

## ***Genetic variability of tolerance to spinosad and emamectin benzoate in different Mediterranean populations of Orius laevigatus (Fieber) (Hemiptera: Anthocoridae)***

V. Balanza, J.E. Mendoza, P. Bielza

Departamento de Producción Vegetal, ETSIA. Universidad Politécnica de Cartagena, Paseo Alfonso XIII, 48, 30203. Cartagena, España.  
E-mail: virginia.balanza@upct.es

### **Resumen**

*Orius laevigatus* es un enemigo natural usado como agente de control biológico. Uno de los problemas a los que se enfrenta la gestión integrada de plagas (GIP) es la compatibilidad que existe entre enemigos naturales y algunos tratamientos fitosanitarios que se aplican pero esta competencia siempre ha sido estudiada con poblaciones únicas y comerciales, sin profundizar en la variabilidad de las poblaciones silvestres. Partiendo de este punto, se estudiará si existe una variabilidad genética entre varias poblaciones naturales mediterráneas de *O. laevigatus* en su tolerancia a distintos insecticidas. Las materias activas utilizadas fueron spinosad y emamectina benzoato. Existieron diferencias significativas entre las poblaciones ensayadas con spinosad (34,4 veces) y las poblaciones ensayadas con emamectina benzoato (28,8 veces). La concentración letal media (CL<sub>50</sub>) varió entre 42,7 mg L<sup>-1</sup> y 1470,2 mg L<sup>-1</sup> para spinosad, con un factor de susceptibilidad (FS) de 34,4, mientras que en el caso de emamectina benzoato la CL<sub>50</sub> varió entre 1,1 mg L<sup>-1</sup> y 32,8 mg L<sup>-1</sup> con FS de 28,8. En general, se puede decir que existió una variabilidad de la tolerancia a insecticidas dependiendo de la población tratada, existiendo poblaciones con una mortalidad baja a la dosis de campo.

**Palabras clave:** GIP; resistencia a insecticidas; control biológico.

### **Abstract**

*Orius laevigatus* is a natural enemy which is used as biological control agent. One of the problems that there is in integrated pest management (IPM) is the compatibility between natural enemies and some phytosanitary treatments applied to the plant, but this competition has always been studied with commercial populations without going into in the variability of the natural populations. From this point of view, the genetic variability of tolerance to several insecticides in different Mediterranean populations of *O. laevigatus* was studied. Spinosad and emamectin benzoate were used as active matters. There were significant differences between populations in spinosad assays (34.4 times) and emamectin benzoate assays (28.8 times). The median lethal concentration (CL<sub>50</sub>) varied between 42.7 mg L<sup>-1</sup> and 1470.2 mg L<sup>-1</sup> for spinosad and the susceptibility factor (FS) was 34.4. For emamectin benzoate CL<sub>50</sub> varied between 1.1 mg L<sup>-1</sup> and 32.8 mg L<sup>-1</sup> and FS was 28.8. In general, it can be said that there is a variability of tolerance to insecticides depending on the population, existing populations with low mortality field doses.

**Palabras clave:** IPM; insecticide resistance; biological control.

### **1. Introducción**

*Orius laevigatus* (Fieber) (Hemiptera: Anthocoridae) es un enemigo natural de muchas plagas de artrópodos pero ha sido usado principalmente en el control biológico del trips *Frankliniella occidentalis* (Pergande) [1]. Este antocórido ha sido usado como agente de control biológico en la protección de cultivos en muchos países europeos [2].

La instalación, establecimiento y posterior distribución en los invernaderos de *O. laevigatus* resulta de vital importancia en el éxito del manejo integrado de plagas [3]. Un principio clave del manejo integrado de plagas es maximizar el control de plagas con depredadores y parasitoides. Estos se complementan en caso

necesario con plaguicidas. Los plaguicidas deben utilizarse de una manera que no afecten a los agentes de control biológico de las plagas. Esto requiere el conocimiento acerca de los productos químicos, los umbrales de pulverización y tiempos de aplicación que son compatibles con los enemigos naturales [4]. Con respecto a *O. laevigatus* se han realizado algunos estudios frente a los efectos de distintos insecticidas [5, 6, 7].

El objetivo de este trabajo es estudiar si existe una variabilidad genética entre distintas poblaciones mediterráneas silvestres de *O. laevigatus* en su tolerancia a distintos insecticidas. Como consecuencia de los resultados obtenidos, se realizará la selección de

una población con una resistencia mejorada para cada uno de estos plaguicidas.

## 2. Materiales y Métodos

### 2.1 Recolección y cría de *Orius laevigatus*

Se recolectaron mediante un aspirador manual un total de 21 poblaciones silvestres de *O. laevigatus* procedentes de distintos países mediterráneos. Se mezclaron individuos de las distintas poblaciones con la finalidad de obtener una población mezcla con una variabilidad genética diferente. Además como referencia se utilizó una población comercial. Las poblaciones ensayadas en este trabajo fueron: Policoro (Italia), Hellín (Albacete-España), Cuevas de Almanzora (Almería-España), Cabo de Gata (Almería-España), Portonovo (Galicia-España) Moreira (Galicia-España), Acate (Italia) y Samaria (Grecia). Previamente fueron estudiadas otras poblaciones, cuyos resultados se han tenido en cuenta al analizar los datos obtenidos en estos últimos ensayos.

Para la cría de las poblaciones recolectadas se utilizaron botes de plástico de 1L, donde se dispusieron los individuos. Cada bote contenía: un vial con agua para proporcionar hidratación, una judía para la puesta de huevos, refugio y huevos de *Ephestia kuehniella* como alimento. Cada 48-72 horas se añadió alimento y extrajeron las judías con huevos de los botes. Estas judías se añadieron a un nuevo bote y así se realizó un nuevo ciclo de cría.

### 2.2 Preparación y lectura de los bioensayos

Se realizaron bioensayos para individuos de las poblaciones recolectadas con dos insecticidas que contenían las siguientes materias activas: spinosad y emamectina benzoato.

Se prepararon las siguientes dosis de insecticida: 30-3000 mg L<sup>-1</sup> y 3-100 mg L<sup>-1</sup>, respectivamente para spinosad y emamectina benzoato. A las dosis preparadas se añadieron secciones de judía de 3 cm. Las judías se agitaron junto con el insecticida y se dejaron secar para posteriormente añadirlas a una salsera que contenía alimento y refugio. En cada salsera se añadieron 10 individuos como mínimo. Se realizaron 3 repeticiones por dosis y un control de 3 repeticiones con judía sin tratar.

El tiempo de duración de los experimentos fue 3 días para spinosad y 7 días para emamectina benzoato y transcurrido este periodo, se procedió a estimar la mortalidad.

### 2.3 Tratamiento estadístico

Los datos obtenidos se analizaron con el programa POLO PLUS® usando un análisis Probit. Se calcularon las concentraciones letales (CL<sub>50</sub>) y los límites fiduciales (LF) al 95% de confianza. Solamente existieron diferencias significativas, cuando los límites fiduciales se solaparon. Posteriormente se calculó la línea base de susceptibilidad y el factor de susceptibilidad natural (FS), teniendo en cuenta todas las poblaciones ensayadas hasta el momento, aunque no aparezcan en este artículo.

## 3. Resultados y Discusión

Para spinosad (Tabla 1), hubo diferencias significativas entre las poblaciones ensayadas (34,4 veces), variando la concentración letal media (CL<sub>50</sub>) entre 42,7 mg L<sup>-1</sup> y 1470,2 mg L<sup>-1</sup>. Considerando que la dosis de campo es 120 mg L<sup>-1</sup>, hubo poblaciones en las que se obtuvo una mortalidad entre 60-80%. Por otro lado, se encontraron tres poblaciones (Cabo de Gata, Cuevas de Almanzora y Samaria) en las que la mortalidad fue menor del 5%. En Cuevas de Almanzora el FS fue de 34,4, mientras que la población más sensible estudiada hasta el momento fue Portonovo, con un FS=1.

Algunos ensayos previos mostraron que spinosad es tóxico para distintas especies de *Orius spp.* [7, 8]. En un estudio realizado por Van de Veire y Tirry [9], se trataron con spinosad a una dosis de 100 mg L<sup>-1</sup> ninfas de una población de *O. laevigatus* criados en laboratorio. En el ensayo se observó que este insecticida era altamente tóxico, produciéndose una mortalidad del 100% de los individuos a los 4 días de aplicación. Sin embargo, en la Tabla 1 se muestra que al ensayar, en este caso, distintas poblaciones silvestres de *O. laevigatus*, se observó una variabilidad en los resultados con respecto a la toxicidad de spinosad.

En el caso de emamectina benzoato (Tabla 2), existieron diferencias significativas entre las poblaciones que se muestran en este artículo, variando la CL<sub>50</sub> entre 1,1 mg L<sup>-1</sup> y 32,8 mg L<sup>-1</sup>. Siendo la DC=14,25 mg L<sup>-1</sup>, destacaron las poblaciones de Cuevas de Almanzora y Samaria, con CL<sub>50</sub> 32,8 mg L<sup>-1</sup> y 23,5 mg L<sup>-1</sup>, respectivamente y una mortalidad a la dosis de campo del 12,2% para Cuevas de Almanzora y 34,9% para Samaria. Acate con un FS=1 y una mortalidad a la dosis de campo de 97,5%, se mostró como la población más sensible a

emamectina benzoato estudiada hasta el momento.

El mismo estudio que se realizó con spinosad [9], también se hizo con emamectina benzoato, aplicando una dosis de 15 mg L<sup>-1</sup> y ninfas de *O. laevigatus*. Se observó que este insecticida era altamente tóxico también en condiciones de laboratorio. Por otro lado, se ensayó en campo una población comercial de *O. laevigatus* [10] a la concentración recomendada como DC (14,25 mg L<sup>-1</sup>), causando una reducción progresiva de la población a los 3, 7 y 13 días después de la aplicación. En la Tabla 2, se observa que al igual que en spinosad, existe una variabilidad en la tolerancia a emamectina benzoato dependiendo de la población estudiada. En este insecticida se puede observar que la línea base de susceptibilidad es inferior a la DC, por lo que se puede concluir que, en general, y coincidiendo con algunos estudios, *O. laevigatus* es más sensible a emamectina benzoato.

#### 4. Conclusiones

Se concluyó que hubo diferencias significativas para emamectina benzoato y spinosad entre las poblaciones estudiadas. Se puede decir que al ensayar poblaciones naturales de *O. laevigatus*, el efecto de un mismo insecticida varía dependiendo de la población. Estos resultados muestran que existe una variabilidad genética entre poblaciones que hacen a unas poblaciones más resistentes que a otras y abre las puertas para poder seleccionar una población resistente a estos insecticidas.

#### 5. Agradecimientos

Agradecimientos a E. Martínez-Díaz por su inestimable ayuda técnica.

#### 6. Referencias bibliográficas

- [1] Chambers R.J., Long S., Helyer N.L. 1993. Effectiveness of *Orius laevigatus* (Hemiptera: Anthocoridae) for the control of *Frankliniella occidentalis* on cucumber and pepper in the UK. *Biocontrol Sci. Techn.* 3: 295-307.
- [2] EPPO. 2009. European and Mediterranean Plant Protection Organization.
- [3] Urbaneja A., Arán E., León P., Gallego A. 2003. Efecto combinado de altas temperaturas y de humedades en la supervivencia, fecundidad y

#### Tablas

fertilidad de *Orius laevigatus* y *Orius albidipenis* (Hem: Anthocoridae). *Bol. San. Veg. Plagas.* 29: 27-34.

[4] Delbeke F., Vercruyse P., Tirry L., De Clerco P., Degheele D. 1997. Toxicity of diflubenzuron, pyriproxyfen, imidacloprid and diafenthiuron to the predatory bug *Orius laevigatus* (Het.: Anthocoridae). *Entomophaga* 42: 349-358.

[5] Biondi A., Desneux N., Siscaro G., Zappala L. 2012. Using organic-certified rather than synthetic pesticides may not be safer for biological control agents: selectivity and side effects of 14 pesticides on the predator *Orius laevigatus*. *Chemosphere.* 87: 803-812.

[6] Angeli G., Baldessari M., Maines R., Duso C. 2005. Side-effects of pesticides on predatory bug *Orius laevigatus* (Heteroptera: Anthocoridae) in the laboratory. *Biocontrol Sci. Techn.* 15: 745-754.

[7] Studebaker GE., Kring TJ. 2003. Effects of insecticides on *Orius insidiosus* (Hemiptera: Anthocoridae) measured by field, greenhouse and Petri dish bioassays. *Florida Entomologist* 86:178-185.

[8] Broughton S., Harrison J., Rahman T. 2013. Effect of new and old pesticides on *Orius armatus* (Gross) - an Australian predator of western flower thrips, *frankliniella occidentalis* (Pergande). [Wileyonlinelibrary.com](http://Wileyonlinelibrary.com). DOI 10.1002/ps.3565.

[9] Van de Veire M., Tirry L. 2003. Side effects of pesticides on four species of beneficials used in IPM in glasshouse vegetable crops: "worst case" laboratory tests. *Pesticides and Beneficial Organisms.* 26:41-50.

[10] Amor F., Medina P., Bengochea P., Cánovas M., Vega P., Correia R., García F., Gómez M., Budía F., Viñuela E., López JA. 2012. Effect of emamectin benzoate under semi-field and field conditions on key predatory biological control agents used in vegetable greenhouses. *Biocontrol Sci. Techn.* 22: 219-232.

**Tabla 1.** Toxicidad de spinosad para 8 poblaciones de *O. laevigatus*.

Población	CL <sub>50</sub> (mg L <sup>-1</sup> ) <sup>a</sup>	LF (95%) <sup>b</sup>	FS-CL <sub>50</sub> <sup>c</sup>	Mortalidad DC (%) <sup>d</sup>
Policoro	62,2	33,4-95,4	1,5	65,0
Hellín	80,0	30,7-138,6	1,9	60,1
Moreira	64,7	16-148,3	1,5	70,2
Cabo de Gata	808,4	550,1-1142,8	18,9	3,1
Cuevas de Almanzora	1470,2	1076,1-1896,0	34,4	0,0
Samaria	364,5	224,7-644,6	8,5	4,3
Acate	225,8	52,2-757,8	5,3	40,9
Portonovo	42,7	25,1-60,8	1	81,5
<b>Línea base</b>	211,1	158,0-274,1		

<sup>(a)</sup>CL50=concentración letal media; <sup>(b)</sup>LF=límites fiduciales (P<0,05); <sup>(c)</sup>FS-CL<sub>50</sub>= Factor de susceptibilidad calculado a partir de la CL<sub>50</sub>; <sup>(d)</sup> mortalidad (%) a la dosis de campo (120 mg L<sup>-1</sup>).

**Tabla 2.** Toxicidad de emamectina benzoato para 8 poblaciones de *O. laevigatus*.

Población	CL <sub>50</sub> (mg L <sup>-1</sup> ) <sup>a</sup>	LF (95%) <sup>b</sup>	FS-CL <sub>50</sub> <sup>c</sup>	Mortalidad DC (%) <sup>d</sup>
Policoro	10,2	2,6 -15,2	8,9	68,5
Hellín	3,9	1,6-7,1	3,4	83,0
Moreira	8,2	4,1-13,1	7,2	68,6
Cabo de Gata	3,9	0,6-7,1	3,4	86,6
Cuevas de Almanzora	32,8	14,6-46,7	28,8	12,2
Samaria	23,5	11,8-36,3	20,6	34,9
Acate	1,1	0,2-2,0	1	97,5
Portonovo	3,5	0,5-7,6	3,1	79,7
<b>Línea base</b>	6,4	4,5-8,6		

<sup>(a)</sup>CL50=concentración letal media; <sup>(b)</sup>LF=límites fiduciales (P<0,05); <sup>(c)</sup>FS-CL<sub>50</sub>= Factor de susceptibilidad calculado a partir de la CL<sub>50</sub>; <sup>(d)</sup> mortalidad (%) a la dosis de campo (120 mg L<sup>-1</sup>).