

Compatibilidad de BOTANIGARD® con algunos insecticidas y fungicidas comerciales

Troytño, I., Fernández, C., Lara, J.M. (FUTURECO BIOSCENCE, S.L., Departamento de Investigación y Desarrollo).

Se determinó la compatibilidad entre BOTANIGARD® SC (conidias de *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin cepa GHA) y 18 productos fitosanitarios sintéticos comerciales (16 fungicidas y 2 insecticidas). Para la evaluación, se prepararon suspensiones líquidas de las conidias con tres concentraciones de cada producto y se determinó la viabilidad inicial y luego de 4 y 24 horas de contacto. Los resultados demostraron que se pueden hacer mezclas de tanque entre BOTANIGARD® y la mayoría de fungicidas evaluados (68%) sin perder la capacidad infectiva de las esporas, mientras con otros es necesario verificar la dosis y el tiempo máximo que ha de transcurrir entre la preparación y la aplicación de la mezcla. La información generada en este tipo de ensayos puede servir como base para el diseño planes de manejo integrado más económicos, al permitir la aplicación conjunta de productos aparentemente antagonistas.

INTRODUCCIÓN

Tradicionalmente los enemigos naturales de insectos plaga constituyen el componente "biológico" de los programas de Manejo Integrado de Plagas (MIPs). Sin embargo, la introducción de productos basados en agentes microbianos de control biológico como hongos y bacterias entomopatógenas, está ganando cada día más terreno. Estos productos, llamados "biopesticidas" tienen la ventaja de comercializarse en formatos similares a las de los productos químicos tradicionales. Sin embargo, al igual que los enemigos naturales, también se pueden ver afectados negativamente por productos químicos (Li Wei *et al.*, 2004).

La aplicación alternada, en el marco de los programas MIP, de fitosanitarios sintéticos y biopesticidas está siendo utilizada como herramienta para prevenir la aparición de resistencias en las plagas. Los agentes de biocontrol usualmente necesitan un periodo de varios días para matar los insectos plaga, mientras que la acción de los insecticidas químicos permite una reducción inmediata de las poblaciones de insectos. Los programas MIP buscan la mejor manera de combinarlos, para lo cual se precisa el entendimiento de la compatibilidad y las interacciones entre microorganismos y los agentes químicos (Su-DAN *et al.*, 2005).

Los parámetros estimados para las interacciones entre sustancias químicas y los hongos en el laboratorio son muy útiles para determinar la compatibilidad entre un químico y un microorganismo, mientras que los ensayos de campo dan una visión directa del control integrado (Su-DAN *et al.*, 2005). Sin embargo, se ha encontrado que aunque los tests de laboratorio revelan que algunos pesticidas sintéticos tienen un efecto negativo directo sobre la capacidad de germinación de las esporas, la capacidad de control de los agentes diana no se ve tan afectada en campo. (CUTBERTSON *et al.*, 2005).

En investigaciones preliminares se evaluaron diferentes métodos para determinar la compatibilidad entre el hongo *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin y diferentes productos fitosanitarios comerciales (DA SILVA & NEVES, 2005). En este trabajo se intentó determinar el grado de compatibilidad entre el producto comercial BOTANIGARD® SC, una formulación líquida de esporas de *Beauveria bassiana* cepa GHA, y varios productos fitosanitarios tradicionalmente aplicados en programas MIP en España. La interacción de esta misma cepa con productos sintéticos se había estudiado previamente (SHAPIRO-LLAN *et al.*, 2002), mientras que otros estudios han medido la capacidad fungicida o fungiestática de productos fitosanitarios comerciales sobre otras cepas de este microorganismo (KOUASSI *et al.*, 2003). El objetivo de este trabajo fue determinar si los productos se pueden aplicar de manera conjunta (mezcla en tanque, un solo caldo de aplicación) o si es preciso espaciar las aplicaciones para no comprometer la efectividad de las esporas.

Materiales y métodos

La compatibilidad entre BOTANIGARD® y los productos fitosanitarios seleccionados se determinó a través de la evaluación de la capacidad germinativa de las esporas de *B. bassiana* cepa GHA, después de permanecer en contacto con tres concentraciones de cada producto.

Simulación de mezclas de tanque

Se prepararon mezclas de 50 mL en agua destilada estéril, disolviendo la dosis comercial de BOTANIGARD® (0,25%) y tres concentraciones de cada producto: la dosis mínima recomendada, la dosis máxima y el doble de la dosis máxima. En los productos líquidos se adicionaron directamente las cantidades de cada uno, mientras que los sólidos (Triflume®, Enovit®, Driza®) se disolvieron previamente en agua destilada, ajustando las dosis para asegurar las concentraciones requeridas adicionando 5 mL a las mezclas con BOTANIGARD®. La capacidad germinativa de las esporas de *B. bassiana* cepa GHA se midió después de 0, 4h y 24h de contacto en cada una de las mezclas. En cada tratamiento se incluyó un control, consistente en una suspensión de BOTANIGARD® al 0,25%.

Determinación del porcentaje de germinación.

La capacidad germinativa se determinó contando el número de esporas germinadas y no germinadas de una alícuota de 10 µL de la mezcla de tanque. Para ello, las alícuotas correspondientes a cada mezcla y tiempo de contacto (0h, 4h y 24h) se inoculan en sitios previamente marcados de una placa petri con medio de cultivo PDA, y se incubaron durante 24 horas. A este tiempo, se añadió una gota de azul de lactofenol sobre cada alícuota y observó al microscopio óptico (100 X). Se consideraron germinadas las esporas que se habían hinchado y generado un tubo germinativo con una longitud por lo menos igual al diámetro de la conidia.

El porcentaje de germinación se determinó relacionando el número de conidias germinadas sobre la cantidad total contada en cada alícuota. En cada tratamiento se hicieron 5 lecturas y los datos se analizaron con el programa Sigma Plot SPSS® de Windows.

La compatibilidad se determinó relacionando los

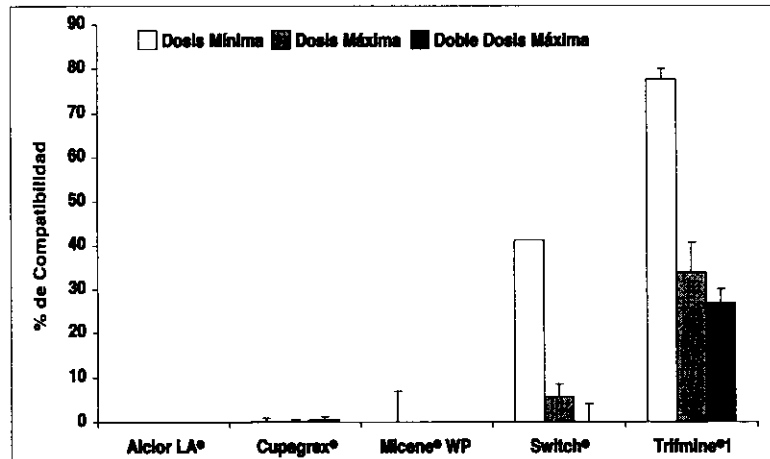


Gráfico 1. Pérdida de viabilidad de las esporas de *Beauveria bassiana* cepa GHA (BOTANIGARD®) después de 24 horas de contacto en mezcla líquida con distintos fungicidas e insecticidas comerciales. **Fungicidas:** Aclior LA® (Clortalonil 50% p/v); Cupegrex® (Oxetionuro de Cobre 50% p/p); Micene WP® (Mancozeb 80% p/p); Switch® (Ciprodinil 37.5 p/p + Fludioxonil 25% p/p); Triflume®I (Triflumizol 30% p/p)

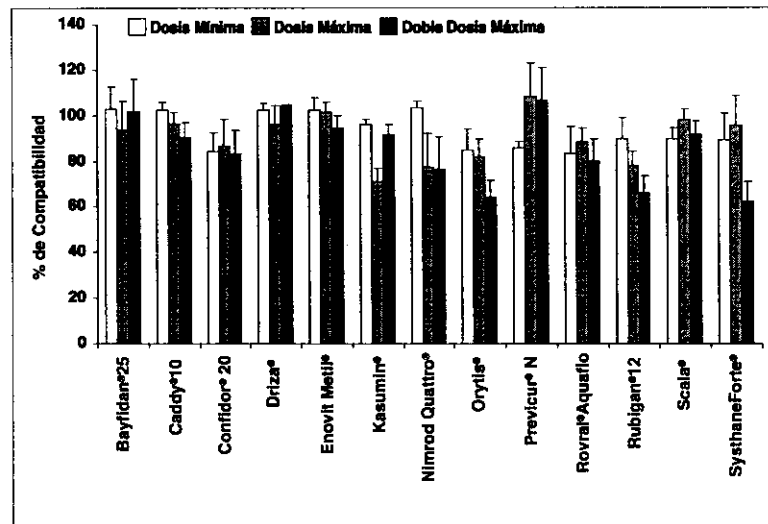


Gráfico 2. Pérdida de viabilidad de las esporas de *Beauveria bassiana* cepa GHA (BOTANIGARD®) después de 24 horas de contacto en mezcla líquida con distintos fungicidas e insecticidas comerciales. **Fungicidas:** Bayfidan 25® (Triadimenol 25% p/v); Caddy 10 peptide® (Ciproconazol 10 % p/v); Driza® (Propimidona 50%) Enovit Mellit® (Tiofanato 70% p/p); Kasumin® (Kasugamicina 8%), Nimrod Quattro® (Bupirinato 25% p/v); Previcur N® (Propamocarb 60,5% p/v); Rovral Aquaflo SC® (Iprodiona 50% p/v); Rubigan Flow® (Fenarimol 12% p/p); Scala® (Pirimetanil 40% p/v); Sythane Forte® (Miclobutanil 24% p/v). **Insecticidas:** Confidor® (Imidacloprid 20% v/v); Orytis® (Acrinatriin 7,5% p/v)

porcentajes de viabilidad de las conidias en cada tratamiento con la viabilidad del control. Se considera que el porcentaje de compatibilidad mínimo para que las mezclas de tanque sean aconsejables en campo es de un 80%.

Resultados y Discusión

La media de las 5 lecturas para cada tratamiento y dosis junto con la desviación estándar se presenta en los Gráficos 1 y 2. Los productos Aclior LA®, Cupegrex® y Micene WP® (Mancozeb) resultaron

ser completamente incompatibles con las conidias de *Beauveria bassiana*. Switch® y Triamine® tuvieron un efecto menor, pero la compatibilidad encontrada a la máxima dosis recomendada en campo, no aconseja hacer mezclas de tanque entre estos productos y BOTANIGARD® (Gráfico 1).

Ocho de los productos ensayados (Bayfidan 25®, Caddy 10®, Confidor®, Driza®, Enovit Metil®, Previcur N®, Roviral Aquaflo® y Scala®) no tuvieron prácticamente efecto negativo sobre las conidias a ninguna de las dosis evaluadas después de 24 horas de contacto. Incluso en algunos casos, se observó un aumento de la germinación de las conidias con respecto al control (Gráfico 2). Por tanto, las mezclas de tanque entre BOTANIGARD® y cualquiera de estos productos es posible siempre.

Los fungicidas Kasumin®, Nimrod Quattro®, y Rubigan® superaron el umbral del 20% de pérdida de esporas viables cuando se aplicaron a la dosis alta recomendada, mientras que el insecticida Orytis® y el fungicida Systhane Forte® sólo afectaron negativamente a la viabilidad de *Beauveria bas-*

siana cuando se aplicaron al doble de la dosis máxima comercialmente recomendada. Dichos productos podrían considerarse medianamente compatibles.

Conclusiones

BOTANIGARD® resultó ser altamente compatible con 8 de los productos evaluados, medianamente compatible con 5, e incompatible con otros 5, bajo las condiciones típicas de aplicación en campo. En los productos compatibles, las esporas apenas sufrieron pérdida de viabilidad, incluso a concentraciones muy superiores a las que se aplicarían en campo. Esto sugiere la necesidad de verificar antes si es apropiado mezclar el biopesticida BOTANIGARD® con productos químicos para protección vegetal que se pretendan emplear en un programa de manejo específico, ya que muchas veces los técnicos recomiendan, por prevención, espaciar las aplicaciones al menos 3 días. Los resultados de este estudio sugieren que las aplicaciones

podrían hacerse conjuntamente en algunos casos, con la consecuente reducción de costes.

Estudios previos han sugerido que la aplicación conjunta de *B. bassiana* con algunos insecticidas químicos aumenta la eficacia en el control de la plaga objetivo (Su-Dan *et al.*, 2005). Sin embargo, en este estudio se muestra que no puede considerarse a priori un 100% de compatibilidad entre BOTANIGARD® y las materias activas insecticidas. Es necesario establecer caso por caso la dosis con la que puede mezclarse sin perjudicar la calidad de las esporas, y el tiempo máximo que puede permanecer la mezcla antes de aplicarse.

BIBLIOGRAFÍA

- BAHENSE, T., FERNANDEZ, E., BITTENCOURT, V. 2006. Compatibility of the fungus *Metarhizium anisopliae* and deltamethrin to control a resistant strain of *Boophilus microplus* tick. *Veterinary Parasitology*, v. 141, p. 319-324.
- CUTHBERTSON, A., WALTERS, K., NORTHING, P. 2005. The susceptibility of immature stages of *Bemisia tabaci* to the entomopathogenic fungus *Lecanicillium muscardium* on tomato and verbena foliage. *Mycopathologia*, 159 (1); 23-29.
- DA SILVA, R., NEVES, P. 2005. Techniques and parameters used in compatibility tests between *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill and in vitro phytosanitary products. *Pest Management Science*, Vol. 61 Nº 7, pp. 667 - 674.
- LI WEI, W., CHENG-FA, S. 2004. Impact of sixteen chemical pesticides on conidial germination on two entomophthoralean fungi: *Conidiobolus thromboides* and *Pandora nouryi*. *Biocontrol Science and Technology*, Vol. 14, Nº 7, pp 737 - 741
- KUASSI, M., COHENNE, D., TONONNYA, S. 2003. Effects of the timing of applications on the incompatibility of three fungicides and one isolate of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin (Deuteromycotina). *Journal of Applied Entomology* 127 (7), 421-426
- SHAPIRO-ILAN, D., KELLY, C., HITCHCOCKS, M., WOOD, B. 2002. The potential for enhanced fungicide resistance in *Beauveria bassiana* through strain discovery and artificial selection. *Journal of Invertebrate Pathology*. V. 81, p.86-93
- SU-DAN, Y., YU-HUI, D., MINO-GUANG, F. 2005. Time and concentration dependent interactions of *Beauveria bassiana* with sublethal rates of imidacloprid against the aphid pests *Macrosiphoniellasanborni* and *Myzus persicae*. *Annals of Applied Biology* 146 (4), 459-468.