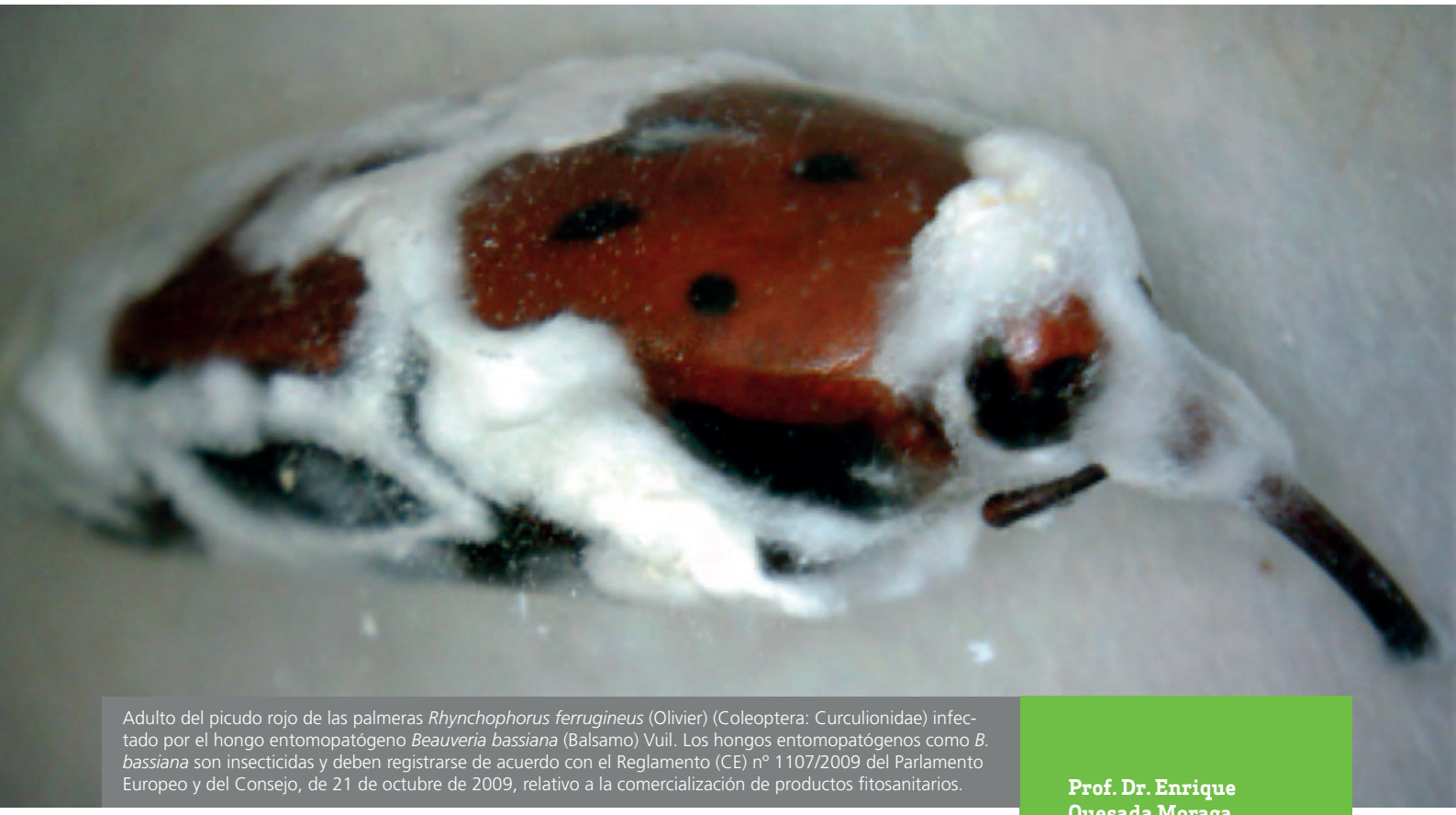


Adulto del picudo rojo de las palmeras *Rhynchophorus ferrugineus* (Olivier) (Coleoptera: Curculionidae) infectado por el hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuil. Los hongos entomopatógenos como *B. bassiana* son insecticidas y deben registrarse de acuerdo con el Reglamento (CE) nº 1107/2009 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 21 de octubre de 2009, relativo a la comercialización de productos fitosanitarios.

La competencia ambiental como clave para el éxito del control microbiano de plagas y adaptación al cambio climático

Prof. Dr. Enrique Quesada Moraga
Catedrático de Producción Vegetal. Unidad de Entomología Agrícola. Departamento de Ciencias y Recursos Agrícolas y Forestales. ETSIAM. Universidad de Córdoba.
equesada@uco.es

Existen aun incógnitas en lo referente a los efectos del cambio climático sobre la protección de cultivos, pero las evidencias existentes apuntan tanto a una mayor incidencia de plagas como a una creciente complejidad para su control. A este respecto, debemos tener en cuenta que estamos ante un proceso gradual que fuerza a las autoridades responsables y a los agricultores a tomar las oportunas medidas de adaptación, ajustadas a los criterios de sostenibilidad emanantes de la normativa europea y española, entre los que destaca el control microbiano de plagas. Sin embargo, el éxito con estos productos, en particular los desarrollados a base de hongos entomopatógenos, depende en gran medida de la competencia ambiental de las cepas utilizadas como materia activa. El presente trabajo aborda las bases para una acertada elección ajustada a la premisa competencial, así como las estrategias para fomentarla, a fin de satisfacer las expectativas de biocontrol de forma real, en el controvertido contexto de cambio climático.

Plagas de insectos y cambio climático: certezas e incertidumbres

Las plagas de insectos y ácaros, que causan la pérdida del 10-16% de la cosecha mundial (Oerke, 2006), no dejan de incrementar su importancia agrícola y forestal como consecuencia de varios factores, en especial la globalización, con continuas noticias sobre nuevas especies invasoras que azotan áreas donde nunca estuvieron presentes, así como por el cambio climático.

Los insectos son organismos ectotérmicos en los que la regulación del desarrollo está gobernada por la temperatura ambiental, por lo que el efecto directo del cambio climático sobre los mismos se ha asociado principalmente a la elevación de temperatura, aunque también pueden tener una repercusión importante factores como cambios en el régimen de precipitaciones y la concentración de CO_2 atmosférico, así como el impacto causado por el aumento de la radiación ultravioleta B (UV-B) por la erosión de la capa de ozono, sin descartar efectos indirectos relacionados con la interacción del fitófago con la planta y con sus enemigos naturales (Quesada-Moraga, 2011).

Las paradas ecológicas, en especial la diapausa, desempeñan un papel fundamental en la sincronización estacional del ciclo de los insectos, por lo que el impacto sobre los mismos del cambio climático dependerá del tipo de adaptación al hábitat y del ciclo vital, y puede tener efectos contrapuestos, con una expansión del área de distribución para especies sin diapausa o aquéllas con diapausa no gobernada por bajas temperaturas, como revela el estudio realizado a partir de más de seiscientos registros de ácaros, pulgones, distintos coleópteros, dípteros y lepidópteros con un desplazamiento medio de 2,7 kilómetros por año hacia los polos, lo que supone 130-140 kilómetros en los últimos cincuenta años (Bebber, 2013), o una contracción del área de distribución en especies cuya diapausa está inducida por baja temperatura (también multivoltinas o univoltinas) (Bale y col., 2002).

El cambio climático puede tener efectos opuestos sobre la misma especie dentro de su área de distribución, provocando fenómenos inversos de expansión y contracción de la misma (Quesada-Moraga y col., 2011; Tonnang, 2015). El desarrollo de la diapausa embrionaria en la langosta mediterránea o marroquí *Dociostaurus maroccanus* (Thunberg) requiere un período de incubación a 10ºC, temperaturas inferiores o superiores son inadecuadas o ralentizan este proceso fisiológico. En sus áreas de reserva peninsulares, la Serena (Badajoz), Valle de Alcudia (Ciudad Real) y Los Monegros (Zaragoza), esta acumulación se produce durante el otoño (Quesada-Moraga y Santiago-Álvarez, 2000; Santiago-Álvarez y col., 2003). De manera sorprendente, para completar el proceso en el archipiélago canario, en las islas de Tenerife y El Hierro, límite más occidental y meridional de su área de distribución, el ortóptero realiza la puesta a altitudes que alcanzan los 1000 m, simulación real de lo que puede ocurrir bajo un escenario de calentamiento global: la ampliación del área de distribución de la especie hacia latitudes y altitudes superiores (Quesada-Moraga y Santiago-Álvarez, 2000; Santiago-Álvarez y col., 2003).

La concentración de CO_2 atmosférico se ha incrementado durante las tres últimas décadas, y las predicciones indican que a lo largo del siglo XXI llegaría a duplicarse, lo que puede afectar al metabolismo primario y secundario de las plantas, así como a las relaciones de los insectos con ellas y con sus enemigos naturales. Uno de los aspectos a los que se dedica mayor atención en la actualidad es a comprender cómo afectará el cambio climático al crecimiento y metabolismo secundario de las plantas, y a su vez, a los insectos que se alimentan a expensas de ellas. En general, el incremento de la relación C:N debido al de la concentración atmosférica de CO_2 disminuye la calidad alimenticia del material vegetal y puede ocasionar cambios de comportamiento e incluso disminución de los coeficientes de desarrollo en los fitófagos, con repercusión mayor en los masticadores que en los fitomizos (Ji y col., 2011). Finalmente, si el clima es más templado como consecuencia del incremento de la temperatura, los rendimientos de los cultivos, si otros factores no cambian, serían mayores. Pero: ¿compensaría este incremento de producción a las pérdidas debidas a insectos fitófagos, o bien, estas superarían a aquél?

Cambio climático y control de plagas

El cambio climático puede tener efectos contrapuestos sobre el uso de insecticidas y la presencia y persistencia de sus residuos. Es cierto que el aumento de temperatura y los cambios en los patrones de precipitación, cuyo efecto general apunta a una expansión del rango de distribución de muchos insectos, supondrían un aumento en el uso de insecticidas, dosis, frecuencias y diferentes variedades o tipos de productos aplicados, pero no es menos cierto que el cambio climático puede contribuir a su mayor disipación en el ambiente debido a una combinación de aumento de la volatilización y la degradación acelerada, ambos fuertemente afectados por un alto contenido de humedad, temperaturas elevadas y la exposición directa a la luz solar (Delcour, 2015).

También existen evidencias del posible efecto del cambio climático sobre la relación entre los insectos fitófagos y sus enemigos naturales entomófagos: depredadores o parasitoides. A este respecto el impacto negativo sobre los porcentajes naturales de depredación y parasitismo puede proceder de la posible existencia de un desfase entre el ciclo vital de los insecto fitófagos y el de sus enemigos naturales (Stireman y col., 2005).

Dada la importancia actual del control microbiano de plagas para adaptar la protección de cultivos a los requisitos de la sostenibilidad agrícola que emanan de la normativa vigente en la Unión Europea (Directiva 2009/128/CE) y en España (RD Real Decreto 1311/2012), uno de los grandes retos científico-técnicos actuales es la búsqueda, selección y desarrollo de agentes de control microbiano que no sólo tengan eficacia insecticida, sino competencia ambiental, única garantía para que ejerzan su potencial bioinsecticida en las condiciones climáticas donde van a ser utilizados.

En este trabajo se utilizan resultados del Grupo de Investigación AGR163 'Entomología Agrícola' de la Universidad de Córdoba sobre competencia ambiental de hongos entomopatógenos para ilustrar su influencia clave sobre el éxito del control microbiano de plagas y adaptación al cambio climático.

Cambio climático y competencia ambiental

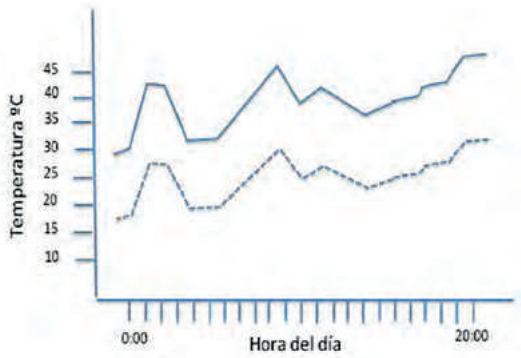
Los hongos entomopatógenos (HE), que actúan por contacto, se postulan como alternativa al control químico para un gran número de plagas ocasionadas por insectos, a saber, los picadores-chupadores, habitantes del suelo, langostas y saltamontes, también para numerosas especies de coleópteros, lepidópteros y dípteros de las que no se tiene constancia de enfermedades de etiología vírica o bacteriana. En el caso de los hongos entomopatógenos, factores ambientales como temperatura, humedad, o radiación UV-B pueden influir sobre su presencia natural y sobre el proceso de infección del insecto hospedante, por lo que el estudio de su ecología es de gran importancia a la hora de establecer modelos predictivos, que permitan un correcto uso de los mismos en condiciones adecuadas al ser introducidos en un ecosistema. Solo así podremos seleccionar cepas fúngicas con 'competencia ambiental', adaptadas a las condiciones prevalentes en el ecosistema donde se van a utilizar (Jackson y O'Callahan, 1997).

El desarrollo de productos microbianos con competencia ambiental que satisfagan las expectativas de biocontrol de forma real, como alternativa a los insecticidas químicos de síntesis, está a nuestro alcance si respondemos de manera adecuada a las siguientes preguntas.

¿Qué determina la competencia ambiental de los microorganismos entomopatógenos?

Nuestros trabajos reflejan que la temperatura es un factor crítico en la competencia ambiental de las cepas de HE, mientras que existe más controversia sobre el impacto real de la humedad y la radiación UV-B sobre la misma.

Aunque hay variabilidad inter e intraespecífica, el óptimo térmico para la mayoría de los ascomicetos mitospóricos entomopatógenos procedentes de ecosistemas mediterráneos se sitúa en 25-27ºC, y su máximo de desarrollo no supera los 37ºC (Quesada-Moraga y Santiago-Álvarez, 2008). La importancia de la temperatura para garantizar la competencia ambiental de los HE queda reflejada en un ensayo para el control de la mosca blanca de los invernaderos *Trialeurodes vaporariorum* (Homoptera; Aleyrodidae) en cultivo de tomate bajo plástico en un invernadero de Carmona (Sevilla), en el que un formulado no comercial de una cepa de *B. bassiana* procedente de un suelo de la provincia de Sevilla tuvo una eficacia del 90%, que no difirió estadísticamente del tratamiento con un neonicotinoide convencional, y que duplicó la eficacia de un micoinsecticida comercial (Santiago-Álvarez y col., 2002). Si se considera que la temperatura durante el experimento alcanzó valores máximos de 43ºC, y medios en el rango 20-26ºC, no resulta extraño que la cepa de nuestra colección, con un óptimo térmico de 25ºC y un máximo de desarrollo de 36ºC, ejerza su potencial de biocontrol durante un número de horas diario muy superior a la comercial, con óptimo térmico de 20ºC y máximo de desarrollo de 32ºC. Al ser ambas cepas igual de virulentas en condiciones de insectario, la falta de competencia ambiental de la cepa comercial impidió la expresión en campo de su potencial insecticida (Figura 1).



Cepa	Óptimo térmico	Máximo térmico	Eficacia laborat.	Eficacia invernad.
A	20ºC	32ºC	90%	35%
B	25ºC	36ºC	90%	90%

Figura 1. Ejemplo frecuente de falta de competencia ambiental. Las cepas de hongos entomopatógenos A y B presentan buena y semejante eficacia en laboratorio para el control de *T. vaporariorum*. Sin embargo, en un invernadero con esta evolución diaria de temperatura media (línea discontinua) y máxima (línea continua), la cepa A presenta baja eficacia frente al homóptero en plantas de tomate por falta de competencia ambiental, mientras que la cepa B ejerce su máximo potencial de biocontrol.

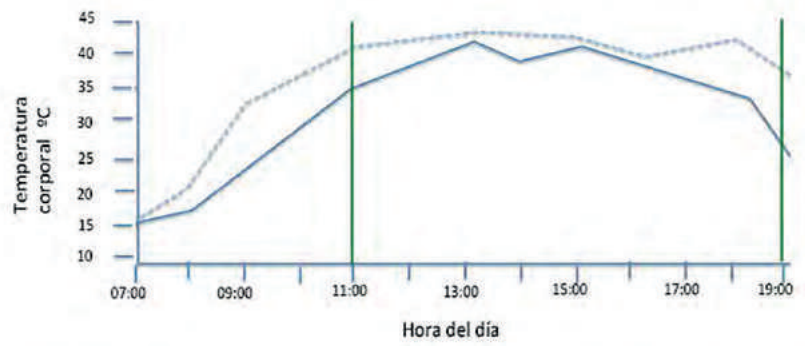
También existe variabilidad inter e interespecífica en los requisitos de HR de los HE, aunque la germinación de conidios requiere un 90-95% de HR y una actividad del agua (aw) superior a 0,90 en la mayoría de las especies de HE (Fernández-Bravo y col., 2016). Sin embargo, los HE pueden germinar y culminar el proceso patogénico en ambientes con una baja humedad debido a que existe una humedad suficiente en el microhábitat donde llevan a cabo su actividad. De hecho, en experimentos realizados en el sur de Francia para evaluar el efecto del tipo de invernadero, su sistema de ventilación y la humedad del mismo sobre el potencial de una formulación de *Lecanicillium muscarium* para el control de *T. vaporariorum* revelan eficacias similares próximas al 89-96% en situaciones de humedad ambiental muy diferentes en el rango de 60% a 90%, lo que significa que la HR importante no es la ambiental sino la existente en el micro hábitat donde ocurre la infección, en este caso, la hoja, o incluso el suelo, donde la humedad no descendió del 75% (Fargues y col., 2005).

Respecto a la radiación UV-B, son evidentes las diferencias inter e intraespecíficas en la respuesta

de los HE a la misma; el género *Metarhizium* es mucho más susceptible a la inactivación por UV-B que el género *Beauveria* (Fernández-Bravo y col., 2016). Sin embargo, se ha comprobado que el efecto de la radiación UV-B sobre la inactivación de los HE es mayor en conidios expuestos a la radiación sobre una superficie inerte que cuando la irradiación se produce sobre el insecto, una vez realizado el tratamiento. Así, el tiempo de exposición a una radiación UV-B de 1.200 mW m^{-2} de adultos de *Ceratitis capitata* tratados con la cepa EAMa 01/58-Su de *M. brunneum* para reducir un 50% la mortalidad es de 47,2 horas, mientras que el tiempo necesario para reducir la viabilidad de conidios un 50% a la misma intensidad de radiación es 5,6 horas, lo que parece indicar que cuando la viabilidad de los conidios comienza a bajar, la fase de pre-penetración del hongo en el insecto ya ha comenzado, junto con el proceso patogénico, de ahí que la virulencia no se vea afectada en la misma proporción que la viabilidad de conidios (Fernández-Bravo y col., 2017). Por tanto, pueden existir importantes diferencias entre los resultados obtenidos *in vitro* e *in vivo* al evaluar la respuesta de microorganismos a la inactivación por factores ambientales.

¿Puede tener el insecto fitófago influencia sobre la competencia ambiental de los microorganismos entomopatógenos?

La competencia ambiental de un microorganismo entomopatógeno puede estar también relacionada con aspectos concretos de la ecología y fisiología del insecto hospedante. Los HE son una de las herramientas de biocontrol más desarrolladas y adaptadas para el control de langostas y saltamontes, y en particular, la langosta marroquí *Dociostaurus maroccanus* (Thunberg) (Orthoptera: Acrididae), una plaga clave del cinturón mediterráneo. Sin embargo, se ha demostrado en varias especies de acrídidos que cumplen con la teoría de las fases de Uvarov que, además de termorregular, exponiendo sus cuerpos a la acción directa de la radiación solar, también pueden experimentar el proceso fisiológico denominado fiebre comportamental, que origina una elevación adicional de su temperatura corporal para frenar el proceso infeccioso iniciado por el hongo. Las cepas EABb 90/2-Dm de *B. bassiana* e IMI 330189 de *M. acridum*, cuya virulencia en laboratorio frente a *D. maroccanus* es semejante, presentan requisitos térmicos diferentes, con óptimos de 25°C y 27°C respectivamente, lo que permite explicar las diferencias en la actividad de ambas cepas al aplicarlas sobre el acrídido en condiciones reales de termorregulación, que provoca una reducción severa de la virulencia de EABb 90/2-Dm pero solo una reducción moderada de la virulencia de IMI 330189. Además, los experimentos con gradientes térmicos revelan que la cepa IMI 330189 induce fiebre en *D. maroccanus*, aunque mantiene su virulencia, mientras que la cepa EABb 90/2-Dm no induce este fenómeno comportamental. La posible co-formulación de estos dos aislados podría permitir un solape de actividad diaria frente al acrídido en sus áreas de reserva de la península Ibérica, la cepa de *M. acridum* desde las 12:00 a las 19:00 de un día, y la de *B. bassiana* desde las 19:00 hasta las 12 del día siguiente (Valverde-García y col., 2018) (Figura 2).



Cepa	Óptimo térmico	Máximo térmico	Intervalo mayor eficacia
A	23ºC	31ºC	07:00-11:00 y 19:00-07:00
B	27ºC	36ºC	11:00-19:00

Figura 2. Ectotermia y competencial ambiental. La figura representa la evolución diaria de la temperatura corporal (línea continua) de un acrídido en su área de distribución. Las cepas A y B podrían ser compatibles en un co-formulado que mantendría una gran actividad durante todo el día. Como consecuencia de la fiebre comportamental, los insectos infectados con la cepa B elevan su temperatura corporal (línea discontinua).

¿Influyen el origen geográfico y hábitat de aislamiento de los microorganismos entomopatógenos sobre su competencia ambiental?

El origen geográfico y hábitat de aislamiento son claves en cualquier estrategia de desarrollo de agentes de control microbiano con competencia ambiental. De hecho, en muchas ocasiones la falta de competencia ambiental de los micoinsecticidas utilizados en control microbiano de plagas, como el ejemplo del apartado 1.2.1., reside en el origen geográfico, latitud y altitud, de la cepa que constituye su materia activa, muy distintos a los de las zonas de aplicación. Procesos evolutivos fisiológicos y ecológicos de los microorganismos les permiten adaptarse a su hábitat natural, por lo que su aplicación en distintas condiciones climáticas y ambientales, limita su competencia ambiental (Robinson, 2001). Por tanto, es cada vez más conveniente y necesario el desarrollo de soluciones de control biológico y microbiano adaptadas a zonas climáticas uniformes, pues la globalización de los productos insecticidas se enfrenta a continuos ejemplos de falta de competencia ambiental.

Desde la invasión del área mediterránea europea por el picudo rojo de las

palmeras *Rhynchophorus ferrugineus* (Olivier) (Coleoptera: Curculionidae) por el sureste español en 1996, se ha descrito la presencia natural de cepas del hongo entomopatógeno *Beauveria* sp. en numerosos países de la cuenca mediterránea, e incluso se investiga la hipótesis basada en la posible dispersión del hongo mediada por el hospedante. Sin embargo, no existen diferencias en los requerimientos térmicos, hídricos, y la respuesta a la radiación UV-B de 13 aislados de *B. bassiana* procedentes de España, Francia, Italia, Grecia e Israel, todos adaptados a las condiciones prevalentes del área de distribución de la palmera en la cuenca mediterránea (González-Más y col., 2018).

En ocasiones, las posibles diferencias de competencia ambiental que podrían asociarse a un hábitat concreto no son refrendadas por las evidencias científicas. Así, existe una importante presencia de HE, con énfasis en *Beuveria* y *Metarhizium*, en el filoplano de plantas leñosas y herbáceas en diferentes ecosistemas mediterráneos, pero su respuesta a la temperatura, la actividad del agua o la radiación UV-B, no presenta diferencias con respecto a cepas procedentes del suelo en la misma coordenada, lo que cuestiona la hipótesis de que las cepas del filoplano, más expuestas a condiciones climáticas desfavorable, hayan podido evolucionar para presentar una mejor respuesta a las mismas (Fernández-Bravo y col., 2016). No obstante, en el filoplano existen aislados de *B. bassiana* con una respuesta excepcional frente a factores abióticos típicos de ambientes áridos, que no guarda relación con su genotipo, hábitat o ecosistema de aislamiento (Fernández-Bravo y col., 2016).

Estos resultados indican la gran importancia de la competencia ambiental como clave para el éxito del control microbiano de plagas y adaptación al cambio climático, y por tanto, la necesidad de desarrollar soluciones de control microbiano de plagas adaptadas a zonas climáticas uniformes, en las que los agentes de control microbiano expresen su máximo potencial de biocontrol.

Agradecimientos: Este trabajo es un homenaje al Grupo de Investigación AGR163 "Entomología Agrícola" de la Universidad de Córdoba, sin el que nada hubiera sido posible.

Bibliografía

Bale, J.S., Masters, G.J., Hodkinson, I.D., Awmack, C., Bezemer, T.M., Brown, V.K., Butterfield, J., Buse, A., Coulson, J.C., Farrar, J., Good, J.E.G., Harrington, R., Hartley, S., Jones, T.H., Lindroth, R.L., Press, M.C., Symrnioudis, I., Watt, A.D., Whittaker, J.B. 2002. Global Change Biology 8:1-16.

Bebber, D.P., Ramotowski, M.A.T., Gurr, S.J. 2013. Nature Climate Change.DOI:10.1038/NCLIMATE19 90.

Delcour, I., Spanoghe, P., Uyttendaele, M. 2015.Food Research International 68:7-15. 10.1016/j.foodres.2014.09.030.

Fargues, N. Smits, M. Rougier, T. Boulard, G. Ridray, J. Lagier, B. Jeannequin, H. Fatnassi and M. Mermier. 2005. Biological Control, 32, 3: 461.

Fernández-Bravo, Garrido-Jurado, I., Valverde-García, P., Enkerli, J, Quesada-Moraga, E. 2016. Journal of Invertebrate Pathology 141: 6-17.

Fernández-Bravo, M., Flores-León, A., Calero-López,S., Gutiérrez-Sánchez, F., Valverde-García, P., Quesada-Moraga, E. 2017. Journal of Invertebrate Pathology 148: 142-151.

González-Más, N; Ortega, L., Garrido-Jurado, I., Dembilio, O., Jaques, J.A., Quesada-Moraga, E. 2018. Which came first: the disease or the pest? Ist here a host mediated spread of Beauveria bassiana (Ascomycota: Hypocreales) by invasive palm pests?. Biological Control (En revisión).

Jackson, T.A. y O'Callahan, M. 1997. En SoilInvertebrates in 1997, eds. Allsopp, P.G., Rogers, D.J. y Robertson, L.N., Bureau of Sugar Experiment Stations, Brisbane, pp. 74-77.

Ji, L.Z., An, L.L., Wang, X.W. 2011.Insect Science 18: 409-418.

Santiago-Álvarez, C., Quesada-Moraga, E., Valverde-García, P., Román, F., Chaves, M. y Rodríguez, A. 2002. Phytoma 144: 178-179.

Stireman, J.O. y col. 2005. Proc Natl Acad Sci, 102: 17384–17387

Oerke, E.C. 2006. Journal of Agricultural Science 144: 31-43.

Quesada-Moraga, E., Santiago-Álvarez, C. 2000. Physiological Entomology 25: 191-195.

Quesada-Moraga, E. 2011.. Phytoma España 232: 21-31.

Quesada-Moraga, E., Santiago-Álvarez, C. 2008. En "Control biológico de plagas". Urbaneja & Jacas (eds) pp 98-120. Phytoma España.

Robinson, C.H. 2001. New Phytologist (2001) 151: 341–353.

Santiago-Alvarez, C.; Quesada-Moraga, E., Hernandez-Crespo, P. 2003. Journal Applied Entomology 127:369-373.

Tonnang, H.E.Z., Mohamed, S.F., Khamis, F., Ekesi, S. 2015. PLoS One 10: 10.1371/journal.pone.0135283.

Valverde-García P., Santiago-Álvarez C., Thomas M.B., Garrido-Jurado, I., Quesada-Moraga, E. 2018. Effects of temperature and thermoregulation on candidate isolates of entomopathogenic fungi for control of Moroccan locust Dociostaurus maroccanus. Biocontrol (En revisión).