



PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA ARGENTINA

Ingeniería Agronómica

**EFFECTO DE BIOPREPARADOS SOBRE LA SUPERVIVENCIA Y
FECUNDIDAD DEL PREDADOR *Chrysoperla externa* (Neuroptera:
Chrysopidae).**

**Trabajo final de graduación para optar por el título de:
Ingeniero Agrónomo**

Autor: Avila, Juan Ignacio

Tutora: Dra. Hernández, Carmen Marcela

Fecha de defensa: 22/12/2020

Nota: 10 (diez)

RESUMEN

En el último tiempo y debido al actual interés en reducir el riesgo asociado al uso de insecticidas sintéticos, el empleo de organismos benéficos para el control biológico y el manejo integrado de plagas han sido estrategias fomentadas en la agricultura. *Chrysoperla externa* es un predador generalista de gran distribución geográfica presente en diversos cultivos de interés. En el presente trabajo se evaluó el efecto de dos biopreparados, la tintura de ajo y ají picante, sobre la supervivencia y fecundidad de las larvas y adultos de *C. externa* siguiendo la metodología propuesta por la Organización Internacional para el Control Biológico (OICB).

En primer lugar, se realizó un ensayo en adultos en el que se expusieron 6 individuos (3 ♂ y 3 ♀) a los residuos secos de los biopreparados en dispositivos de vidrio (n=8). En todos los casos se usó como control agua corriente. Para evaluar la supervivencia, se registró la mortalidad a las 2 y 24hs de exposición. Los adultos sobrevivientes en cada tratamiento fueron colocados en recipientes plásticos con alimento y agua y se evaluó la fecundidad y fertilidad por hembra en 4 muestras de huevos (≤ 24 hs). Los ensayos se realizaron en condiciones controladas: $23,2 \pm 1,0^\circ\text{C}$, 60 ± 12 %HR y fotoperiodo natural. La supervivencia resultó similar en los adultos expuestos a los biopreparados respecto del control a las 2 y 24 horas de exposición (valores ≥ 97 % supervivencia en ambos tratamientos a 24 hs). Los resultados de fecundidad promedio fueron: $10,17 \pm 3,88$ huevos/♀/día en el control, $7,70 \pm 3,40$ huevos/♀/día en tintura de ajo y $8,98 \pm 2,38$ huevos/♀/día en tintura de ají. Los valores de fertilidad promedio expresados en porcentaje del total de huevos eclosionados fueron: $78,81 \pm 10,85\%$ en el control, $69,87 \pm 7,08\%$ en ajo y $77,92 \pm 12,04\%$ en ají. No se hallaron diferencias significativas en la fecundidad ni en la fertilidad de las hembras expuestas a los productos respecto del control en ninguna de las muestras analizadas mediante un test de ANOVA.

Se realizó un segundo ensayo para evaluar el posible efecto de las tinturas en las larvas de *C. externa*. Las larvas fueron expuestas individualmente a los residuos secos de los biopreparados en tubos Khan durante todo su desarrollo (n=30). La supervivencia de las larvas en todo su desarrollo fue del 96,7% en los tratamientos y del 100% en el control. Una vez que completaron su desarrollo y emergieron los adultos, los individuos fueron separados en parejas (1 ♂ y 1 ♀) y sometidos a pruebas de fecundidad y fertilidad (n=7). Las diferencias se calcularon mediante el test de ANOVA. La fecundidad de las hembras expuestas a los productos respecto del control resultó similar en 4 de las 3 fechas evaluadas con valores promedio de $10,14 \pm 3,82$ huevos/♀/día en el control, $9,21 \pm 1,58$ huevos/♀/día en la tintura de ajo y $6,96 \pm 4,29$ huevos/♀/día en la tintura de ají. En el caso de la tercera fecha, se hallaron diferencias significativas para los valores de los tratamientos respecto al control, en consecuencia, se compararon las medias mediante el test de Tukey y se clasificaron las diferencias. Los valores de fertilidad promedio expresados en porcentaje del total de huevos eclosionados en este ensayo fueron de $76,35 \pm 20,32\%$ en el control, $78,38 \pm 16,63\%$ en la tintura de ajo y $66,10 \pm 14,53\%$ en la tintura de ají. Para esta variable, no se cumplieron ninguno de los supuestos de ANOVA, por lo que se recurrió a la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis para evaluar las diferencias. No se obtuvieron diferencias significativas entre los valores de fertilidad de los tratamientos respecto del control.

Los biopreparados fueron clasificados en clases toxicológicas de acuerdo a la escala propuesta por la IOBC, en base al efecto total. Se estimó para ello el efecto total (E%) considerando la supervivencia a las 24 hs para el ensayo en adultos, la supervivencia en todo el desarrollo para el ensayo de larvas (ya que la exposición al residuo seco fue constante) y la fecundidad obtenida en cada caso.

Conforme a la clasificación propuesta por la OICB, los valores obtenidos indicaron que tanto la tintura de ajo como la tintura de ají resultaron **inofensivas** para adultos de *C. externa* (clase toxicológica 1).

Los valores obtenidos indicaron que la tintura de ajo resultó **inofensiva** (clase toxicológica 1) y la tintura de ají **poco perjudicial** (clase toxicológica 2) para individuos expuestos en estadios larvales.

Los resultados indican que es factible integrar la aplicación de las tinturas de ajo y ají con la liberación del predador, *C. externa* para el control de plagas hortícolas en los sistemas productivos.

Palabras clave:

Biopreparados; Efectos letales; Efectos subletales, predador; control biológico.

TABLA DE CONTENIDOS

RESUMEN	3
Palabras clave:.....	4

AGRADECIMIENTOS

A mi familia, que me brindó todas las herramientas para poder alcanzar las metas que me propuse, por su cariño constante y su enseñanza en los valores.

A Anita, por darme energía con su amor, por hacerme ver siempre el vaso medio lleno y empujarme a ser mejor persona.

A mis abuelos Margarita, Elsa, José Luis y Enrique por guiarme en este camino y enseñarme que el esfuerzo trae sus frutos.

Al equipo de trabajo del Insectario de Investigación para la Lucha Biológica, del Instituto de Microbiología y Zoología Agrícola del INTA Castelar por haberme ayudado a realizar este trabajo en un ambiente confortable y cooperativo.

A mi tutora, la Dra. Carmen M. Hernández por su paciencia, su buena voluntad y su capacidad de guiarme y apoyarme durante la realización de este trabajo.

INTRODUCCIÓN

La agroecología

El uso de insecticidas sintéticos es una práctica ampliamente implementada por los productores con el fin de controlar a las plagas que afectan a sus cultivos. Se trata de una alternativa considerada económica y práctica para combatir a estos organismos perjudiciales (Cooper y Dobson, 2007). El uso imprudente (desmedido o efectuado ante condiciones no recomendadas) de agroquímicos puede generar un desorden en el ecosistema agrícola y consecuencias negativas en la salud humana. La aplicación excesiva y sobre dosificada de estos productos puede causar fitotoxicidad, generar resistencia en plagas y afectar a las poblaciones de enemigos naturales (Isman, 1999).

Ante este panorama, resultó imprescindible el desarrollo de una agricultura más autosuficiente y sustentable, de la mano de un entendimiento más profundo de los ecosistemas agrícolas y de los principios por los cuales éstos funcionan. La agroecología surgió a fines del siglo XX teniendo este objetivo en claro ya que se trata de una disciplina que provee los principios ecológicos básicos sobre cómo estudiar diseñar y manejar a los agroecosistemas (Altieri, 1994). La agroecología abarca la descripción genética y edafológica de un ecosistema, tiene en cuenta factores ecológicos y sociales y no se centra en un componente particular del sistema, sino que enfatiza la conexión entre sus componentes y la dinámica de sus procesos ecológicos (Vandermeer, 1995). Un agroecosistema es un ecosistema alterado por el hombre para el desarrollo de una explotación agropecuaria. Está compuesto por elementos abióticos y bióticos que interactúan entre sí. La agroecología es entonces, el estudio holístico de los agroecosistemas, integrados por componentes ambientales y humanos (Altieri, 2001). Propone un abordaje complejo e interdisciplinario en el que se requieren aportes de distintas ramas de la ciencia como las ciencias biológicas, la agronomía, la ecología y las ciencias sociales.

Para lograr un manejo agroecológico, se debe llevar a cabo un proceso gradual de conversión. En este proceso, se busca la implementación de tecnologías y alternativas de producción capaces de reducir riesgos y optimizar el uso de los recursos internos, buscando alcanzar sistemas agrícolas con niveles de productividad estables que no afecten negativamente el equilibrio ecológico-ambiental. (Belloni *et. al.*, 2020). Altieri (1994) propone en primer lugar planificar una estrategia de Manejo Integrado de Plagas (MIP), en segundo lugar, evaluar la sustitución de insecticidas químicos por insecticidas botánicos o microbiológicos y por último rediseñar el sistema agrícola con las condiciones ambientales necesarias para el desarrollo de enemigos naturales, permitiendo así al agroecosistema auspiciar su propia protección natural contra plagas.

La producción alternativa es un enfoque productivo que busca alcanzar buen rendimiento y fertilidad del suelo, sostenidos en el tiempo en un medio ambiente balanceado y mediante el control natural de plagas. Pretende lograr este objetivo mediante el diseño de agroecosistemas bien definidos y el empleo de estrategias que se apoyen en conceptos ecológicos. Son planteos que poseen características típicas como mayor diversidad de cultivos, el uso de rotaciones entre leguminosas y gramíneas, la integración entre la producción animal y vegetal, el reciclaje y uso de residuos de cosecha y estiércol, y el uso reducido de productos químicos sintéticos. Muchas de las prácticas de estos sistemas alternativos ya son ampliamente difundidas en manejos agrícolas convencionales (Altieri y Nicholls, 2007).

El manejo integrado de plagas y el control biológico

El Manejo Integrado de Plagas (MIP) es una visión multitáctica para afrontar plagas agrícolas (Stern *et al.*, 1959; Zalom, 2010). Se trata de una estrategia en la que se integran una serie de eslabones

como el manejo del hábitat, la elección de variedades y semillas, las prácticas de manejo del suelo y cultivo, el manejo del riego, el uso de trampas y el control biológico (Altieri y Nicholls, 2007). Estos factores en conjunto, tienen distintos efectos preventivos sobre la ocurrencia de plagas en los cultivos y contribuyen a disminuir el uso de los plaguicidas sintéticos en los sistemas de producción agroecológicos (Fogel, 2012).

El uso de insecticidas selectivos en el marco de un MIP es importante para promover el control biológico (Tang *et al.*, 2010). Por este motivo, es importante saber si un tratamiento elegido será selectivo a una plaga sin afectar a los enemigos naturales (Castel y Naranjo, 2009; Gentz *et al.*, 2010). Debido al actual interés de reducir el riesgo asociado al uso de insecticidas sintéticos, el empleo de los organismos benéficos para el control biológico y el MIP han sido promovidos en los últimos años (Boller *et al.*, 1998).

El control natural es el fenómeno de regulación de las poblaciones de insectos plaga, causado por diversos factores bióticos y abióticos determinados. Los factores más relevantes del control natural son: los enemigos naturales (parasitoides, predadores, patógenos o antagonistas), el clima y los factores físicos, la alimentación (cantidad y calidad), la competencia intraespecífica, y las necesidades espaciales y territoriales. El control biológico se puede definir como la regulación de la densidad de una población por medio de los enemigos naturales (De Bach, 1977). A esta definición se le puede sumar el concepto económico dado por Van Driesche y Bellows (1996), que define al control biológico como una estrategia en donde se utiliza a los enemigos naturales de las plagas con el propósito de reducir la abundancia de sus poblaciones por debajo del nivel en que causan perjuicios económicos.

El control biológico entonces, se basa en el uso de poblaciones de enemigos naturales con el fin de reducir la densidad poblacional de las plagas. Los individuos de esas poblaciones de enemigos naturales pueden ser predadores o parasitoides.

Van Driesche y Bellows (1996), describen 3 tipos de control biológico:

- 1- Clásico: consiste en la importación y colonización de enemigos naturales exóticos contra plagas también exóticas (aunque en algunos casos también se lo emplea contra plagas nativas). En el control biológico clásico, la plaga objetivo es una especie invasora no nativa y se importan e introducen enemigos naturales de su lugar de origen. Muchas especies de artrópodos plaga para la agricultura son especies invasoras no nativas y los enemigos naturales locales a menudo no son específicos de estas plagas (Sailer, 1978, Van Driesche and Carey, 1987). Es una técnica sostenible, menos costosa a largo plazo y se suele plantear en áreas extensas. En huertas o en plantaciones forestales en las que se establecen los nuevos enemigos naturales pueden requerirse complementar medidas de conservación como por ejemplo evitar el uso de plaguicidas para no afectar y mantener las poblaciones de los enemigos naturales. (R. G. Van Driesche, T. S. Bellows, 1996)
- 2- Aumentativo: consiste en la cría y liberación periódica de enemigos naturales, en grandes cantidades (inundativo) o de unos pocos individuos que dejarán descendencia y sus generaciones futuras serán las que ejerzan un control regular de la especie problema (inoculativo). El control biológico aumentativo se realiza en ambientes en donde los enemigos naturales se encuentran ausentes (por ejemplo en invernáculos) o simplemente están presentes pero en bajas densidades. En estos panoramas su población puede ser incrementada artificialmente ante la liberación de individuos criados en insectarios (King *et al.*, 1985). La liberación masiva o inundación difiere del método clásico debido a que se

recurre a esta estrategia cuando es probable que la reproducción de los individuos introducidos sea insuficiente (R. G. Van Driesche, T. S. Bellows, 1996).

- 3- Conservación: se basa en el aumento de las poblaciones de enemigos naturales presentes en el agroecosistema por manipulación de su ambiente, tornándolo más favorables para ellos. El objetivo de este tipo de control biológico es disminuir al máximo los riesgos de provocar efectos adversos sobre los enemigos naturales, e incluye el empleo de diversas estrategias como el uso selectivo de agroquímicos, de hospederas alternativas, etc. (Van Driesche y Bellows, 1996).

Especie en estudio: *Chrysoperla externa*.

Ubicación taxonómica, características morfológicas y ecología.

La familia *Chrysopidae* (*Neuroptera*) está conformada por depredadores de numerosas plagas de la agricultura. En Argentina, las especies registradas dentro del género *Chrysoperla* son *Chrysoperla externa* (Hagen, 1861), *C. asoralis* (Banks, 1915), *C. argentina* (González Olazo & Reguilón, 2002) y *C. defreitasi* (Brooks, 1994). *C. externa* es un predador generalista de amplia distribución geográfica, cuyos individuos se encuentran presentes en los ecosistemas a lo largo de todo el año. Sus ejemplares están presentes desde las islas del Caribe hasta el norte de la Patagonia Argentina (Adams & Penny 1987). Se trata de una especie caracterizada por su fácil crianza en el laboratorio y su potencial para adaptarse a diversos ambientes y cultivos. Es un insecto de hábitos nocturnos y de vuelo lento. El adulto se alimenta de néctar y polen. Los huevos son depositados sobre el envés de las hojas y son pedicelados para evitar su depredación. Las larvas tienen internamente un canal membranoso que sirve para inyectar enzimas digestivas a su presa para luego succionar el fluido formado. Es una especie que presenta tres estadios larvales, durante los cuales se alimenta de distintas especies. (Núñez, E. 1988). Sus voraces larvas pueden alimentarse de áfidos, cóccidos, lepidópteros, ácaros y otros artrópodos plaga (Díaz-Aranda y Monserrat, 1995). Entre sus presas predilectas se encuentran los huevos y larvas de primer estadio de *Spodoptera frugiperda* (Walker) (*Lepidoptera: Noctuidae*), *Spodoptera eridiana* (Cramer) (*Lepidoptera: Noctuidae*), *Heliothis zea* (Boddie) (*Lepidoptera: Noctuidae*), *Heliothis virescens* (Fabricius) (*Lepidoptera: Noctuidae*), *Cydia pomonella* (Linnaeus) (*Lepidoptera: Tortricidae*) *Laspeyresia pomonella* (Linnaeus) (*Lepidoptera: Tortricidae*) y *Palpita quadrastigmalis* (Guenée) (*Lepidoptera: crambidae*) (Núñez, E. 1988).

Los individuos de *C. externa* pueden ser utilizados en el marco del MIP en cultivos de interés económico tales como maíz, papa, algodón, palma aceitera y frutales (cítricos, olivo, manzano) (Núñez, E. 1988). Además, hay evidencia sólida que demuestra que predadores generalistas como la crisopa pueden reducir considerablemente la presión de plagas y la merma del rendimiento (Symondson *et al*, 2002). Estos organismos son incluso más eficientes cuando se reduce el uso de insecticidas sintéticos y se recurre a ellos en conjunto con otra estrategia (Zu *et al*, 2012). La cantidad de individuos a liberar se relaciona con el tipo de plaga, su densidad de población, el cultivo y su estado fenológico. Se puede realizar inicialmente una liberación inoculativa: un adulto *C. externa* por cada 100 presas cuando se trata de prevenir la infestación de la plaga. De ser necesario se puede recurrir a una liberación inundativa de huevos (Cucchi *et. al*, 2020). En campos de olivo en el sur del Perú, se logró reducir notoriamente el número de individuos de *P. quadrastigmalis* ante la liberación de huevos y larvas de *C. externa* complementado con el uso de *Bacillus thuringiensis* (Núñez, E. 1988). Así, las crisopas cumplen un rol importante en mantener el umbral de daño económico bajo (Albuquerque *et al*, 1994; Venzon *et al*, 2006). El uso de *C. externa* en el MIP se ha acrecentado notoriamente en los últimos años debido a su relativa alta tolerancia a diversos insecticidas (Medina *et al.*, 2001). En América del Sur, es considerado un enemigo natural de plagas agrícolas preponderante, por ser generalista y por tener una fuerte adaptabilidad a distintos agroecosistemas

(De Fátima *et al.* 2013; Moura *et al.* 2010; 2011). A su vez, está demostrada su presencia en agroecosistemas de la provincia de Buenos Aires, tanto en cultivos agroecológicos como en producciones convencionales (Haramboure, 2016).

Morfología y ciclo de vida *C. externa*.

La especie *C. externa*, está compuesta por individuos holometábolos. Las características morfológicas de sus distintos estados de desarrollo son las siguientes: (Figura1)

- Los huevos son ovales de superficie lisa con estructura micropilar en la parte distal denominada opérculo y se encuentran sostenidos por un pedicelo gelatinoso hialino de 4-6mm. En cuanto a las larvas, son compodeiformes, cabeza prognata aplanada y con aparato bucal proyectado hacia adelante. Sus maxilas y mandíbulas están asociadas formando un tubo suctor.
- Las larvas pasan por 2 mudas y 3 estadios con aumento gradual de tamaño. En el estado de prepupa, la larva suspende la alimentación después de su máximo desarrollo e inicia el tejido del cocón en un lugar protegido.
- La pupa es de tipo exarata, de color verde que puede ser vista a través del cocón blanco esférico.
- Los adultos, presentan una cabeza ortognata, con antenas filiformes, ojos compuestos y un aparato bucal masticador. El protórax es corto y con patas delgadas. Las alas constan de dos pares de tipo membranosas con venación compleja. El abdomen es de 9 segmentos y alargado.

(New, 2001; Núñez, E. 1988)

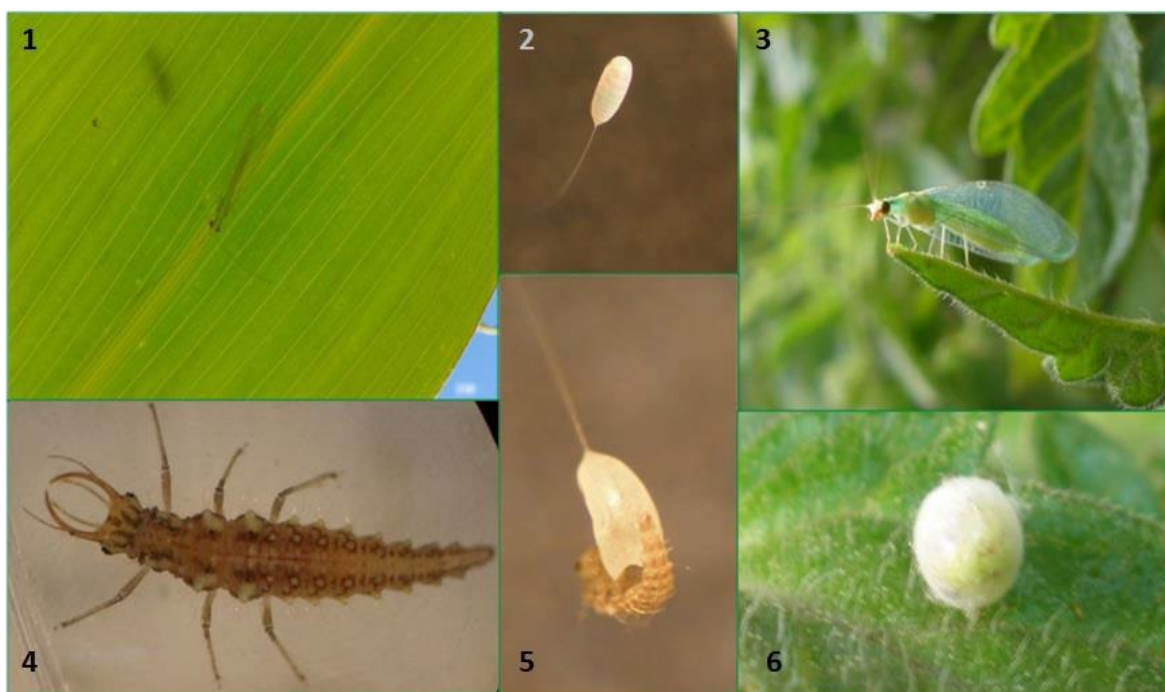


Figura 1. Estados de desarrollo de *Chrysoperla externa*. Huevo (2), larva (4,5), pupa (6), adulto (1,3) (Fuente: Haramboure et al., 2016)

El tiempo de eclosión de los huevos de *C. externa* ocurre aproximadamente durante los 6 a 7 días posteriores a la oviposición a 20-25 °C. Como ya se ha mencionado, el estado larval posee tres estadios y dura cerca de tres semanas en las que la voracidad de los individuos va en aumento. Al final del tercer estadio larval, la larva teje un capullo redondo donde se transforma en pupa. La emergencia del adulto ocurre aproximadamente al cabo de una semana. En resumen, su ciclo de vida dura de aproximadamente 4 a 6 semanas con temperaturas óptimas (20-25°C), pudiendo alargarse ante temperaturas bajas y siendo mayor en hembras que en machos (Núñez, E. 1988) (Figura 2).

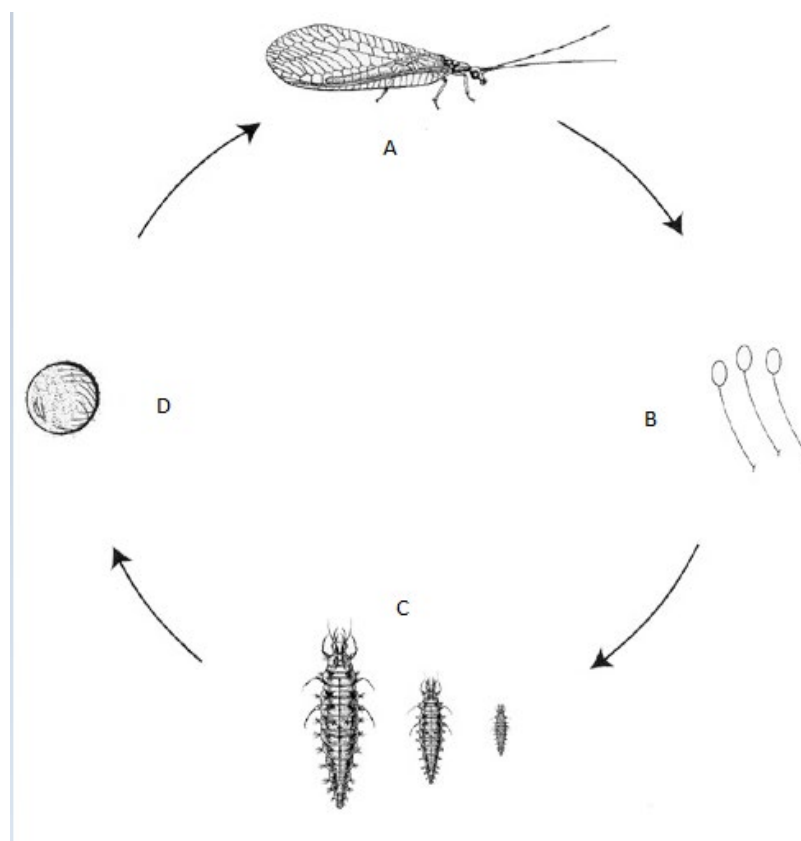


Figura 2. Ciclo de vida de *C. externa* (A: Adulto, B: Huevos, C: Larvas, D: Pupa; Fuente: <https://solagro.com.pe>)

Biopreparados.

Las plantas producen metabolitos secundarios que cumplen un rol importante en su mecanismo defensivo (Jacobson, 1989). Algunos ejemplos de estas sustancias son los terpenos, lignanos, alcaloides, esteroides y ácidos grasos. Estos compuestos pueden actuar como repelentes, anti virales, anti microbianos o anti alimentarios. A su vez, cabe destacar su fácil degradabilidad, lo cual reduce significativamente la contaminación ambiental respecto a los productos sintéticos (Mansaray, 2000; Ottaway, 2001). Gracias a estas características se puede considerar su empleo en la lucha contra las plagas por ser amigables con el medio ambiente y seguros respecto de la salud humana.

La agricultura sostenible utiliza productos elaborados a partir de materiales presentes en la naturaleza que protegen o mejoran los sistemas productivos en los que se aplican y que se denominan biopreparados. Son sustancias que pueden traer beneficios nutritivos para las plantas o bien servirles como repelentes de insectos. A lo largo de la historia, los biopreparados se han desarrollado a partir de la observación de los efectos de control que ocasionan. La mayor parte de los biopreparados no tiene un autor definido y en los últimos años, estos procesos de observación han comenzado a interesar a los investigadores, empresas e instituciones gubernamentales que han planteado su uso extensivo y comercial para la agricultura de pequeña y gran escala. (IPES/FAO, 2010). Poseen la ventaja de ser biodegradables y se considera que no producen desequilibrio alguno en los ecosistemas (Gruber, 1992; Iannaccone y Murrugarra, 2000; Iannaccone y Reyes, 2000; Isman 2000). Además, se los considera eficaces contra numerosas plagas agrícolas y no presentan restricciones toxicológicas (Gonscalves *et al.*, 2000; Zeng *et al.*, 2000; Iannaccone y Alvarino, 2001). Entre los numerosos ejemplos de biopreparados con efecto bioinsecticida existentes, se destacan: la infusión de Santa Rita (*Bougainvillea sp.*), que tiene efecto probado en el control de trips; el purín de paraíso (*Melia azedarach*), que se utiliza como controlador y repelente de hormigas; el hidrolato de ortiga (*Urtica sp.*), para control de pulgones, áfidos, nematodos y coccidios; y el extracto acuoso de barbasco (*Lonchocarpus nicou*), para control de áfidos, ácaros, mosca blanca, minador y lepidópteros (IPES/FAO, 2010). Por su parte, el empleo de los extractos o tinturas de ajo y ají es ampliamente difundido debido a la practicidad de su elaboración y a la facilidad de contar con sus componentes.

El extracto de ajo puede emplearse como insecticida, acaricida, nematocida, fungicida y bactericida en montes frutales, vid, olivo, hortalizas y ornamentales. A partir del macerado de *A. sativum*, se obtiene la alinina, alicina y disulfuro de dialilo, sustancias tóxicas para insectos, especialmente para pulgones. Son derivados de compuestos volátiles azufrados generados por la ruptura de sulfóxidos. Es decir, se tratan de sustancias que no se encuentran como tales en las células del ajo, sino que se generan cuando este es cortado, partido o macerado. Cuando el bulbo es triturado o partido, la aliina es hidrolizada por la aliinasa y da lugar al ácido 2-propensulfénico que por acción de la sintasa del factor lacrimógeno (LFS) se dimeriza y produce alicina. Esta sustancia es inestable y se transforma a lo largo de 24hs en sulfuro de dialilo, disulfuro de dialilo, trisulfuro de dialilo, ajoenos y ditiinas, solubles en medio oleoso. En los insectos tiene cuatro efectos diferentes: repelente, confusión sexual (por enmascarar a las feromonas), antialimentario e insecticida por la sobre-excitación del sistema nervioso. El trisulfuro, bisulfuro de dialilo y ajoeno son los elementos que ejercen mayor actividad insecticida, acaricida y nematocida (Cucchi *et. al*, 2020).

Los pimientos y ajíes son la materia prima utilizada para la extracción de capsaicina. La capsaicina es una sustancia que tiene la capacidad de actuar como repelente de insectos, ácaros y nematodos así como también generar un efecto fungicida y herbicida. Es producida en el metabolismo secundario de diversas plantas del género *Capsicum*. La mayor concentración de capsaicinoides (capsaicina y su análogo dihidrocapsaicina) se encuentra en el fruto, más específicamente en las semillas y sobre todo en los tejidos placentarios donde éstas están insertadas. Los capsaicinoides son alcaloides insolubles en agua. Son amidas formadas por la unión de vainililamina con un ácido graso. Estos componentes le brindan el sabor a los pimientos picantes y ajíes. Tiene una acción multisitio ya que interrumpe el metabolismo y afecta el sistema nervioso central de individuos que permanecen sobre-exitados y desorientados. Esto genera repelencia y efectos antialimentarios. En montes frutales, vid, olivo, hortalizas y ornamentales, su espectro de acción es principalmente insectos del suelo, gusano alambre, gusanos cortadores, gusanos blancos, entre otros (Cucchi *et. al*, 2020). Asimismo, se ha demostrado que los capsaicinoides presentan actividad biológica contra insectos y se han introducido como repelentes para el manejo de plagas (Liu & Lin, 2003).

Compatibilidad insecticida-enemigo natural.

Conocer la compatibilidad entre los pesticidas y los enemigos naturales resulta una premisa esencial a la hora de diseñar un MIP (Minks *et al.*, 1998). Además, es importante conocer el efecto de los pesticidas en las distintas fases del desarrollo del enemigo natural ya que el efecto causado puede variar según el estadio (Jacas y Viñuela, 1994). Conocer los efectos que tienen los pesticidas en los organismos benéficos es obligatorio para registrar productos en muchos países de Europa. Es por esto que el número de laboratorios involucrados en este tipo de ensayos con enemigos naturales ha aumentado en las últimas décadas (Vogt *et al.*, 1998).

Los métodos para evaluar la compatibilidad de los insecticidas con los enemigos naturales van desde pruebas de laboratorio hasta estudios de campo. La Organización Internacional de Control Biológico (abreviatura en inglés: IOBC) ha delineado pruebas a nivel de laboratorio y en el campo que permiten seleccionar a los agroquímicos según su efecto sobre los enemigos naturales a través de un procedimiento en cascada (Figura 3) (Hassan *et al.*, 1985):

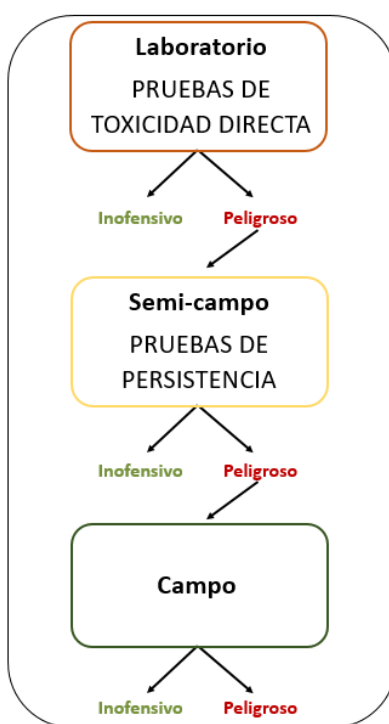


Figura 3: Determinación de la compatibilidad insecticida-enemigo natural a través del procedimiento en cascada propuesto por la OICB).

Las pruebas iniciales en el laboratorio consisten en la evaluación de la toxicidad sobre los distintos estados de desarrollo de los enemigos naturales que eventualmente pueden estar expuestos a los agroquímicos en el campo. Las pruebas de toxicidad directa implican la exposición de los insectos a residuos secos de los insecticidas y permiten determinar los productos que no causan efectos adversos sobre los enemigos naturales (inofensivos), mientras que aquellos que presentan signos de toxicidad deben ser además estudiados en relación a su efecto en pruebas persistencia en ensayos de semi-campo y posteriormente en pruebas de campo.

OBJETIVOS E HIPÓTESIS

El objetivo del presente trabajo, fue evaluar el efecto de dos biopreparados (tinturas de ajo y ají picante) sobre las principales variables biológicas (supervivencia y fecundidad) de las larvas y los adultos de *C. externa*. Se evaluaron los efectos letales y subletales mediante la estimación de la supervivencia, la fecundidad y fertilidad de los individuos expuestos a residuos secos de los biopreparados con respecto a los individuos del control.

La *hipótesis* propuesta sostiene que *los parámetros biológicos del predador C. externa (supervivencia, fecundidad y fertilidad) no se ven afectados por los biopreparados a base de tinturas de ajo y ají picante.*

MATERIALES Y MÉTODOS.

Los ensayos fueron realizados en el Insectario de Investigaciones para Lucha Biológica (IILB), Instituto de Microbiología y Zoología Agrícola (IMYZA) del CICVyA del INTA Castelar. Se realizaron pruebas de toxicidad directa de tinturas de ajo y ají sobre larvas y adultos de *C. externa*.

Biopreparados

Los biopreparados empleados para los ensayos fueron elaborados a partir del fruto del ají picante (*Capsicum frutescens*) y del bulbo del ajo (*Allium sativum*). Las tinturas fueron preparadas de acuerdo al listado de biopreparados del INTA (UCT SURAMBA):

- Tintura de ajo: 1 cabeza de ajo se pica y se deja macerar en 1 litro de agua y un litro de alcohol. Se deja reposar de 5 a 10 días en heladera ya que el frío potencia los principios activos.
- Tintura de ají picante: Se hierven durante 10 minutos 100 g de ají fresco (o 30 g de ají seco) en 1 litro de agua. Se enfría, se filtra y se mantiene en heladera hasta su uso.

La dilución de ambas tinturas se realizó colocando 100 ml del preparado en 1 L de agua corriente (dilución 1:10 tintura/l de agua corriente). El agua corriente fue utilizada como tratamiento de referencia (control).

Insectos.

Los individuos de *C. externa* utilizados en el presente estudio fueron obtenidos de la cría mantenida del laboratorio del IILB, en condiciones controladas de temperatura, humedad y fotoperíodo ($25\pm 3^{\circ}\text{C}$, $70\pm 30\%$ HR y fotoperíodo 16:8 L: O).

La metodología utilizada en el IILB para la multiplicación del insecto es una adaptación de la descrita por Núñez (1988). Las larvas se mantienen en recipientes separados por fecha y son alimentadas con huevos de la polilla de los granos *Sitotroga cerealella* (Oliver) (*Lepidoptera: Gelechiidae*). Estos huevos son suministrados adheridos a trozos de cartulina. Se calcula un consumo de aproximadamente 2 pulgadas cuadradas de cartulina con huevos por larva y se va aumentando la cantidad suministrada de acuerdo con el estadio larval ya que, como fue mencionado anteriormente, la voracidad de las larvas va en aumento. Este alimento se renueva tres veces por semana. Cuando las larvas se encuentran en estadios larvales avanzados, se colocan porciones de cartón corrugado para que las larvas busquen sitios resguardados donde tejer el capullo. Posteriormente, los cartones que contienen a las pupas se traspasan a otro recipiente hasta la emergencia de los adultos (Figura 4).



Figura 4: Unidades cría de de pupas de *C. externa* y detalle de pupa formada en cartón corrugado.

Una vez que emergen los adultos en las unidades de cría de pupas, cada dos a tres días se colectan con un aspirador manual y se transfieren a las unidades de cría de los adultos (Figura 5). La unidad de cría de los adultos consta de un cilindro de 30 cm de alto y 15 cm de Ø, cuya base es cubierta por tergopor y su parte superior por tela voile. Su pared interna se recubre con papel manteca que brinda la superficie óptima para la oviposición. Este papel se cambia cada dos a tres días, y los huevos se remueven del papel sumergiéndolos en agua con hipoclorito de sodio (tres partes de agua corriente por una de lavandina). Esta solución disuelve los pedicelos característicos de los huevos de *C. externa* y logra que sean más fáciles de obtener luego de filtrar el agua con los huevos (Finney, 1948). Como alimento para los adultos se utiliza una dieta que se compone de partes iguales de miel y levadura de cerveza. El alimento se suministra embebiendo tiras de hilo en esta mezcla y colocándolos longitudinalmente en el interior del cilindro. En el centro de la base de tergopor se coloca un recipiente con una esponja humedecida como suministro de agua.



Figura 5: Unidad de cría de adultos de *C. externa*

Para los ensayos se usaron cohortes de individuos coetáneos, para ello se colectaron huevos ≤ 24 h de edad durante tres días consecutivos y se rotularon los recipientes por fecha (Figura 6).



Figura 6: Huevos de *C. externa* ≤ 24 h colectados en recipientes rotulados.

Toxicidad directa sobre el estado adulto.

Efecto sobre la supervivencia

La metodología utilizada para evaluar el efecto de la toxicidad directa sobre adultos de *C. externa* fue adaptada de Bakker *et al.* (2000). La unidad experimental consistió en un dispositivo conformado por dos placas de vidrio de 13 x 13 cm separadas por un cilindro de PVC de 10,5 cm $\varnothing$ y 2 cm de alto

con 4 orificios, 3 de ellos recubiertos con tela de voile para la ventilación y el restante tapado con algodón removible para la provisión de alimento.

Las placas de vidrio se asperjaron en su cara interna con las tinturas de ajo y ají y el control, agua corriente. Para obtener una aplicación uniforme en los dispositivos, se utilizó un equipo pulverizador automático con boquilla de cono hueco 8001 marca Teejet (Figura 7) a 200 kPa de presión y a una altura del objetivo de 0,4 m del Instituto de Ingeniería Rural INTA-Castelar. Una vez seca la superficie tratada (Figura 8), se armaron los dispositivos y se colocaron 6 individuos adultos de *C. externa* (3 ♂ y 3 ♀), con 8 réplicas por tratamiento (Figura 9). Los dispositivos se mantuvieron en una cámara de cría bajo condiciones controladas de $23,2 \pm 1$ °C, $60 \pm 12\%$ HR y fotoperiodo de 16:8 L:O (Figura 10). Se registró la supervivencia a las 2 y 24h de exposición.



Figura 7: Equipo pulverizador automático con boquilla de cono hueco 8001 marca Teejet del Instituto de Ingeniería Rural INTA-Castelar.



Figura 8: Placas de vidrio asperjadas en proceso de secado.

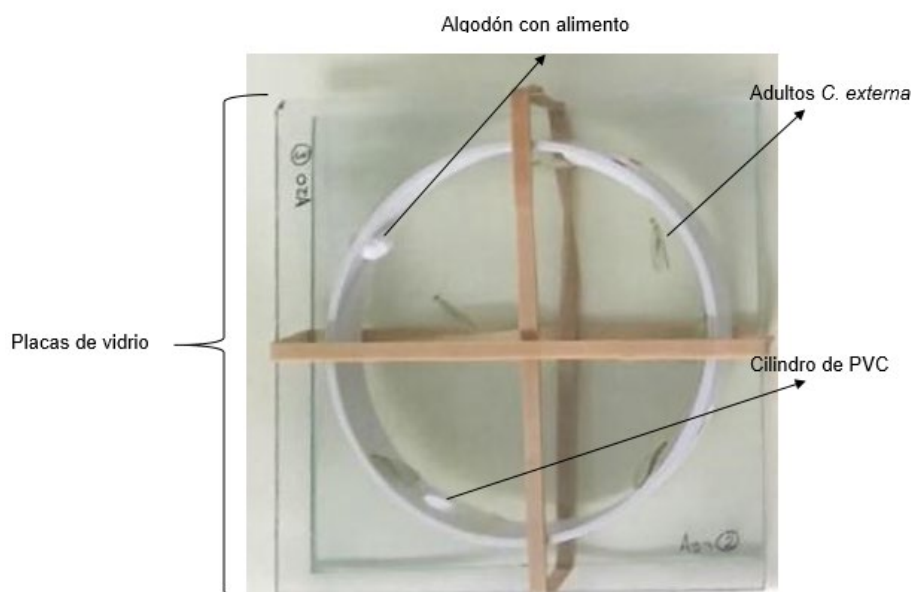


Figura 9: Dispositivo utilizado en las pruebas de toxicidad directa (adaptado de Bakker et al., 2000)



Figura 10: Preparación del alimento

Efectos subletales: fecundidad y fertilidad

La metodología para este apartado del trabajo ha sido adaptada de la propuesta por Vogt *et al.* (1998). Para cada tratamiento y en cada réplica los adultos sobrevivientes luego de 24hs de exposición fueron colocados en dispositivos de oviposición conformados por recipientes plásticos de 10 cm de alto x 8,5cm Ø y tela voile en la tapa, con agua en esponjas humedecidas y alimento para adultos embebido en tiras de hilo (Figura 11).



Figura 11: Dispositivos de oviposición con ♂ y ♀ de *C. externa*.

Estos recipientes fueron revisados cada 2 días. Luego del registro de la primer oviposición por parte de las hembras, se dejó pasar una semana para confirmar la madurez sexual de la totalidad de los insectos y se procedió a realizar el conteo de huevos. Se realizaron 4 colectas de huevos <24hs durante 4 semanas. Los huevos fueron colectados y contados con una lupa estereoscópica marca Leica (20X). Posteriormente se colocaron los huevos en envases individuales rotulados por replica de 5 cm x 8,5 cm Ø, provistos con huevos de *S. cerealella* para evitar el canibalismo entre las larvas del primer estadio. El procedimiento se repitió en 4 fechas, abarcando un período de 4 semanas. Los ensayos se realizaron en condiciones controladas: $23,2 \pm 1^\circ\text{C}$, $60 \pm 12\% \text{HR}$. A partir de los datos obtenidos se estimó la fecundidad como: N° de huevos/♀/día (Medina *et al.*, 2001; Vogt *et al.*, 1998; Zheng *et al.*, 1993). Para evaluar la fertilidad en cada muestra de huevos se realizó un conteo de las larvas a los 3 y 7 días desde la oviposición y se estimó el porcentaje de eclosión por hembra para cada muestra como: $(\text{N}^\circ \text{ larvas} / \text{N}^\circ \text{ de huevos}) * 100$.

Toxicidad directa sobre el estado larval.

Efecto sobre la supervivencia

Se expusieron larvas del primer estadio a los residuos secos de los biopreparados en forma individual en tubos Khan (7,5cm largo x 1cm Ø, superficie interna: 43,96 cm²).

Las aplicaciones de los biopreparados fueron realizadas con micropipetas Microlit[®] de acuerdo a la metodología propuesta por Desneux *et al* (2006). Para obtener una cobertura total de la superficie interna de los tubos, se aplicaron 100 µL por tubo y se rotaron hasta cubrir de forma homogénea toda la superficie. Los tubos se dejaron secar 1 hora a temperatura ambiente y se utilizó agua corriente como control (Figura 12). Una vez seca la cara interna, se colocó una larva de primer estadio de *C. externa* (2-3 días de edad, con el fin de evitar la manipulación de larvas neonatas) en cada tubo para evitar el canibalismo (n=30) (Vogt *et al.* 1998). Las larvas estuvieron expuestas continuamente hasta el estado de pupa, y se agregó alimento en abundancia cada 2/3 días. El alimento consistió en ½ pulgada de tarjeta con huevos de *S. cerealella*. Las unidades experimentales se mantuvieron en cámara bajo condiciones controladas de $23,43 \pm 1^\circ\text{C}$, $67,18 \pm 10\% \text{HR}$ y fotoperiodo de 16:8 L: O (Figura 13). Posteriormente, se evaluó la supervivencia de las larvas a las 24 horas y durante todo su desarrollo (observación cada 2/3 días).

Una vez que las larvas completaron su desarrollo, las pupas fueron colectadas y agrupadas por tratamiento en recipientes de plástico de 5cm de alto x 15 Ø. En cada recipiente se colocó alimento para los adultos. Luego de la emergencia de los adultos se seleccionaron al azar parejas para cada tratamiento (1 ♂ y 1 ♀; n=7) para evaluar la fecundidad y fertilidad. El número de réplicas dependió de la proporción de machos y hembras que emergieron por tratamiento al cabo de una semana.

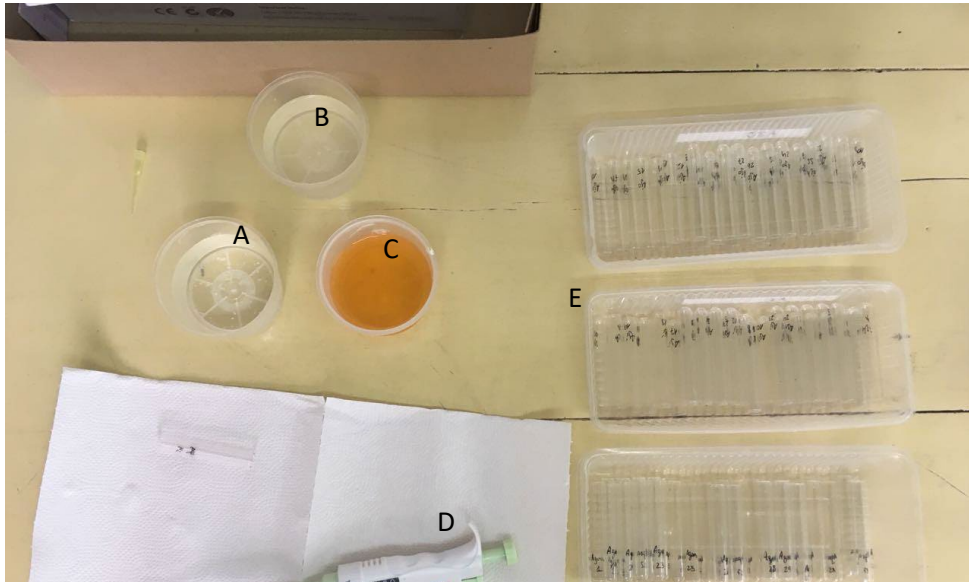


Figura 12: Ensayos con larvas de *C. externa*. Tratamientos A-C (A: Agua, B: tintura de ajo y C: tintura de ají), D: micropipeta Microlit[®] y E: tubos Khan rotulados



Figura 13: Larvas de *C. externa* en tubos Khan con ½ pulgada de tarjeta con huevos de *S. cerealella* .

Efecto sobre la fecundidad y fertilidad

Las parejas fueron acondicionadas en los dispositivos de oviposición de 10 cm de alto x 8,5cm Ø, provistas de alimento y agua. Se evaluó la fecundidad y fertilidad siguiendo la metodología propuesta por Vogt *et al.* (1998), la cual fue descrita en el apartado de fertilidad del ensayo con adultos.

Análisis de los datos

Para la supervivencia no se registró variabilidad entre las réplicas y entre los tratamientos por lo que no fue necesario realizar pruebas estadísticas a posteriori. El análisis de fertilidad y fecundidad se realizó mediante un test de ANOVA. Para los casos en que los datos no cumplían con los supuestos de ANOVA, se recurrió a la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis. Todos los análisis estadísticos se realizaron en la plataforma Infostat (Di Rienzo *et al.*, 2016). Posteriormente se realizaron comparaciones entre las medias por la prueba de Tukey ($p < 0,05$).

Los biopreparados fueron clasificados en clases toxicológicas de acuerdo a la escala propuesta por la IOBC, en base al efecto total. Se estimó para ello el efecto total (E%) considerando la supervivencia a las 24 hs en los adultos y durante todo el desarrollo en el ensayo de larvas (ya que la exposición al residuo fue constante) y la fecundidad. Para su cálculo se recurrió a la fórmula de Van de Veire *et al.* (1996):

$$E(\%) = 100 - (100 - Mc) \times ER$$

Donde Mc es la mortalidad corregida usando la fórmula de corrección de Abbot (1925) y ER es el efecto del producto en la oviposición:

$$ER = R_t / R_c,$$

R_t es la fecundidad media obtenida en cada tratamiento y R_c es la fecundidad media obtenida en el control.

Los biopreparados se agruparon en clases toxicológicas de acuerdo a la clasificación propuesta por la IOBC en base a los valores del efecto total obtenidos. Se utilizó la siguiente escala: CLASE 1, inofensivo (E < 30%); CLASE 2, poco perjudicial (E: 30 - 79%); CLASE 3, moderadamente perjudicial (80 - 99%) y CLASE 4, perjudicial (> 99%) (Hassan, 1997).

RESULTADOS.

Toxicidad sobre el estado adulto de *C. externa*.

Efectos letales.

La supervivencia resultó similar en los adultos expuestos a los biopreparados respecto del control a las 2 y 24 horas de exposición, con valores mayores a 97 % de supervivencia en ambos tratamientos a las 24 horas. La supervivencia a las 2 horas de exposición fue del 100% para todos los tratamientos, mientras que a las 24hs se registró un solo individuo muerto en los adultos expuestos a la tintura de ají.

Efectos subletales.

Efecto sobre la fecundidad.

No se hallaron diferencias significativas en la fecundidad de las hembras expuestas a los productos respecto del control para ninguna de las fechas evaluadas ($F_{\text{muestra1}}(2,23)=1,46$, $p>0,05$; $F_{\text{muestra2}}(2,23)=0,26$, $p>0,05$; $F_{\text{muestra3}}(2,23)=0,68$, $p>0,05$; $F_{\text{muestra4}}(2,23)=0,41$, $p>0,05$). Los valores de fecundidad promedio fueron: $10,17\pm3,88$ huevos/♀/día en el control, $7,70\pm3,40$ huevos/♀/día en tintura de ajo y $8,98\pm2,38$ huevos/♀/día en tintura de ají (Figura 14).

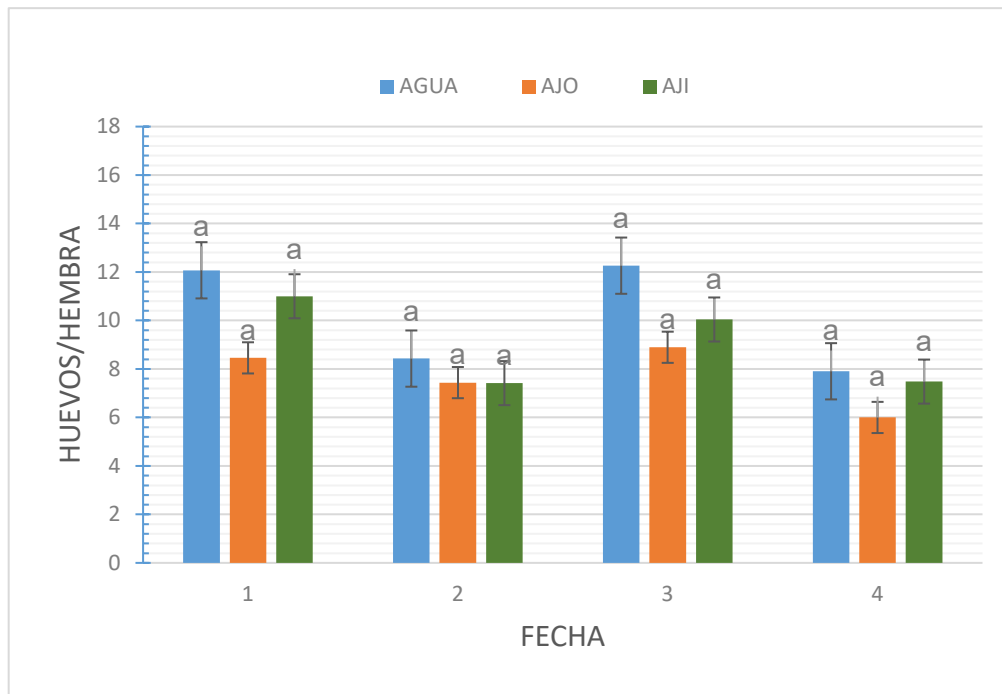


Figura 14: Efecto de la exposición de los adultos a los biopreparados en la fecundidad de las hembras de *C. externa*.

Efecto sobre la fertilidad.

No se hallaron diferencias significativas para la variable fertilidad entre los biopreparados y el control para todas las fechas evaluadas ($F_{\text{muestra1}}(2,23)=0,24, p>0,05$; $F_{\text{muestra2}}(2,23)=1,3, p>0,05$; $F_{\text{muestra3}}(2,23)=1,53, p>0,05$; $F_{\text{muestra4}}(2,23)=0,19, p>0,05$). Los valores de fertilidad promedio expresados en porcentaje del total de huevos eclosionados fueron: $78,81 \pm 10,85\%$ en el control, $69,87 \pm 7,08\%$ en ajo y $77,92 \pm 12,04\%$ en ají (Figura 15).

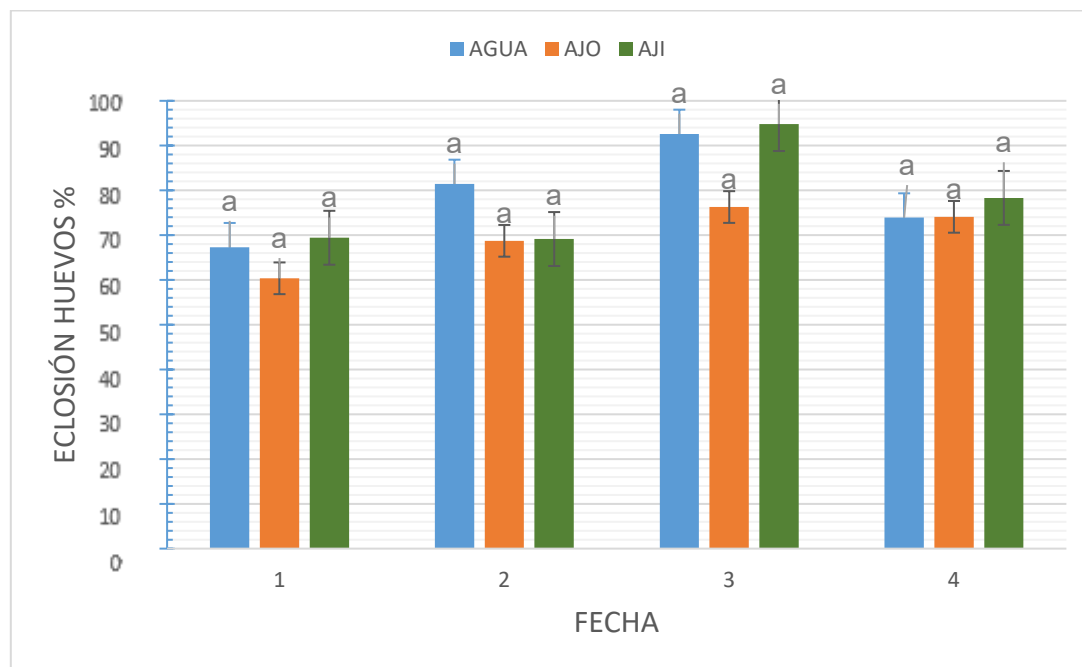


Figura 15: Efecto de la exposición de los adultos a los biopreparados en la fertilidad de las hembras de *C. externa*.

Efecto total (supervivencia y fecundidad)

En la tabla 1 se resumen los resultados obtenidos para las variables supervivencia y fecundidad y se estableció la relación entre ambas variables, el efecto total del biopreparado sobre el predador y se clasificó a los tratamientos según su toxicidad en base a la clasificación propuesta por IOBC. Los valores obtenidos indicaron que tanto la tintura de ajo como la de ají resultaron inofensivos para los adultos de *C. externa* (clase toxicológica 1). **Tabla 1. Clasificación de los biopreparados en base al efecto total (E) en la exposición de los adultos de *C. externa*.**

TRATAMIENTO	Supervivencia 24hs	Ma (%) ^a	FECUNDIDAD (Huevos/♀/4d)	ER ^b	E (%) ^c	Clase ^d
Control	100%	-	10,17±1,47	-	-	-
Ajo	100%	0	7,7±1,39	0,75	24,28	1
Ají	97%	2,08	8,98±0,84	0,88	13,47	1

^a Mortalidad corregida por la fórmula de Abbott (Abbott. 1925)

^b Fecundidad proporcional (fecundidad biopreparado/fecundidad control)

^c Efecto total del biopreparado sobre el predador ($E = 100 - (100 - Mc) \times ER$)

^d Clase toxicológica propuesta por la IOBC/WPRS (Hasan *et al.*, 1985; Hassan 1997), 1 = inofensivo ($E < 30\%$); 2 = poco perjudicial ($30 \leq E < 79\%$); 3 = moderadamente perjudicial ($80 \leq E < 99\%$); y 4 = perjudicial ($E \geq 99\%$).

Toxicidad sobre el estado larval de *C. externa*

Efectos letales.

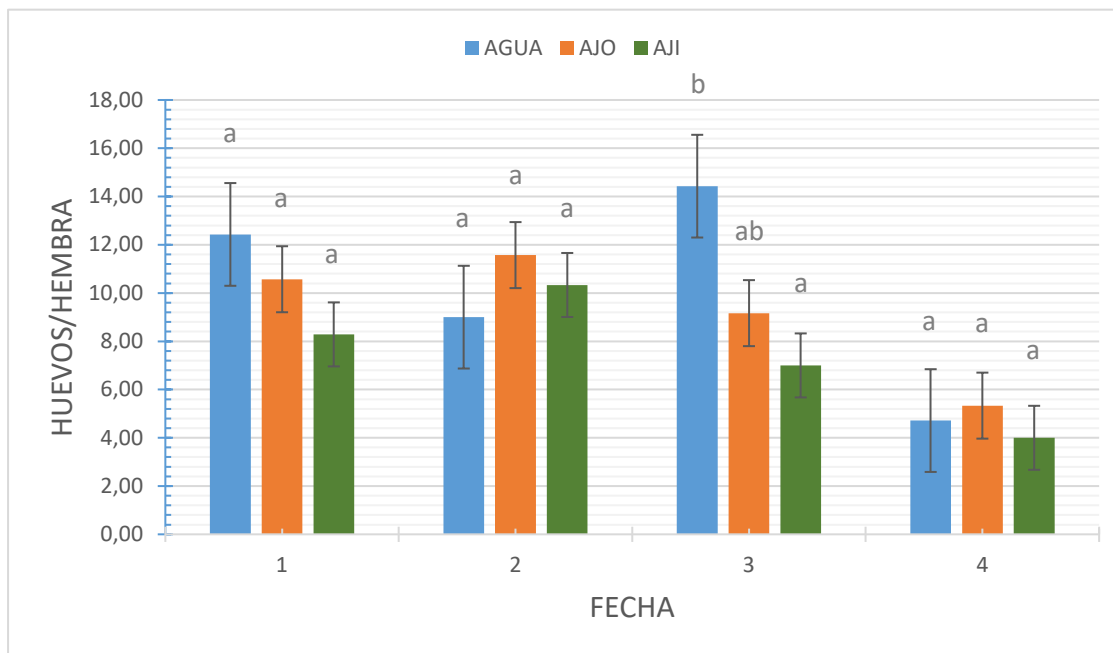
Efecto sobre la supervivencia.

Las larvas fueron expuestas a los residuos secos de los biopreparados durante todo su desarrollo. Todos los individuos del control completaron su desarrollo, mientras que se registró un individuo muerto en el estado larval tanto para la tintura de ajo como para la tintura de ají (sobrevivieron 29 de 30 individuos en cada tratamiento). La supervivencia fue del 96.7% para ambos biopreparados. Ante esta baja variabilidad no fue necesario realizar una prueba estadística a posteriori.

Efectos subletales.

Efecto sobre la fecundidad.

La fecundidad de las hembras que emergieron de las larvas expuestas a los productos respecto del control resultó similar en 3 de las 4 fechas evaluadas ($F_{\text{muestra1 (2,21)}}=1,07$, $p>0,05$; $F_{\text{muestra2 (2,21)}}=0,45$, $p>0,05$; $F_{\text{muestra4 (2,21)}}=0,12$, $p>0,05$). En el caso de la tercer fecha evaluada, se hallaron diferencias significativas ($F_{\text{muestra3 (2,21)}}=5,4$, $p=0,016$), la fecundidad en el ají fue menor a la del control, mientras que los valores en el ajo resultaron intermedios (Tabla 2). Los valores de fecundidad promedio fueron: $10,14\pm3,82$ huevos/♀/día en el control, $9,21\pm1,58$ huevos/♀/día en ajo y $6,96\pm4,29$



huevos/♀/día en ají (Figura 16).

Figura 16: Efecto de la exposición de larvas a los biopreparados en la fecundidad de las hembras de *C. externa*.

Tabla 2. Clasificación de las diferencias de las medias de la fecundidad de la tercera fecha según test de Tukey.

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=6,13109

Error: 17,7842 gl: 16

TRATAMIENTO	Medias	n	E.E.	
Ají	7,00	6	1,72	A
Ajo	9,17	6	1,72	A B
Agua	14,43	7	1,59	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Efecto sobre la fertilidad.

La fertilidad de las hembras provenientes de las larvas expuestas a los productos resultó similar entre los tratamientos y el control en todas las fechas evaluadas. Por no cumplirse ninguno de los supuestos de ANOVA, se recurrió a la prueba de Kruskal-Wallis: ($H_{\text{muestra1 (2,21)}}=2,23, p>0,05$; $H_{\text{muestra2 (2,21)}}=0,51, p>0,05$; $H_{\text{muestra3 (2,21)}}=0,96, p>0,05$; $H_{\text{muestra4 (2,21)}}=0,14, p>0,05$). Los valores de fertilidad promedio expresados en porcentaje del total de huevos eclosionados fueron: $76,35 \pm 20,32\%$ en el control, $78,38 \pm 16,63\%$ en ajo y $66,10 \pm 14,53\%$ en ají (Figura 17).

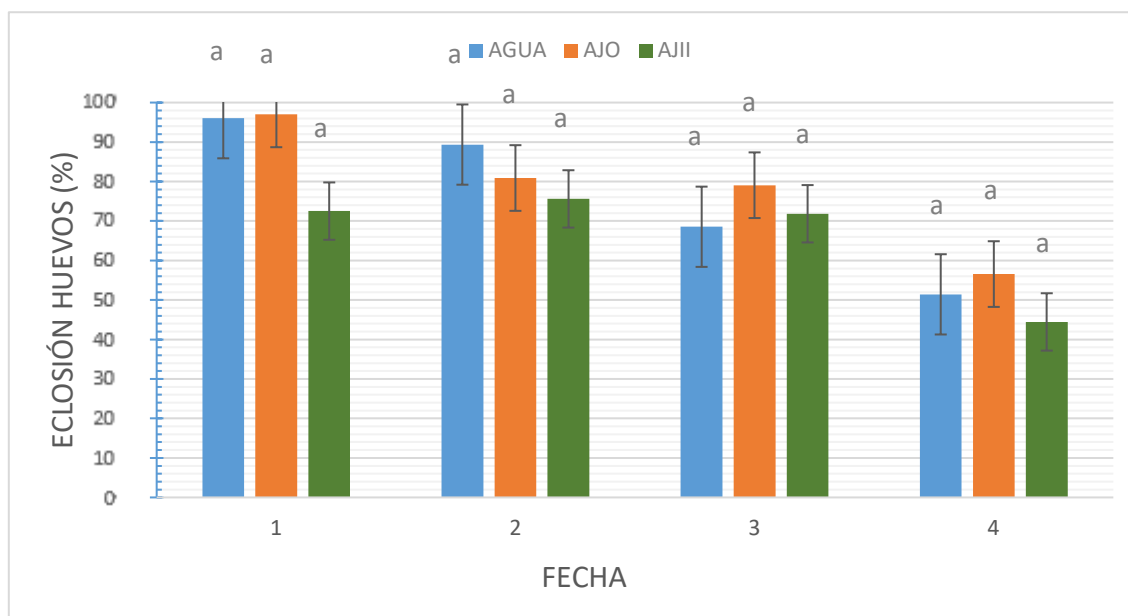


Figura 17: Efecto de la exposición de larvas a los biopreparados en la fertilidad de las hembras de *C. externa*

Efecto total (supervivencia y fecundidad)

En la tabla 3 se resumen los resultados obtenidos para las variables supervivencia y fecundidad, la relación entre ambas variables, el efecto total del biopreparado sobre el predador y la clasificación de los tratamientos según su toxicidad en base a la clasificación propuesta por IOBC. Los valores obtenidos indicaron que la tintura de ajo resultó inofensiva (clase toxicológica 1) y la tintura de ají poco perjudicial (clase toxicológica 2) para individuos expuestos en estadios larvales. **Tabla 3. Clasificación de los biopreparados en base al efecto total en la exposición de las larvas de *C. externa*.**

TRATAMIENTO	Supervivencia Larva-adulto	Ma (%) ^a	FECUNDIDAD (Huevos/♀/4d)	ER ^b	E (%) ^c	Clase ^d
Control	100%	-	10,14±3,82	-	-	-
Ajo	96,67%	3,33	9,21±1,58	0,91	12,18	1
Ají	96,67%	3,33	6,96±4,29	0,69	33,62	2

^a Mortalidad corregida por la fórmula de Abbott (Abbott. 1925)

^b Fecundidad proporcional (fecundidad biopreparado/fecundidad control)

^c Efecto total del biopreparado sobre el predador ($E = 100 - (100 - Mc) \times ER$)

^d Clase toxicológica propuesta por la IOBC/WPRS (Hassan *et al.*, 1985; Hassan 1997), 1 = inofensivo ($E < 30\%$); 2 = poco perjudicial ($30 \leq E < 79\%$); 3 = moderadamente perjudicial ($80 \leq E < 99\%$); y 4 = perjudicial ($E \geq 99\%$).

DISCUSIÓN

En primer lugar, a destacar luego de la realización de este trabajo se encuentran los resultados obtenidos sobre la letalidad de los biopreparados. Ningún tratamiento usado causó un efecto mortal considerable en ninguno de los dos ensayos. La mayor parte de los adultos y larvas de *C. externa* sobrevivieron al efecto de los residuos secos de las tinturas de ajo y ají picante con valores similares de supervivencia (97% en adultos y 96,7% en larvas). Cabe destacar que para el caso de adultos se tuvo en cuenta la supervivencia a las 24hs y en el caso del ensayo con larvas se tuvo en cuenta todo su desarrollo (larva-adulto) ya que durante todo el periodo evaluado se mantuvieron los individuos en los tubos Khan con los residuos secos de los biopreparados.

Respecto de los efectos sub-letales no se han hallado diferencias significativas para la variable fecundidad en el ensayo de adultos, mientras que en el ensayo de larvas hubo diferencias significativas únicamente en una única fecha evaluada. En este caso, en el control se obtuvo valores mayores a los obtenidos para la tintura de ají. En el control el valor fue de 14,43 huevos/♀/día y en aquellos expuestos a la tintura de ají fue de 7 huevos/♀/día, es decir la mitad. Por otro lado, los individuos tratados con la tintura de ajo obtuvieron valores intermedios a estos dos extremos (9,17 huevos/♀/día). Un dato a tener en cuenta para la variable fecundidad es el hecho de que probablemente los individuos ya hayan pasado el pico de fecundidad para las fechas 3 y 4, ya que en estas fechas el N° de huevos por hembra desciende notoriamente. Según Bigler (1988), el período de oviposición de esta especie comienza a la semana de emergidos los adultos y un 75% de la producción total de huevos se registra dentro de las primeras 3 semanas de oviposición. Esto resulta evidente al ver la tendencia decreciente de huevos puestos por hembra a medida que avanzó el tiempo desde la emergencia en ambos ensayos. Teniendo en cuenta lo expuesto, los datos para la variable fertilidad tuvieron un comportamiento similar. Existe la posibilidad de que los huevos puestos por las hembras en las fechas 3 y 4 no hayan sido fértiles por provenir de individuos muy longevos, afectando los valores obtenidos para la variable fertilidad.

En el caso del ensayo en adultos, tanto tintura de ají picante como la tintura de ajo resultaron **inofensivas** (Clase 1) ya que la respuesta a la exposición de residuos secos de los biopreparados no afectó significativamente a ninguna de las variables analizadas. La clasificación obtenida en el ensayo en larvas fue **Poco perjudicial** (Clase 2) para la tintura de ají e **inofensiva** (Clase 1) para la tintura de ajo. La tintura de ají resultó **Poco perjudicial** debido al peso que tiene la variable fecundidad en el cálculo del efecto total.

En relación a la variable supervivencia los resultados obtenidos fueron similares a aquellos registrados para otros predadores en el estado adulto como *Tupiocoris cucurbitaceus* (Spinola) (Hemiptera: Miridae). Al ser tratados con los mismos preparados y pasadas las 24hs de la aplicación, se obtuvieron valores por encima del 90% de supervivencia en todos los casos. Para *T. cucurbitaceus* la variable fecundidad no mostró diferencias significativas en los individuos expuestos a los tratamientos respecto del control. Para este predador el criterio de clasificación toxicológica resultó inofensivo para la tintura de ajo (E%=25) y moderadamente perjudicial para el caso de la tintura de ají (E%=84) (Caruso *et al.*, 2019).

Los ensayos de Caruso (2019) en ninfas de *T. cucurbitaceus* arrojaron valores de supervivencia mayores al 80% luego de 24hs de exposición a los biopreparados. Si bien el resultado obtenido por Caruso (2019) fue alto, en el caso del presente trabajo, como se ha mencionado anteriormente, el valor de la variable supervivencia ha resultado superior al 96% en larvas de *C. externa*. Esto puede deberse a la mayor tolerancia de *C. externa* frente a distintos insecticidas respecto a otras especies de enemigos naturales (Medina *et al.*, 2001).

Los valores obtenidos para la variable supervivencia fueron similares a los obtenidos por Pace *et al.* (2019), quien evaluó los efectos de la tintura de ajo y ají en huevos y adultos del predador *Orius insidiosus* (Say) (Hemiptera: Antocoridae) obteniendo una supervivencia mayor al 95% en todos los casos evaluados.

JB Maia *et al.* (2016), ha realizado su ensayo en larvas de *C. carnea* siguiendo el protocolo establecido por la OICB. En el mismo, se evaluaron los efectos letales y subletales de diversos pesticidas de síntesis: clorpirifos, deltametrina y lambdacilatronina. Teniendo en cuenta todo el ciclo, la mortalidad registrada para los tratamientos deltametrina y clorpirifos resultó alta (valores de 74.9% y 100% respectivamente). Para la lambdacilatronina, el valor fue del 25% de mortandad. Posterior al cálculo del efecto total (E%), el insecticida lambdacilatronina resultó ligeramente perjudicial (clase 2), la deltametrina moderadamente perjudicial (clase 3) y clorpirifos perjudicial (clase 4). Bueno y Freitas (2001) evaluaron el efecto de imidacloprid en larvas de *C. externa* del 1er estadio y obtuvieron un 100% de mortandad. Teniendo en cuenta estos resultados, es evidente que estos productos de síntesis pueden afectar seriamente a la fauna benéfica en comparación con los biopreparados de origen botánico empleados en este trabajo, con valores mayores al 96% de supervivencia en adultos y larvas del mismo género. En este sentido, el uso de insecticidas de síntesis puede afectar significativamente a las poblaciones de enemigos naturales como *C. externa* respecto a los biopreparados como las tinturas de ajo y ají evaluadas en este trabajo.

La fecundidad ante la aplicación de clorantraniprole obtenida por BKA Silva *et al.* (2017), fue de 3,69 huevos/♀/día, con una fertilidad del 84%+/- 1,9%. En el resto de los tratamientos no se obtuvo descendencia. Este valor de fecundidad resulta menor al obtenido en este trabajo, donde los valores de fecundidad obtenidos fueron mayores a 6 huevos/♀/día en todos los casos.

Iannacone y Lamas (2002), utilizaron distintas concentraciones de los insecticidas botánicos en base a NIM y rotenona sobre huevos, larvas y pupas de *C. externa*. Si bien los resultados obtenidos en su estudio no encontraron diferencias significativas respecto al control para las variables de supervivencia y fecundidad, la duración del ciclo se vio afectada a mayores concentraciones de aplicación. Para el caso del presente trabajo, la duración del ciclo estuvo dentro del tiempo mencionado en la bibliografía, es decir, dentro de las 4 a 6 semanas de duración (Núñez, 1989). Estas diferencias indicarían que podría ser ventajoso el empleo de tintura de ajo y ají picante en comparación a los insecticidas botánicos mencionados anteriormente para su uso conjunto con *C. externa* en planteos agroecológicos.

Según Hemingway (2000), existen una serie de enzimas asociadas a la detoxificación del insecto que logran convertir moléculas tóxicas en no tóxicas. De acuerdo con Godoy *et al.* (2010), algunos insecticidas probablemente presenten toxicidad específica en ciertas especies del género Chrysopidae. Según el autor, esto puede ser consecuencia de una selectividad fisiológica de los compuestos en los procesos de absorción, penetración, transporte y acción en tejidos y órganos vitales de los individuos.

LOS RESULTADOS AQUÍ OBTENIDOS PUEDEN SER ÚTILES PARA CONSIDERAR LA POSIBILIDAD DE EMPLEAR INDIVIDUOS DEL PREDADOR C. EXTERNA CONJUNTAMENTE CON EL USO DE LOS BIOPREPARADOS EVALUADOS. INDICANDO QUE ES FACTIBLE TANTO LA LIBERACIÓN DE HUEVOS O LARVAS COMO LA DE LOS ADULTOS DE C. EXTERNA EN LOS CULTIVOS COMO MEDIO DE CONTROL SOBRE LA POBLACIÓN PROBLEMA EN SISTEMAS DONDE TAMBIÉN SE APLIQUEN LAS TINTURAS DE AJO Y AJÍ PARA EL CONTROL DE LAS PLAGAS.

CONCLUSIÓN

En el presente trabajo se evaluó el efecto de la tintura de ají picante y de ajo sobre las variables biológicas de supervivencia, fecundidad y fertilidad de *C. externa*.

La hipótesis presentada proponía que *los parámetros biológicos del insecto no se verían afectados tras la utilización de los biopreparados*.

Los resultados obtenidos sostuvieron la hipótesis propuesta ya que no se registraron diferencias significativas entre los individuos expuestos a los tratamientos y el control en ninguno de los ensayos realizados. Para el caso del ensayo en adultos, tanto tintura de ají picante como la tintura de ajo resultaron **inofensivas** (Clase 1). La clasificación obtenida para larvas fue **Poco perjudicial** (Clase 2) para la tintura de ají e **inofensiva** (Clase 1) para la tintura de ajo.

El empleo de biopreparados como alternativa a la aplicación de insecticidas sintéticos es una buena herramienta a considerar para el manejo de plagas en estrategias de manejo integrado de plagas y particularmente en sistemas agroecológicos. Pese a que los productos de síntesis suelen ser eficientes a la hora de controlar una plaga, es posible que su uso también afecte a la fauna benéfica y en particular a los enemigos naturales. Según los resultados obtenidos, la utilización de los biopreparados como la tintura de ajo y ají es compatible con el empleo del predador *C. externa*, permitiendo el uso conjunto de estas herramientas de control. Puntualmente, la especie *C. externa* resultó compatible con las tinturas de ajo y ají empleadas en el presente estudio.

Vargas y Ubillo (2001) muestran que los resultados obtenidos en bioensayos ecotoxicológicos en condiciones de laboratorio sobre enemigos naturales no blanco, sirven como referencia para orientar la selección de plaguicidas a utilizar en los programas de control de plagas, especialmente en programas MIP.

Es necesaria la realización de futuros estudios sobre el efecto de biopreparados en la fauna benéfica para seguir generando información con un respaldo empírico sobre la compatibilidad del uso de estas alternativas de control de plagas. Los resultados obtenidos en el presente estudio aportan una información valiosa que puede ser de utilidad para que los productores que emplean este tipo de biopreparados puedan tener un respaldo científico y así poder promover la utilidad de estas herramientas en planteos agroecológicos.

BIBLIOGRAFÍA

- Abbot, W. S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology* 18: 265-267.
- Adams, P. A. & Penny, N. 1987. Neuroptera of the Amazon Basin. Introduction and Chrysopini. *Acta Amazonica* 15: 413-479.
- Albuquerque, G. S., Tauber, C. A. & Tauber, M. J. 1994. *Chrysoperla externa* (Neuroptera: Chrysopidae): life history and potential for biological control in Central and South America. *Biological Control* 4: 8-13.
- Altieri M. A. & Nicholls, C. I. 2007. Conversión agroecológica de sistemas convencionales de producción: teoría, estrategias y evaluación. *Ecosistemas* 16 (1): 3-12.
- Altieri, M. A. 1994. *Agroecology: The science of sustainable agriculture*, Westview, Press, Boulder.
- Altieri, M. A. 2001. Agroecología: principios y estrategias para diseñar sistemas agrarios sustentables. *Agroecología: el camino hacia una Agricultura Sustentable*: 27-34
- Bakker, F. M., Aldershof, S. A., Veire, M. V. D., Candolfi, M. O., Izquierdo, J. I., Kleiner, R., Neumann, C., Nienstedt, K. M. & Walker, N. 2000. A laboratory test for evaluating the effects of plants protection products on the predatory bug, *Orius laevigatus* (Fieber) (Heteroptera: Athecoridae). Guidelines to evaluate side-effects of plant protection products to non-target arthropods. *IOCB/WPRS*: 158.
- Belloni, M., Pérez, M., de Tourdonnet, S., Kazakou, E., Gardarin, A. 2020. Los diferentes acercamientos a la agroecología. MOOC Agroecología. Secuencia 2. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria e Instituto Nacional de Estudios Superiores Agronómicos de Montpellier (SupAgro).
- Bigler, F., 1988. A laboratory method for testing side-effects of pesticides on larvae of the green lacewing, *Chrysoperla carnea* Stephens (Neuroptera: Chrysopidae). *IOBC/WPRS Bull.* XI(4): 71-77.
- Boller, E. F., Avilla, J., Joerg, E., Malavolta, C., Wijnands, F. G. and Esbjerg P. 2004. Integrated production: principles and technical guidelines. *IOBC/WPRS Bulletin* 27: 1-49.
- Bueno, A. F., Freitas, S. 2001. Efeito do hexythiazox e imidacloprid sobre ovos e larvas de *Chrysoperla externa* (Hagen) (Neuroptera: Chrysopidae). *Revista Ecosystema, Espírito Santo do Pinhal* 26: 4-76.
- Caruso L. y Vizcarret M. 2019. Efecto de insecticidas biopreparados sobre a supervivencia y fecundidad de *Tupiocoris cucurbitaceus* (Hemiptera: Miridae). Pontificia Universidad Católica Argentina.
- Castle, S. & Naranjo, S. E. 2009. Sampling plans, selective insecticides and sustainability: the case of IMP as 'informed pest management'. *Pest Management Science* 65: 1321-1328.
- Cooper, J. and Dobson, H. 2007. The benefits of pesticides to mankind and the environment. *Crop Protection* 26: 1337- 1348.
- Cucchi, J.A., Mendoza, G., Uliarte, E., Becerra, V., Gonzalez, M., Marcucci, B., Gomez Talquenca, G., Van Den Bosch, M. E., Montoya, M., Portillo, V., Herrera, M. E., Dagatti, C., Escoriaza, M.,

- Cesari, C., Arias, M., Longone, M., De Borbon, C., Lobos, E., Holgado, M., Marin, M., Prieto, A., Aguilera, R., Fernandez Brizuela, A., Elaskar, A., Marchesini, E., Mezzatesta, D., Parera, C (h)., Serrani, A., Vicchi, F. y Soto, A. .2020. Agricultura sin plaguicidas sintéticos: manejo agroecológico de plagas en cultivos argentinos. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. INTA Ediciones, Estación Experimental Agropecuaria Mendoza.
- De Bach, P. 1977. Lucha Biológica contra los enemigos de las plantas. Versión española de M. Arroyo y C. Santiago Alvarez. Editorial Mundi-Prensa. 1-399.
- De Fátima, A., Andrade, C., Costa, L. V. & Fonseca, M. 2013. Selectivity of seven insecticides against pupae and adults of *Chrysoperla externa* (Neuroptera: Chrysopidae). Revista Colombiana de entomología 39: 34-39.
- Desneux, N., Denoyelle, R & Kaiser, L. 2006. A multi-step bioassay to assess the effect of the deltamethrin on the parasitic wasp *Aphidius ervi*. Chemosphere 65: 1697–1706.
- Di Rienzo, J. A., Casanoves, F., Balzarini, M. G., Gonzalez, L., Tablada, M., & Robledo, C. W. (2016). Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- Díaz Aranda, L. M. & Monserrat, V. J. 1995. Aphidophagous predator diagnosis: Key to genera of European chrysopid larvae (Neuroptera: Chrysopidae). Entomophaga 40: 169-181.
- Finney, G. L. 1948. Culturing *Chrysopa californica* and obtaining eggs for field distribution. Econ. Ent. 41: 719-721.
- Fogel, M. N. 2012. Selectividad de insecticidas utilizados en cultivos hortícolas del Cinturón Hortícola Platense sobre el depredador *Eriopis connexa* en el marco del Manejo Integrado de Plagas.
- Gentz, M. C., Murdoch, G. and King, G. F. 2010 Tandem use of selective insecticides and natural enemies for effective reduced-risk pest management. Biological Control 52: 208-215.
- Godoy, M. S., Carvalho, G. A., Carvalho, B. F., Lasmar, O. 2010. Seletividade fisiológica de inseticidas em duas espécies de crisopídeos. Pesquisa Agropecuária Brasileira 45: 1253-1258.
- Gonscalves, M. E. C., Oliveira, J. V., Barros, R., Torres, J. B. 2000 .Effect of vegetal aqueous extracts on immature stages and females of the cassava green mite *Mononychelus tanajoa*. International Congress of Entomology. Abstract Book I. (2000, Brasil).
- Gruber, A. K. 1992. Perspectivas del cultivo y uso del árbol del Nim (*Azadirachta indica* A. Juss.) en América Latina. Taller de intercambio de experiencias y conocimientos sobre el cultivo del árbol del Nim en America Latina: 15-24.
- Haramboure, M. 2016. Evaluation of tolerance and susceptibility to conventional and biorational insecticides in *Chrysoperla externa* and *C. asoralis* (Neuroptera: Chrysopidae). National University of La Plata. Faculty of Natural Sciences and Museum ; Ghent University. Faculty of Bioscience Engineering, La Plata, Buenos Aires, Argentina ; Ghent, Belgium.
- Hassan, S. A. 1997. Métodos padronizados para testes de seletividade com ênfase em *Trichogramma*. *Trichogramma e o controle biológico aplicado*: 207-233.
- Hassan, S.A. & Oomen, P.A. 1985. Testing the side effects of pesticides on beneficial organisms by OILB Working Party. Biological Pest Control – the Glasshouse Experience: 145–152.

- Hemingway J., Ranson H. 2000. Insecticide Resistance In Insect Vectors of Human Disease. Annual Review of Entomology 45: 371-391.
- Iannacone, J. A., Alvarino , L. 2001. Efecto de la azadiractina y rotenona en las poblaciones del gusano ejército *Spodoptera eridania* (Cramer) (Lepidoptera: Noctuidae) en el cultivo de tomate en Ica, Perú. Convención Nacional de Entomología 'Ing. Oscar Beingolea Guerrero In Memoriam'. Libro de Resúmenes: 136.
- Iannacone, J. A., Reyes, M. 2001. Efecto en las poblaciones de *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) y *Liriomyza huidobrensis* (Diptera: Agromyzidae) por los insecticidas botánicos neem y rotenona en el cultivo de tomate en el Perú. Revista Colombiana de Entomología 27: 147-152.
- Iannacone, J. A., y Murrugarra, Y. 2000. Efecto en las poblaciones del predador *Metacanthus tenellus* (Heteroptera: Berytidae) por los insecticidas botánicos rotenona y neem en el cultivo de tomate en el Perú. Revista Colombiana de Entomología 26: 89-97.
- Iannacone, J., Lamas, G. 2002. Efecto de dos extractos botánicos y un insecticida convencional sobre el depredador *Chrysoperla externa*. Manejo Integrado de Plagas y Agroecología (Costa Rica) 65: 92-101.
- IPES/FAO, 2010. Biopreparados para el manejo sostenible de plagas y enfermedades en la agricultura urbana y periurbana Primera Edición, noviembre de 2010 IPES / FAO 2010.
- Isman, M. B. 1997. Neem and other botanical insecticides: Barriers to commercialization. *Phytoparasitica* 25: 147-152.
- Isman, M. B. 2000. Phytochemical prospecting for insecticides: improving the odds of discovery. International Congress of Entomology. Abstract Book I. (2000, Brasil).
- Jacas, J. y Viñuela, E. 1994. Side-effects of pesticides on *Opius concolor*, a parasitoid of the olive fruit fly. *IOBC/WPRS Bulletin* 17: 143-146.
- Jacobson, M. 1989. Botanical pesticides: past, present and future. pp. 1-10. En Arnason, J. T., B.J.R. Philogene y P. Morand (eds.). *Insecticides of plant origin*. ACS Symposium Series 1989. 387pp.
- Liu, X.; Lin, Y. 2003. Biological activity of capsaicin and its joint action with other pesticides. *Chinese Journal of Pesticide Science* 5:94-96.
- Lu, Y. H., Wu, K. M., Jiang, Y. Y., Guo, Y. Y. & Desneux N. 2012. Widespread adoption of Bt cotton and insecticide decrease promotes biocontrol services. *Nature* 487: 362-365.
- Maia, J. B., Carvalho, G. A., Medina, P. 2016. Lethal and sublethal effects of pesticides on *Chrysoperla carnea* larvae (Neuroptera: Chrysopidae) and the influence of rainfall in their degradation pattern over time. *Ecotoxicology* 25: 845-855.
- Mansaray, M. 2000. Herbal remedies food or medicine?. *Chem. Ind.* 20(16), 677- 678.
- Medina, P., Budia, F., Tirry, L., Smagghe, G. & Viñuela, E. 2001. Compatibility of spinosad, tebufenozide and azadirachtin with eggs and pupae of the predator *Chrysoperla carnea* (Stephens) under laboratory conditions. *Biocontrol Science and Technology* 11: 597-610.
- Minks, A. K., Blommers, L. H. M., Ramakers, P. M. J. & Theunissen, J. 1998. Fifty years of biological and integrated control in western Europe: accomplishments and future prospects.

Medelingen Faculteit Landbouwkundige en Toegepaste Biologische Wetenschappen
Universiteit Gent 63: 165-181.

- Moura, A. P., Carvalho, G. A., Moscardini, V. F., Lasmar, O., Rezende, D. T., & Marques, M. C. 2010. Selectivity of pesticides used in integrated Apple production to the lacewing *Chrysoperla externa*. *Journal of Insect Science* 10: 121.
- New, T. R. 2001. Introduction to the systematics and distribution of Coniopterygidae, Hemerobiidae and Chrysopidae used in pest management. *Lacewigs in the crop environment*: 6-28.
- Núñez Z., E. (1988). Ciclo biológico y crianza de *Chrysoperla externa* y *Ceraeochrysa cincta* (Neuroptera, Chrysopidae). *Revista Peruana De Entomología* 31: 76-82.
- Ottaway, P.B. 2001. The roots of a health diet. *Chem. Ind.* 22, 42-44.
- Pace A. y Andorno A.V. 2019. *Efecto de la aplicación de bioplaguicidas sobre el predador Orius insidiosus (Hemiptera: Anthrenidae)*. Pontificia Universidad Católica Argentina.
- Silva, B. K. A., Sekiguchi De Godoy, M., Gomes De Lima, A., Soares De Oliveira, A. K. & Pastori, P. L. 2017. Toxicity of insecticides used in muskmelon on first-instar larvae of *Chrysoperla genanigra* Freitas (Neuroptera: Chrysopidae). *Revista Caatinga* 30: 662-669.
- Solagro – Soluciones Agrosensibles. Control Biológico. <https://solagro.com.pe>
- Stern, V. M., Smith, R. F., van Den Bosch, R. and Hagen, K.S. 1959. The integrated control concept. *Hilgardia* 29: 81-101.
- Symondson, W. O. C., Sunderland, K. D. & Greenstone, M. H. 2002. Can generalist predators be effective biocontrol agents? *Annual Review of Entomology* 47: 561-594.
- Tang, S., Tang, G. and Cheke, R. A. 2010. Optimum timing for integrated pest management: modeling rates of pesticides application and natural enemy release. *Journal of Theoretical Biology* 264: 623-638.
- UCT SUR AMBA. 2013. Manejo agroecológico de plagas y enfermedades.
- Van de Veire, M., Smagghe, G., Degheele, D. A. 1996. Laboratory test method to evaluate the effect of 31 pesticides on the predatory bug, *Orius laevigatus* (Heteroptera: Anthrenidae). *Entomophaga* 41 235-243.
- Van Driesche, R. G. & Bellows, T. S. 1996. *Biological Control*. Chapman & Hall editions. 1-539.
- Vandermeer J. 1995. The ecological basis of alternative agriculture. *Annual Review of Ecological Systems* 26: 201-224.
- Vargas, R., Ubillo, A. 2001. Toxicidad de pesticidas sobre enemigos naturales de plagas agrícolas. *Agricultura técnica* 61: 35-41.
- Venzon, M., Rosado, M. C., Euzébio, D. E., Souza, B., & Schoereder, J. H. 2006. Suitability of leguminous cover crop pollens as food source for the Green lacewing *Chrysoperla externa* (Hagen) (Neuroptera: Chrysopidae). *Neotropical Entomology* 35: 371-376.
- Vogt, H., Degrande, P., Just, J., Klepka, S., Kühner, C., Nickless, A.,...Bigler, F. 1998. Side-effects of pesticides on larvae of *Chrysoperla carnea* (Neuroptera, Chrysopidae): actual state of the laboratory method. *Ecotoxicology*: 123–136.

- Vogt, H., Gonzalez, M., Adán, A., Smagghe, G. y Viñuela, E. 1998. Efectos secundarios de la azadiractina, vía contacto residual, en larvas jóvenes del depredador *Chrysoperla carnea* (Stephens) (Neuroptera: Chrysopidae). Boletín de Sanidad Vegetal. Plagas 24: 67-78.
- Zalom, F. G. 2010. Pesticide use practices in integrated pest management. Haye's Handbook of Pesticide Toxicology (3): 303-313.
- Zheng, X. N., Coll, J. T., Xie, J. J., Liu, X. Q., Campos, F. D. 2000. Comparison of rotenone contents bioactivity between roots and callus cultures of *Derris elliptica*. International Congress of Entomology. Abstract Book I. (2000, Brasil).
- Zheng, Y., Daane, K. M., Hagen, K. S. & Mittler, T. E. 1993. Influence of larval food consumption on the fecundity of the lacewing *Chrysoperla carnea*. Entomologia Experimentalis et Applicata 67: 9-14.