

Línea base de susceptibilidad y selección de poblaciones resistentes de *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae)

L. García-Vidal, M.R. Martínez-Aguirre, P. Bielza

Departamento de Producción Vegetal. Universidad Politécnica de Cartagena, Paseo Alfonso XIII, 48. 30203 Cartagena. lidiaGV_ct@hotmail.com

RESUMEN

La polilla del tomate, *Tuta absoluta*, es en la actualidad la plaga más importante del cultivo de tomate. El control químico es necesario para el control de esta plaga, por lo que hay que desarrollar estrategias que eviten el desarrollo de resistencias a los insecticidas eficaces para su control y desarrollar nuevos insecticidas compatibles con los enemigos naturales y polinizadores. En este trabajo se ha evaluado la susceptibilidad de distintas poblaciones de *T. absoluta* a los insecticidas lambda-cihalotrin y metil-clorpirifos. La concentración letal 50 (CL50) combinada para lambda-cihalotrin fue de 173,4 ppm y para metil-clorpirifos de 12 ppm. Estos valores pueden considerarse como la línea base de susceptibilidad para estos insecticidas. La variabilidad natural obtenida en *T. absoluta* para lambda-cihalotrin fue de 7,8 y para metil-clorpirifos de 4,2. También se están seleccionando poblaciones resistentes de *T. absoluta* a los insecticidas indoxacarb, metaflumizona y spinosad, para utilizarlos como modelos en los estudios de los mecanismos de resistencia.

Palabras clave: Polilla del tomate; control químico; estrategias; variabilidad natural.

1. Introducción

La polilla del tomate, *Tuta absoluta* (Meyrick), es la plaga más importante del cultivo de tomate en el mundo debido a su rápida expansión y distribución geográfica [1]. *T. absoluta* es una plaga originaria de Sudamérica, donde se ha ido expandiendo desde mediados del siglo XX hacia las principales áreas del cultivo de tomate en el continente sudamericano. A finales de 2006, *T. absoluta* fue introducida en Europa desde Sudamérica a través de España [2], detectándose por primera vez su presencia en invernaderos de tomate en Castellón. En 2007, *T. absoluta* fue observada en todas las principales áreas del cultivo de tomate de España, y en 2008-2009, fue detectada en otros países de Europa. Las larvas de *T. absoluta* penetran en las hojas, tallos y frutos de la planta de tomate. Las larvas se alimentan del mesófilo de las hojas creando galerías, las cuales afectan a la fotosíntesis de la planta, dando lugar a una disminución de la producción de tomate [3]. Fig.1. El control químico es uno de los pilares básicos para el control de esta plaga. Es necesario desarrollar estrategias que eviten el desarrollo de resistencias a los pocos insecticidas eficaces para su control que existen en la actualidad, y a su vez que estos

insecticidas sean compatibles con los enemigos naturales y polinizadores. La estrategia de prevención de la resistencia debe basarse en la alternancia de productos con distintos mecanismos de resistencia. Para diseñar estas estrategias anti-resistencia a los nuevos productos ecocompatibles, es necesario conocer el estado actual de las resistencias en las poblaciones y estudiar los mecanismos de resistencia implicados.

Los objetivos de este trabajo son, por un lado, estudiar la susceptibilidad de poblaciones de *T. absoluta* a los insecticidas lambda-cihalotrin y metil-clorpirifos, para estudiar el potencial de resistencia que presentan dichas poblaciones a estos insecticidas, y como segundo objetivo, obtener poblaciones de *T. absoluta* resistentes a los insecticidas indoxacarb, metaflumizona y spinosad, para estudiar los mecanismos de resistencia implicados y las resistencias cruzadas con otros insecticidas presentes en el mercado.

2. Materiales y Métodos

2.1 Poblaciones de *Tuta absoluta*

Las poblaciones de *T. absoluta* fueron recolectadas de diferentes países de Europa (Tabla 1). Una vez en el laboratorio, las poblaciones fueron colocadas en jaulas de cría con planta de tomate (*Lycopersicon esculentum* cv. Bobcat) para su alimentación. Las jaulas son mantenidas en el laboratorio en condiciones controladas de temperatura ($25\pm 2^{\circ}\text{C}$), humedad relativa ($60\pm 5\%$) y fotoperiodo (16/8 luz/oscuridad).

2.2 Insecticidas

Las formulaciones comerciales de los insecticidas empleados en los bioensayos fueron: Spintor 480 SC (spinosad 48% w/v, Dow AgroSciences), Steward 30WG (indoxacarb 30% p/p, DuPont), Alverde (metaflumizón 24% p/v, BASF), Karate Zeon (lambda-cihalotrin 10% p/v, Syngenta) y Reldan* E (metil-clorpirifos 22,4 % p/v, Dow AgroSciences).

2.3 Bioensayos de susceptibilidad

Estos bioensayos se realizaron con larvas L2 de *T. absoluta*. Para obtener la cantidad necesaria de larvas para los bioensayos, se cazan adultos de una jaula de cría y se introducen en jaulas con planta de tomate limpia durante 48 horas para que pongan huevos. Transcurrido este tiempo, los adultos son cazados de nuevo y colocados en su jaula de cría. Tras 8-12 días, aparecen las larvas L2 en la planta empleada para la puesta de los adultos.

El método de inmersión de hojas de tomate fue empleado para la realización de los bioensayos. Cada bioensayo se llevó a cabo con distintas concentraciones de los insecticidas a estudiar. Las hojas de tomate fueron cortadas y se sumergieron en las distintas concentraciones de insecticida. Cada concentración contenía Tween (0,05% v/v) como agente humectante no iónico. Después, las hojas se pusieron a secar. Cada hoja se colocó en una caja transparente (dimensiones 12x10x5 cm) con algodón saturado de agua en el peciolo de las hojas para evitar su deshidratación. Posteriormente, las larvas L2 de *T. absoluta* se sacaron con cuidado de las galerías de la planta de tomate empleada para la puesta de los adultos y se colocaron 10 larvas por caja. Los bioensayos se realizaron con 3 repeticiones por concentración y 10 larvas por repetición, con un total de 30 larvas por concentración de insecticida. Los ensayos se mantuvieron en condiciones controladas de

temperatura ($25\pm 2^{\circ}\text{C}$), humedad relativa ($60\pm 5\%$) y fotoperiodo (16/8 luz/oscuridad). La mortalidad se evaluó tras 72 horas.

2.4 Bioensayos de selección de resistencia

Para los bioensayos de selección se partió de una misma población susceptible (Águilas), para asegurarnos que no hubiera ningún gen de resistencia. En estos bioensayos se empleó también el método de inmersión de hojas de tomate, y se realizaron con larvas L2. En este caso, se contaron las larvas L2 de la planta de tomate empleada para la puesta de los adultos, y se cortaron las hojas con las larvas en su interior para sumergirlas en la concentración de insecticida empleada para la selección. La mortalidad se evaluó tras 96 horas.

2.5 Análisis de los datos

En los bioensayos de susceptibilidad, la mortalidad de las larvas fue analizada usando el programa estadístico POLO-Plus. Este programa calcula, corrigiendo la mortalidad según la fórmula de Abbott (1925), la concentración letal 50 (CL50), la concentración letal 90 (CL90) y sus límites fiduciales al 95% para cada población e insecticida. También se calcularon los factores de resistencia (FR) de cada población, comparándola con la población más susceptible.

3. Resultados y Discusión

3.1 Susceptibilidad

En la Tabla 2 se muestran los resultados obtenidos de los bioensayos realizados con lambda-cihalotrin en poblaciones de *T. absoluta*. Los valores de CL50 fluctuaron entre 75,9 ppm para la población Cañada de Gallego, y 591,1 ppm para Águilas. Se observó una variabilidad de 7,8 veces entre la población más sensible y la menos susceptible (Factor de resistencia, FR). La CL50 combinada de todas las poblaciones para lambda-cihalotrin fue de 173,4 ppm. Este dato puede considerarse como la línea base de susceptibilidad de *T. absoluta* para lambda-cihalotrin. También se observó que la CL90 combinada de lambda-cihalotrin (3227 ppm) estaba por encima de su dosis de campo (20 ppm), por lo que parece que este insecticida es poco eficaz frente a las poblaciones de *T. absoluta* bioensayadas.

En la Tabla 3 se muestran los resultados obtenidos de los bioensayos realizados con metil-clorpirifos en poblaciones de *T. absoluta*. Los valores de CL50 fluctuaron entre 5,8 ppm

para la población Almería, y 24,3 ppm para Cañada de Gallego. Se observó una variabilidad de 4,2 veces entre la población más sensible y la menos susceptible. La CL50 combinada de todas las poblaciones para metil-clorpirifos fue de 12 ppm. Este dato puede considerarse como la línea base de susceptibilidad de *T. absoluta* para metil-clorpirifos. También se observó que la CL90 combinada de metil-clorpirifos (76,3 ppm) estaba por debajo de su dosis de campo (896 ppm), siendo este insecticida bastante eficaz frente a las poblaciones de *T. absoluta* bioensayadas.

3.2 Selección de resistencias

La respuesta de *T. absoluta* a la selección de los insecticidas indoxacarb, spinosad y metaflumizona se presenta en la Tabla 4. Para indoxacarb y spinosad, se fueron aumentando las concentraciones de insecticida, hasta alcanzar la selección 8, en donde se tuvieron que bajar concentraciones debido al aumento de la mortalidad. Esto posiblemente se deba a que se está reduciendo la población seleccionada y aumentando la consanguinidad de los individuos. En el caso de metaflumizona, se fueron aumentando las concentraciones de insecticida hasta alcanzar una selección 7 tratada a 10 ppm.

4. Conclusiones

En los bioensayos de susceptibilidad de poblaciones de *T. absoluta* a lambda-cihalotrin y metil-clorpirifos, las variabilidades obtenidas entre las poblaciones están dentro de la variabilidad natural esperable, ya que ha sido una misma población invasiva de *T. absoluta* la que ha colonizado todo el Mediterráneo.

Para las poblaciones seleccionadas a indoxacarb, spinosad y metaflumizona, seguiremos seleccionando y realizando bioensayos para determinar el nivel de resistencia adquirido.

5. Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por el Ministerio de Economía y Competitividad (AGL2011-25164) y los fondos europeos FEDER, y parcialmente por IRAC España.

[1] Haddi, K., Berger, M., Bielza, P., Cifuentes, D., Field, L.M., Gorman, K., Rapisarda, C., Williamson, M.S., Bass, C. 2012. Identification of mutations associated with pyrethroid resistance in the voltage-gated sodium channel of the tomato leaf miner (*Tuta absoluta*). *Insect Biochem. Mol. Biol.* 42: 506-513.

[2] Silva, G.A., Picanço, M.C., Bacci, L., Crespo, A.L.B., Rosado, J.F., Guedes, R.N.C. 2011. Control failure likelihood and spatial dependence of insecticide resistance in the tomato pinworm, *Tuta absoluta*. *Pest Manag. Sci.* 67: 913-920.

[3] Desneux, N., Wajnberg, E., Wyckhuys, K.A.G., Burgio, G., Arpaia, S., Narváez-Vasquez, C.A., González-Cabrera, J., Catalán Ruescas, D., Tabone, E., Frandon, J., Pizzol, J., Poncet, C., Cabello, T., Urbaneja, A. 2010. Biological invasion of European tomato crops by *Tuta absoluta*: ecology, geographic expansion and prospects for biological control. *J. Pest Sci.* 83: 197-215.

Tablas y Figuras

Tabla 1. Poblaciones de *T. absoluta* bioensayadas.

Población	Origen	Fecha de recogida	Cultivo
Abarán	Murcia (España)	Marzo 2010	Tomate
Almería	Almería (España)	Mayo 2010	Tomate
Canarias	Las Palmas de Gran Canarias (España)	Mayo 2010	Tomate
Níjar	Almería (España)	Mayo 2010	Tomate
Cañada de Gallego	Murcia (España)	Mayo 2010	Tomate
Biancavilla	Sicilia (Italia)	Julio 2010	Tomate
Tudela	Navarra (España)	Septiembre 2010	Tomate
Boavista	Oporto (Portugal)	Septiembre 2010	Tomate
Charneca	Lisboa (Portugal)	Septiembre 2010	Tomate
Águilas	Murcia (España)	Enero 2011	Tomate
Foggia	Foggia (Italia)	Marzo 2011	Tomate
Mazarrón	Murcia (España)	Julio 2012	Tomate
Fossano	Fossano (Italia)	Julio 2012	Tomate
Francia	Villeneuve de la Raho (Francia)	Septiembre 2012	Tomate
Grecia	Heraklion (Grecia)	Noviembre 2012	Tomate

Tabla 2. Susceptibilidad de *T. absoluta* a lambda-cihalotrin

6. Referencias bibliográficas

(DC: 20)

Población	CL50	LF (95%)	CL90	LF (95%)	FR
Cañada de Gallego	75,9	41,1-125,6	733,4	399,3-1916,6	1
Foggia	95,5	8,6-186	1820,7	808,1-47847	1,26
Boavista	96,6	30,5-260,3	1143,3	364,1-1,9x10 ⁵	1,27
Canarias	97,9	8,3-203,2	1854,6	788,8-49170	1,29
Charneca	158,2	67,4-254,9	684,6	390,896-3477,6	2,1
Níjar	172,3	19,5-389,8	3736,8	1309,1-1,9x10 ⁵	2,3
Almería	275,9	52,7-559,1	1931,8	851,1-70743	3,6
Tudela	335,2	113,9-524,1	1778,1	1082,4-6926,7	4,4
Abarán	433,9	255,7-579,3	1671,3	1035,6-9095,1	5,7
Biancavilla	500,4	243,1-1147,3	6537,5	2089,3-1,0x10 ⁶	6,6
Águilas	591,1	150,3-1028,5	4337,4	2453,3-18639	7,8
Línea Base de Susceptibilidad	173,4	130,1-219,7	3227,8	2236,2-5299,8	-

* DC: Dosis de campo en ppm. CL50: Concentración Letal 50 en ppm. CL90: Concentración Letal 90 en ppm. LF (95%): Límites fiduciales calculados al 95%. FR: Factor de resistencia con respecto a la población más susceptible.

Tabla 3. Susceptibilidad de *T. absoluta* a metil-clorpirifos (DC: 896)

Población	CL50	LF (95%)	CL90	LF (95%)	FR
Canarias	13,3	5,1-77,9	216,2	48,4-5	2,28
Cañada de	24,3	11-204,4	208,9	55,6-5	4,2
Línea Base de	12	9,3-15	76,3	54,5-123,4	-

* DC: Dosis de campo en ppm. CL50: Concentración Letal 50 en ppm. CL90: Concentración Letal 90 en ppm. LF (95%): Límites fiduciales calculados al 95%. FR: Factor de resistencia con respecto a la población más susceptible.

Tabla 4. Selección de resistencia a indoxacarb (DC: 60), spinosad (DC: 120) y metaflumizona (DC: 240)

Insecticida	Selección	Tratamiento	Larvas	%

* DC: Dosis de campo en ppm.



Figura 1. Daños de *T. absoluta* en cultivo de tomate.