). Sin embargo, cuando coexiste con *E. formosa* interfiere en el control de *T. vaporariorum* ejercido por la primera debido a la alimentación sobre mosca blanca previamente parasitada y a la producción de machos. Esta especie también puede competir con *Eretmocerus mundus* Mercet, si bien se desconoce el efecto de esta interacción en el control de la plaga.



Otras especies importantes de *Encarsia* presentes en España son *E. berlesei* (Howard) sobre *Pseudaulacaspis pentagona* (Targioni Tozzetti), *E. herndoni* (Girault) (= *elongata* Dozier) sobre *I. gloverii*, *E. citrina* (Craw) sobre *P. pergandii*, *E. lahorensis* (Howard) sobre *Dialeurodes citri* (Ashmead), *E. tricolor* Förster sobre *T. vaporariorum*, *E. sophia* (Girault y Dodd) (= *E. transvena* Timberlake) y *E. lutea* (Masi) sobre *B. tabaci* y las razas de *E.*

perniciosi (Tower) que parasitan a *A. aurantii* y a *Quadraspidiotus perniciosus* (Comstock).

Eretmocerus mundus es un parasitoide autóctono clave en el control de *B. tabaci*, tanto en plantas ornamentales como hortícolas. Las hembras ponen el huevo fuera del cuerpo del hospedador y tras la eclosión la larva se introduce en el cuerpo de la mosca blanca pasando a desarrollarse como endoparasitoide.



El afelínido *Cales noacki* Howard es un endoparasitoide específico de la mosca blanca algodonosa de los cítricos, *Aleurotrixus floccosus* Maskell. Esta especie fue introducida en los años 70, y desde entonces se ha convertido en un enemigo natural clave.

El último taxón a destacar en la familia Aphelinidae es el género *Aphelinus*, muy útil sobre los Aphidoidea.

Destaca la especie *Aphelinus abdominalis* (Dalman), endoparasitoide disponible comercialmente, que se utiliza principalmente contra el pulgón verde del tomate, *M. euphorbiae*, y contra *Aulacorthum solani*. En aquellas ocasiones que se requiere una acción inmediata se utiliza junto a *Aphidius ervi*. Se aplica sobre todo en cultivos de invernadero, como pimiento, tomate, berenjena, judía, gerbera, rosa, crisantemo, etc. Además de su acción parasitoide es capaz de matar a sus hospedadores a través de las picaduras alimenticias. Otra especie importante es *Aphelinus mali* (Haldeman), endoparasitoide del



pulgón lanígero de los manzanos, *Eriosoma lanigerum* (Hausman). Esta especie fue introducida por Jaime Nonell a principios de los años 30 en la provincia de Barcelona y actualmente está distribuida por todas las zonas donde se cultiva el manzano. Los pulgones parasitados por afelínidos presentan una coloración negruzca y no segregan ninguna sustancia algodonosa.

La familia **Eulophidae** está formada mayoritariamente por parasitoides primarios de larvas ocultas, especialmente minadoras. Las especies más conocidas atacan lepidópteros, pero también pueden parasitar las larvas de otros insectos que vivan en similares situaciones como los Agromyzidae, Tenthredinidae y Curculionidae. Algunos eulófidos pueden atacar insectos formadores de agallas, ácaros eriófidos, trips y hemípteros, además de no sólo parasitar larvas, sino también huevos y pupas. Por lo general exhiben un amplio rango de estilos de vida. En esta familia, y en concreto en las larvas de algunos géneros como *Chrysocharis* Forster o *Diglyphus* Walter, se observa una adaptación curiosa en la disposición de las heces



(meconios) en el momento de pupar: mediante la producción de excrementos, construye de 6 a 8 pilares verticales, de color negro, ya endurecidos, que mantienen separadas las paredes de la mina, formando lo que se denomina la cámara pupal, que protegerá a los siguientes estadios, evitan el colapso de la mina del hospedador y la planta cuando el tejido vegetal se deshidrata.

El tamaño de los eulófidos es muy variable (0,4-6 mm), al igual que el cuerpo, que puede ser rechoncho, alargado, robusto o aplanado dorsoventralmente. La coloración del cuerpo varía desde amarillenta a marrón con manchas que pueden ser metálicas, o bien todo el cuerpo de color negro o azul metálico. Las antenas, sin incluir los anillos, tienen de 7 a 9 artejos con un máximo de 4 artejos en el funículo, que puede estar ramificado en el caso del macho. El gáster presenta un pecíolo evidente, normalmente convexo.



Dentro de esta familia se encuentran un gran número de especies utilizadas en programas de control biológico, como *Diglyphus isaea* (Walker). Esta especie es un ectoparásitoide muy eficaz de larvas del díptero minador de hojas *Liriomyza trifolii* (Burgess), considerado mundialmente como una de las principales plagas de cultivos hortícolas y ornamentales, además de

parasitar a otros minadores del mismo género, como *L. huidobrensis* (Blanchard), *L. bryoniae* (Kaltenbach) y *L. strigata* (Meigen), en ocasiones junto con el también eulófido *Chrysonotomyia formosa* Westwood. Asimismo, *D. isaea* es capaz de matar a través de las picaduras alimenticias a más del doble de hospedadores que con la puesta. Algunas empresas comercializan esta especie en combinación con el braconido *Dacnusa sibirica* Telenga.



El minador de los cítricos, *P. citrella*, se ha visto sujeto al ataque de un gran número de eulófidos, tanto autóctonos como introducidos, cuya importancia en el

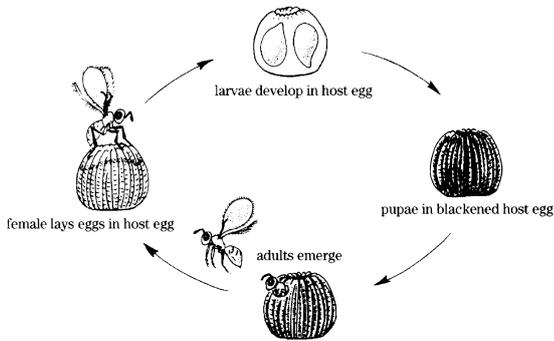
control de la plaga ha ido variando con el tiempo. Destaca la acción de los autóctonos *Cirrospilus brevis* Zhu, LaSalle y Huang, *Pnigalio pectinicornis* (L.), *Cirrospilus pictus* (Nees), *Cirrospilus vittatus* Walker, *Sympiesis gregori* Boucek y *Chrysocharis pentheus* (Walker), entre otros.



Entre los introducidos cabría citar a *Citrostichus phyllocnistoides* (Narayanan), *Cirrospilus ingenuus* Gahan, *Ouadrastichus* sp., *Semielacher petiolata* (Girault) y *Galeopsomyia fausta* LaSalle. De estos últimos se consiguió el establecimiento, dispersión e hibernación de tres espe-



cies en diferentes zonas: *Quadrastichus* sp. y *C. phyllocnistoides* en la Comunidad Valenciana, y *S. petiolata* en las Islas Baleares y Andalucía. No obstante, posteriormente se ha observado que *C. phyllocnistoides* ha llegado a colonizar prácticamente todas las zonas citricolas de la península Ibérica y de las Islas Baleares y se ha convertido en el parasitoide más abundante en todos los cultivos desplazando tanto a los parasitoides autóctonos como a los introducidos.



La familia **Trichogrammatidae** está formada por insectos minúsculos (de 0,3 a 1,2 mm de longitud, sin incluir el ovipositor), con el cuerpo rechoncho o alargado y la coloración variable desde amarilla o naranja a marrón oscura, pero nunca metálica. Las antenas tienen de 5 a 9 artejos, con 2 artejos como máximo en el funículo, a menudo en forma de anillo, y de 1 a 5 artejos en la maza. La antena

del macho normalmente exhibe espirales de largas sedas, mientras que en la hembra suelen ser sedas cortas. El tórax presenta un pronoto muy corto (en vista dorsal apenas visible detrás de la cabeza). Las alas suelen estar totalmente desarrolladas, si bien algunas veces pueden estar acortadas. Los tarsos presentan tres artejos. El gáster es sésil.



Se trata de endoparasitoides solitarios o gregarios de huevos de lepidópteros, hemípteros, coleópteros, tisanópteros, himenópteros, dípteros y neurópteros. No se conocen especies hiperparasitoides. Algunas especies prefieren los huevos de ciertos tipos de hospedadores mientras que otras prefieren ciertos hábitats y pueden parasitar cualquier huevo de insecto en ese ambiente. La pupación tiene lugar en el interior del huevo del hospedador, de manera que el adulto emerge practicando un orificio con las mandíbulas en el corión del huevo.



El género más importante es *Trichogramma* Westwood, con todas las especies parasitoides de huevos de insectos, principalmente de lepidópteros pero también de dípteros, coleópteros, neurópteros e himenópteros. Actualmente se emplean distintas especies de *Trichogramma* en la lucha contra lepidópteros plaga. Estas especies suelen funcionar

bien al aire libre, pero no tanto en invernaderos. En España se ha descrito a *T. evanescens* Westwood, *T. cordubensis* Vargas y Cabello, *T. pintoii* Voegelé, *T. urquijoi* Cabello-García y *T. sp. p. buesi* sobre el noctuido plaga *H. armigera*, si bien también se ha intentado introducir a *T. minutum* Riley y *T. pretiosum* Riley, sin



resultados claros. *Trichogramma cordubensis* se ha encontrado no sólo sobre *H. armigera*, sino también sobre *A. gamma* y *C. chalcites*. *Trichogramma evanescens* se ha utilizado contra *H. armigera* y *C. chalcites* en Cataluña y se ha citado sobre *L. botrana*. *Trichogramma brassicae* Bezdenko se ha descrito sobre *Ostrinia nubilalis* (Hübner). Algunas empresas de control biológico comercializan este último taxón para el control de otros lepidópteros plaga, como los pertenecientes a los géneros *Mamestra* Ochseneheimer, *Lacanobia* Billberg, *Chrysodeixis* Hübner y *Autographa* Hübner.

La familia **Myrmaridae** es la última familia de la superfamilia Chalcidoidea que cabría destacar. Son endoparasitoides solitarios (rara vez gregarios) de huevos de otros insectos. Los hospedadores más comunes son los huevos de hemípteros Auchenorrhyncha, pero los de otros hemípteros (especialmente Coccoidea, y menos frecuentemente Tingidae y Miridae) junto con los de coleópteros (principalmente Curculionidae y Dytiscidae), psocópteros y odonatos pueden ser también parasitados. Un ejemplo es *Anaphes nitens* (Girault), empleado para controlar al curculiónido conocido como gorgojo del eucalipto, *Gonipterus scutellatus* Gyllenhal, una plaga muy importante de eucaliptos en el sur de Europa, Sudáfrica, Nueva Zelanda y Sudamérica y que apareció en España, en la zona de Pontevedra, por primera vez en 1991 y en el año 2002 se localizaba en todo el norte de España, Portugal e Islas Canarias. Este mimárido se ha adaptado perfectamente (incluso aparece en zonas de nueva infestación de la plaga) y controla con éxito a *G. scutellatus*.

Otro género importante de esta familia es *Anagrus* Haliday. *Anagrus atomus* (L.) que se utiliza para controlar a los cicadélidos (mosquitos verdes) *Empoasca vitis* (Gothe) y *Jacobiasca Iybica* (Bergevin y Zanon), entre otros, en los cultivos de la vid en distintas zonas de Francia, Italia y Suiza, también puede parasitar cicadélidos presentes en maíz, remolacha y tomate. Esta especie, fue localizada por primera vez en 1989 en Navarra sobre el cicadélido del maíz *Zyginidia scutellaris* (Herrich-Schäffer), y posteriormente sobre *Asymmetrasca decedens* (Paoli) en frutales del interior de la provincia de Castellón.



Los mimáridos son insectos muy pequeños (0,35-1,8 mm), normalmente de coloración ocre con manchas más o menos oscuras, pero nunca de color metálico. Las antenas presentan de 8 a 13 artejos, rara vez menos. La antena del macho normalmente es larga y filamentosa, mientras que la de la hembra es moderadamente larga pero con una maza apical muy evidente. Las alas a menudo están reducidas, pero cuando están desarrolladas, las anteriores tienen la venación muy condensada. Las alas posteriores siempre están pecioladas (muy estrechas en su base). Ambos pares de alas se encuentran bordeados con finas sedas. Los tarsos tienen de 4 a 5 artejos.

Las otras dos superfamilias importantes dentro de la serie Parasitica son la

Proctotrupoidea y la Cynipoidea. Dentro de la **superfamilia Proctotrupoidea** destacan las familias Scelionidae, Diapriidae y Platygastriidae.

La familia **Scelionidae** contiene especies endoparasitoides de huevos de insectos y otros artrópodos. La mayoría son parasitoides solitarios primarios. Las hembras suelen practicar la foiesis: esperan sobre sus hospedadores hasta que realizan la puesta para a continuación parasitar los huevos recién puestos. Se trata de insectos de talla variable con las antenas geniculadas de 11 ó 12 artejos, y ocasionalmente menos. Las antenas de la hembra a menudo con los artejos distales expandidos para formar una maza prominente, mientras que las antenas del macho presentan frecuentemente el quinto, artejo especializado. El gáster está fuertemente esclerotizado, deprimido, de bordes agudos o aquillados, y generalmente con 6 o menos terguitos visibles. El ovipositor en reposo está oculto.



En la subfamilia **Telenominae** se encuentran dos géneros utilizados ampliamente en control biológico: *Telenomus* Haliday, asociado con lepidópteros y *Trissolcus* Ashmead, asociado con heterópteros (chinchas). Entre las especies de *Telenomus* descritas en España hay que citar, entre otras, a *T. ullyetti* (Nixon) sobre *H. armigera*, a *T. pinnatus* Kozlov y Kononova

sobre el defoliador *E. chrysorrhoea* y a *T. acrobates* Giard sobre huevos de crisópidos. Dentro del género *Trissolcus*, la especie clave es *T. basalis* (Wollaston), principal endoparasitoide de huevos del chinche *N. viridula*, aunque también puede atacar a otros pentatómidos.

La familia **Diapriidae** contiene endoparasitoides que se desarrollan en las pupas de dípteros dentro del pupario. La mayoría son gregarios llegando a emerger de 30 a 50 individuos del interior de un pupario. Principalmente parasitan dípteros pertenecientes a las familias Chloropidae, Muscidae, Tachinidae, Calliphoridae, Sarcophagidae y Tephritidae.



La familia **Platygastriidae** está formada por especies endoparasitoides principalmente de dípteros, y particularmente de los formadores de agallas (Cecidomyiidae). No obstante, algunas especies son importantes parasitoides de pseudocóccidos (género *Allotropa* Foerster), de huevos de curculiónidos y crisomélidos (género *Fidiobia* Ashmead), y de moscas

blancas (género *Amitus* Haldeman). En relación a este último taxón destaca la especie *A. spiniferus* (Brethes), endoparasitoide que completa la acción del afelínido *C. noacki* en el control de la mosca blanca *A. floccosus*.

La **superfamilia Cynipoidea** contiene especies fitófagas formadoras de agallas y especies parasitoides. La mayoría de los cinipoideos parasitoides son endoparasitoides primarios que se desarrollan en las larvas de insectos holometábolos, si bien la familia **Charipidae** tiene individuos que se comportan como hiperparasitoides de calcidoideos y de braconidos afidiinos. Los cinipoideos rara vez se han utilizado en programas de control biológico, probablemente debido a que no se suelen encontrar sobre plagas importantes.



La familia **Eucilidae** está formada por endoparasitoides de un amplio rango de larvas de dípteros Schizophora. Algunos son de importancia económica al parasitar plagas de dípteros fitófagos como agromícidos, clorópidos, antomíidos y drosofilidos, aunque también pueden atacar lepidópteros y coleópteros y, con menor frecuencia, insectos de otros órdenes. La especie *Rhoptromeris heptoma* (= *eucera*) (Hartig) es un parasitoides común del clorópido *Oscinella frit* (L.), especie presente en España que se asocia a gramíneas silvestres y cultivadas y que puede ocasionar importantes pérdidas en los cereales. Sin embargo, al menos en Cataluña, *R. heptoma* no parece estar vinculada a este díptero clorópido.

En la división de los **Aculeata** cabe destacar dos superfamilias constituidas por especies con hábitos parasitoides: la superfamilia Chrysoidea y la superfamilia Vespoidea. La **superfamilia Chrysoidea** está formada por tres grandes familias, Dryinidae, Bethyidae y Chrysididae, y otras cuatro minoritarias. Las larvas de la familia **Dryinidae** son ectoparasitoides y endoparasitoides de ninfas, y algunas veces de adultos, de hemípteros auquenorrincos, pertenecientes a las superfamilias Cicadelloidea y Fulgoroidea, aunque también pueden atacar a las larvas de coleópteros, lepidópteros o incluso áfidos. Las hembras adultas pueden depredar las ninfas de dichos hemípteros, sin realizar la puesta, y alimentarse de su melaza. Los **Bethyidae** se desarrollan como ectoparasitoides gregarios de larvas de lepidópteros y coleópteros barrenadores. Algunas especies pertenecientes al género *Goniozus* Foerster se han utilizado contra los taladros de cereales y de la caña azucarera pero sin éxito. La familia **Chrysididae** contiene especies con hábitos ectoparasitoides y cleptoparasitoides. Sus hospedadores pueden ser himenópteros aculeata de las familias Eumenidae, Sphecidae y Apidae, himenópteros tentredínidos (suborden Symphyta) o incluso ninfas de hemípteros ligeidos.

La **superfamilia Vespoidea** se considera un taxón parafilético. Las familias más importantes son Tiphidae, Mutillidae, Scoliidae y Pompilidae. La familia **Tiphidae** está formada por avispas solitarias cuyas larvas son ectoparasitoides de larvas de coleópteros, especialmente de la superfamilia Scarabaeoidea. Algunos de estos coleópteros se consideran plaga por lo que estas avispas resultan beneficiosas. La familia **Mutillidae** comprende ectoparasitoides idiobiontes, principalmente de larvas o pupas de otros himenópteros solitarios, si bien también se han observado sobre dípteros, coleópteros, lepidópteros e incluso sobre himenópteros sociales. Los **Scoliidae** son ectoparasitoides de coleópteros escarabeidos, principalmente. Las

larvas actúan como importantes agentes de control al alimentarse de las larvas que se encuentran en el suelo, incluyendo algunas plagas importantes como el escarabajo japonés, *Popillia japonica* Newman. Además, los adultos son polinizadores: Finalmente, la familia **Pompilidae** está formada por especies ectoparasitoides solitarias de arácnidos aunque también pueden actuar como cleptoparasitoides de otros pompílidos.

Orden Diptera

El segundo grupo de parasitoides más importante pertenece al orden Diptera, se estiman que los parasitoides en este orden están en torno a las 16.000 especies y que este número supone el 20% del número total de especies con este estilo de vida. La reagrupación taxonómica de los dípteros está sujeta a controversia.

Dentro del suborden Brachycera Cyclorrhapha, la sección Schizophora Calyptratae contiene el mayor número de especies parasitoides, y dentro de ésta, la familia Tachinidae es la más importante y está compuesta exclusivamente por especies parasitoides. Los taquínidos parasitan principalmente orugas de lepidópteros y coleópteros en fase adulta o larvaria, si bien otros se han especializado en heterópteros, ortópteros, dermápteros y dípteros, e incluso alguna especie puede atacar a quilópodos (Myriapoda).

Los taquínidos pueden variar en color, tamaño y forma, pero la mayoría se asemejan a las moscas comunes, de tono normalmente gris, negro o bandedo y con abundantes cerdas; y se separan del resto del grupo por la presencia de un subescutelo bien desarrollado, convexo visto de perfil, por la escama o caliptra bien desarrollada que llega a ocultar los balancines y por la existencia de una fila de cerdas en la hipopleura. Se puede considerar, casi sin excepción,



que los taquínidos son endoparasitoides solitarios (en el caso de poner más de un huevo, sólo uno llegará a eclosionar) y que no se conocen especies hiperparasitoides. Algunas especies son ovovivíparas mientras que otras son larvíparas. En ambos casos, los adultos pueden realizar la puesta sobre las plantas que van a consumir los hospedadores, adherir los huevos al cuerpo del hospedador de manera que son las larvas las que penetrarán en su interior, o bien introducirlos directamente en el interior del cuerpo a través de lesiones practicadas con las estructuras abdominales modificadas para conseguir ese efecto. Por lo general, el hospedador no muere hasta que el desarrollo del parasitoide ha finalizado de manera que cuando el adulto emerge ya ha consumido el cuerpo. El adulto suele alimentarse de néctar.



En España, se estima que existe un total de 514 especies de taquínidos. Destaca, entre otros

taxones, *Trichopoda pennipes* (F.), parasitoide introducido casualmente desde Italia y



que fue detectado inicialmente en Gerona en 1998 y posteriormente en Náquera (Valencia) en 2005, sobre el chinche *Nezara viridula*, hecho que confirma su establecimiento y dispersión. Esta especie es un parasitoide de ninfas y adultos de Pentatomidae, Coreidae, Pyrrhocoridae y Alydidae, y se emplea profusamente en Norteamérica para el control biológico de *N. viridula* y *Anasa tristis* (DeGeer). Se caracteriza por presentar un abdomen de color naranja

brillante y una cabeza y tórax de color negro aterciopelado con una franja de cerdas cortas negras en las patas posteriores. La hembra adhiere los huevos en el cuerpo del adulto o de estados ninfales tardíos, de manera que las larvas recién emergidas perforan el cuerpo del hospedador y se alimentan de los fluidos durante dos semanas. La larva de tercer estado emerge a través de los terguitos abdominales posteriores pupando en el suelo. La ninfa o el adulto de *N. viridula* muere tras la emergencia de la mosca, no por la alimentación del parasitoide, sino por el daño mecánico sufrido.



Lydella thompsoni Herting es el parasitoide más abundante de las orugas barrenadoras del maíz, *O. nubilalis* y *Sesamia nonagrioides* (Lefebvre), en Pontevedra y Cataluña. En Portugal también se ha localizado sobre *S. nonagrioides*. *Lydella thompsoni* hiberna como larva en las orugas en diapausa de los taladros, si bien las larvas del parasitoide no están en verdadera diapausa. Por este motivo, los adultos de la

primera generación aparecen antes que los de sus hospedadores, y requieren un hospedador primaveral para desarrollarse, que en Cataluña es el lepidóptero noctuido *Archanara geminipuncta* (Haworth), barrenador de *Phragmites comunis* (Cav.) Trinius ex Steud. llegando a parasitar en primavera hasta un 60% de las orugas del noctuido.

El taquínido *Leskia aurea* (Fallén) está considerado como especie a proteger según la norma técnica para la producción integrada de frutos de pepita de Cataluña. Esta especie ataca al sésido del manzano, *Synanthedon myopaeformis* (Borkhausen). El adulto se puede encontrar en las plantaciones de manzano sobre las hojas más expuestas al sol. Las hembras ponen los huevos próximos a las ranuras o grietas de la corteza desde donde las larvas localizan al lepidóptero y se desarrollan en su interior hasta pupar, aliado del resto del sésido. En parcelas de control integrado de la zona frutícola de Lleida se han alcanzado niveles de parasitismo del sésido del 25%.



Compsilura concinnata (Meigen) es un ejemplo de taquínido generalista capaz

de parasitar hasta 200 especies distribuidas en 25 familias pertenecientes a" cuatro órdenes distintos [Lepidoptera, Hymenoptera (Symphyta), Coleoptera (Curculionidae) y Dermaptera], destacando las familias del orden Lepidoptera, Pyraliidae, Oecophoridae y Noctuidae con especies plaga como *L. dispar*, *Trichoplusia ni* (Hübner), *Heliothis* spp., *E. chrysorrhoea* o *Pieris rapae* (L.), y la especie de dermáptero, común en nuestra zona, *Forficula auricularia* L. En España, ha sido citada como parasitoide de orugas o crisálidas de la procesionaria del pino, *T. pityocampa*, junto al también taquíni-do *Phryxe caudata* (Rondani). Sin embargo, la presencia y papel de este taquíni-do en el control de plagas debe tratarse con mucha cautela debido justamente a su elevada polifagia. Esta especie puede atacar a especies no diana, en muchos casos



protegidas, y se ha llegado a considerar como un notable ejemplo de mal control biológico. En España se ha descrito sobre el papiliónido *Iphioides podalirius feisthamelii* (Duponchel) y se sabe que puede atacar a la mariposa isabelina *Actias (=Graellsia) isabellbe* (Graells), especie incluida dentro del Catálogo Nacional de Especies Amenazadas de España.



Exorista larvarum (L.) es un parasitoide larvario polífago y gregario de *L. dispar* y de otros lepidópteros defoliadores como *T. pityocampa*. En España también se ha descrito sobre el lepidóptero ninfálico *Melitaea didyma* (Esper), y en las Azores sobre *Mythimna (=Pseudaletia) unipuncta* (Haworth). *Exorista segregara* (Rondani) aparece sobre *Melitaea deione* (Geyer). *Exorista sorbillans* (Wiedemann) está presente en Francia e Italia sobre el gusano de la seda *Bombyx mori* L., y está descrita en España sobre la esfinge del chopo, *Laothoe populi* ssp. *iberica* (L.).

Otras especies de taquíni-dos importantes descritas sobre plagas en España son *Meigenia mutabilis* (Fallén) en poblaciones de la cuca de la alfalfa, *Colaspidema barbarum (=C. atrum)* (F.); *Nemorilla floralis* (Fallén), *Phytomyptera nigrina (=nitidiventris)* (Meigen) y *Eurysthaea scutellaris (=Discochaeta hyponomeutae)* (Robineau-Desvoidy) sobre la polilla de la vid, *L. botrana*; y *Actia resinellae* (Schrank) (=nudibasis Stein) y *Phytomyptera nigrina* Meigen, sobre las orugas de la polilla europea del brote del



pino, *Rhyacionia buoliana* (Denis y Schiffermüller).

Dentro de la misma subsección, la familia Sarcophagidae es la segunda en importancia numérica. La mayoría de sus individuos se desarrollan en carne muerta fresca o en descomposición, pero sin embargo también se han aislado parasitando a ortópteros, coleópteros, lepidópteros, arácnidos, moluscos, caracoles terrestres y lombrices de tierra.



Dentro de los Schizophora Acalyptratae, la familia Conopidae es la primera en importancia numérica y es exclusivamente parasitoide de abejas adultas y avispas. La puesta suele tener lugar en vuelo, insertando el huevo en el abdomen del hospedador con una especie de ovipositor modificado.

La familia Cryptochetidae, a pesar de su reducida relevancia numérica, destaca porque todas las especies cuya biología se conoce son endoparasitoides de cóccidos de la familia Margarodidae, y en concreto de la subfamilia Monophlebinae, considerados frecuentemente como especies plaga. Se trata de pequeños dípteros cuyo aspecto recuerda el de algunos encírtidos que atacan a cochinillas. Las especies más importantes dentro de esta familia, *Cryptochetum* (= *Lestophonus*) *iceryae* Williston y *Cryptochetum* (= *Lestophonus*) *monophlebi* Skuse, han sido utilizadas en programas de lucha biológica contra la cochinilla acanalada, *Icerya purchasi* Maskell, y la cochinilla *Monophlebus crawfordi* (Maskell). *Cryptochetum iceryae* es la única especie de díptero que se tiene constancia que ha sido introducida en España para mejorar el control biológico de una plaga, en este caso de *I. purchasi*. Esta especie fue liberada por primera vez en Moncada (Valencia) en 1998, desde Australia, para controlar a la cochinilla acanalada presente en plantas de *Pittosporum tobira* (Thunb.) y *Spartium junceum* L. Sin embargo, muestreos posteriores confirmaron que esta especie no se había establecido. El adulto de *Cryptochetum* es de color negro azulado o verde hasta negro, de aproximadamente 2 mm de longitud y con las alas cortas, redondeadas y grisáceas. La hembra pone desde un huevo en cochinillas de pequeño tamaño hasta una docena o más en grandes hospedadores. La larva normalmente pupa en el interior del hospedador. La pupa es de color negro y expone fuera del cuerpo del hospedador dos pequeños y estrechos tubos, los espiráculos, que constituye el rasgo o la pista más segura de que la cochinilla ha sido parasitada por este díptero. La cría y



manejo de este díptero es realmente complicada, a diferencia del fácil establecimiento y manejo que presenta el coccinélido depredador *Rodolia cardinalis* (Mulsant) en el

control de *I. purchasi*, lo que dificulta su empleo en el control biológico de la cochinilla. En España, dentro de esta familia, se ha descrito a *Cryptochetum jorgepastori* Cadahía y *Cryptochetum buccatum* Hendel, que junto al coccinélido *Novius cruentatus* (Mulsant), mantienen en equilibrio las poblaciones de *Palaeococcus fuscipennis* (Burmeister), sobre *Pinus pinea* L. en Huelva.

Dentro de la sección Aschiza, la familia Pipunculidae está formada por endoparasitoides solitarios de hemípteros Cicadellidae, Cercophidae y Delphacidae, principalmente. Los hospedadores parasitados (**Pipunculidae**) a menudo tienen una genitalia aberrante y las gónadas deformadas. Los huevos de las hembras parasitadas nunca llegan a madurar.

En la superfamilia **Asiloidea**, la familia **Bombyliidae** es la única con representantes parasitoides. Los adultos son de tamaño intermedio, normalmente con densas cerdas y áreas oscurecidas en las alas que les confieren un aspecto de abejorro, y con frecuencia con una larga probóscide sobresaliente. Tienen una distribución cosmopolita, estando presentes tanto en regiones áridas y semiáridas como en zonas húmedas con vegetación. Los bombílidos ejercen una acción parasitoide sobre larvas y pupas de coleópteros, dípteros, himenópteros, lepidópteros y neurópteros; y depredadora sobre puestas de ortópteros. Al ser generalistas, su papel en el control biológico de plagas es objeto de debate.



En Gran Bretaña, la especie más común y de mayor tamaño es *Bombylius major* L., cuyas larvas son parasitoides de abejas solitarias (ASKEW, 1971). Esta especie también está presente en España, junto a otras especies de *Bombylius*, como *B. ater* Scopoli y *B. nubilis* Mikan. Otros géneros pertenecientes a esta familia, y con cierta relevancia en el control de plagas, son *Anthrax* Scopoli, parasitoide de orugas y crisálidas de noctuidos, himenópteros aculeados y huevos de ortópteros, y *Systoechus* Loew, parasitoide de las puestas de saltamontes de los géneros *Oedipoda* Latreille y

Dociostaurus (= *Stauronotus*) Fiebre (langostas). Algunas especies de estos géneros se encuentran representadas en España.

En el suborden Nematocera se encuentra la familia Cecidomyiidae, que incluye dípteros de aspecto frágil con largas antenas moniliformes y alas con poca venación longitudinal, en su inmensa mayoría no ramificada, y sin venación transversal obvia. La mayoría de los cecidómidos son especies fitófagas. No obstante, también hay especies saprófagas y zoófagas. Entre estas últimas tan sólo unas pocas especies, pertenecientes principalmente al género *Endaphis* Kieffer, se pueden considerar parasitoides, ya que la mayoría de cecidómidos zoófagos son depredadores de homópteros, dípteros y ácaros como la especie *Aphidoletes aphidimyza* (Rondani).

ALGUNAS ESPECIES DE PARASITOIDES COMERCIALIZADAS		
Familia	Especie	Plagas control
Afelínido	<i>Aphelinus abdominalis</i>	Pulgones
Afelínido	<i>Encarsia formosa</i>	Mosca blanca
Afelínido	<i>Eretmocerus californicus</i>	Mosca blanca
Bracónido	<i>Aphidius colemani</i>	Pulgones
Bracónido	<i>Aphidius ervi</i>	Pulgones
Bracónido	<i>Dacnusa sibirica</i>	Liriomizas
Bracónido	<i>Opius concolor</i>	Mosca del olivo
Encírtido	<i>Leptomastix dactilopii</i>	Cotonet
Eulófido	<i>Diglyphus isaea</i>	Liriomizas
Tricograma	<i>Trichogramma evanescens</i>	Lepidópteros

Orden Coleoptera

A pesar del número tan elevado de especies dentro del orden Coleoptera, tan sólo un pequeño número de familias contiene especies parasitoides. La morfología corporal de los coleópteros implica que existan diferencias en la forma de parasitar con respecto a otros órdenes: los coleópteros carecen de la capacidad de maniobra en vuelo típica de himenópteros y dípteros. Al igual que tampoco poseen un verdadero ovipositor teniendo que recurrir al rostro para introducir la puesta en el interior de los tejidos vegetales. Ello conlleva que un gran número de coleópteros con hábitos parasitoides presenten un tipo de metamorfosis completa que se denomina hipermetamorfosis, en el que las larvas de distintos estados presentan formas y funciones distintas. Este tipo de desarrollo no es exclusivo de los coleópteros, ya que también se ha descrito dentro de algunas familias de dípteros, himenópteros, neurópteros y strepsípteros. Las larvas de primer estado pueden ser de tipo planidio, generalmente aplanadas, altamente esclerotizadas y con largas sedas torácicas o caudales que utilizan para su locomoción (típicas de primeros estados larvarios activos de dípteros e himenópteros); o de tipo triangulino, las cuales presentan patas torácicas, con tres uñas en cada pata, típicas de coleópteros, neurópteros y strepsípteros. Estas larvas pueden esperar pasivamente a que pase el hospedador o realizar una búsqueda activa para a continuación mudar tan pronto como entran, o retrasar su desarrollo y acompasarlo con el del hospedador. Las mudas sucesivas implicarán una pérdida de ojos, patas y esclerotización.



En la familia Carabidae, aproximadamente 500 especies exhiben hábitos parasitoides. La mayoría son ectoparasitoides de insectos que viven en el suelo. Dentro de este grupo destaca el género *Lebia* Latreille. El adulto de *L. grandis* Hentz se alimenta de huevos y larvas del

escarabajo de la patata *Leptinotarsa decemlineata* (Say), mientras que el primer estado larvario es parasitoide obligado de larvas a punto de pupar y de pupas del crisomélido. Esta especie se considera muy importante en Norteamérica, de donde es originaria. En España se han citado otras especies del género *Lebia*. Dentro del género *Brachinus* Weber también hay algunas especies ectoparasitoides de pupas de coleópteros.



Dentro de la familia Staphylinidae, la subfamilia *Aleocharinae* contiene alguna especie ectoparasitoide de pupas de dípteros dentro del pupario. Por lo general, la hembra realiza la puesta del huevo en el suelo y son las larvas las que buscan al hospedador, practican un orificio en la pupa, y desde dentro se alimentan de él. Los orificios efectuados en el pupario los tapan mediante secreciones anales para prevenir la deshidratación y la entrada de una segunda larva y/o microorganismos. El estafilínido parasitoide más estudiado es *Aleochara bilineata* Gyllenyal, que juega un papel importante en el control de algunas plagas de dípteros como *Delia* spp. El adulto se comporta como depredador, mientras que su larva actúa como parasitoide de pupas al utilizar un único hospedador para su desarrollo. Se trata de uno de los pocos géneros de coleópteros, con características de depredador y parasitoide que se ha intentado utilizar en el control de plagas.

Las familias Ripiphoridae y Meloidae contienen especies que son parasitoides de larvas de abejas y avispas, aunque algunos ripifóridos pueden atacar a cucarachas y a coleópteros y algunos meloides a huevos de saltamontes y de langostas. No obstante, su papel en control biológico de plagas se considera irrelevante.

La familia Rhipiceridae tiene tan sólo media docena de géneros. El género *Sandalus* Knoch está presente en Norteamérica y Sudamérica, China, Japón, India, el sur de Asia y África. Algunas especies de este género parasitan las ninfas de los cicadélidos en el suelo. La hembra de *Sandalus niger* Knoch pone los huevos en los huecos de la corteza, y la larva de primer estado triungulina se fija a las ninfas de los cicadélidos antes de que penetren en el suelo transformándose así en ectoparasitoide. Es probable que otros Rhipiceridae sean también parasitoides de cicadélidos pero no ha sido documentado.

Orden Strepsiptera

La posición taxonómica de los estrepsípteros o estilópodos sigue constituyendo un enigma para los taxónomos. Los estrepsípteros son parásitos-parasitoides obligados de insectos con un rango de hospedadores que abarca 34 familias distribuidas en 7 órdenes de los que destacan himenópteros (Apoidea, Vespoidea, Sphecoidea), hemípteros (familias Cicadellidae, Cercopidae y Pentatomidae, entre otras), dípteros y ortópteros. Miembros del suborden Mengenillidia pueden incluso parasitar a tisanuros. El empleo de los estrepsípteros en el control biológico de plagas es muy reciente. La dificultad en su recolección, manejo y cría explica que rara vez se

haya intentado realizar su introducción para controlar una plaga determinada. Sin embargo, recientemente, se ha observado que algunos de los hospedadores de los estrepsípteros son plagas en cultivos de coco, maíz, mango, palma aceitera, palma de betel, arroz... Hasta el extremo de que se han hecho sueltas con éxito de la hembra de *Stichotrema dallatorreanum* Hofeneder, como agente de control del ortóptero Tettigoniidae *Segestidea novaeguineae* (Brancsik) que defolia la palma aceitera en Papúa Nueva Guinea, y se está estudiando el posible uso del macho de *Caenocholax fenyasi* Pierce como agente de control de *Solenopsis invicta* Buren en el sur de Estados Unidos. Los estrepsípteros se pueden encontrar sobre otras plagas importantes como el hemíptero *Antestia* sp. o el díptero *Dacus* sp. o incluso sobre cicadélidos vectores de virus patogénicos.

En España, las especies citadas pertenecen a la familia Mengenillidae y se encuentran sobre tisanuros. Se trata de *Eoxenos laboulbenei* De Peyerimhoff sobre *Lepisma aurea* Dufour, *Lepisma wasmanni* Monjez y *Lepisma crassipes* Escherich; *Mengenilla chobauti* Hofeneder sobre *Ctenolepisma ciliata ciliata* Dufour, y *Lychnocolax hispanicus* Kathirithamby y Kifune, del cual se desconoce el hospedador.

Orden Neuroptera

El orden Neuroptera contiene especies que son fundamentalmente depredadoras tanto en el estado adulto como en el de larva. Sin embargo, en la familia Mantispidae se pueden encontrar larvas que son parasitoides dentro de los ovisacos de arañas. Los adultos realizan la puesta de los huevos sobre la superficie de troncos o vegetación y el primer estado larvario es el que lleva a cabo la búsqueda de los ovisacos de arañas de las familias Gnaphosidae, Clubionidae, Thomisidae, Lycosidae y Pisauridae.

Orden Lepidoptera

Los lepidópteros se consideran fundamentalmente fitófagos. No obstante, algunas orugas son depredadoras de cochinillas y de otros hemípteros, y otras, como las pertenecientes a la familia Epipyropidae, son ectoparasitoides de hemípteros pertenecientes a la familia Fulgoridae que pueden causar daños en cosechas además de ser vectores de virus, bacterias o fitoplasmas.

Orden Trichoptera

El descubrimiento de especies parasitoides dentro del orden Trichoptera es muy reciente. El parasitismo dentro de este orden parece estar ceñido al género *Orthotrichia*, aunque hasta la fecha carece de interés agrícola.

DEFINICIONES

Parasitoide Se define un parasitoide, por el hábitat alimenticio de su larva. La larva se alimenta exclusivamente sobre el cuerpo de otro artrópodo, su huésped, matándolo. Solamente se requiere un huésped para completar el desarrollo, y a menudo un cierto número de parasitoides puede desarrollarse del mismo huésped (gregarismo). Las diferencias respecto a depredador y parásito, son que el depredador se puede alimentar de varios huéspedes produciéndoles a todos la muerte, y parásito se alimenta de un solo huésped, pero no le produce la muerte. Por tanto, en muchos aspectos un parasitoide se encontraría entre un depredador y un parásito. Como depredador porque siempre le produce la muerte a su huésped, y como parásito, porque solamente se alimenta de un huésped. Los estados evolutivos de un parasitoide son: huevo, larva, pupa y adulto, en otras palabras los parasitoides pertenecen al grupo de holometábolos.

Tipos de Parasitoides

Los parasitoides se clasifican de muchas maneras, especialmente por el hábito de sus larvas. De acuerdo al estado del hospedero que atacan, hay parasitoides de huevos, de larvas, de pupas o de adultos, cuando sus hospederos son holometábolos. Cuando atacan hemimetábolos los parasitoides son de huevos o de ninfas. Como veremos mas adelante, algunos parasitoides pueden pasar de un estado de desarrollo al siguiente, entonces hay parasitoides de huevo-larva o de larva-pupa. Los parasitoides pueden ser **ENDOPARASITOIDES** cuando la larva del parasitoide se alimenta y desarrolla en el interior del cuerpo del huésped o **ECTOPARASITOIDES** cuando se desarrollan externamente sobre el cuerpo de la victima. Cuando un sólo individuo se desarrolla en un hospedero el parasitoide es **SOLITARIO**. Cuando más de uno se desarrolla en un solo hospedero el parasitoide es **GREGARIO**, en este caso se pueden desarrollar desde 2 hasta varios miles de individuos dentro del mismo hospedero. Esta terminología permite combinaciones tales como "endoparasitoide solitario"

Superparasitismo

Cuando las hembras de la misma especie de parasitoide ponen más de un huevo en el mismo hospedero, se produce **SUPERPARASITISMO**. En estos parasitoides se presentan larvas de primer instar móviles y agresivas que tienen mandíbulas bien desarrolladas. ¿Por qué?

Multiparasitismo

Cuando una hembra de una segunda especie oviposita en un hospedero que ya estaba previamente parasitado por una primera especie, pueden suceder dos cosas: si la progenie de la segunda especie compite con las larvas residentes de la primera especie por los recursos que proporciona el hospedero, se produce **MULTIPARASITISMO** y eventualmente las dos especies se desarrollan dentro del mismo hospedero.

Hiperparasitismo

Si la hembra de la segunda especie va en busca de la larva residente de la primera especie, esto equivale a ser un parasitoide de otro parasitoide lo que se conoce como **HIPERPARASITISMO**. Los hiperparasitoides también se conocen como parasitoides secundarios. Hay casos de parasitoides terciarios. Los hiperparasitoides pueden atacar sus hospederos de dos formas. Ovipositar antes que llegue el parasitoide primario y "esperar" a que este sea parasitado para atacar su hospedero parasitoide. Actúa como parasitoide, y cuando se ve en la necesidad como hiperparasitoide.. En este caso se denominan **HIPERPARASITOIDES FACULTATIVOS**. Cuando los hiperparasitoides sólo se pueden desarrollar como parasitoides de parasitoides, y deben encontrar un hospedero que ya esté parasitado se denominan **HIPERPARASITOIDES OBLIGATORIOS**. Necesita obligatoriamente desarrollarse a expensas de un parasitoide.

Cleptoparasitismo

Un cleptoparasitoide obligatoriamente requiere la presencia de otra especie de parasitoide, pero no se alimenta de este sino que utiliza recursos del primero en su propio beneficio. Por ejemplo: los parasitoides de larvas barrenadoras de madera que carecen de ovipositor largo y fuerte para perforar el tronco, esperan que otro parasitoide, que sí tiene la adaptación del ovipositor, perfore y se "aprovechan" de este comportamiento para "robar" la perforación del anterior y ovipositar en su hospedero dentro del tunel en el tronco.

Koinobiontes

Aquellos parasitoides que permiten que el hospedero continúe su crecimiento después de haber sido parasitado. Esto ocurre con frecuencia en parasitoides que permiten el paso de un estadio del hospedante al otro, como aquellos que son parasitoides de huevo-larva y larva-pupa. En muchos casos los koinobiontes no paralizan el hospedero durante la oviposición. Muchos koinobiontes pueden suspender el desarrollo durante su estado larval o pueden no alimentarse de órganos vitales del hospedero para lograr completar su desarrollo. En lo momento de realizarse la puesta la hembra del parasitoide no mata al huésped, y es la larva quien le produce la muerte.

Idiobiontes

Parasitoides que solo disponen de los recursos del hospedero al momento de la oviposición, para completar su desarrollo. Estos no tienen la oportunidad de que el hospedero continúe su crecimiento después del parasitismo: son típicamente parasitoides de huevos, de pupas o de adultos y no pasan de un estado al siguiente. Estos parasitoides en muchos casos paralizan la presa durante la oviposición. En lo momento de realizarse la puesta la hembra del parasitoide mata al huésped.

Otras categorías de parasitoides incluyen:

Poliembriónicos Cuando la hembra parasitoide pone uno o dos huevos en el hospedero y este huevo presenta división asexual (poliembriónía) lo que conduce a producir hasta varios miles de individuos del parasitoide.

Heteronómicos Las hembras de estos parasitoides se desarrollan en una especie de hospedero y los machos en otra. En otros casos los machos son hiperparásitos de las hembras de su propia o de otras especies.

HONGOS ENTOMOPATÓGENO

Introducción

Los diversos tipos de asociación establecidos en el transcurso de la evolución entre los insectos y los hongos han sido objeto de interés desde antiguo tanto para naturalistas como para científicos. Los insectos se valen de los hongos para procurarse nutrientes bien como alimento directo (micofagia) bien por asociación mutualista en condición de ectosimbiosis o en la de endosimbiosis. Por otro lado, los hongos utilizan a los insectos como vehículo para dispersión en el tiempo y en el espacio (epifitias) e incluso para su propia multiplicación y crecimiento en asociación de índole ecto o endoparasitaria, sin olvidar el importante papel que juegan en la naturaleza los hongos saprofíticos en la desintegración final de insectos muertos por causas naturales.

El estudio minucioso de estas interacciones desde el punto de vista agroforestal tiene dos objetivos claros, detener la transmisión de enfermedades fúngicas a las plantas, y aprovechar el potencial que muestran muchas especies para el control biológico de las plagas de insectos.

Los hongos parásitos que viven a expensas de los insectos

Las asociaciones tróficas entre dos seres vivos dispares pueden ser de beneficio mutuo o por el contrario suponer un desigual balance para ambos componentes, uno, el parásito, será completamente beneficiado mientras que el otro, el hospedante, exhibe perjuicios en grado variable, que en algunos casos pueden llegar a ser letales. Entre los hongos entomógenos (del griego: έντομος = cortado; γένος ονς = dar origen, nacimiento) que crecen y se desarrollan a expensas de los insectos, algunos entran en la categoría de simbioses, pero un considerable número en la de parásitos, facultativos u obligados, ajustados a dos modalidades: la de hongos biotrofos y la de necrotrofos.

Hongos parásitos biotrofos

Estos hongos pertenecen a los Laboulbeniomycetes, son ectoparásitos sobre insectos cuya infección rara vez produce síntomas, requieren hospedantes vivos y los de mayor éxito de entre ellos no matan en absoluto a su hospedante. El carácter de patógenos obligados y los complicados ciclos de vida no han permitido su cultivo en laboratorio.

Hongos parásitos necrotrofos

Los hongos necrotrofos, o necrotróficos, originan síntomas externos de enfermedad, son endoparásitos que invaden el hemocele de los insectos hospedantes, crecen sobre células y tejidos muertos y al final de los cadáveres emergen conidióforos productores de esporas, esclerocios u otras estructuras reproductoras. Estos hongos reciben el nombre de entomopatógenos y, a la luz de las características

señaladas, se consideran de gran potencial para control biológico.

La manifestación externa de las estructuras fúngicas sobre los cadáveres de los insectos facilitó el temprano reconocimiento de estas enfermedades. Así, en 1726 Réamur deja constancia gráfica de la presencia de un *Cordyceps* en una larva de noctuido, también el español Fray Joseph Torrubia (1698-1761) en su **Aparato para la historia natural española** (1754) muestra sobre avispas una micosis de similares características hallada por él en La Habana en 1749. Las especies de hongos entomopatógenos (HE), en número ligeramente superior a 700, de 85 géneros, originan micosis en insectos tanto en hábitat aéreo, epigeo o hipogeo, como acuático. A ellas se une un reducido número de especies de Oomycota entomopatógenos que sólo aparecen en medio acuático, en especial *Lagenidium giganteum* Couch.

El descubrimiento del carácter infeccioso del “mal del segno” o “calcino” del gusano de seda, por Agostino Bassi en 1834, cuyo agente causal, *Botrytis bassiana* Balsamo 1835, ahora *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin 1912, se transmitía de gusanos enfermos a sanos por inoculación, contacto o contaminación del alimento, le llevó a sugerir la posibilidad de su empleo para el control de plagas de insectos en agricultura. Este descubrimiento supone el despegue científico de la Patología de Insectos que abocará en un aspecto aplicado de indudable repercusión: el control microbiano de plagas de insectos. La iniciación de esta práctica por Metchnikoff en 1878 con un preparado de conidias del hongo *Entomophthora anisopliae*, luego *Isaria destructor*, y ahora *Metarhizium anisopliae* (Metch.), aplicado al suelo para el control de su hospedante original *Anisoplia austriaca* Herbst (Coleoptera: Scarabaeidae), no fue demasiado alentadora. No obstante la contrariedad mantuvo el interés y en la actualidad existen preparados comerciales, en su mayor parte a base de ascomicetos, en Europa, América y otros lugares del mundo para su empleo en el control de plagas de insectos.

Posición sistemática de los Hongos entomopatógenos

El sistema de clasificación que se adopta aquí está de acuerdo con el recientemente propuesto por Hibbet *et al.* (2007) para el Reino de los Hongos (Mycota), en la que la Clase Oomycetes del Filo Oomycota, que incluye especies entomopatógenas, queda excluida. Por tanto, la presencia de HE queda circunscrita a los Blastocladiomycota, Entomophthoromycotina y Ascomycota, si bien las especies más importantes se ubican en los dos últimos. Los Entomophthoromycotina incluyen al Orden Entomophthorales que presentan una gama de insectos hospedantes por lo general muy estrecha, y pueden causar epizootias que casi reduzcan a cero una población. Por otra parte, sólo unas pocas especies son fáciles de cultivar en laboratorio y aún no se ha puesto a punto tecnología que permita una producción a gran escala de manera económica. Pero sin lugar a duda, son los anamorfos de los ascomicetos, en especial los del orden Hypocreales, los que incluyen las especies más distribuidas e importantes, en particular, *Beauveria* y *Metarhizium*, pero también *Paecilomyces*, *Lecanicillium*, *Nomurea*, *Aschersonia*, etc., sin olvidar el género *Ascospaera*, de gran repercusión en apicultura por ser patógeno de la abeja melífera.

Al igual que ha ocurrido en otras ramas del saber, la biología molecular ha irrumpido con fuerza en estudios de sistemática y diversidad genética de hongos, la cual, en un buen número los entomopatógenos, es debida al fenómeno de la parasexualidad. Los análisis moleculares de DNA permiten detectar las variaciones entre aislados y entre especies de un mismo género. Dentro de las técnicas basadas en la PCR, el análisis del polimorfismo generado por la amplificación de DNA al azar, técnica RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*) -PCR, ha sido ampliamente utilizada en estudios de diversidad genética en especies de los géneros *Beauveria*, *Metarhizium*, *Paecilomyces* y *Lecanicillium*. También se han utilizado los AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphism*), microsátélites ISSRs, regiones intergénicas nucleares EFutr y Bloc y SCAR para detectar variabilidad genética en *B. bassiana*.

El grupo de genes ribosómicos de los hongos está organizado en aproximadamente 200 repeticiones en tándem. Dentro de cada unidad repetida de rDNA (DNA ribosómico), se encuentran los genes 5,8S (120 pb), 18S (1.800 pb) y 28S (3.200 pb); y los espaciadores intergénicos de transcripción interna (Internal Transcribed Spacer, ITS), ITS1 e ITS2, que son transcritos en conjunto como unidad única. Los genes que codifican para los componentes 5,8S, 18S y 28S del rDNA se encuentran muy conservados y universalmente presentes, lo que permite comparaciones filogenéticas en muchos niveles taxonómicos. Sin embargo en algunos hongos, como ocurre en los géneros *Beauveria* y *Metarhizium*, los intrones del grupo I de las subunidades 18S y 28S del rDNA, han demostrado ser herramientas útiles en la caracterización e identificación de aislados, mientras que los espaciadores ITS1 e ITS2 poseen mayor variabilidad y, por tanto, se han utilizado para comparar especies y géneros de organismos estrechamente relacionados (CHEN *et al.*, 1992), o para llevar a cabo estudios filogenéticos de un gran número de especies.

Presencia natural de los hongos entomopatógenos

El hábitat natural de los HE es el suelo, en el que constituyen un componente importante de la microflora. En este sentido se ha observado en la Península Ibérica y los archipiélagos balear y canario, que *B. bassiana* y *M. anisopliae* son especies características en suelos de ecosistemas tanto cultivados como naturales. Los hongos pueden permanecer en el suelo en forma de micelio en cadáveres de insectos y ácaros momificados, en forma de esporas de reposo (entomoftorales) o pseudoesclerocios, o en forma de esporas asexuales o conidias, donde factores edáficos como textura, pH, materia orgánica y humedad pueden afectar a su presencia y distribución.

A pesar de que existe una idea general y aceptada que el suelo, como su hábitat natural, y las poblaciones de insectos hospedantes a las que infectan, son las dos fuentes principales de HE, recientemente se ha puesto de manifiesto la importante presencia de *B. bassiana* en el filoplano de hojas procedentes de plantas adventicias espontáneas en los márgenes de los cultivos, probable consecuencia de la dispersión por el aire de las conidias desde insectos micosados, foco de infestación para el establecimiento de nuevos ciclos de infección, y pertinaz explicación de la sor-

pendente relación endofítica que esta especie fúngica establece de forma natural con algunas plantas, a la que nos referiremos más adelante.

Biología general de los hongos entomopatógenos

La mayoría, si no todas las especies de HE, tienen ciclos vitales que sincronizan con los estados de desarrollo de sus insectos y ácaros hospedantes y con las condiciones ambientales. El modo de acción de los principales grupos de HE, Ascomycota mitospóricos y los Entomophthomycotina, presenta una serie de diferencias que se describen a continuación. No obstante, los principios generales que se exponen, no están exentos de excepciones, con aspectos de ambos grupos que forman un continuo; especies e incluso aislados dentro de éstas, pueden comportarse de manera muy distinta. Por ejemplo, rango de hospedantes, virulencia, coeficientes de germinación y óptimos térmicos pueden variar entre especies y aislados.

El origen del hábito entomopatógeno podría haberse alcanzado varias veces a partir de un ancestro común que habitaría el suelo o la hojarasca. La mayor radiación en diferentes grupos hospedantes ocurrió en la familia Clavicipitaceae de los Ascomycota, con múltiples saltos entre animales (p. e., insectos), hongos y plantas. El hecho de que la mayor parte de las especies de HE ascomicetos sean mitospóricos, es decir, que existen sólo en la forma asexual (anamórficos), puede ser debido a distintas adaptaciones evolutivas.

Infección fúngica

Los HE son únicos y relevantes entre los microorganismos patógenos de insectos porque invaden a sus hospedantes directamente a través del exoesqueleto o tegumento. Entre ellos se encuentran tanto especies provistas de aparato bucal masticador que se alimentan, de manera ectófito o endófito, de los tejidos de las plantas (fitófagos s. *str.*), pertenecientes a los órdenes: Orthoptera, Coleoptera, Diptera, Lepidoptera e Hymenoptera; como aquéllas provistas de aparato bucal picador succionador y que extraen los fluidos (fitomizos), pertenecientes a los órdenes: Thysanoptera y Hemiptera.

En los ascomicetos mitospóricos, las esporas asexuales o conidias son generalmente las responsables de la infección y están dispersas por el medio donde se encuentran los insectos hospedantes. Cuando alcanzan la cutícula se adhieren fuertemente debido a mecanismos mediados por fuerzas inespecíficas, tales como la hidrofobicidad de su pared celular, germinan, e inician cascadas de reconocimiento y activación enzimática, a lo que sigue la formación de las características estructuras de penetración; logran atravesarla, gracias a la combinación de mecanismos bioquímicos y mecánicos. Alcanzado el hemocele, el hongo crece en forma de cuerpos hifales, denominados también para este grupo blastosporas por algunos autores, para lo que debe vencer la respuesta defensiva del insecto, tanto celular (fagocitosis y encapsulación) como humoral (producción de fenoloxidasa, lectinas, u otras proteínas y péptidos defensivos, etc.).

La muerte del insecto puede ser resultado de la combinación de distintas

acciones del hongo como la utilización de los nutrientes, la invasión física de los diferentes órganos del hospedante, y la producción de toxinas. Después de la muerte, el hongo manifiesta crecimiento saprofítico (necrotrófico), y en condiciones de humedad y temperatura favorables, las hifas emergen del cadáver, se produce la esporulación, y con la liberación de las conidias, se inicia un nuevo ciclo.

En las infecciones por Entomophthorales, se forman cuerpos hifales (estructuras unicelulares tipo levadura con pared celular quitinosa) que se dispersan por el hemocele, causando la muerte al hospedante debido a la utilización de sus nutrientes. Algunas especies de Entomophthorales producen inicialmente protoplastos circulares, con ausencia de residuos ricos en azúcares, de cara a evitar su reconocimiento por los hemocitos del hospedante. Tras la muerte del insecto, el hongo emerge del mismo, y en condiciones favorables, la esporulación o conidiogénesis tienen lugar fuera del cadáver, lo que favorece la liberación de las conidias, que inician un nuevo ciclo, y contribuyen a la transmisión del hongo. Los cadáveres de insectos muertos por Entomophthorales quedan adheridos normalmente al sustrato vegetal, a veces por medio de estructuras especiales como rizoides, lo que asegura la permanencia del hongo en el medio y la dispersión de los propágulos infectivos a nuevos hospedantes.

Dispersión de las conidias

Las conidias de los ascomicetos mitospóricos, como *Beauveria* sp y *Metarhizium* sp, son hidrofóbicas y se dispersan de forma pasiva desde los cadáveres infectados, principalmente, por el viento. Las conidias de los Entomophthorales se descargan de forma activa (Figura 7.4b) debido a fuerzas de presión hidrostática, con la excepción del género *Massospora*. Tras su descarga, las conidias de los Entomophthorales son transportadas por el viento o por insectos próximos al infectado. Si las conidias primarias de las especies de entomoftorales no alcanzan un hospedante susceptible para germinar, entonces la mayoría forman conidias de órdenes superiores que bien pueden ser descargadas de forma activa (p. e., *Erynia* o *Pandora*), o formar conidias secundarias que no son descargadas de forma activa, las capilloconidias, que se producen en largas estructuras (capilloconidióforos, p. e., *Zoophthora*) (Figura 7.5).

Métodos de persistencia

Cuando existe escasez de insectos hospedantes, o las condiciones ambientales no son favorables, la mayoría de especies de entomoftorales producen esporas de reposo, clamidosporas, zigosporas o azigosporas para persistir en el suelo durante largos períodos de tiempo, mientras que a tal efecto, los ascomicetos mitospóricos pueden también permanecer en el suelo durante largos periodos gracias a la formación de esclerocios, clamidosporas, etc.

Epizootiología de las enfermedades fúngicas en insectos

Aunque las epizootias de enfermedades causadas por HE a insectos son

relativamente frecuentes, nuestro conocimiento de las interacciones a nivel poblacional entre los HE y sus hospedantes se basa en un número restringido de trabajos. El desarrollo natural de la enfermedad y su dispersión están sujetos a características de las poblaciones del insecto hospedante (p. e., susceptibilidad, densidad, movimiento y distribución espacial) y del hongo entomopatógeno (p. e., virulencia, poder de dispersión, densidad de inóculo y distribución espacial), así como a factores ambientales (p. e., temperatura, humedad y radiación ultravioleta) y al impacto de la actividad del hombre, en especial en los agroecosistemas.

Algunas especies del orden Entomophthorales originan llamativas y espectaculares epizootias, que tienen marcado impacto en el control natural de las poblaciones de sus hospedantes, los cuales se reparten en algo más de 32 familias. Infectan con preferencia estados inmaduros, ninfas, larvas, pupas, aunque en algunos casos, como por ejemplo en dípteros, el adulto es el estado más comúnmente infectado. En general, las especies presentan patogenicidad para una especie o un grupo de especies relacionadas filogenéticamente aunque algunas, muy pocas, tienen un amplio rango de hospedantes. Son hongos de climas templados con una fase conídica y otra de esporas de reposo que permanecen en el suelo durante los períodos adversos. En sistemas agrícolas se han estudiado las epizootias de *Entomophthora muscae* (E. Cohn) G. Winter en la mosca de la cebolla *Delia antiqua* (Meigen) (Diptera: Anthomyiidae); mientras que en sistemas más estables, como los forestales y las praderas, se ha dedicado especial atención a otras epizootias, como las causadas por *Zoophthora radicans* (Bref.) Batko y *Entomophaga aulicae* (Reich.) Humber en poblaciones naturales de *Choristoneura fumiferana* (Clemens) (Lepidoptera: Tortricidae) en bosques de Norte América, y las de *Entomophaga grylli* (Fresenius) Batko en poblaciones de langostas y saltamontes en praderas tanto de EE UU como de Europa, donde se han descrito en la langosta mediterránea *Dociostaurus maroccanus* (Thunberg) (Orthoptera: Acrididae) a principios de siglo.

Las especies de Ascomicetos en su *facies* perfecta infectan insectos de los órdenes Orthoptera, Hemiptera, Coleoptera, Diptera, Lepidoptera e Hymenoptera. Sin embargo, entre sus correspondientes anamorfos, presentes de forma natural en poblaciones de insectos, encontramos especies, como *Beauveria*, *Metarhizium*, *Paecilomyces*, *Lecanicillium* e *Hirsutella*, que infectan a casi todos los taxones de insectos de interés agrícola, mientras que otras, como *Nomuraea*, *Sorospora*, *Tolypocladium* y *Aschersonia*, presentan un espectro de hospedantes más reducido. Aunque algunos Ascomicetos originan epizootias, éstas no llegan a alcanzar la notoriedad de las originadas por los Entomophthorales, de las que se han descrito la mayor parte de epizootias en insectos de suelo, geobiontes o geófilos, como gusanos de alambre y gusanos blancos, causadas por *Beauveria*, *Metarhizium* y *Paecilomyces*, sin olvidar las epizootias de *Nomurea riley* (Farlow) Sanson en *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae) en soja.

Control de plagas mediante hongos entomopatógenos

Estrategias para el empleo de hongos entomopatógenos en control microbiano

La presencia natural de los HE no es suficiente en la mayoría de los casos para contener el incremento de las poblaciones de insectos que afectan a las plantas cultivadas, por eso, es preciso recurrir a su manejo para aprovechar todo el potencial que encierran. Al igual que con otros agentes de control biológico, parasitoides, depredadores etc., cuatro son las estrategias que podemos utilizar para el empleo eficiente de los HE en el control de las plagas de insectos: (1) Conservación; (2) Clásica; (3) Inoculación; e (4) Inundación.

La estrategia de conservación

En el caso de los HE, esta estrategia implica la modificación de algunas prácticas agronómicas para aumentar su actividad sobre la población del insecto como, por ejemplo, la provisión de humedad por irrigación, la reducción del uso de fitosanitarios, la provisión de lugares de hibernación para hospedantes alternativos, etc. En este sentido, se da especial importancia al manejo de los márgenes de los cultivos como refugio de artrópodos hospedantes de hongos entomofitófagos para el inicio de epizootias. En los EE UU, el control del pulgón *Aphis gossypii* (Glover) (Homoptera: Aphididae) por medio de la especie *Neozygites fresenii* (Nowakowski) Batko, junto con el del coleóptero *Hypera postica* (Gyllenhal) (Coleoptera: Curculionidae) en alfalfa mediante *Zoophthora* sp, son los mejores ejemplos de la utilidad de esta estrategia.

La estrategia clásica

Los hongos seleccionados para este fin deben ser capaces de persistir en el medio, por ejemplo, las especies de entomofitófagos que tienen esporas de reposo. En general, pero no siempre, se practica en hábitats con un cierto grado de permanencia, como por ejemplo "praderas", bosques y cultivos leñosos. Además, la dispersión del hongo puede ser crítica para reinvasión de áreas donde el inoculo fúngico ha bajado. Tales interacciones dentro de una metapoblación podrían ser fácilmente alcanzadas por entomofitófagos que descargan las esporas activamente o ascomicetos mitospóricos cuyas abundantes esporas pueden ser encontradas por todo el ecosistema.

Por otro lado, para que la estrategia clásica resulte efectiva se requiere un alto nivel de especificidad por parte del enemigo natural, y además, que su respuesta a la población del hospedante se acomode al modelo densidad dependiente. El tiempo de generación del microbio debe ser relativamente corto (desde la infección por el propágulo hasta una nueva producción de propágulos) de modo que se origine un súbito incremento de su población que repercuta en un rápido declive de la población del hospedante. Hay dos ejemplos claros de éxito con HE, el establecimiento del entomofitófago *Entomophaga maimaiga* Humber, en los EE UU, que ha permitido el control de *Lymantria dispar* Linnaeus (Lepidoptera: Lymantriidae) en bosques del Noreste del país, y el control de *Therioaphis trifolii* f. *maculata* (Monell)

(Homoptera: Aphididae) en Australia, por medio del entomofitoráceo *Z. radicans* importado desde Israel.

La estrategia de inoculación

Ilustran, esta estrategia, dos ejemplos: el ascomiceto mitosporico *Beauveria brongniartii* (Saccardo) Petch aplicado contra larvas de gusanos blancos en Europa, y el empleo combinado de semioquímicos y *Z. radicans* para el control de *P. xylostella*.

La estrategia de inundación

Esta estrategia consiste en la aplicación del hongo, a menudo en grandes cantidades, para conseguir bajar la población del insecto en un plazo de tiempo corto, sin esperar a infecciones secundarias. En este caso el hongo se usa de manera similar a los insecticidas químicos y se emplea el término micoinsecticida. Los ascomicetos mitosporicos se adaptan bien a esta estrategia porque son fáciles de producir a gran escala así como formular para empleo convencional con equipos de pulverización. Existen más de 60 productos comerciales en el mercado y otros muchos están en vías de aparecer. Tres ejemplos tenemos para ilustrar esta estrategia, la aplicación de *Lecanicillium lecanii* (Zimmerman), para el control de pulgones y otros insectos en invernaderos, la de *B. bassiana* para el control de moscas blancas también en invernaderos y la de *Metarhizium anisopliae* var. *acridum* para el control de langosta y saltamontes.

Empleo de los micoinsecticidas

La Protección de Cultivos está todavía dominada por los insecticidas químicos. Las ventas de bioinsecticidas, unos 460 millones de euros anuales, suponen sólo el 2% del mercado, en el que los micoinsecticidas sólo representan una ínfima parte, pues destaca la bacteria toxicogénica *Bacillus thuringiensis* Berliner (Bt). Además, la controvertida introducción, aunque con éxito, de variedades transgénicas de maíz, algodón, patata, etc., que expresan las toxinas de Bt ha desencadenado una nueva era del control de insectos.

La producción de bioinsecticidas, a diferencia de lo que ocurre con las variedades transgénicas, está dominada por compañías de pequeño y mediano tamaño, pues las grandes multinacionales, que invirtieron en estrategias de control biológico en los años 80, lo abandonaron, con la excepción de algunas compañías japonesas como Certis. No obstante, está claro que los problemas de resistencia a insecticidas químicos, su impacto medioambiental en áreas especialmente sensibles, su coste de registro para cultivos de gran valor pero muy especialistas, y el interés creciente en la producción ecológica, garantizan un mercado para los bioinsecticidas, y en particular, para los micoinsecticidas.

El estado actual de los micoinsecticidas

Los productos actualmente comercializados están basados en un número restringido de especies (*B. bassiana*, *M. anisopliae*, *B. brongniartii*, *P. fumosoroseus*,

Lecanicillium longisporum, *L. muscarium*). La mayoría de los productos están formulados a base de conidias, en sistemas sólidos o difásicos, pero también se formulan blastosporas en medio líquido como Vertalec y Vertiblast. Se puede observar la existencia de dos productos formulados a base de dos aislados de la misma especie (Vertikil) o de dos especies distintas (Meta-Ven y Bassi).

En la actualidad existe poca información sobre la situación en Rusia, a pesar del gran éxito del Boverin para el control de *Cydia pomonella* Linnaeus (Lepidoptera: Tortricidae) y *Leptinotarsa decemlineata* (Say) (Coleoptera: Chrysomelidae). Sin embargo destaca el gran número de compañías de bioinsecticidas en India, que se estima en más de 100.

En España, hasta la fecha, se comercializan tres micoinsecticidas, basados en aislados fúngicos no autóctonos, si bien, ya comienza a despuntar la producción nacional con la inminente aparición en el mercado del que es el primer micoinsecticida formulado con un aislado autóctono de *B. bassiana*, el BECAN®, procedente de la micoteca del Grupo PAI AGR 163 “Entomología Agrícola” de la Universidad de Córdoba, desarrollado por la empresa NBT de Sevilla.

Algunas compañías han retenido el nombre de *Verticillium lecanii* para esta especie.

Limitaciones al empleo de micoinsecticidas

La eficacia insecticida de los HE está determinada en gran medida por factores intrínsecos asociados a la fisiología del patógeno y a la del hospedante, y factores extrínsecos impuestos por el medio.

Un carácter de capital importancia a tener en cuenta, a la hora de seleccionar un aislado fúngico para micoinsecticida, es su virulencia, o la cantidad de enfermedad que produce en el hospedante. En los tratamientos de campo, las densidades de inóculo deben ser suficientes para que la probabilidad de que el insecto entre en contacto con el umbral de propágulos efectivo sea alta. Por tanto, una cepa muy virulenta, además de reducir la población del hospedante en un plazo de tiempo corto, requiere una menor densidad de inóculo para provocar la enfermedad, lo que se traduce directamente en la eficacia del control biológico así como en ahorro económico y de inóculo.

La persistencia del hongo en el ambiente es otra característica importante para el éxito de un agente de control biológico. Cuanto más elevada es, mayor es la probabilidad de que el insecto entre en contacto con el número de propágulos necesario para el desarrollo de la enfermedad.

Indudablemente, otro factor que se debe tener en cuenta es el estadio del hospedante en el que se realiza el tratamiento, ya que la susceptibilidad en muchos casos varía con el mismo. Además, cuando el insecto hospedante presenta condiciones de estrés debido a diversos factores como nutrición (en polípagos la respuesta varía con cada planta), heridas (vías de entrada), gregarización (cambios endócrinos que afectan a la melanización cuticular, rapidez o lentitud en el paso de un estadio a otro, etc;), es más susceptible a la infección, por lo que la inclusión en las

formulaciones de algún factor de estrés es otra estrategia para aumentar eficacia del micoinsecticida.

La ya compleja interacción entre el insecto hospedante y el patógeno puede serlo aún más al incluir la planta, pues existen cada vez más evidencias de que ésta puede condicionar en gran medida la virulencia del hongo frente a aquel. Así, se ha observado que la virulencia de un aislado de *B. bassiana* frente a *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Homoptera: Aleyrodidae), expresada en términos de concentración letal 50 (CL50) puede variar incluso el 100% sobre distintas plantas hospedantes, a lo que sin duda, debe contribuir el efecto fungistático de los compuestos aleloquímicos presentes en cada especie vegetal.

A pesar de la importancia del patógeno y del insecto hospedante, el éxito de un micoinsecticida está condicionado principalmente a su comportamiento frente a distintos factores ambientales bióticos y abióticos.

En general, respecto a los factores bióticos existen pocos trabajos sobre la capacidad de los HE para competir con otros microorganismos. No obstante, en el caso particular de aplicación de los HE al suelo para el control de insectos geobiontes y geófilos, es muy importante estudiar el posible efecto fungistático que otros componentes del microbiota edáfico pueden ejercer sobre los mismos.

En lo que respecta a los factores abióticos, los HE son muy susceptibles a la inactivación por la radiación ultravioleta (UV) del espectro solar (285-315 nm). En este sentido, resultan especialmente indicadas las aplicaciones al suelo, que ofrecen protección al hongo ante este factor crítico, si bien las estrategias actuales de formulación también se ocupan de ello mediante la utilización de fotoprotectores.

La temperatura afecta directamente al coeficiente de infección y al tiempo letal, por lo que se deben seleccionar cepas con óptimos térmicos adecuados a los hábitats donde van a ser empleadas, así como para aquellas especies cuya temperatura corporal fluctúa a causa de la ectotermia, fenómeno que ocurre en la langosta y otros ortópteros. La capacidad de las conidias de determinados ascomicetos mitospóricos para germinar a temperatura alta es mayor cuando la humedad relativa (HR) es también más elevada. Pero la HR es también muy importante para la conidiogénesis en los cadáveres, lo que afecta directamente a la transmisión horizontal del hongo.

En cualquier caso, los trabajos de control en el suelo de puparios de la mosca mediterránea de la fruta *Ceratitis capitata* (Wied.) (Diptera: Tephritidae) mediante aplicación de *B. bassiana* y *M. anisopliae*, concuerdan con estudios recientes que ponen de manifiesto la importancia de la humedad sólo en el microhabitat que rodea al insecto, y la menor relevancia de ésta en el ambiente general, suelo o aire. También, para el caso particular de los insectos de almacén, se ha demostrado recientemente, que la baja humedad favorece la eficacia insecticida de *B. bassiana* frente al gusano de la harina *Tribolium castaneum* (Herbst).

Muchos ascomicetos entomopatógenos son considerados como microorganismos de suelo, y han demostrado un gran potencial para el control de insectos geobiontes y geófilos. No obstante, el suelo es un medio extremadamente

complejo, y un gran número de factores como el tipo de suelo (p. e., textura, capacidad de intercambio catiónico, contenido de materia orgánica, pH, etc.), humedad y microflora, pueden afectar a la persistencia, la eficacia, o ambas, por lo que las estrategias de formulación y aplicación se orientan normalmente a superar estas interferencias.

Mejora biotecnológica de los hongos entomopatógenos: las proteínas fúngicas insecticidas y su potencial

El efecto de todos los factores anteriores ha logrado minimizarse en la actualidad gracias a la explotación de tecnologías que optimizan la producción en masa, la formulación y estabilización, así como su aplicación con maquinaria convencional. Sin embargo, existe la percepción general entre los agricultores de que los bioinsecticidas en general, y los micoinsecticidas en particular, no son tan rápidos y eficaces como los insecticidas químicos de síntesis. Una limitación al desarrollo de micoinsecticidas viene impuesta por el hecho de requerir entre 5 y 10 días después de la aplicación para reducir la población del insecto fitófago, intervalo durante el que puede causar daños graves al cultivo. Por tanto, para garantizar que los HE sean una verdadera alternativa a los insecticidas químicos convencionales, resulta fundamental mejorar su virulencia, tiempos letales, y período de tiempo comprendido entre la aplicación y el cese de alimentación del insecto hospedante, lo que depende de nuestra capacidad para desvelar las bases moleculares de su patogenicidad, para potenciarlas durante la producción en masa, formulación y aplicación, y como blancos idóneos para la mejora genética.

El primer intento de explotar las bases moleculares de la patogenicidad para mejorar la actividad de un aislado fúngico se llevó a cabo en 1996. La detección de la quitinasa denominada Pr1, producida por un aislado de *Metarhizium anisopliae* (Met.) Sorok. que solubiliza la cutícula del insecto, y garantiza su penetración, así como su caracterización y clonación, permitieron incluir varias copias del gen codificante en el hongo, reduciendo el tiempo letal medio en un 25%, y el consumo de dieta artificial por el fitófago *Manduca sexta* Linnaeus (Lepidoptera: Sphingidae) en un 40%, con respecto a la cepa no mejorada. Recientemente, se ha conseguido reducir en un 50% el tiempo letal medio al obtener cepas transformadas de *B. bassiana* con varias copias del gen de las quitinasas Bbchit1 y Bbchit2, bien en su estado natural, bien transformadas con genes de proteínas de unión a membrana. De hecho, una cepa de *Paecilomyces fumosoroseus* (Wize) con sobreproducción de quitinasa obtenida mediante mutagénesis, ha proporcionado 100 veces más virulencia frente a *B. tabaci* que la cepa original. También se ha prestado especial atención a distintos enzimas extracelulares producidos por estos hongos para atravesar la cutícula, así como los producidos una vez que la han atravesado, e incluso los que están implicados en el metabolismo de los nutrientes presentes en la hemolinfa, especialmente hidratos de carbono y lípidos, aunque los insectos son capaces de producir inhibidores frente a las mismas, lo que limita su empleo como blancos para la mejora. Finalmente, algunos autores comienzan a buscar genes “externos” al

propio hongo para acelerar el proceso patogénico. Se ha diseñado un aislado hipervirulento de *M. anisopliae* capaz de secretar la toxina del escorpión en la hemolinfa del insecto que le acelera la muerte y disminuye la CL50 en veintidos veces para *M. sexta* y en nueve veces para *Aedes aegypti* Linnaeus (Diptera: Culicidae).

Los factores de virulencia denominados de forma genérica metabolitos insecticidas, han alcanzado especial relevancia. Se conocen dos grandes grupos de metabolitos insecticidas: los de bajo peso molecular (5 kDa), denominados también metabolitos secundarios, que son sintetizados en su mayor parte en grandes complejos multienzimáticos citoplásmicos y no en ribosomas, lo que limita su estudio a nivel molecular y su empleo como blanco para la mejora genética de HE, y el segundo tipo de metabolitos insecticidas son los metabolitos proteínicos macromoleculares (>5-10 kDa), que se han relacionado directamente con la muerte del insecto o bien con la supresión de su sistema inmunitario. Estas proteínas se consideran un gran blanco para la selección y mejora de HE, y además constituyen una fuente inexplorada de moléculas naturales insecticidas. Se conocen hasta el momento dos proteínas insecticidas fúngicas, la hirsutelina A, producida por *Hirsutella thompsonii* Fisher, hongo que regula de forma natural las poblaciones del ácaro *Phyllocoptruta oleivora* Ashmead (Acari: Eriophyidae) en Florida, que ya ha sido clonada, y asociada al proceso patogénico; y la bassiacridina, secretada por un aislado de *B. bassiana*, específica de acrídidos y, a la que debe su nombre.

La selección de aislados de HE cuya acción patogénica esté asociada a la producción de una o varias proteínas insecticidas presenta numerosas ventajas. Su mejora es posible por optimización de su capacidad secretora, pero también la investigación, sobre los genes que codifican estas proteínas, podría permitir la obtención de cepas mejoradas mediante distintas técnicas de ingeniería genética. Además, la detección de proteínas fúngicas que presenten una gran acción insecticida por ingestión puede servir de acicate para su empleo como nuevas moléculas insecticidas de origen natural.

Integración de los micoinsecticidas en estrategias de Producción Integrada

Aunque los micoinsecticidas pueden proporcionar un adecuado control por sí mismos, también pueden emplearse junto a otros agentes de control en estrategias de Control Integrado de Plagas.

Compatibilidad con insecticidas, fungicidas, etc.

En general, los estudios realizados indican que existe una buena compatibilidad entre HE e insecticidas; acaricidas y herbicidas, que en muchos casos puede traducirse incluso en sinergismo, lo que no desaconseja su empleo conjunto en Programas de Control Integrado. Posiblemente, la mayor precaución debe tomarse con el empleo de fungicidas. Se ha constatado que varias materias activas pueden inhibir el crecimiento *in vitro* de *B. bassiana* y *M. anisopliae*. La secuencia y el intervalo de aplicación resultan fundamentales. Así, cuando el micoinsecticida antecede al

fungicida, puede ocurrir incluso un sinergismo, pero si éste es aplicado entre 2 y 4 días antes que aquél, puede existir un claro antagonismo. Por tanto, es necesario el adecuado manejo de la secuencia e intervalo de aplicación para compatibilizar el uso de fungicidas y HE.

Compatibilidad con parasitoides y depredadores

Los agentes entomófagos de control biológico pueden utilizarse de forma conjunta con los HE en el control de plagas de insectos. Los estudios realizados indican que los ascomicetos, en especial *B. bassiana* y *M. anisopliae*, no inhiben la acción de los principales grupos de parasitoides ni en el hábitat aéreo, ni en el suelo, y que, en muchos casos, se observa un sinergismo entre ambos. Tampoco se han descrito efectos negativos en los principales grupos de depredadores, si bien existen datos contradictorios sobre el efecto de estos hongos en el sistema Pulgones-Coccinélidos, donde se han observado porcentajes de mortalidad por debajo del 20%, debido al hongo.

Compatibilidad con otros microorganismos entomopatógenos

Existen dos grupos principales de agentes microbianos de control, bacterias y nematodos entomopatógenos cuya interacción con los HE ha sido motivo de estudios científicos. En cuanto al primero, la bacilacea *B. thuringiensis*, al actuar por ingestión, se presenta como un agente de control perfectamente compatible con los HE. La acción intestinal de la bacteria debilita al insecto, e incrementa su susceptibilidad frente a los hongos. Este sinergismo también se ha observado al aplicar conjuntamente *B. bassiana* y la enterobacteriacea entomopatógena *Serratia marcescens* (Bizio).

Sin embargo, los nematodos entomopatógenos, que también actúan por vía tegumentaria, presentan una acción antagónica frente a los hongos. En efecto, las bacterias que los nematodos portan en asociación simbiótica, causantes finales de la muerte del insecto hospedante, y los HE, compiten por el mismo sustrato en el hemocele, donde ejercen un mutuo antagonismo, que desaconseja su empleo conjunto en el suelo.

Desarrollo de un micoinsecticida

El desarrollo comercial de un micoinsecticida requiere una serie de etapas que se detallan a continuación.

Obtención y selección de aislados fúngicos

El aislamiento de cepas activas contra un determinado insecto o ácaro requiere un intenso trabajo de campo en busca de individuos infectados, así como de muestras de suelo, las dos fuentes naturales de HE. La actividad insecticida de la colección de aislados debe evaluarse por bioensayos de laboratorio, para seleccionar los más virulentos contra el objetivo marcado. En este momento también se aborda el estudio

de la fisiología y ecología de los aislados, para poder diseñar las mejores estrategias de producción en masa y formulación.

En la actualidad, resulta fundamental disponer de marcadores moleculares que permitan seguir la evolución de las cepas en el medio natural, evaluar su eficacia y realizar estudios del posible impacto ambiental, para lo que se acude a métodos morfológicos, inmunológicos y genéticos, a los que se ha hecho referencia con anterioridad.

Con un conocimiento de base de la actividad insecticida de las cepas en condiciones de laboratorio, y de sus características de crecimiento, óptimo térmico, etc., se puede afrontar su evaluación en campo, donde se debe exigir una eficacia probada a las candidatas para desarrollar el micoinsecticida. Pero además, se debe seleccionar cepas que presenten en campo una buena persistencia. En estudios realizados durante 1999 con *B. brongniartii*, se tomaron muestras en 29 lugares tratados con un micoinsecticida en 1985, 1988 Y 1991, y se detectó que el 87% de los mismos presentaban el hongo, lo que demuestra que éste puede permanecer en el suelo al menos 14 años. Además, mediante análisis de marcadores moleculares, se encontró que en el 81% de los casos, las cepas de las muestras eran las mismas que las utilizadas en los tratamientos.

Estudios de impacto del agente sobre la fauna útil

El estudio del posible efecto de un micoinsecticida sobre la artropodofauna y en especial, la fauna útil, parasitoides y depredadores, del biotopo donde va a ser aplicado es un requisito indispensable antes de su desarrollo comercial. La incorporación *B. brongniartii* a 10 cm en el suelo con un formulado de granos de cereal y sobre la superficie del suelo pulverizaron con una suspensión de conidias de *M. anisopliae*, cuyos efectos sobre la fauna útil, insectos (Coleoptera, Hemiptera, Psocoptera), ácaros y lombrices, fueron inapreciables en el caso de *B. brongniartii*; y sin embargo, en el caso de *M. anisopliae*, los efectos sobre algunos hemípteros en las primeras semanas de la aplicación, dependieron en función de la dosis. En condiciones de laboratorio, se estudió el efecto de ambos hongos sobre 20 especies de carábidos, y tres de colémbolos, dando como resultado un cierto efecto de *B. brongniartii* sobre 4 especies de carábidos, poco probable en condiciones de campo por vivir éstos en superficie, y el hongo a 10 cm de profundidad, y cierto efecto de ambos hongos a dosis muy elevadas sobre los colémbolos. Por tanto, la estrategia de aplicación puede permitir reducir a mínimos el riesgo ecológico.

Ensayos realizados en olivar mediante suspensiones fúngicas de *M. anisopliae* aplicadas a la superficie del suelo circunscrita a la copa de los árboles, para el control de puparios de la mosca del olivo *Bactrocera alba* Be, pusieron de manifiesto que las poblaciones de los principales grupos de geófilos Orthoptera, Hemiptera, Coleoptera, Lepidoptera, Diptera, Hymenoptera y Araneae resultaban indemnes.

Para completar los estudios de seguridad se debe dilucidar la toxicidad de la

cepa candidata sobre mamíferos, su efecto alergénico y la producción de toxinas inespecíficas, a las que se ha hecho referencia con anterioridad, sin olvidar el posible desplazamiento competitivo de otros entomopatógenos presentes de forma natural en el suelo, o incluso de la misma especie, sobre todo si no se trata de una cepa autóctona.

Producción en masa

Una vez que se dispone de una cepa que ha "aprobado el examen" de actividad en campo y laboratorio, y sin riesgo significativo para la fauna útil, mamíferos, etc., se puede pasar a su desarrollo comercial, de acuerdo con los más estrictos criterios económicos, pues de eso depende que el micoinsecticida alcance el mercado como una alternativa a los insecticidas químicos de síntesis.

La producción en masa de un ascomiceto entomopatógeno presenta dos aspectos fundamentales: su eficiencia y la calidad del producto obtenido. La eficiencia de la producción depende del tipo de propágulo utilizado, pues se obtienen los mejores rendimientos cuando se producen conidias en medio sólido, intermedios cuando se utiliza un medio líquido, para producir blastosporas o conidias sumergidas, y los más bajos, en los granulados a base de micelio. Por otro lado, las conidias muestran mayor persistencia, virulencia e infectividad, por lo que la mayoría de los micoinsecticidas que hasta la fecha han alcanzado el mercado lo han hecho en base a ellas.

El control de calidad de la producción consiste, fundamentalmente, en garantizar la actividad del inóculo empleado en la misma, pues éste puede sufrir una atenuación de su actividad en repicados sucesivos, así como en optimizar la composición del medio de cultivo, que permite incluso mejorar la eficacia del micoinsecticida.

Formulación

La formulación es fundamental para la estabilización de los propágulos que constituyen la materia activa del micoinsecticida, para facilitar su manejo, la seguridad y su eficacia.

La estabilización consiste en el mantenimiento de la viabilidad de los propágulos durante el almacenamiento y su posterior aplicación en campo. La estabilización de las conidias puede conseguirse mediante la formulación en arcillas, o en aceites vegetales o parafínicos, para obtener polvos mojables o emulsionables. La estabilización de blastosporas y micelio es más complicada, pues presentan menor tolerancia a la desecación, lo que ha originado el desarrollo de técnicas de encapsulación a fin de conferir resistencia a este factor clave.

Las formulaciones pueden llevar determinados coadyuvantes, bien para facilitar su manejo y seguridad, por ejemplo, presencia de aceites que reducen el efecto alergénico; bien para aumentar su persistencia, por ejemplo, con adherentes; o su infectividad, por ejemplo, factores nutritivos y humectantes que aumentan la velocidad de germinación y penetración. La producción de granulados permite reunir

todos estos factores, además de poder incluir fagoestimulantes, que aceleran la adquisición de los propágulos infectivos, aunque la eficiencia de la producción de micelio es baja, al tiempo que será necesario almacenar el producto en frío, lo que redundará en el aumento de los costes de producción.

Como ya se ha indicado, todos los factores que originan un estrés en el hospedante, favorecen la acción del hongo, por lo que la introducción en las formulaciones fúngicas de sinergistas como reguladores del crecimiento de los insectos o insecticidas químicos convencionales, aún a nivel experimental, pueden resultar de gran interés en programas de Control Integrado.

Registro

Llegados a este momento, sólo queda un último paso para que el micoinsecticida alcance el mercado: su registro. Para ello hay que referirse a las directivas de la Unión Europea y a las exigencias adicionales que puedan existir en cada país miembro. Los microorganismos usados como materias activas en productos para la protección de cultivos en la Unión Europea se regulan de acuerdo con la Directiva 91/414/CEE, enmendada por la directiva 2001/36/CE de la Comisión Europea que atañe a la información necesaria para la inclusión en el Anexo I de los microorganismos como materias activas, y la autorización a nivel de los países miembros de las correspondientes formulaciones (Anexos 11 y 111). Los principios uniformes de evaluación y autorización de los productos para la protección de cultivos que tienen microorganismos como materia activa se establecen en la Directiva 2005/25/CE.

Existe un acuerdo general dentro de la Unión Europea, tanto por parte de las empresas productoras, como por parte de las autoridades científicas y reguladoras, de que el procedimiento de registro de microorganismos para protección de cultivos debe modificarse para hacerlo más efectivo desde el punto de vista económico, sin comprometer el nivel de seguridad. La acción REBECA (www.rebeca-net.de) fue creada en el seno de la UE con este objetivo, y en particular, el de revisar los riesgos potenciales de los microorganismos de control biológico, para introducir en los protocolos sólo “riesgos reales”.

Aplicación de micoinsecticidas

El objetivo básico consiste en poner los propágulos infectivos en la proximidad de la superficie corporal del insecto. Esto puede encaminarse hacia las especies que viven y se alimentan de manera ectófito sobre la planta, hacia las especies que viven y se alimentan de manera endófito en la planta, y finalmente, contra aquellas especies que usan el suelo para realizar alguna parte de su ciclo vital, o para buscar su alimentación en raíces o cuello de la planta.

Aplicaciones aéreas

Los micoinsecticidas pueden aplicarse para el control de las plagas de insectos

que viven sobre la planta, principalmente contra filófagos y fitomizos, a lo que han contribuido con éxito las tecnologías que optimizan la producción en masa, la estabilización y su aplicación con maquinaria convencional.

Control de insectos ectófitos

Estas aplicaciones pueden realizarse sobre cultivos en pleno campo o protegidos.

Pulverización en hojas en cultivos de pleno campo

Los dos grupos principales de insectos que han sido objeto de estudios de campo para determinar la eficacia de distintas formulaciones de *B. bassiana* para su control, han sido las pulgillas de las crucíferas (Coleoptera: Chrysomelidae) y el escarabajo de la patata *L. decemlineata*. Las aplicaciones foliares de *B. bassiana* a intervalos de 3-4 semanas proporcionaron buena protección foliar frente al escarabajo de la patata, siendo el número de 5 aplicaciones a intervalo semanal el que proporciona los mejores resultados, teniendo en cuenta que las plantas deben cubrir la superficie de la parcela, lo que sugiere que es necesario un microclima para conseguir eficacia. Además, los tratamientos más eficaces frente a larvas en estadios inferiores, son los que se realizan por debajo de la vegetación.

Langosta y saltamontes en pleno campo

Las especies de langostas y saltamontes en sus hábitats naturales están sometidas a la acción de agentes bióticos, depredadores, parásitos y patógenos, que debidamente manejados pueden ser útiles para la limitación de sus poblaciones. Por ello, uno de los frentes abiertos para el control de las plagas de langosta lo proporciona la lucha biológica, principalmente por medio de HE. Una de las realizaciones prácticas la proporcionan los insecticidas microbianos a base de *M. anisopliae* var. *acridum* y *B. bassiana*, de probada eficacia, rentabilidad, y seguridad.

Cultivos protegidos

Los insectos con aparato bucal picador-chupador, constituyen factores claves limitantes de la producción hortofrutícola en cultivos bajo plástico e invernadero. Las moscas blancas del género *Bemisia*, *B. tabaci*, se han convertido en el problema principal para la agricultura mundial, y en especial, para la agricultura intensiva bajo plástico de toda la Cuenca del Mediterráneo debido, por una parte, a los daños directos asociados a su actividad perforadora y succionadora de savia, y por otra, a los indirectos tanto por acumulación de melaza sobre la planta que favorece el desarrollo de la neegrilla, como por su capacidad para transmitir un gran número de virus fitopatógenos a tomate, judía y cucurbitáceas, principalmente. Los HE representan posiblemente la mejor alternativa para su control biológico, pues a su eficacia insecticida probada, se une su capacidad de transmisión horizontal en la población del fitófago tras su crecimiento y esporulación sobre los cadáveres.

Control de insectos endófitos. *Tratamiento sistémico*

Desde el descubrimiento de la capacidad de *B. bassiana* para formar una relación endofítica con el maíz y, en último término, proteger a la planta frente al ataque de los taladros de los géneros *Ostrinia* sp y *Sesamia* sp, se ha disparado el interés para la explotación y manejo de esta asociación, que además no es exclusiva de esta gramínea. De hecho, con posterioridad se ha descubierto este tipo de asociación de *B. bassiana* con la platanera, el cafeto, y la adormidera. Concretamente en este último cultivo tan importante para la industria farmacéutica española y en las condiciones particulares del Valle del Guadalquivir, al aplicar una suspensión de conidias directamente a las semillas sobre el suelo por pulverización, o a la planta, ésta en distintos estados fenológicos, se consigue la protección sistémica del cultivo frente al ataque del cinípido *Tlaspis papaveris* Kieffer (Hymenoptera: Cynipidae), una de las principales plagas de este cultivo. El empleo de técnicas microbiológicas, histológicas y moleculares han permitido observar, tras pulverizar las hojas de la papaverácea con una suspensión de conidias, la germinación de éstas y la penetración en la planta, donde las hifas crecen dentro del apoplasto de la hoja y, en algunos casos, dentro de los elementos del xilema.

Aplicaciones al suelo

Un considerable número de especies de insectos están adaptados a vivir en el suelo, geobiontes, algunas cumplen todo su ciclo vital en él, geobiontes permanentes, otras sólo la etapa pre-imaginal pero el adulto tiene vida aérea (geobiontes periódicos), otras se sirven del suelo para buscar el alimento (geofilas activas), o para pupar o resguardarse durante el período de diapausa (geofilas inactivas). En general se estima que un 80% de las especies que interfieren con las plantas cultivadas toman contacto con el suelo durante toda o parte de su vida. Los insectos del suelo tienen un alto grado de exposición a los HE, como consecuencia de su actividad en un medio rico en ellos. Sin embargo, en este hábitat no se detectan con frecuencia epizootias naturales. Esto puede que se deba, a la dificultad para observar insectos enfermos en el suelo, a la rápida descomposición de los cadáveres, o a que estas poblaciones manifiestan cierto grado de resistencia natural a los patógenos por exposición continúa. En particular, los HE se han mostrado como uno de los grupos principales de patógenos asociados con insectos del suelo, descritos por ejemplo sobre geobiontes [Orthoptera (Gryllotalpidae), *Beauveria* sp y *Metarhizium* sp y Coleoptera Scarabaeidae, *Beauveria* sp, *Metarhizium* sp y *Cordyceps* sp], geófilos activos [Isoptera, *Beauveria* sp, *Metarhizium* sp y *Paecilomyces* sp; Lepidoptera (Noctuidae), *Beauveria* sp y *Metarhizium* sp, Diptera (Bibionidae), *Beauveria* sp y *Metarhizium* sp] y geófilos inactivos (Coleoptera Curculionidae, *Beauveria* sp y *Metarhizium* sp).

Potencial futuro y nuevos campos de aplicación de los micoinsecticidas

Hasta la actualidad, los grupos de insectos a cuyo control se destinan los micoinsecticidas comercializados en el mundo por orden decreciente de importancia son: (1) picadores-suctores (moscas blancas, cochinillas, pulgones, trips, araña roja,

etc); (2) plagas de coleópteros (en especial gusanos blancos, gusanos de alambre, escarabajo de la patata, gusano cabezudo, etc.); (3) plagas de lepidópteros (principalmente orugas defoliadoras de varias familias); y (4) langostas (con énfasis en la langosta del desierto en África).

No obstante, dado el carácter sobresaliente del modo de acción de los HE, por contacto, éstos están especialmente adaptados para el control de especies de insectos en otros nichos ecológicos, bien donde el control químico es difícil o inviable (por problemas de salud humana o medioambiental), bien donde su acción está favorecida por las condiciones de humedad, temperatura, etc.

En el primer caso, cabe destacar el gran potencial que se atribuye a los HE para el control de las especies de insectos sinantrópicos y de la entomofauna perjudicial urbana, muy en particular, cucarachas (Orden Blattodea), termitas (Orden Isoptera) y moscas (Orden Diptera), especies del mayor interés en estos ámbitos. Las primeras se benefician del refugio y clima que ofrecen las infraestructuras, de los alimentos y las sustancias de desecho originadas por la actividad humana. Pueden ocasionar problemas sanitarios y provocan repulsión a las personas. Las segundas se alimentan de madera y pueden afectar por tanto a edificios, patrimonio histórico-artístico, plantas leñosas ornamentales, madera almacenada, etc.

Los métodos de control de insectos urbanos, y muy particularmente el uso de insecticidas químicos de síntesis, que son los más importantes, están cada vez más cuestionados por el desarrollo de resistencias y por su toxicidad para el ser humano y animales domésticos, lo que ha provocado que en los últimos años se haya intensificado la búsqueda de alternativas como el control biológico.

Mientras que en ciertos órdenes de insectos, como homópteros, lepidópteros, coleópteros, himenópteros y dípteros, más propios del medio agroforestal o natural, las micosis son frecuentes, no ocurre así con órdenes que han colonizado el medio urbano como las cucarachas y los termes. Sin embargo, los hábitats característicos de estas especies, con temperatura y humedad altas y falta de luz solar, brindan un gran potencial para el uso de HE en los programas de control mediante aplicación inundativa. Además, las múltiples interacciones que el comportamiento social de los termes y las cucarachas impone a los individuos de una colonia, en especial la necrofagia, exaltan para tal fin, a los HE, pues a su acción directa causando la mortalidad de los individuos que entran en contacto con las conidias, debe unirse la transmisión horizontal del inóculo de éstos a los no tratados.

El Bio-Path, o Bengal, fue un intento pionero para el control de cucarachas mediante HE, en concreto *M. anisopliae* (GUNNER et al., 1991). El dispositivo denominado “Cámara de Infección”, contenía una capa de agar que aseguraba un nivel de humedad adecuado para mantener viables las esporas del aislado en su interior, donde los insectos eran atraídos por el agua contenida en la formulación. Al entrar en la cámara se inoculaban principalmente por contacto (GUNNER et al., 1991) y podían transmitir, una vez de vuelta en la colonia, la enfermedad horizontalmente a sus congéneres. En Guatemala se comercializa en la actualidad el ZeroOK® a tal efecto. También existe un micoinsecticida comercializado en la India,

Pacer®), para el control de termes.

En el caso de los HE en que su acción está favorecida por las condiciones ambientales, cabe destacar a los insectos de suelo, bien aquéllos adaptados a vivir en este medio, geobiontes, bien los que tienen relaciones ocasionales, o incluso frecuentes, con éste, los geófilos. Como se mencionó anteriormente, se estima que más del 80% de las especies de insectos que interfieren con las plantas cultivadas pasan en el suelo parte de su ciclo vital, lo que les señala como fuente y origen de un gran número de plagas de insectos en la agricultura. Existen varios micoinsecticidas destinados al control de geobiontes de gran importancia agrícola, como coleópteros elatéricos, escarabéidos, e incluso para larvas de dípteros tipúlidos y bibiónidos. Sin embargo, la gran oportunidad que ofrecen los HE para el control de insectos geófilos, bien activos, que frecuentan el suelo de manera habitual para buscar su alimento causando daños en partes aéreas (p. e. larvas de noctuidos; larvas de *Zabrus*; larvas del gusano cabezudo) o subterráneas (p. e. moscas de las hortalizas; curculiónidos: *Cleonus*; *Ceutorrhynchus*, *Otiorrhynchus*, etc.), bien inactivos, que sólo van al suelo para pasar estados de quiescencia o de diapausa, y que siempre originan problemas a las partes aéreas, hojas, yemas, brotes, flores, frutos y semillas [p. e. Thysanoptera: *Frankliniella occidentalis* (Pergande) (Thripidae), *Haplothrips tritici* (Kurdjumov) (Phlaeothripidae); Diptera: *Rhagoletis cerasi* Loew (Tephritidae), *C. capitata*, agromícidos; Lepidoptera: *Thaumetopoea pityocampa* Schiff (Thaumetopoidae); Hymenoptera: *Hoplocampa* spp, etc.], aún no ha sido explotada.

Son los dípteros tefrítidos los que han recibido más atención en los últimos años, pues la estrategia de control de los mismos mediante HE puede estar dirigida tanto a adultos en aplicaciones aéreas totales, parciales o mediante dispositivos de atracción e infección; como a las pupas en el suelo, mediante aplicación debajo de la copa de los árboles. Dada su importancia clave en sistemas frutícolas mediterráneos, destaca el potencial de esta doble estrategia para el control de la mosca mediterránea de la fruta *C. capitata* y la mosca del olivo *B. oleae*.

El gusano cabezudo, *Capnodis tenebrionis* Linnaeus (Coleoptera: Buprestidae), es otra de las plagas de gran relevancia en la fruticultura mediterránea donde una vez más, los HE pueden ser utilizados en una estrategia de biocontrol dirigida a adultos, mediante bandas de fibra impregnadas de conidias anilladas al árbol, o a las larvas, mediante su aplicación al suelo.

Finalmente, existe un interés creciente en la aplicación de los HE para el control de importantes parásitos animales como *Varroa destructor* Mesostigmata: Varroidae), parásito de la abeja melífera; e incluso humanos, como *Triatoma infestans* (Klug), heteróptero reduído hematófago, vector de la enfermedad de Chagas, cuyas poblaciones naturales son reguladas en cierta medida (1,5 a 3,3%) por *B. bassiana*, que además presenta un gran potencial para el control de la especie por inundación.

BACTERIAS ENTOMOPATÓGENAS

La posibilidad de utilizar patógenos de insectos para el control de plagas surgió en el siglo XIX con el descubrimiento de microorganismos patógenos de insectos. Entre ellos, los más efectivos y que han permitido el desarrollo de bioinsecticidas comerciales han sido las bacterias del género *Bacillus*, los hongos, los baculovirus, y los nematodos. De todos ellos, *Bacillus thuringiensis* (Berliner) es el más utilizado y sus productos suponen más del 90% del mercado de bioplaguicidas (SWADENER, 1994). En España se estima que el 3% de las ventas de insecticidas corresponden a insecticidas biológicos, de los que el 80% se deben a productos basados en *B. thuringiensis*.

Las principales ventajas para la utilización de bioinsecticidas bacterianos se deben a su alta actividad insecticida y a su particular modo de acción. Para algunas plagas, la actividad insecticida de algunos productos es comparable a la de los insecticidas químicos. Su modo de acción es muy específico, aunque no tan limitado como el de los baculovirus y nematodos. Por su especificidad de acción, sus efectos secundarios contra especies no diana son casi nulos, incluyendo fauna auxiliar y vertebrados. Al igual que otras clases de bioinsecticidas, los basados en bacterias entomopatógenas no comparten el modo de acción con los insecticidas químicos, por lo que no se pueden originar casos de resistencia cruzada. Esta es la razón por la que los bioinsecticidas bacterianos se han utilizado extensivamente en aquellas zonas donde ha aparecido resistencia a los insecticidas químicos. Otra ventaja es que, por su inocuidad para humanos, no existen plazos de seguridad, por lo que los bioinsecticidas basados en *B. thuringiensis* se suelen usar cuando es necesario proteger el cultivo poco tiempo antes de su recolección.

Los bioinsecticidas basados en *B. thuringiensis* son ampliamente usados en silvicultura, en el control de vectores de enfermedades humanas y en la agricultura en general, pero especialmente en la agricultura ecológica y en cultivos de invernadero.

Bacillus thuringiensis

La primera mención conocida de *B. thuringiensis* data del año 1901, cuando el biólogo japonés Shigetane Ishiwata la aisló como el agente causante de la enfermedad de "Sotto" (Suden-collapse bacillus) en larvas del gusano de seda (*Bombyx mori* (L.) (Lepidoptera: Bombycidae)). La denominación actual de *B. thuringiensis* le fue dada en el año 1915 cuando el científico alemán Ernst Berliner, nombró así a una bacteria cuyos aislados había obtenido 4 años antes en la región alemana de Thuringia a partir de larvas infestadas de la polilla gris de la harina (*Ephestia kuehniella*, Zeller (Lepidoptera: Pyralidae)).

Ecología y biología de *B. thuringiensis*

Se ha conseguido aislar cepas de *B. thuringiensis* de casi todos los hábitats, por lo que actualmente se le considera como una bacteria ubicua. Su tamaño oscila entre 1,0-1,2 µm de ancho y 3-5 µm de largo y da positivo en la tinción de Gram.

Es casi imposible diferenciar *B. thuringiensis* de *B. cereus* (Frankland &

Frankland) y presenta también una relación muy estrecha con *B. anthracis* (Cohn) y *B. mycoides* (Flügge). Sin embargo, hay una diferencia que hasta el momento ha permitido realizar satisfactoriamente esta diferenciación. La mayoría de las cepas clasificadas dentro de *B. thuringiensis* producen inclusiones cristalinas durante la fase de esporulación que son fácilmente detectables por microscopía óptica de contraste de fases. El método más empleado para clasificar aislados de *B. thuringiensis* es la identificación serológica del antígeno flagelar (antígeno H).

Las esporas son muy resistentes a las altas y bajas temperaturas y a la desecación, y son capaces de sobrevivir en etanol 95% durante largos períodos de tiempo. Son muy sensibles a la luz ultravioleta y pierden la viabilidad en menos de 24 horas cuando son expuestas a la luz solar.

Las inclusiones cristalinas paraesporales que se producen durante la esporulación están formadas fundamentalmente por proteínas llamadas δ -endotoxinas, que representan entre el 20 y el 30% del peso seco del esporangio, aproximadamente 0,5 mg de proteína por ml de cultivo en condiciones de laboratorio.

La morfología del cristal puede ser muy variada y normalmente está relacionada con el tipo de proteínas que contiene. Así, los cristales bipiramidales están formados por las proteínas del tipo Cry1, los cúbicos por las Cry2, los planos por las Cry3, los esféricos por las Cry4, etc. Además existen cristales con formas poliédricas e irregulares.

Toxinas de *B. thuringiensis*

Las δ -endotoxinas

El principal factor tóxico de esta bacteria radica en las δ -endotoxinas que componen los cristales paraesporales, también conocidas como proteínas Cry (*Crystal proteins*) o ICPs (*Insecticidal Crystal Proteins*), términos provenientes del inglés. Se ha identificado un gran número de especies de invertebrados susceptibles a la acción de las proteínas Cry, especialmente entre los insectos pertenecientes a los órdenes Lepidoptera, Coleoptera y Diptera. También se ha descrito su efecto contra nematodos, ácaros y protozoos. Una de las propiedades fundamentales de cada proteína Cry es la especificidad para su diana. Sólo son tóxicas para un número muy reducido de especies, incluso se han aislado cepas de *B. thuringiensis* cuyas toxinas no han mostrado toxicidad para ninguna de las dianas contra las que se han probado, aunque no se descarta que puedan serlo para alguna no estudiada aún. Como consecuencia de lo anterior, el efecto de estas toxinas sobre la fauna auxiliar, los enemigos naturales, los animales superiores y el hombre es casi nulo.

Se han realizado varios estudios sobre el papel que juega la espora en la toxicidad de las cepas de *B. thuringiensis*. Hay ejemplos en los que se ha demostrado que ésta puede actuar de forma sinérgica con las proteínas Cry de tal forma que la toxicidad de las toxinas puras puede aumentar de forma significativa.

Dentro de las δ -endotoxinas se encuentran también unas proteínas que no presentan homología de secuencia ni de estructura terciaria con las proteínas Cry. Son conocidas como proteínas Cyt por la acción citolítica que las caracteriza *in vitro*.

Forman un cristal redondeado o poliédrico que contiene proteínas de alrededor de 27 kDa.

Cuando las toxinas Cyt se expresan aisladamente, su toxicidad para las larvas de dípteros es muy baja. Sin embargo, se ha encontrado que actúan de forma sinérgica con las proteínas Cry presentes en los cristales producidos por *B. thuringiensis* var. *israelensis*. Se propone que la alta efectividad contra mosquitos que tienen los formulados de *B. thuringiensis* var. *israelensis* se debe a que expresan conjuntamente ambos tipos de toxinas. Además, se especula que la ausencia de resistencia a estos formulados se debe también al sinergismo entre ellas.

Otros factores tóxicos de Bt

Aunque las δ -endotoxinas se producen en la fase de esporulación, durante la fase vegetativa del crecimiento se produce también una cantidad considerable de factores tóxicos, entre los cuales se encuentran:

β -exotoxina. Esta toxina, conocida como turingiensina por haber sido detectada por primera vez en el serovar *thuringiensis*, también se ha encontrado en los serovares *kurstai*, *sotto*, *kenyae*, *galleriae*, *aizawai*, *morrisoni*, *tolworthi*, *darmastadiensis*, *toumanoffi*, *thompsoni* y *kumamotoensis*.

Se ha descrito su toxicidad frente a un amplio espectro de organismos: lepidópteros, dípteros, himenópteros, hemípteros, isópteros, ortópteros, nematodos y ácaros. Se ha demostrado que posee efectos tóxicos sobre los órganos de los vertebrados, particularmente el hígado, los riñones y las glándulas suprarrenales. En humanos, provoca un incremento en el número de aberraciones cromosómicas en cultivos de células de la sangre.

Varios países incluyen como requisito para el registro de productos basados en cepas de *B. thuringiensis* la ausencia de (β -exotoxina). No obstante, su efectividad para controlar plagas de mosquitos y moscas hace que en algunos países del este de Europa y en África se comercialicen productos que contienen esta toxina.

Proteínas insecticidas vegetativas. Estas proteínas conocidas por sus siglas en inglés (Vip) se expresan a partir de la segunda mitad de la fase logarítmica del crecimiento y continúan expresándose en la fase de esporulación de *B. thuringiensis*. No forman cristal y se secretan al medio de cultivo. La proteína Vip3A es tóxica para los lepidópteros noctuidos *Agrotis ipsilon* (Hufnagel), *Spodoptera frugiperda* (Smith), *Spodoptera exigua* (Hübner), *Heliothis virescens* (F.) y *Helicoverpa zea* (Boddie). Aproximadamente el 15% de las cepas de *B. thuringiensis* examinadas poseen homólogos de esta proteína. Aunque el modo de acción de las proteínas Vip presenta diferencias respecto al de las proteínas Cry, ambos tipos actúan de forma similar ya que se unen a las células epiteliales del intestino medio del insecto provocando su posterior lisis. Sin embargo, se ha determinado que la posibilidad de que se desarrolle resistencia cruzada entre ambos tipos de proteína es muy baja por lo que son excelentes candidatas para incluirlas en los programas de manejo de la resistencia a las proteínas.

Otros factores. Se han identificado cepas de *B. thuringiensis* que expresan hemolisinas y enterotoxinas similares a las de *B. cereus* y además, se ha propuesto que exoenzimas como las quitinasas, proteasas y fosfolipasas participan activamente en la toxicidad.

A pesar de producir tal cantidad de factores tóxicos, el efecto de la mayoría de las cepas de *B. thuringiensis* sobre los mamíferos es prácticamente nulo. Las pruebas realizadas demuestran que *B. thuringiensis* no presenta toxicidad aguda, ni crónica. Tampoco se observan efectos mutagénicos, teratogénicos, carcinogénicos, ni sobre la capacidad reproductiva de diferentes animales.

Clasificación de las δ -endotoxinas

Los genes de las proteínas Cry se nombran según un sistema basado en la similitud de las secuencias de aminoácidos que las codifican. Actualmente ya han sido clasificados 161 holotipos correspondientes a las proteínas Cry y 9 a las Cyt. Esta lista es revisada periódicamente por un comité que se encarga de incluir los genes nuevos que se describen.

Biotecnología basada en *B. thuringiensis*

Productos comerciales de pulverización

El espectro cubierto por los más de 100 productos del mercado abarca varias de las plagas más importantes, todas ellas de los órdenes Lepidoptera, Coleoptera y Diptera. En España hay registrados 50 productos con un ámbito de aplicación muy amplio en la agricultura, representando el 80% de las ventas de productos bioinsecticidas.

Aunque se han utilizado más de 10 serotipos diferentes, el más común en los formulados es el *kurstaki*, fundamentalmente la cepa HD-1, que ha demostrado ser efectiva contra 167 especies de lepidópteros. Para el control de plagas de coleópteros la cepa utilizada es *tenebrionis*, perteneciente al serotipo *morrisoni*, aunque en este caso el espectro de acción es mucho más reducido que para los lepidópteros, ya que sólo algunas pocas especies de coleópteros resultan susceptibles a *B. thuringiensis*, entre ellas el escarabajo de la patata (*Leptinotarsa decemlineata* Say Coleoptera: Chrysomelidae)). Para el control de mosquitos y simúlidos se utilizan ampliamente formulados a base del serotipo *israelensis*.

Algunos productos utilizan las toxinas de *B. thuringiensis* “encapsuladas” (tecnología llamada Cell-Cap,) con el fin de paliar la baja persistencia en campo de los productos basados en *B. thuringiensis*, debida a la labilidad de los cristales paraesporales ante los rayos ultravioletas del sol. Esto se consigue expresando genes *cryen* la bacteria *Pseudomonas fluorescens* (Mikula). Después del crecimiento de esta bacteria en fermentador, ésta se elimina por medios químicos, de este modo se evita el problema de la liberación de un organismo genéticamente modificado. La proteína Cry queda confinada en el interior de la célula de *P. fluorescens*, quedándose protegida por la pared celular. Existen algunos productos comerciales de este tipo

(MVP® y MTrak®, entre otros) que han mostrado mayor persistencia en campo que *B. thuringiensis*.

Se han realizado manipulaciones genéticas de las cepas naturales de *B. thuringiensis* con el objetivo de aumentar el espectro de acción de éstas. Así, por conjugación-curación de los plásmidos que contienen las proteínas Cry, se han obtenido las cepas llamadas "transconjugantes", como la EG2424, materia activa del producto comercial Foil®, que es activa tanto para el taladro del maíz, *Ostrinia nubilalis* (Hübner) (Lepidoptera: Pyralidae), como para el escarabajo de la patata, *L. decemlineata*. De manera similar se ha obtenido la cepa EG2348, ingrediente activo del producto Condor®. Asimismo, con un objetivo similar, se han obtenido cepas "recombinantes" donde se realiza la clonación de genes *cry* para su expresión conjunta. Un ejemplo de cepa obtenida por este método es el ingrediente activo del insecticida comercial Raven®, que también es activo contra lepidópteros y coleópteros.

Una de las ventajas de la comercialización de los bioinsecticidas basados en *B. thuringiensis* respecto a los productos de los demás microorganismos entomopatógenos es la capacidad de esta bacteria de crecer en fermentadores en medios nutritivos artificiales. Lo cual permite un gran abaratamiento de los costes de producción, comparados con los que se requerirían si únicamente pudiesen crecer sobre un cultivo del insecto diana.

La forma habitual de producción es mediante el crecimiento en un fermentador que contiene sustancias de desecho procedente de la industria agroalimentaria. Después de agotarse los nutrientes, la bacteria esporula y libera al medio la materia activa principal: los cristales proteicos que contienen las δ -endotoxinas. Éstos son concentrados por centrifugación u otros métodos, para ser finalmente mezclados con los coadyuvantes adecuados: estabilizantes, humectantes, protectores solares, mojantes, etc.

A diferencia de los productos químicos, la potencia de los bioinsecticidas basados en *B. thuringiensis* no se puede determinar mediante un análisis físico-químico. La materia activa no es una molécula única y simple; es una mezcla de proteínas de entre 70 y 130 kDa. Aunque se determinara su presencia por los métodos apropiados y se cuantificaran, no sería fácil discriminar entre las moléculas activas y aquéllas que están degradadas o que han perdido su conformación nativa. Es por ello que la determinación de la potencia insecticida de estos productos se realiza mediante bioensayos utilizando un producto de referencia, que será distinto según la naturaleza del insecto diana (lepidóptero, coleóptero o díptero) y al que se le asigna arbitrariamente un valor de unidades internacionales de potencia.

Para los productos eficaces contra lepidópteros se ha escogido como insecto de referencia al falso medidor de la col, *Trichoplusia ni* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae), y un formulado de la cepa HD-1 perteneciente al serotipo *kurstaki*. A este producto de referencia se le dio el nombre HD1-S-1980, porque se produjo en 1980. Este estándar está agotado y en 2005 se produjo un nuevo lote de la misma cepa para repartir entre los laboratorios implicados en la estandarización de estos productos

para sustituir al anterior (estándar HD-1-S2005). Para la determinación de la potencia de los bioinsecticidas basados en *B. thuringiensis* usados para el control de coleópteros o dípteros se han escogido otros productos de referencia basados en cepas activas contra estos órdenes de insectos (BEEGLE, 1990).

Plantas transgénicas resistentes a insectos

La expresión *in planta* de genes bacterianos que codifican proteínas insecticidas con la consiguiente protección frente al ataque de insectos, ha sido sin lugar a dudas, el avance más espectacular de los últimos años en el campo de la protección de cultivos (SHELTON *et al.*, 2002). Es el modo más eficaz de alargar la permanencia de las proteínas insecticidas en la planta tanto como se desee, desde su expresión puntual en algunas etapas del desarrollo o en algunas partes de la planta, hasta su expresión en todo el ciclo de vida del cultivo y de forma sistémica en todos los tejidos vegetales. Esta tecnología, desarrollada durante la década de los 80, ha dado lugar a lo que conocemos actualmente como cultivos *Bt*, los cuales están protegidos frente a los ataques de sus plagas principales al expresar las proteínas insecticidas Cry de *B. thuringiensis*.

En 2006, los cultivos *Bt* se plantaron en 32 millones de hectáreas y dicha superficie crece año tras año, siendo EE UU el país que encabeza la lista. Los dos cultivos *Bt* principales son el maíz y el algodón (en este orden), los cuales representan una tercera parte de todos los cultivos transgénicos plantados con propósitos comerciales. Otros cultivos *Bt*, o bien ya se han comercializado (patatas) o están en vías de comercialización a corto (arroz) o a medio plazo (soja, caña de azúcar, berenjena y colza). Las proteínas Cry de *B. thuringiensis* confieren al maíz una excelente protección frente a los taladros, de difícil control con insecticidas convencionales por sus hábitos endofíticos. Respecto al cultivo del algodón, el algodón *Bt* reduce drásticamente el número de tratamientos requeridos, alrededor de la mitad.

A pesar de la reticencia de la UE respecto a la adopción de los cultivos transgénicos, España es el país de la UE con más superficie plantada con cultivos *Bt* (en concreto, maíz), con unas 54.000 ha. La protección que confiere frente a los taladros *O. nubilalis* y *Sesamia nonagrioides* (Lefebvre) (Lepidoptera: Noctuidae) es excelente.

Los cultivos de segunda generación combinan más de un gen de *B. thuringiensis*, tanto para conferir mayor protección frente a una misma plaga (evitando de manera más efectiva la posible aparición de resistencia) como para ampliar el espectro de acción. Actualmente se comercializa el algodón Bollgard II[®], que combina dos genes *cry* efectivos contra lepidópteros (*cry1Ac* y *cry2Ab*). Otras combinaciones, tanto en algodón como en maíz, están en fase de pruebas de campo o incluso muy cercanas a la comercialización.

Modo de acción

El análisis de los fenómenos que ocurren durante la interacción de las proteínas Cry con el insecto ha permitido la comprensión de los mecanismos que han provo-

cado o que podrían provocar el desarrollo de resistencia en los insectos diana. Además, dicha comprensión ha sido determinante en el diseño de nuevas toxinas de *B. thuringiensis* más efectivas, así como definir estrategias de control para favorecer un uso prolongado y efectivo de las mismas.

Las observaciones realizadas en larvas atacadas por las toxinas indican que el primer síntoma de su efecto es la parada de la alimentación durante la primera hora tras ingerir la toxina. El insecto va reduciendo su movilidad llegando a la parálisis a las 6 horas aproximadamente, dependiendo de la cantidad de toxina ingerida. Finalmente el insecto muere por inanición o septicemia.

En el ámbito microscópico, las microvellosidades intestinales desaparecen, los núcleos de las células epiteliales migran hacia la membrana apical y su retículo endoplasmático y sus mitocondrias se desintegran gradualmente. Las células afectadas se vacuolizan e hinchan y algunas se desprenden de la membrana basal. Finalmente se produce la lisis celular y muerte del tejido.

Resistencia a las toxinas de *B. thuringiensis*

Al igual que en los insecticidas químicos, se encontró que los insectos eran capaces de desarrollar resistencia a las toxinas de *B. thuringiensis*. El primer caso descrito fue en 1985, en una colonia de *Plodia interpunctella* (Hübner) (Lepidoptera: Phycitinae) que había sido seleccionada en el laboratorio con el producto comercial Dipel®. Posteriormente se ha publicado un gran número de trabajos que describen el desarrollo de resistencia a las proteínas Cry en varias especies de insectos. En la mayoría de estos casos la resistencia se ha desarrollado después de la selección en el laboratorio. Sólo una especie, *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Yponomeutidae), aunque en distintas ocasiones y lugares, ha sido capaz de desarrollar resistencia a productos comerciales de *B. thuringiensis* en poblaciones de campo. Otra especie, *T. ni*, lo ha hecho en invernaderos.

Cada fase del modo de acción de las proteínas insecticidas de *B. thuringiensis* es un punto potencial para el desarrollo de resistencia. Sin embargo, entre todos los mecanismos de resistencia que se han encontrado, el que da lugar a niveles de resistencia más elevados y ha sido mejor caracterizado, es el de la pérdida de la capacidad de unión de las proteínas Cry a los receptores de membrana. Éste es también el mecanismo que ha sido encontrado en las poblaciones que han desarrollado resistencia de manera natural (sin selección en laboratorio). También se han descrito otros mecanismos de resistencia menos comunes, sin embargo son generalmente responsables de contribuir a niveles de resistencia más moderados. Entre ellos, el más estudiado ha sido el que induce la alteración del procesado proteolítico en el intestino.

La resistencia a las proteínas Cry muestra una herencia autosómica y generalmente recesiva o parcialmente recesiva, aunque se han seleccionado colonias cuya resistencia es dominante o parcialmente dominante. Sin embargo, para los casos de resistencia que han aparecido de manera natural (en *P. xylostella* y en *T.ni*) la resistencia ha sido siempre recesiva o parcialmente recesiva. Esto tiene gran

relevancia a la hora del diseño de estrategias para el manejo de la resistencia, pues si la herencia es dominante, el número de generaciones para que ésta se establezca en la población e inutilice al insecticida es mucho más corto que en el caso de herencia recesiva. De hecho, la venta de cultivos *Bt* viene acompañada, al menos en los EE UU, del compromiso de dedicar un porcentaje del cultivo a plantas no *Bt* que sirvan de refugio para el desarrollo de insectos susceptibles que puedan aparearse con los posibles insectos resistentes que pudieran aparecer en el cultivo principal *Bt*, generando de este modo descendencia heterocigótica susceptible. Esta estrategia sería inútil si la resistencia fuera dominante. Es interesante resaltar que, en la mayoría de los casos, la resistencia a las proteínas Cry es inestable y decae, lo que indica la asociación/ligamiento a genes que afectan la eficacia biológica. Esto es un requisito indispensable para el buen funcionamiento de las estrategias de manejo que incluyen en la rotación productos basados en *B. thuringiensis*, ya sean de pulverización o cultivos *Bt*.

Otras bacterias entomopatógenas

Simbiontes con nematodos

Las bacterias de los géneros *Photorhabdus* y *Xenorhabdus* viven en simbiosis con nematodos entomopatógenos que son capaces de penetrar la cutícula de los insectos. Una vez dentro, las bacterias son regurgitadas, comienzan a replicarse y desprenden unas toxinas que matan al insecto hospedador. Los nematodos a su vez también se reproducen y se alimentan en el interior del insecto hasta que tras varias generaciones destruyen completamente el cadáver, saliendo posteriormente en busca de nuevos huéspedes.

Los bioensayos realizados con las toxinas expresadas por estas bacterias han logrado determinar que pueden ser tóxicas para algunos lepidópteros plaga como *Manduca sexta* (L.) (Lepidoptera: Sphingidae), *P. xylosteIIa* y *Pieris brassicae* (L.) (Lepidoptera: Pieridae). Asimismo, gracias a estos estudios también se ha podido detectar actividad contra coleópteros, dictiópteros, himenópteros y dípteros. El mecanismo de acción de estas toxinas no es conocido aún, aunque se sabe que causan daños muy importantes en el intestino del insecto, provocando la muerte en 1 ó 2 días. En los últimos años, se han obtenido grandes avances en la clonación de los genes que codifican a estas toxinas, y se piensa, en la posible obtención de plantas transgénicas que las expresen para sustituir a las plantas *Bt* en caso de que éstas dejen de ser efectivas como consecuencia del desarrollo de resistencias.

Enfermedad de la espina lechosa (Milky disease)

A finales de los años 30 del siglo pasado, *Bacillus popilliae* (Dutky) y *Bacillus lentimorbus* (Dutky) fueron aisladas de la hemolinfa de las larvas del escarabajo japonés (*Popillia japonica* Newman (Coleoptera: Scarabaeidae)) como causantes de la enfermedad de la espina lechosa (del inglés Milky disease). Posteriormente se demostró que estas bacterias también producen síntomas similares en otros representantes de la familia Scarabaeidae.

Las esporas ingeridas por las larvas germinan y las bacterias colonizan al insecto, que sigue viviendo entre 2 y 3 semanas hasta que muere a causa de la infección. Al final del proceso se produce la esporulación del cultivo alcanzándose entre $2-5 \times 10^9$ esporas por larva, esto provoca que la hemolinfa se torne del color turbio y lechoso, dando nombre a la enfermedad. Una vez muerta la larva, las esporas salen al ambiente que, tras ser ingeridas por otros individuos, repiten el ciclo y propagan la infección, logrando un control efectivo de la población al introducirse la bacteria en determinada zona geográfica.

Las esporas de esta bacteria fueron registradas en 1948 en los Estados Unidos como materia activa para el control del escarabajo japonés, constituyendo el primer producto microbiológico registrado para su uso en la agricultura. Entre los años 1939 y 1951 las agencias gubernamentales de los Estados Unidos produjeron casi 7.000 kg de esporas. Estas esporas fueron distribuidas como parte de un programa de colonización entre 16 estados del este y el Distrito de Columbia, considerándose un éxito al lograr de manera general la reducción de la población del escarabajo.

Es importante conocer que, debido a la alta especificidad de *B. popilliae*, las esporas de esta bacteria no son capaces de infectar a insectos de otros órdenes, ni a los gusanos de tierra, las aves, las plantas o los mamíferos. Además, desde los años 40, se han venido utilizando para el control del escarabajo japonés sin que se tenga constancia de efectos adversos para el medio ambiente.

La gran desventaja para el uso extensivo de esta bacteria como agente de control biológico radica en el alto coste que tiene la obtención de la materia activa (esporas) ya que no se ha logrado desarrollar un medio de cultivo artificial que permita la producción a escala industrial de las esporas.

Virus entomopatógenos

Virus entomopatógenos y su potencial insecticida

Un virus es una entidad microbiológica, no celular, que tiene un genoma con capacidad de replicarse y adaptarse a los cambios ambientales. Sin embargo, los virus se caracterizan por no poder capturar y almacenar energía libre y no ser funcionalmente activos fuera de las células de sus huéspedes. En este sentido, un virus se puede definir como un biosistema elemental que, en su forma más sencilla, está constituido por un ácido nucleico protegido en una cápsula proteica. Los virus son patógenos obligados pero no son considerados como genuinos microorganismos de vida libre. Actualmente, se conocen más de 1.600 virus patógenos de invertebrados que afectan a un importante número de especies, la mayoría de las cuales son insectos pertenecientes a 13 órdenes distintos.

Los virus entomopatógenos tienen partículas cuya morfología es muy variable tanto en forma como en tamaño y pueden ser de DNA o RNA de hebra simple o doble. En algunos virus, la nucleocápsida (ácido nucleico + cápsida proteica) puede estar envuelta por una bicapa lipídica, en cuyo caso forma un virión. Los viriones, a su vez, pueden estar, o no, incluidos en una matriz proteica que se denomina cuerpo

de inclusión (OB, del inglés *occlusion body*).

Las bases genéticas para describir los virus como especies fueron establecidas por Bishop (1985). Todos los virus patógenos de insectos se agrupan en 15 familias y 33 géneros sin que hasta ahora se hayan definido, para la mayoría de los grupos, otros niveles taxonómicos de clasificación superiores.

La formación del OB es una característica común de las familias Baculoviridae, Poxviridae y Reoviridae, en las cuales esta estructura ha evolucionado de forma independiente como un mecanismo de protección contra la degradación ambiental, que les confiere una gran ventaja como bioplaguicidas. En los baculovirus (Baculoviridae), concurren otras dos características adicionales que hacen que hayan recibido mayor atención y alcanzado mayor desarrollo como insecticidas que cualquier otro grupo de virus entomopatógenos:

1) sólo se han aislado de especies del filo Arthropoda, mayoritariamente de la clase Insecta, lo cual representa un alto grado de bioseguridad, tanto para los seres humanos y otros vertebrados, como para la vida silvestre en general,

2) tienen una elevada patogenicidad y virulencia para numerosas especies de insectos que producen importantes plagas.

La familia Baculoviridae incluye los géneros *Nucleopolyhedrovirus* (NPV) y *Granulovirus* (GV). Los NPVs típicamente contienen desde unos pocos hasta varias decenas de viriones dentro de cada OB. Se reconocen dos tipos morfológicos, aquellos cuyos viriones contienen característicamente una sólo nucleocápsida (SNPVs) y los que contienen múltiples nucleocápsidas (MNPVs). Tanto los MNPVs como los SNPVs han sido aislados mayoritariamente de especies pertenecientes al orden Lepidoptera, aunque los SPNVs también se han aislado de algunas especies de los órdenes Hymenoptera, Diptera, Thysanura y Trichoptera. Los NPVs se replican en el núcleo de las células de varios tejidos (poliorganotróficos), incluida la epidermis, de las larvas infectadas en donde se producen millones de OBs que son diseminados al medio después de la muerte del insecto. En cambio, los GVs se caracterizan por tener viriones de tipo simple, los cuales están incluidos individualmente en los OBs. Los GVs sólo han sido aislados de especies de Lepidoptera, pero los tejidos afectados y patología son muy similares a la de los NPVs. Tanto los NPVs como los GVs originan epizootias naturales que a veces son muy llamativas. Algunos de los NPVs y GVs más patogénicos y con tiempos letales más cortos han sido desarrollados comercialmente como insecticidas microbianos. En la actualidad se intenta seleccionar NPVs y GVs con mayor potencial insecticida, así como optimizar los sistemas de producción de OBs y los métodos y técnicas de formulación y aplicación para su desarrollo como insecticidas biológicos.

En la familia Poxviridae, los virus específicos de insectos se encuentran clasificados en la subfamilia Entomopoxvirinae, que se caracterizan por formar OBs denominados esferoides. Los entomopoxvirus (EPVs) se han agrupado en tres géneros y un grupo de virus, aún no clasificados, en función de que hayan sido aislados de especies de Coleoptera (*Alphaentomopoxvirus*), Lepidoptera y Orthoptera (*Betaentomopoxvirus*), Diptera (*Gammaentomopoxvirus*) e Hymenoptera (virus no

clasificados). Las larvas de lepidópteros infectadas por EPVs se hinchan y adquieren una apariencia blancuzca. Su muerte puede ocurrir a los 12 días o retrasarse hasta más de 70 días de haberse iniciado la infección. En Coleoptera, el desarrollo de la infección puede ser todavía más lento. Los EPVs aislados de algunas especies de insectos que originan plagas, sobre todo en aquellas para las que no hay baculovirus descritos, podrían ser utilizados como agentes de control biológico una vez mejoradas sus propiedades insecticidas, sobre todo el tiempo letal.

En la familia Reoviridae, los de mayor interés para su desarrollo como bioplaguicidas son los virus de la poliedrosis citoplásmica (CPVs) que se encuentran agrupados en el género *Cypovirus*. Los OBs que forman son muy parecidos a los de los NPVs con los cuales es fácil confundirlos fuera de la célula; en cambio, dentro de la célula es fácil diferenciarlos ya que los OBs de los CPVs se forman en el citoplasma mientras que en los NPVs, los OBs se forman en el núcleo. Se han aislado, principalmente, de especies de Lepidoptera y con menor frecuencia de especies de Diptera, Hymenoptera, Coleoptera y Neuroptera. Los CPVs se transmiten por vía oral; los OBs se disuelven en el mesenterón y los viriones sólo afectan a las células epiteliales, con la excepción de algunas especies de CPVs que también afectan al cuerpo graso y otros tejidos. Los CPVs son muy infecciosos pero actúan muy lentamente y son más frecuentes las infecciones crónicas que las infecciones francas. Hasta la fecha, no se han desarrollado bioinsecticidas comerciales. No obstante, se cree que su mayor potencial para el control biológico de plagas es mediante la realización de sueltas inoculativas o aumentativas.

El resto de las familias de virus entomopatógenos han sido menos estudiadas o tienen poco interés, por diversas razones, para ser desarrollados como agentes de control. Los ascovirus (Ascoviridae) producen enfermedades crónicas con consecuencias fatales en especies de Lepidoptera y también se han aislado de parasitoides ichneumónidos. Al contrario de lo que ocurre con otros virus de insectos, son poco infectivos pero se inducen la apoptosis como parte de un mecanismo que favorece su replicación y la formación de grandes vesículas repletas de viriones que circulan libremente por la hemolinfa del insecto infectado. Los himenópteros endoparasitoides adquieren en su ovipositor los viriones y vesículas virales durante pruebas de parasitismo y los transmiten a más de un 80% de los insectos en los que seguidamente pinchan el ovipositor. Dicho mecanismo opera muy eficientemente en condiciones de campo por lo que estos virus pueden ser un importante componente del complejo de enemigos naturales en poblaciones de lepidópteros.

Los virus entomopatógenos de la familia Iridoviridae se incluyen en los géneros *Iridovirus* y *Chloriridovirus* y han sido aislados de Coleoptera, Diptera, Hemiptera, Lepidoptera y Orthoptera. Generalmente producen infecciones crónicas, mientras que las infecciones letales son poco frecuentes, lo que unido a su baja infectividad hace que tengan poco potencial para el control biológico de plagas. Las infecciones subletales son frecuentes en las poblaciones naturales de insectos y pueden provocar cambios importantes en la capacidad reproductiva, supervivencia y tamaño corporal de los insectos con infecciones ocultas.

En la familia Parvoviridae los virus patógenos de insectos se encuentran en los géneros *Oensovirus*, *Iteravirus*, *Brevidensovirus* y *Petudensovirus*. Inicialmente fueron aislados de *Galleria mellonella* (L.) (Lepidoptera: Pyralidae) y después, de especies de Diptera, Orthoptera, Blattodea, Odonata y otras especies de Lepidoptera. Los densovirus tienen una elevada virulencia e infectividad para algunas de sus especies huéspedes que originan plagas. Sin embargo, su elevada homología con otros parvovirus que son patógenos para vertebrados, incluidos los humanos, limita sus posibilidades con vistas a ser desarrollados como agentes de control. Son necesarios estudios más detallados sobre su especificidad y tropismo tisular para poder valorar con más precisión la posible utilidad de estos virus como bioinsecticidas.

Los virus de la familia Polydnviridae sólo han sido aislados de especies de parasitoides braconídeos (*Bracovirus*) e ichneumonídeos (*Ichnovirus*). Se caracterizan por mantener una relación mutualista obligada con las especies de himenópteros a las que afectan; el DNA del virus se integra en el DNA genómico del insecto que de esta manera lo transmite a su descendencia. El virus se escinde del genoma del himenóptero y sólo se replica en el cáliz de los ovarios sin efectos patogénicos para éste. Cuando la hembra del parasitoide oviposita en un insecto huésped, el virus es transferido junto con los huevos para suprimir el sistema inmune del huésped y favorecer la supervivencia del huevo y la larva del parasitoide. La posibilidad de utilizar estos virus, o ciertos genes de estos virus, con el propósito de suprimir el sistema inmune de un insecto plaga, para favorecer la infección por otros patógenos, requiere de una caracterización previa de los mecanismos implicados en el modo de acción de estos virus.

Los pequeños virus RNA más frecuentemente aislados de insectos se encuentran en las familias Nodaviridae y Tetraviridae. En la familia Nodaviridae todos los virus patógenos de insectos se agrupan en el género *Alphanodavirus* y su espectro de huéspedes incluye especies de Coleoptera, Diptera y Lepidoptera. Producen lesiones en el citoplasma de las células de varios tejidos (músculos, nervios, glándulas salivares, etc.) que primero dan lugar a la paralización del insecto y luego a su muerte. Han sido muy estudiados como modelos de virus de RNA pero, por ahora, carecen de interés como agentes de control. Los virus de la familia Tetraviridae sólo infectan especies de Lepidoptera y todos ellos se clasifican en dos géneros *Betatretavirus* y *Omegatetravirus*. Pueden producir infecciones no perceptibles o infecciones letales agudas. En este caso, a los pocos días (8-10) de haber sido infectadas las larvas cambian el color del tegumento, se vuelven flácidas y quedan colgando por las falsas patas de manera parecida a lo que les ocurre a las larvas infectadas por baculovirus. La cápsida del virus es sensible a la radiación UV pero resistente a otras condiciones ambientales (deseccación, proteasas, etc.) que favorecen su transmisión horizontal por ingestión. Debido a ello, estos virus han sido identificados como el agente causante de epizootias en varias especies, algunas de las cuales originan plagas como por ejemplo *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae). A pesar de ello, los tetravirus no han recibido la necesaria atención como agentes de control debido a la dificultad de producirlos.

Otros virus RNA aislados más raramente se han incluido en las familias Birnaviridae, Dicistroviridae, Metaviridae, Pseudoviridae y Rhadoviridae.

Ecología y biología de los baculovirus

Los OBs de los baculovirus pueden sobrevivir fuera del huésped por largos periodos de tiempo, especialmente cuando se encuentran protegidos de la degradación por radiación ultravioleta. La distribución espacial de los OBs varía en función del tipo de ecosistema, de las diferentes combinaciones baculovirus-insectos y de las distintas plantas sobre las que se alimentan los insectos huéspedes. Para explicar, al menos parcialmente, las diferencias respecto a la ocurrencia de epizootias en un mismo sistema huésped-baculovirus se ha propuesto la existencia de ecosistemas permisivos y no permisivos.

Para la mayoría de los baculovirus el principal reservorio de OBs es el suelo. Aquí pueden persistir por periodos más o menos largos aunque afectados por factores tales como valores extremos del pH y las altas temperaturas, el tipo de suelo y la elevada humedad, o la degradación por microorganismos. Para que tenga lugar la transmisión del virus es necesario que haya un transporte de OBs desde el suelo hasta la superficie foliar, donde son ingeridos por insectos susceptibles, lo cual puede ocurrir por la acción del viento y la lluvia. En el mesenterón de las larvas los OBs se desintegran, por la acción combinada de condiciones alcalinas (pH 9-11) Y enzimas proteasas, liberando las partículas infectivas (viriones). Los baculovirus producen varias proteínas que mejoran el proceso infeccioso. Los viriones atraviesan la membrana peritrófica e infectan las células epiteliales en cuyo núcleo tiene lugar la replicación del DNA y la formación de nuevas nucleocápsidas. En las larvas de lepidópteros, estas nucleocápsidas dan lugar a un nuevo tipo de viriones, los viriones brotados, que diseminan la infección por diversos tejidos (cuerpo graso, hemocitos, epidermis, etc.). Parece que los viriones brotados se dispersan en el insecto utilizando el sistema de las traqueolas respiratorias como una red de caminos para llegar a todas partes del cuerpo. Al final del proceso infeccioso, las células repletas de OBs se lisan y la actividad de ciertas enzimas producidas por el virus (p.e. quitinasa y cisteína proteinasa) degradan el tegumento al mismo tiempo que se produce su muerte. Los millones de OBs producidos se liberan del cadáver contaminando así el follaje de las plantas donde sirven de inóculo para infectar nuevos huéspedes, o bien caen al suelo por gravedad o arrastrados por la lluvia. En otros órdenes de insectos, la infección por baculovirus se restringe a las células epiteliales del mesenterón en las cuales hay una producción continua de OBs infectivos que son expulsados con los excrementos.

La eficiencia de la transmisión horizontal del virus depende tanto de la densidad de población del virus como del huésped. Cuanto mayor es la densidad de los insectos susceptibles mayor es la probabilidad de contacto entre el virus y el huésped. Por otra parte, la densidad y la distribución de OBs determina la cantidad de inóculo a la que están expuestos los insectos en la naturaleza. La transmisión horizontal de los OBs, junto con su persistencia en el medio, ha sido el modelo utilizado para el estudio de la ecología de baculovirus; sin embargo, hay evidencias

que indican que la transmisión vertical también juega un importante papel en la supervivencia de estos patógenos, particularmente durante periodos de baja densidad poblacional del huésped. En varios sistemas huésped-baculovirus se han observado bajos porcentajes de mortalidad larvaria en ausencia de una exposición continua al virus, lo cual sugiere la presencia de infecciones persistentes de baculovirus en las poblaciones huéspedes. Una hipótesis admisible es que la transmisión vertical es el resultado de una forma de evolución de los baculovirus como medio para sobrevivir durante periodos de baja densidad del huésped, cuando las oportunidades de transmisión horizontal son limitadas. Además, la transmisión vertical permite que el virus pueda ser transportado dentro del insecto infectado a larga distancia, e iniciar nuevos focos de infección, tal y como ha sido documentado para los nucleopoliedrovirus de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) y *Anti carsia gemmatalis* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae). La transmisión vertical también podría jugar un papel importante en relación con la resistencia que el huésped adquiere con la edad frente a la infección por baculovirus, que puede haber coevolucionado con la infectividad del baculovirus.

Caracterización y selección de los baculovirus

Los baculovirus han sido aislados de más de 700 especies de insectos. Su caracterización por medio de técnicas moleculares y biológicas ha revelado que poseen una gran diversidad genotípica y fenotípica. Esta información, además de ayudar a identificar las distintas especies o aislados y establecer su filogenia, contribuye a seleccionar los genotipos o mezclas de genotipos del virus que reúnen el espectro de huéspedes (número de especies para las que el virus es infectivo), la patogenicidad (en términos de la dosis letal o concentración letal 50%, DL50 CL50), y la virulencia (velocidad a la que mata al huésped) más adecuados para su desarrollo como bioplaguicidas.

La selección de un baculovirus como insecticida se hace en función de la especie o especies de insectos que se quieren controlar. Cada especie fitófaga suele ser más susceptible a su propio baculovirus pero también puede serlo, en mayor o menor grado, a los baculovirus de otras especies de insectos. Por su parte, el espectro de huéspedes de los baculovirus es variable. Algunos son absolutamente específicos, como es el caso del NPV de *Spodoptera exigua* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae), o los NPVs que infectan especies de la familia Lymantridae. Otros, en cambio, como es el caso del NPV de *Autographa californica* (Speyer) (Lepidoptera: Noctuidae) (AcMNPV), es infectivo para más de 50 especies pertenecientes a unas 15 familias del orden Lepidoptera. Los baculovirus con más amplio espectro de huésped no son igualmente infectivos para todas sus especies huéspedes. Para estos baculovirus puede establecerse una distinción entre el espectro de huéspedes biológico, que comprendería a todas las especies que pueden ser infectadas en el laboratorio, y el espectro de huéspedes económico, que sólo incluye aquellas especies que pueden ser controladas de forma efectiva en el campo mediante la aplicación de cantidades de OBs económicamente aceptables.

Entre los distintos aislados geográficos de una misma especie de baculovirus se encuentra con frecuencia una considerable diversidad genética que es fácilmente detectable mediante un análisis de restricción del ADN genómico del aislado. Algunas de las variaciones genéticas son silenciosas, pero otras han sido asociadas a diferencias significativas de virulencia, o patogenicidad que, en ocasiones, pueden llegar a ser de dos o más órdenes de magnitud. Estas variaciones fenotípicas tienen un claro interés práctico a la hora de seleccionar un aislado silvestre como agente de control.

Más interesante aún es la diversidad genética existente dentro de un mismo aislado geográfico e incluso dentro de un mismo insecto infectado. La clonación *in vitro* o *in vivo* de los genotipos, que característicamente componen los aislados de los baculovirus silvestres, ha revelado una amplísima variabilidad genotípica originada, principalmente, por inserciones o deleciones, transposiciones, o recombinación *in vivo*. Muchos de estos cambios genéticos tienen consecuencias fenotípicas de gran relevancia. Por ejemplo, se ha encontrado que el valor de la DL50 (OBs/larva) para ciertos genotipos puede llegar a ser más de cien veces mayor que el valor de otros genotipos clonados a partir de un mismo aislado del NPV de *A. gemmatalis*, o del NPV de *Lymantria dispar* (L.) (Lepidoptera: Lymantriidae). Diferencias menores pero, aún así, estadísticamente significativas se han encontrado entre los genotipos obtenidos a partir de otros aislados de los NPVs. A partir de ciertos aislados también se han clonado genotipos cuya velocidad de acción puede ser hasta un 40% más rápida que la de otros genotipos con los que coexisten de forma natural. La cantidad de OBs producidos por larva o miligramo de larva es otra característica fenotípica para la que se han encontrado diferencias significativas entre los genotipos clonados en aislados del NPV de *S. frugiperda*, el NPV de *S. exigua* y el NPV de *Panolis flammea* (Lepidoptera: Noctuidae) por citar sólo algunos ejemplos.

Las interacciones entre genotipos de un mismo aislado pueden tener importantes repercusiones fenotípicas. Por ejemplo, con la mezcla de ciertos genotipos de una misma población almeriense del NPV de *S. exigua* se consigue obtener un aumento en la actividad insecticida del virus en larvas de *S. exigua*. Por otra parte, la presencia de ciertos genotipos mutantes, que no son capaces de replicarse por sí mismos, se ha comprobado que pueden tener un efecto positivo sobre la patogenicidad del virus como ocurre en un aislado del NPV de *S. frugiperda* o, por el contrario, un efecto negativo como sucede en un aislado del NPV de *S. exigua*.

Todo ello resalta la necesidad de realizar detallados análisis genéticos y biológicos de los distintos aislados de un baculovirus con objeto de poder diseñar la materia activa con mejores propiedades insecticidas. Por otra parte, también es importante señalar que distintas poblaciones del huésped difieren con frecuencia en su susceptibilidad a un determinado aislado de baculovirus, lo que hace necesaria la selección del aislado en función de las características de la población que se quiere tratar.

Producción de los baculovirus

Sin duda alguna, la producción masiva representa uno de los mayores retos en la comercialización de productos basados en estos patógenos. Se cree que la producción masiva en biorreactores de cultivos celulares tiene gran potencial, aunque actualmente, todos los baculovirus producidos como bioinsecticidas son el resultado de la producción en larvas de insectos. Los principales problemas de la producción en cultivos celulares son dos. Primero, los medios son costosos, particularmente cuando contienen derivados de sueros. Segundo, los baculovirus se adaptan rápidamente al cultivo celular y pierden los genes que no sean necesarios para la supervivencia en el ambiente del cultivo y, como consecuencia, los OBs producidos en cultivos celulares tienen menor actividad insecticida.

La producción de los baculovirus en insectos involucra la inoculación de cantidades masivas de larvas, su cría durante la replicación del virus y la cosecha de los OBs de los cadáveres de las larvas infectadas. Aunque parece un proceso fácil, en realidad la producción masiva depende de una serie de pasos sucesivos, los cuales requieren ser optimizados para que la producción siga en marcha de manera fluida y coordinada. El vigor y la limpieza de la colonia principal de insectos son de importancia elemental y se asegura mediante la descontaminación frecuente de los recipientes de cría, superficies de laboratorio, cámaras bioclimáticas, etcétera y el tratamiento rutinario de los huevos y las pupas del insecto con soluciones de lejía o formol para reducir la presencia de patógenos en la colonia. Por otro lado, la dieta que se usa para mantener la colonia se prepara con inhibidores de crecimiento de microorganismos, antibióticos y pequeñas cantidades de formol, aunque el formol no se incluye generalmente si la dieta está destinada a la cría de larvas infectadas con virus. Asimismo, es necesario contar con recipientes diseñados para criar cantidades importantes de larvas y para poder cosechar los cadáveres infectados de manera rápida y eficiente.

La optimización del sistema de inoculación, cría y cosecha de las larvas infectadas requiere de estudios detallados orientados a determinar el estadio por infectar, que normalmente es el último o penúltimo estadio larvario, la densidad larvaria que maximiza la producción de OBs por recipiente sin provocar pérdidas importantes por canibalismo o infecciones oportunistas, la concentración y administración del inóculo, la composición de la dieta, la temperatura de incubación, las condiciones ambientales, y el momento de la cosecha de las larvas infectadas para minimizar la contaminación por microorganismos. Los sistemas actuales de producción de OBs en insectos generan una carga importante de bacterias y hongos que naturalmente infestan a la dieta, la superficie del insecto, a su intestino y las heces. La gran mayoría de estos microorganismos son generalmente especies comunes de *Pseudomonas*, *Enterococcus*, y especies coliformes de Enterobacteriaceae. Como la purificación mediante la filtración y centrifugación es costosa, poco eficiente y resulta una pérdida importante de los OBs, se considera como objetivo prioritario la limpieza del sistema productivo con el fin de evitar el desarrollo de altos niveles de microorganismos contaminantes. Es importante señalar que ningún estudio sobre

microorganismos contaminantes de preparaciones de baculovirus ha detectado la presencia de patógenos humanos como *Salmonella*, *Shigella* o *Vibrio*, mientras que la presencia de otras bacterias de interés médico, como *Staphylococcus aureus* o *Bacillus cereus* ha sido, por lo general, esporádica y de baja abundancia. No obstante, el proceso de registro de estos productos exige un control continuo de los lotes de OBs producidos para descartar la presencia de patógenos primarios de humanos.

Formulación y aplicación

Aunque el fabricante tiene poco control sobre el uso de su producto por parte del agricultor, hasta cierto punto puede promover el buen funcionamiento del patógeno mediante la formulación adecuada y las instrucciones de uso en la etiqueta del producto. Pero, ¿qué es una formulación? Una formulación se prepara cuando se mezcla un ingrediente activo, en este caso los OBs del virus, con una o más sustancias con el fin de conservar o mejorar sus propiedades insecticidas o el manejo del producto. Existen diferentes métodos para lograr lo anterior, incluyendo la producción de suspensiones líquidas, gránulos y polvos mojables. La formulación adecuada dependerá de diversos factores tales como el comportamiento y hábitat de la plaga, la disponibilidad y coste de los componentes de la formulación, el equipo empleado para aplicarlo y las preferencias de los agricultores.

Concretamente, una formulación correcta tiene que mantener la estabilidad del virus durante su almacenamiento, facilitar el manejo del producto por parte del agricultor, optimizar la aplicación y la ingestión de los OBs por la plaga objetivo y maximizar la persistencia ambiental de los depósitos de OBs sobre las hojas del cultivo (JONES *et al.*, 1997). Por lo tanto, existe una relación íntima entre la formulación del producto y su aplicación.

Entre la producción del formulado y su aplicación en campo, hay un periodo durante el cual el producto no debe experimentar pérdida significativa de actividad insecticida, descomposición de otros componentes de la formulación ni cambios importantes en las características físicas del producto como la sedimentación o agregación de los OBs en suspensiones, o el endurecimiento de polvos. En este sentido, el almacenamiento del producto a temperaturas bajas y en recipientes bien cerrados es deseable para prolongar su viabilidad. En general, los baculovirus se pueden almacenar a temperaturas frescas durante varios años. Para producir una formulación seca, típicamente se secan los OBs al aire, mediante la liofilización, o la deshidratación por aspersión en aire caliente. Después de secado, los OBs se mezclan con un material portador inerte de bajo coste como la arcilla, sílice sintética y un surfactante. En cambio, una típica formulación líquida de OBs puede estar constituida por agua con un agente dispersante antiespumante, un espesante como la goma xantán, y conservantes para controlar el crecimiento de los microorganismos. Cabe mencionar que la encapsulación de los OBs en almidón ha atraído cierto interés para la formulación de *B. thuringiensis* y los baculovirus. Igualmente prometedor es el uso de harinas y almidones para la formulación de OBs como gránulos pulverizables.

La mezcla de tanque se basa en sustancias que se agregan a la formulación

básica en el momento de preparar el producto para la aplicación en campo. Se utilizan los coadyuvantes para facilitar la aplicación del producto, para mejorar el depósito del virus en el sitio de alimentación de la plaga y para aumentar la persistencia de los OBs en el cultivo. Los componentes más comunes en las mezclas de tanque son los humectantes, adherentes, y sustancias fotoprotectoras que tienen el objetivo de maximizar la persistencia ambiental de los OBs sobre las hojas del cultivo. La fotoprotección de los OBs es menos problemática en los invernaderos porque el plástico de la estructura filtra aproximadamente el 90% de la radiación UV, dando como resultado, una buena persistencia de los OBs en los cultivos de invernadero. El uso de fagoestimulantes para incrementar la alimentación del insecto, con el fin de que consuma una dosis letal de OBs en menos tiempo, ha sido notablemente subexplotado. Parece que los azúcares, lípidos y proteínas son los componentes esenciales de los mejores fagoestimulantes para larvas de lepidópteros y algunas empresas han desarrollado fagoestimulantes comerciales para emplearlos en programas de control de los insectos plagas más importantes.

En la aplicación de los baculovirus, casi siempre se busca la manera de saturar el sitio de alimentación de la plaga con depósitos de la pulverización para maximizar la probabilidad de que cada larva consuma una dosis letal de OBs en poco tiempo. La dosis de la aplicación depende de la patogenicidad del virus, el estadio de las larvas plaga, la fenología del cultivo y los hábitos alimenticios del insecto por controlar, entre otros factores. Como la cantidad de OBs determina en gran parte el coste de cada aplicación se busca la menor dosis que redunde en un control aceptable de la plaga. Al actuar por ingestión se requiere una distribución uniforme del producto en el sitio de alimentación del fitófago plaga y normalmente esto se logra mediante la aplicación de un gran número de gotas pequeñas. Sin embargo, las gotas más finas son más propensas a ser arrastradas por el viento, mientras que las gotas grandes se utilizan para aplicaciones al suelo o cuando es importante evitar el desplazamiento de la pulverización por corrientes de aire. Los bioinsecticidas casi siempre se aplican con equipos diseñados para insecticidas químicos. Dichos equipos son, en su mayor parte, boquillas hidráulicas que producen una pulverización en forma de abanico o cono. Las bombas con asistencia de aire se utilizan para aplicaciones en árboles, huertas, viñas e invernaderos. Las boquillas centrífugas, del tipo de disco giratorio o jaula giratoria, se emplean frecuentemente para aplicaciones de ultra bajo volumen con formulaciones basadas en aceites minerales o vegetales.

Finalmente, la frecuencia de la aplicación dependerá de la persistencia de los OBs en las hojas del cultivo, la eficiencia de la transmisión del virus de las larvas muertas a las sanas y el ritmo de crecimiento del cultivo. Los cultivos que crecen rápidamente producen nuevas hojas que no están contaminadas superficialmente con OBs y que requieren de tratamientos repetidos cuando las infestaciones de la plaga alcanzan los umbrales de tratamiento.

Ejemplos del uso de los bioplaguicidas basados en baculovirus **El control de *Anticarsia gemmatilis***

El control de larvas de *A. gemmatalis* mediante aplicaciones de AgMNPV sobre una superficie de más de un millón y medio de hectáreas de soja en Brasil y a menor escala en Paraguay, representa el más importante ejemplo del uso de los baculovirus como bioplaguicidas. El manejo de *A. gemmatalis* exige que el virus esté en formulaciones de polvo mojable basado en caolín. El material primario viene de una combinación de colectas de larvas infectadas en el campo y la producción masiva en laboratorio. El coste del virus para el agricultor es de aproximadamente 1,50 \$ USA (1,1 euro)/ha, que es más económico que el control químico. Una serie de factores contribuyen al éxito de AgMNPV como bioplaguicida. Primero, el virus es muy patogénico y una sola aplicación de $1,5 \times 10^{11}$ OB/ha es suficiente para controlar la plaga durante el ciclo de producción. Segundo, *A. gemmatalis* es, por lo general, la única plaga de importancia de la soja y el cultivo tolera la defoliación sin pérdidas importantes en el rendimiento. Tercero, los programas gubernamentales de manejo integrado en los años 1970-80 facilitaron la aceptación por parte de los agricultores de alternativas al control químico durante la implementación del uso del AgMNPV en las décadas siguientes. Por otra parte, la aplicación del bioplaguicida ha sido promovida por los servicios oficiales de extensión en los diferentes Estados de Brasil.

Actualmente, existe una demanda de virus para tratar una superficie de alrededor de cuatro millones de hectáreas y, por lo tanto, la tecnología de producción representa un factor limitante al mayor uso del virus. Por otro lado, se llevan a cabo programas de seguimiento del grado de resistencia al virus en las poblaciones naturales de *A. gemmatalis* en el campo. Aunque en estudios de laboratorio se han generado biotipos del insecto con niveles muy altos de resistencia, en las poblaciones naturales de la plaga aún no se han encontrado evidencias de resistencia. Esto posiblemente se deba a un elevado cruzamiento entre los insectos que sobreviven a las aplicaciones de AgMNPV y los individuos de poblaciones no expuestas al virus. Hasta la fecha, el control de *A. gemmatalis* en soja en Brasil es el ejemplo más destacado del control mediante los baculovirus.

El control de *Spodoptera exigua* en cultivos de invernadero

La gardama, *S. exigua*, es una plaga polífaga de diversos cultivos de invernadero y campo abierto en muchas regiones del mundo incluida la zona de invernaderos de Almería. El SeMNPV ha sido comercializado en una formulación de líquido concentrado que está registrado en los Estados Unidos, Canadá, Méjico y los Países Bajos. Además, el SeMNPV forma la base de diversos productos de pequeñas empresas en el sur y el sureste de Asia. El SeMNPV tiene la característica de ser uno de los más específicos de todos los nucleopoliedrovirus, de hecho sólo infecta a larvas de *S. exigua*. Su eficiencia como insecticida reside en su alta patogenicidad; la dosis letal en el primer estadio es aproximadamente un OB mientras que la dosis letal 50% (DL50) en el cuarto estadio es de 30 a 100 OBs, dependiendo del aislado y el origen de las larvas de *S. exigua*.

Actualmente, en España, el SeMNPV está siendo desarrollado como un bioplaguicida para uso en los invernaderos de Almería y Murcia. Partiendo de un

aislado autóctono recolectado en 1990 durante una epizootia en invernaderos en Almería, se identificaron cepas adicionales de esta región, las cuales fueron mezcladas en diferentes proporciones para producir una combinación única con alta actividad insecticida. Pruebas iniciales en cultivo de pimiento demostraron contundentemente que el SeMNPV dio mayor control que los insecticidas de síntesis, sobre todo en casos donde el control químico había fracasado debido a la resistencia por parte de la población plaga. La formulación del SeMNPV con un estilbeno sinergista de la actividad insecticida de los baculovirus resultó en menor tiempo de adquisición de la infección pero no mejoró el control total de infestaciones naturales, comparado con la aplicación del SeMNPV solo.

Un avance importante en la producción del SeMNPV se logró mediante la aplicación de varios compuestos análogos de la hormona juvenil de insectos a larvas del quinto estadio de *S. exigua*. La producción total de OBs en larvas tratadas con dos análogos comerciales, metopreno y fenoxicarb, aumentó en un factor de casi tres veces comparado con la producción convencional en larvas del quinto estadio.

Estudios de la estabilidad de una formulación sencilla del virus con el ácido sórbico y glicerol indicó que no hubo pérdida de actividad insecticida durante 18 meses de almacenamiento a 4°C. Asimismo, la carga de contaminantes microbianos fue principalmente debida a la presencia de *Enterococcus* spp y levaduras, mientras que no se detectaron patógenos humanos de importancia médica.

La identidad genotípica del virus y la tecnología de producción han sido objeto de una solicitud de patente en España. El proceso de registro del producto está en marcha y se está montando una planta piloto de producción en Almería con el fin de ofrecer a los agricultores de la zona una alternativa a los insecticidas sintéticos, para el control efectivo de *S. exigua*.

Registro y seguridad de los bioplaguicidas

Cada año se introducen en el mercado nuevos plaguicidas algunos de los cuales están dentro de la consideración de los bioplaguicidas. La materia activa de estos productos incluyen microorganismos (bacterias, protozoos, hongos) y virus cuya utilización en el control de plagas representan un escaso o nulo riesgo para el hombre o el medio ambiente. No obstante, para el registro y comercialización de estos nuevos productos debe contarse con la autorización de las administraciones públicas encargadas de acreditar que son seguros para la salud del hombre, los animales y la conservación del medio ambiente.

En la Unión Europea (UE), la legislación para el registro de materias activas y productos fitosanitarios que rige en todos los estados miembros está recogida en la Directiva 91/414/CEE (1991). Esta directiva incluye una lista de todas las materias activas autorizadas para su incorporación en productos fitosanitarios (Anejo 1) y establece los requerimientos necesarios para la solicitud de nuevas materias activas (Anejo 11) y nuevos productos fitosanitarios (Anejo 111). Los Anejos 11 y 111 contienen una parte dedicada a los plaguicidas químicos (Parte A) y otra dedicada a los microorganismos y virus (Parte B). La Directiva 2001/36/CE (2001) enmienda la

parte B de estos dos anejos para requerir datos específicos de los microorganismos y virus que no son de aplicación para las sustancias químicas. A su vez, la Directiva 2005/25/CE (2005) enmienda el Anejo VI de la Directiva 91/414/CEE para añadir una Parte 11 en la que se recogen los principios uniformes para la evaluación y autorización de productos para la protección de plantas que contienen microorganismos y virus.

La Organización para el Desarrollo Económico y la Cooperación (OECD) ha llevado a cabo iniciativas paralelas dentro del Programa Plaguicidas con objeto de armonizar, abreviar y abaratar el proceso de registro de plaguicidas en todos los países miembros. Con este fin, se han establecido dos tipos de formatos:

1) Un expediente que recoge los datos que la industria (productor, importador, distribuidor, etc.) debe remitir sobre los microorganismos o virus para los que se solicita un nuevo registro, y

2) una monografía que recoge el informe de evaluación que la administración elabora sobre el expediente. Para fomentar la calidad y consistencia de dichos documentos, la OECD ha publicado sendas guías que especifican el tipo de formato a seguir y el nivel de información que es necesaria incluir.

Las autorizaciones son concedidas por los ministerios encargados por los gobiernos en respuesta a una solicitud realizada por parte de la industria. Esta solicitud debe estar apoyada por datos suficientes (expediente) sobre la identificación específica del virus o microorganismo, sus propiedades biológicas, ciclo de vida, efectos sobre la salud humana y de los animales, efectos tanto sobre los organismos diana como sobre los organismos no diana, relación con otros patógenos conocidos de humanos y animales, estabilidad y capacidad de producir toxinas, etc. El expediente es evaluado por el estado miembro, que actúa de comunicador, el cual elabora un informe (monografía) que es enviado a la Comisión Europea. De esta monografía se envían copias a todos los estados miembros de la UE para su consideración por grupos de expertos. La monografía, junto con los informes de los grupos de expertos, son considerados por un Grupo de Trabajo de la Comisión a la cual son invitados todos los estados miembros. Finalmente, si la materia activa es incluida en el Anejo 1, los estados miembros pueden iniciar el registro de productos que contengan esa materia activa. Este proceso es muy largo, costoso y requiere la aportación de muchos datos que se consideran innecesarios para el caso de algunos microorganismos o virus.

En la UE se ha llevado a cabo la acción REBECA (2007) con el objetivo de revisar la actual legislación y directrices a nivel de la UE y de los estados miembros y compararlas con las legislaciones en otros países donde la autorización y comercialización de nuevos microorganismos y virus ha tenido mayor éxito. Entre las recomendaciones del proyecto REBECA se encuentra la aceptación y puesta en práctica de los documentos y directrices elaborados por la OECD. Particularmente, recomienda que la utilización de baculovirus en productos fitosanitarios debe asumirse generalmente como segura basándose en un documento consensuado por la OECD sobre la información utilizada en la evaluación de las aplicaciones de

plaguicidas basados en baculovirus. Por tanto, REBECA ha desarrollado una propuesta para incluir los baculovirus en el Anejo I sin necesidad de realizar evaluaciones de riesgo adicionales. En el caso de nuevas especies de baculovirus, sólo deberían ser necesarios datos sobre su identificación molecular y su espectro de huéspedes así como el depósito del virus en una colección de cultivos internacionalmente reconocida. También sería necesario aportar los datos específicos del producto de acuerdo a los requerimientos del Anejo 111 como, por ejemplo, los relacionados con el método de producción y la composición de la formulación.

Conclusiones

Es claro que los bioplaguicidas basados en baculovirus ofrecen una alternativa importante al control químico para el manejo de una diversidad de plagas, sobre todo las larvas de lepidópteros. Los baculovirus se pueden emplear en una variedad de hábitats, incluyendo forestales, huertas, cultivos de campo abierto e invernadero, e incluso en productos almacenados. Tienen características de especificidad, patogenicidad y virulencia que los hace muy efectivos como agentes de control y muy seguros para los otros organismos presentes en los cultivos, además de los peces, aves y mamíferos, incluyendo el hombre. No obstante, la comercialización de productos basados en estos patógenos se enfrenta a varios retos que ha limitado su impacto en la producción agrícola en los países desarrollados, mientras que su aceptación ha sido mayor en algunos países en vías de desarrollo, notablemente Brasil y los países del sur y sur-este de Asia.

La tecnología molecular ha sido empleada para generar una serie de baculovirus recombinantes que expresan neurotoxinas de arañas, alacranes y ácaros. Tales recombinantes paralizan y matan el insecto huésped unos pocos días después de iniciar la infección, disminuyendo así el grado de daño al cultivo por parte del fitófago. Esta tecnología fue desarrollada y probada en los años 1990, pero la preocupación por el impacto al medio ambiente y la legislación respecto a los organismos genéticamente modificados ha sido una barrera a la comercialización de productos basados en los baculovirus recombinantes. De hecho, ningún producto basado en un baculovirus recombinante ha sido registrado en Europa o los Estados Unidos, aunque actualmente se están utilizando en aplicaciones de campo abierto en China.

Finalmente, siguen retos importantes en la tecnología de la producción masiva de estos patógenos y en su comercialización en muchos países del mundo. No obstante, cambios en los sistemas de registro para los bioplaguicidas indican que las autoridades son conscientes de la necesidad de promover el uso de estos productos en los sistemas agrarios productivos tanto en Europa como en los Estados Unidos. Por lo tanto, el futuro de los bioplaguicidas basados en los baculovirus parece prometedor.

REFERENCIAS

ALFARO, A 2005. *Entomología Agrícola. Los parásitos animales de las plantas cultivadas* Editor C. Santiago Álvarez. Publicaciones de la Excma. Diputación Provincial de Seria. Seria.

ALOMAR, O.; M. GOULA y R. ALBAJES. 2002. *Colonisation of tomara fields by predatory mirid bugs (Hemiptera: Heteroptera) in northern Spain*. Agric. Ecosys. Environ. 89 105-115.

BADII, M.H.; AE. FLoRES y LJ. GALÁN WONG (Editores). 2000. *Fundamentos y perspectivas de control biológico*. Publicaciones de la Universidad Autónoma de Nuevo León. Monterrey, México.

BEGON, M.; J.L. HARPER y C.R. TOWNSEND. 1990. *Eco log y. Individuals Populations and Communities*. 2nd ed. Blackwell Science, Taunton, EE UU.

BERENBAUM, M.R. 1994. *Bugs in the System. Insects and Their Impact on Human Affairs*. Helix Books. Adison-Wesley Publishing Company, EE UU.

BLOM, J. VAN DER. 2002. *La introducción artificial de la fauna auxiliar en cultivos agrícolas*. Bol. San. Veg. Plagas 22: 109-120.

BOLLER, E.E; J. AVILLA, E. JOERG, C. MALAVOLTA, EJ. WIJNANDS y P. ESBJERG. 2004. *Guidelines for integrated production. Principals and technical guidelines*. 3rd ed. 10BC WPRS Bull./Bull. OILB SROP 27.

CABALLERO, P.; y J. MuRILLO. 2003. *Protección de cultivos conceptos y fuentes de información*. Universidad Pública de Navarra. Pamplona.

CALTAGIRONE, LE.; y R. lo DoUTI. 1989. *The History of the Vedalia Beetle Importarían to California and its Impact on the Development of Biological Control*. Ann. Rev. Entomol., 34: 1-16.

CARTAÑA, J. 1995. *Jaume Nonell i Comes i la introducció de la Lluita Biològica*, p. 121-126. En: Puig, C.; A Camós, J. Arrizabalaga y P. Bernat [Editores]. Actes 111 Trobades d'Historia de la Ciència i de la Tècnica (Tarragona, 7-9 XII 1994). SCHCT. Barcelona.

CATALÁ, J.I.; y X. GUILLEM. 2006. *Control de plagas y desarrollo institucional en la Estación de Patología Vegetal de Burjassot (Valencia) (1924-1931)* Asclepio. Revista de Historia de la Medicina y de la Ciencia LVIII 1: 249-280.

CLARIÓ, I.; y J. NONELL. 1924. *La cochinilla australiana Icerya purchasi (Mask) y el Novius cardinalis (Muls) en España*. R. Molero, Barcelona.

DEBACH, P. 1974. *Biological control by natural enemies*. Cambridge University Press. Londres, Reino Unido.

FERRAGUT, F.; J. COSTA-COMELLES, F. GARCÍA-MARÍ, R LABORDA, D. RocA y C. MARZAL. 1988. *Dinámica poblacional del fitoseido Euseius stipulatus (Athis-Henriot) y su presa Panonychus citri (McGregor) (Acari: Phytoseidae, Tetranychidae), en los cítricos españoles*. Bol. San. Veg. Plagas 14: 45-54.

GABARRA, R; J. ARNÓ, O. ALOMAR y R. ALBAJES. 1999. *Naturally occurring populations of Encarsia pergandiella (Hymenoptera: Aphelinidae) in tomato greenhouses*. IOBC/WPRS Bull. 22: 85-88.

HUI-LIN LI. 1982. *Nan-fang ts'ao-mu chuang*, A Fourth Century Flora of Southeast Asia. The Chinese University Press. Hong Kong.

JACAS, J.A; A URBANEJA y E. VIÑUELA. 2006. *History and future of introduction of exotic arthropod biological control agents in Spain: a dilemma?* BioControl 51: 1-30.

LENTEREN, J.C. VAN; Y H.C.J. GODFRAY. 2005. *European science in the Enlightenment and the discovery of insect parasitoid life cycle in The Netherlands and Great Britain*. Biol. Control. 32: 12-24.

LENTEREN, J.C. VAN; BALE, J., BIGLER, F, HOKKANEN, H.M.T. y LOOMANS, A.J.M. 2006. *Assessing risks of releasing exotic biological control agents of arthropod pests*. Annu. Rev. Entomol. 51: 609-634.

LOWE S.; M. BROWNE, S. BOUDJELAS U M. DE POORTER. 2004. *100 de las Especies Exóticas Invasoras más dañinas del mundo*. Una selección del Global Invasive Species Database. Publicado por el Grupo Especialista de Especies Invasoras (GEEI), Comisión de Supervivencia de Especies (CSE) de la Unión Mundial para la Naturaleza (UICN). <http://www.issg.org/spanish.pdf> (21/04/08).

MAPA MINISTERIO DE AGRICULTURA, DIRECCIÓN GENERAL DE LA PRODUCCIÓN AGRARIA. 1975. *Lucha biológica contra la mosca blanca mediante Cales noacki. Servicio de defensa contra plagas e inspección fitopatológica*. MAPA, Madrid.

NAVARRO, L. 1908. *Estudios de Patología Vegetal referentes a los olivos. El útil himenóptero "chalcidido" denominado "Scutellista cyanea" (Motsch) existente en España*. Dir. Gral de Agricultura, Industria y Comercio. Hijos de M.G. Hernández. Madrid.

RIVERA, AC.; S.S. CARBONE y J.A ANDRÉS. 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.

URBANEJA, A; F. GARCÍA-MARÍ, D. TORTOSA, C. NAVARRO, P. VANACLOCHA, L. VARGUES y P. CASTAÑERA. 2006. *Influence of ground predators on the survival of the Mediterranean fruit fly pupae, Ceratitis capitata, in Spanish citrus orchards*. BioControl 51: 611-626.

URQUIJO, P. 1946. *Selección de estirpes de Trichogramma minutum Riley de máxima efectividad parasitaria*. Bol. Patol. Veg. Entomol. Agric. 14: 199-216.

VILAJELIU, M.; D. BOSCH, LLORET, M.J. SARASÚA, J. COSTA COMELLES y J. AVILLA. 1994. *Control biológico de Panonychus ulmi (Koch) mediante ácaros fitoseidos en plantaciones de control integrado de manzano en Cataluña*. Bol. San Veg. Plagas 20: 173-185.

VIÑUELA, E.; P. DEL ESTAL, M. ARROYO, A ADÁN, F. BUDIA, J.A JACAS Y V. MARCO. 1992. *Los artrópodos: características. Los Insectos: órdenes*. Monografía 128. Universidad Politécnica de Madrid. Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos. Madrid.

Paginas Internet.

<http://www.goodbugs.org.au>

<http://www.biologicalservices.com.au>

<http://www.bioresources.com.au>

<http://www.bugsforbugs.com.au>

<http://www.biobest.be/>

<http://www.koppert.com>

<http://www.agric.wa.gov.au>

<http://www.virtual.unal.edu.co/cursos/agronomia/>

<http://www.nhm.ac.uk/research-curation/projects/chalcidoids/>

<http://www.sel. barc.usda.gov/Diptera/biosys.htm>

http://www.virtual.unal.edu.co/cursos/agronomia/2006631/docs_curso/contenido.html