

ARTÍCULO ORIGINAL

Compatibilidad de cuatro plaguicidas de diferentes grupos químicos con *Lecanicillium lecanii* (Zimm.) Zare & Gams

Leónides Castellanos González^I, María E. Lorenzo Nicao^{II}, Berta Lina Muiño^{III}

^ICentro de Estudios para la Transformación Agraria Sostenible (CETAS), Universidad de Cienfuegos.

Carretera Rodas km 4. Correo electrónico: icastellanos@ucf.edu.cu. ^{II}Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal Cienfuegos, Carretera de Palmira km 4. ^{III}Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal (INISAV), La Habana. Cuba.

RESUMEN: El objetivo del presente trabajo fue determinar la compatibilidad de cuatro formulados plaguicidas de diferentes grupos químicos (imidacloprid, metamidofos, dicofol y abamectina), con el hongo entomopatógeno *Lecanicillium lecanii* (Zimm.) Zare & Gams cepa Y-57. Los ensayos se realizaron *in vitro* con concentraciones de los productos de 10, 100, 200, 500, 1000 y 2000 mg.L⁻¹, evaluándose la inhibición del crecimiento de la colonia del hongo en medio sólido, así como, el efecto de los productos químicos sobre la capacidad esporulativa y la germinación de los conidios. Dicofol se clasificó como muy tóxico (T=8,6), metamidofos ligeramente tóxico (T=52,69), y abamectina e imidacloprid resultaron compatibles con el hongo entomopatógeno, con valores de T > 60. Dicofol inhibió totalmente la germinación de los conidios del hongo a todas las concentraciones estudiadas y metamidofos a partir de la dosis de campo, mientras que abamectina e Imidacloprid no produjeron afectación.

Palabras clave: plaguicidas, hongos entomopatógenos, toxicidad.

Compatibility of four pesticides belonging to different chemical groups with *Lecanicillium (Verticillium) lecanii* (Zimm.) Zare & Gams

ABSTRACT: The objective of the present work was to determine the compatibility of four formulated pesticides of different chemical groups (imidacloprid, methamidophos, dicofol, and abamectin) with the entomopathogenic fungus *Lecanicillium lecanii* (Zimm.) Zare & Gams) strain Y-57. The assays were carried out *in vitro* with the following concentrations of the pesticides: 10, 100, 200, 500, 1000 and 2000 mg.L⁻¹. Growth inhibition of the fungus colony on solid media, as well as the effect on the spore production capacity and conidia germination were evaluated. Dicofol was classified as very toxic (T=8,6), methamidophos as lightly toxic (T=52,69), and abamectin and imidacloprid were compatible with the entomopathogenic fungus, with values of T > 60. Dicofol inhibited the conidia germination totally at all the studied concentrations and methamidophos from the field dose (1000 mg.L⁻¹). No effect was observed with abamectin or Imidacloprid.

Key words: pesticides, entomopathogenic fungi, toxicity.

INTRODUCCIÓN

El manejo integrado de plagas en Cuba se distingue por un gran desarrollo de la lucha biológica para el manejo de las poblaciones de insectos, donde los hongos entomopatógenos, entre los cuales se destacan *Lecanicillium lecanii* (Zimm.) (Zare & Gams)(ex *Verticillium lecanii* Zimm.), *Beauveria bassiana* Bals. y *Metarrhizium anisopliae*, poseen amplio uso (1).

L. lecanii se recomienda para el manejo de diferentes especies de áfidos y moscas blancas en tomate, soya, cucurbitáceas, fruta bomba, cítricos, repollo y tabaco (2). La cepa Y-57 de *L. lecanii* es el hongo entomopatógeno que más se produce en Cuba después de *B. bassiana* (1). Este entomopatógeno fue recomendado también para combatir a *Thrips palmi* Karny, cuando este fue introducido en Cuba en 1996 (3).

En Cuba existe una gran experiencia en el manejo integrado de plagas como soporte del sistema de protección de plantas, con un fuerte componente en el control biológico, donde los hongos entomopatógenos son fundamentales; no obstante, se contempla en los programas de manejo, en última instancia, el uso de plaguicidas químicos (4), por lo que se precisa del conocimiento de la compatibilidad de los diferentes productos que son empleados.

En este contexto, se conoce que aunque el herbicida quizolofop- p- etilo, utilizado en el cultivo de la papa, se clasificó como compatible con el hongo *L. lecanii* cepa Y- 57, se consideró ligeramente tóxico para el hongo según la escala de la OILB, y además manifestó 100 % de inhibición de la germinación de los conidios del hongo a concentraciones iguales o superiores a 10 mg.L⁻¹ (5).

Por otra parte, un estudio del efecto de seis fungicidas de diferentes grupos químicos sobre *L. lecanii* cepa Y- 57, arrojó que tres de ellos resultaron muy tóxicos para esta cepa de hongo y otros tres moderadamente tóxicos en su clasificación de compatibilidad, lo cual obliga a tener extremo cuidado cuando se realizan tratamientos fungicidas en áreas donde se utiliza el hongo entomopatógeno (6). El único estudio informado en Cuba para *L. lecanii* cepa Y-57 relacionado con la compatibilidad con insecticidas fue realizado en 1998 e incluyó tres formulados (7), dos de los cuales son de poco uso actualmente, por lo que se requiere profundizar en este tema.

El objetivo del presente trabajo fue determinar el efecto de cuatro formulados plaguicidas de diferentes grupos químicos, que se emplean para el control de insectos y ácaros en diferentes cultivos, sobre la cepa de mayor uso en Cuba del hongo entomopatógeno *L. lecanii*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se seleccionaron cuatro plaguicidas de diferentes grupos químicos, que se emplean con frecuencia para el control de insectos y ácaros plagas en cultivos hortícolas, según recomendaciones del Centro Nacional de Sanidad Vegetal (8):

Insecticida- acaricida	Grupo químico	Formulado	Dosis de campo
Imidacloprid	Neonicotinoide	Relevo PH 70	1000 mg.L ⁻¹ .
Dicofol	Organoclorado	Dicofol CE 18.5	500-600 mg.L ⁻¹ .
Abamectina	Avermectina	Abamectina CE 1.8	10 -20 mg.L ⁻¹ .
Metamidofos	Organofosforado	Amidor CS 60	1000-1200 mg.L ⁻¹ .

Para los ensayos se empleó el hongo entomopatógeno *L. lecanii* cepa Y- 57, obtenido de la colección del Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal de Cienfuegos (Cuba). Esta cepa se conservó a 9°C en tubos con medio agar papa-dextrosa hasta el momento de ser empleada.

Se tomaron 0,5 ml de una suspensión conidial de 10⁸ conidios. ml⁻¹ con Tween 80 (0,01%), realizándose siembras con espátula de Drigalski en placas Petri de 9 cm, sobre el mismo medio utilizado para la conservación del microorganismo. Los cultivos se incubaron a 27°C en la oscuridad durante 5 días y posteriormente fueron transferidos a los medios envenenados.

Se añadió la cantidad necesaria de cada formulado en un litro de agua destilada, previamente esterilizada, para obtener una solución madre de 5000 mg.L⁻¹ de cada plaguicida. A partir de esta solución se realizaron diluciones de menor concentración. A cada formulado se le realizó el control de calidad para verificar la correspondencia de la proporción real del ingrediente activo y lo certificado por el proveedor en la especialidad de Toxicología de Plaguicidas del Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal de Cienfuegos.

El medio de cultivo se envasó en erlermeyers y se esterilizó en autoclave por 15 minutos a 121°C, luego se dejaron enfriar hasta 45°C y se añadieron las cantidades correspondientes de las soluciones de cada formulado, hasta obtener el rango de concentraciones de estudio: 10, 100, 200, 500, 1000 y 2000 mg.L⁻¹. Posteriormente se extendieron en placas Petri de 9 cm de diámetro, sobre las que se ubicaron discos de 0,5 cm de diámetro del cultivo del hongo de cinco días de edad (discos obtenidos de la periferia de la colonia). Se incluyó una variante con medio de cultivo sin adicionarle plaguicida (testigo). Cada variante se replicó cinco veces, empleándose un diseño completamente aleatorizado, incubándose a 27°C en la oscuridad. A los 10 días se realizó la evaluación del crecimiento micelial radial, midiéndose el diámetro de la colonia en mm. Con los datos obtenidos se calculó el porcentaje de inhibición del crecimiento para cada variante mediante la fórmula de Abbot (9).

Los valores de porcentaje de inhibición del crecimiento micelial radial se transformaron utilizando la expresión $2\arcsen \%$. Posteriormente se realizó un análisis de varianza para determinar si había diferencias entre los formulados a las diferentes concentraciones. Las medias se compararon por el test de rangos múltiples de Duncan con un 5% de probabilidad de error. Se empleó el paquete estadístico SPSS para Windows versión 15.0.

Para medir el efecto de cada formulado sobre la capacidad esporulativa (conidiogénesis), se envenenaron los medios de cultivo a las diferentes concentraciones, de forma similar a como se describió anteriormente. La evaluación se realizó a los 10 días de iniciado el ensayo. El parámetro medido como indicador del efecto del formulado fue la intensidad de esporulación, para lo cual se tomó un disco de 0,5 cm de diámetro del hongo por placa a 2 cm del centro y se colocó en 2 ml de agua destilada estéril con Tween (0,01%). Se agitó reiteradamente la suspensión y posteriormente se realizaron los conteos (conidios. ml⁻¹) en la cámara de Neubauer.

La compatibilidad de cada plaguicida con el hongo entomopatógeno se calculó según el valor T propuesto por Alves *et al.* (10), empleando los dos indicadores evaluados anteriormente, porcentaje de inhibición del crecimiento micelial y el efecto sobre la capacidad esporulativa a los 10 días, a través de la fórmula:

$$T = 20 [CV] + 80 [ESP] / 100$$

donde:

T = valor corregido para la clasificación del producto;

Cv = porcentaje de crecimiento vegetativo con relación al testigo;

ESP = porcentaje de esporulación con relación al testigo.

Los valores de T se clasificaron según la escala (10), que establece que:

0 a 30	Muy tóxico
31 a 45	Tóxico
46 a 60	Moderadamente tóxico
> 60	Compatible

Se determinó además el efecto de los fungicidas sobre la germinación de los conidios del *L. lecanii*, para lo cual se emplearon portaobjetos sobre los cuales se colocaron 0,5 ml del medio de cultivo envenenado con las concentraciones en estudio de cada producto, luego se les añadió 0,1 ml de una suspensión conidial de 10⁸ conidios.ml⁻¹ del hongo y se incubaron a 27°C en la oscuridad. Se emplearon cinco

portaobjetos (réplicas) por variante, los cuales se mantuvieron en cámaras húmedas dentro de placas Petri. El porcentaje de germinación se determinó a las 24 horas por medio de un microscopio óptico. Se contaron 100 conidios por cada réplica.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los cuatro formulados químicos provocaron inhibición del crecimiento de *L. lecanii* a la dosis mínima estudiada (10 mg.L⁻¹), siendo mayor el efecto provocado por dicofol a todas las concentraciones estudiadas (Tabla 1). Abamectina se ubicó en segundo lugar desde el punto de vista estadístico, aunque hay que tener en consideración que la dosis de campo de este plaguicida es muy baja (10 -20 mg.L⁻¹).

Resultó interesante que los formulados evaluados, a los cuales no se les declara efecto fungicida, lograron inhibir el crecimiento de *L. lecanii* entre 27,3 y 62,6% a la dosis de campo.

La esporulación *in vitro* del hongo entomopatógeno fue afectada por los cuatro productos a todas las concentraciones evaluadas. Se produjeron disminuciones en este parámetro en presencia de imidacloprid, metamidofos y abamectina; mientras que *L. lecanii* no produjo conidios en presencia de dicofol, a ninguna de las concentraciones (Tabla 2).

En la literatura consultada no se encontraron referencias acerca del efecto de los productos evaluados sobre la esporulación de *L. lecanii*.

Se produjo 100% de germinación de los conidios de *L. lecanii* en todas concentraciones de imidacloprid y abamectina a las 24 horas; sin embargo, esta fue totalmente inhibida en presencia de dicofol (todas las concentraciones) (Tabla 3). Por su parte, metamidofos inhibió totalmente la germinación de los conidios a concentraciones a partir de la dosis de campo 1000 mg.L⁻¹.

La clasificación de cada producto con relación a *L. lecanii* se expone en la Tabla 4. Los productos imidacloprid y abamectina podrán ser empleados ya que se clasificaron como compatibles con el hongo entomopatógeno según la escala de clasificación (10) y además no inhibieron la germinación de los conidios, aspecto muy importante para que el microorganismo comience su ciclo infectivo sobre los insectos plaga.

Laureiro *et al.* (11) informaron que imidacloprid resultó compatible con *L. lecanii* (T=85,24), mientras que abamectina fue clasificado como moderadamente tóxico (T= 48,98). Por su parte, Tanzini *et al.* (12) clasificaron a metamidofos como compatible con *L. lecanii*.

TABLA 1. Porcentaje de inhibición del crecimiento *in vitro* de *Lecanicillium lecanii* frente los cuatro plaguicidas en estudio./ *Percentage of growth inhibition of Lecanicillium lecanii in front of the four pesticides studied.*

Formulados	Concentraciones					
	10 mg.L ⁻¹	100 mg.L ⁻¹	200 mg.L ⁻¹	500 mg.L ⁻¹	1000 mg.L ⁻¹	2000 mg.L ⁻¹
	Inhibición (%)					
Imidaclopid.	5,7 d	6,8 d	10,3 d	27,5 d	32,0 c	51,7 c
Dicofol	37,9 a	55,1 a	60,0 a	62,6 a	65,1 a	72,0 a
Abamectina	27,3 b	44,4 b	46,6 b	49,6 b	55,1 b	60,0 b
Metamidofos	20,0 c	25,7 c	28,5 c	31,4 c	32,8 c	34,2 d
ESx	0,003	0,005	0,003	0,003	0,005	0,012
CV	2,05	0,20	1,77	1,73	4,8	6,6

Medias seguidas de letras diferentes, en una misma columna, difieren entre sí (p≤0,05)

TABLA 2. Esporulación de *Lecanicillium lecanii* a diferentes concentraciones de los formulados en estudio a los 10 días./ *Spore production of Lecanicillium lecanii at different concentrations of the studied pesticides on the 10th day.*

Formulados	Testigo	Concentraciones					
		10 mg.L ⁻¹	100 mg.L ⁻¹	200 mg.L ⁻¹	500 mg.L ⁻¹	1000 mg.L ⁻¹	2000 mg.L ⁻¹
		Conidios.ml ⁻¹					
Imidaclopid.	7,2 x 10 ⁷	5,1 x 10 ⁷	4,2 x 10 ⁷	3,2 x 10 ⁷	3,7 x 10 ⁷	4,2 x 10 ⁷	3,7 x 10 ⁷
Dicofol	7,2 x 10 ⁷	0	0	0	0	0	0
Abamectina	5,3 x 10 ⁷	3,7 x 10 ⁷	3,7 x 10 ⁷	3,3 x 10 ⁷	3,0 x 10 ⁷	3,0 x 10 ⁷	3,0 x 10 ⁷
Metamidofos	7,3 x 10 ⁷	5,0 x 10 ⁷	5,0 x 10 ⁷	5,5 x 10 ⁷	4,8 x 10 ⁷	3,4 x 10 ⁷	2,4 x 10 ⁷

TABLA 3. Porcentaje de germinación de los conidios de *Lecanicillium lecanii* a diferentes concentraciones de los plaguicidas en estudio a las 24 horas./ *Percentage of conidia germination of Lecanicillium lecanii at different pesticide concentrations after 24 hours.*

Formulados	Testigo	Concentraciones					
		10 mg.L ⁻¹	100 mg.L ⁻¹	200 mg.L ⁻¹	500 mg.L ⁻¹	1000 mg.L ⁻¹	2000 mg.L ⁻¹
		(%)					
Imidaclopid.	100	100	100	100	100	100	100
Dicofol	100	0	0	0	0	0	0
Abamectina	100	100	100	100	100	100	100
Metamidofos	100	61	43	41	41	0	0

TABLA 4. Clasificación de la compatibilidad de los plaguicidas con *Lecanicillium lecanii* a las dosis de campo./ *Classification of the compatibility of the pesticides with Lecanicillium lecanii at the field doses.*

Formulados	Valor T	Clasificación
Imidaclopid	60,0	Compatible
Dicofol	8,6	Muy Tóxico
Abamectina	70,38	Compatible
Metamidofos	52,69	Moderadamente Tóxico

Los resultados del presente estudio concuerdan con los obtenidos para el primer plaguicida y difieren de los referidos por esos autores para abamectina. Esto pudiera estar relacionado con las diferencias intrínsecas de las cepas utilizadas en cada estudio. Al respecto, Tanzini *et al.* (12) refirieron la importancia de realizar estudios de compatibilidad de forma particular para las diferentes cepas de hongos entomopatógenos, ya que no todas presentan igual respuesta frente a los plaguicidas. Los presentes resultados coincidieron con los obtenidos por Muiño y Larrinaga (7), con el producto metamidofos, al que clasificaron como ligeramente tóxico para *L. lecanii* cepa Y- 57.

No se encontraron en la literatura nacional e internacional consultada, resultados de estudios de compatibilidad realizados con dicofol y *L. lecanii* u otro hongo entomopatógeno, a pesar de ser este un acaricida de amplio uso. Este producto es recomendado en Cuba para el control de plagas en cultivos como aguacate, mango, guayaba, plátano, ajo, boniato, cítricos, frijol, malanga, ornamentales, papa, tomate, pimiento y piña (8).

Investigaciones realizadas en otros países dieron cuenta de que algunos insecticidas resultaron incompatibles con *L. lecanii* como endosulfan (13) y monocrotophos (14); sin embargo, el primer producto es de empleo muy restringido en Cuba y para el segundo no está autorizado su uso (8).

La revelación de la clasificación de muy tóxico para el acaricida dicofol y moderadamente tóxico para el insecticida metamidofos en cuanto a la compatibilidad con *L. lecanii*, se adiciona a los informes en Cuba de Muiño y Larrinaga (7) y de Castellanos *et al.* (6) sobre la toxicidad de varios pesticidas de diferentes grupos químicos y de seis fungicidas, respectivamente, lo que obliga a extremar las precauciones cuando se combinan tratamientos tanto de fungicidas, como acaricidas e insecticidas con el entomopatógeno en los agroecosistemas, o éste está presente naturalmente en el campo.

CONCLUSIONES

El formulado dicofol se clasificó como muy tóxico, metamidofos ligeramente tóxico y abamectina e imidacloprid resultaron compatibles con el hongo entomopatógeno *Lecanicillium lecanii* cepa Y 57. Dicofol inhibió totalmente la germinación de los conidios del hongo a todas las concentraciones estudiadas, metamidofos a partir de la dosis de campo, mientras que abamectina e Imidacloprid no produjeron afectación.

REFERENCIAS

1. Pérez N. Manejo Ecológico de Plagas. Centro de Estudios para el Desarrollo Agrario Rural (CEDAR). La Habana. Cuba. 2004. 293 p.
2. Ministerio de la Agricultura (MINAG). Indicaciones conjuntas No.3 del Ministerio de la Agricultura y del sustituto del Ministro de las FAR. Establecimiento de las medidas para el control de *Thrips palmi*. Habana, Cuba. 1997. 14 p.
3. Vázquez L. Manejo integrado de plagas. Preguntas y respuestas para extensionistas y agricultores. Editorial CIDISAV. Ciudad de la Habana. Cuba. 2003. 566 p.
4. Martínez E, Barrios G, Robesti L, Santos R. Manejo Integrado de Plagas. Manual Práctico. Cuba. CNSV, Cuba; Entre pueblos, España; GVT, Italia. 2007. 526 p.
5. Castellanos L, Lorenzo ME, Muiño BL. Efecto de quizolofop-p-etilo sobre *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. y *Lecanicillium (Verticillium) lecanii* (Zimm.) Zare & Gams. Fitosanidad. 2008;12(1):45-50.5
6. Castellanos L, Lorenzo ME, Muiño BL. Effect of six fungicides on *Lecanicillium (Verticillium) lecanii* (Zimm.) Zare & Gams. International Journal Food, Agricultural and Environment (JFAE). 2012;10(2):1142-1145.
7. Muiño BL, Larrinaga L. Efecto de los plaguicidas sobre *Verticillium lecanii*. Fitosanidad. 1998;2(1-2):33-35.
8. Centro Nacional de Sanidad Vegetal (CNSV). Lista oficial de plaguicidas autorizados. Registro Central de Plaguicidas. MINAG, Habana, Cuba, 2008, 22 p.
9. Ciba Geigy. Manual of Field Assay. 2nd edn. Basel, Switzerland, 1981. 205 p.
10. Alves SB, Moino A, Almeida JEM. Produtos fitossanitários e entomopatógenos, p. 217-238. In S.B. Alves (ed.), Controle microbiano de insetos. Piracicaba, FEALQ, Brasil. 1998, 1163p.
11. Loureiro ES, Moino A, Arnosti A, Souza GC. Efeito de produtos fitossanitários químicos utilizados em alface e crisântemo sobre fungos entomopatogênicos. Neotropical Entomology. 2002;31(2):263-269.
12. Tanzini MR, Alves SB, Setten A. Toxicity of pesticides used for the control of *Leptopharsa heveae* with fungi. Arq Inst Biol. 2002;69(4):65-69.
13. Wenzel IM, Batista Filho A, Gassen MH, Almeida AMB de: Compatibility of *Lecanicillium lecanii*, in laboratory and greenhouse conditions, to pesticides used in the chrysanthemum crop. Arquivos Do Instituto Biológico (Sao Paulo). 2008;2:157-166.
14. Armarkar V, Chikte B. Compatibility of *Verticillium lecanii* with Different Chemical Pesticides. Journal of Plant Disease Sciences. 2008;3(1):43-45.

Recibido: 8-11-2012.

Aceptado: 5-5-2013.