

BASES PARA EL AJUSTE ÓPTIMO DE LAS DOSIS DE LOS TRATAMIENTOS EN CONDICIONES DE LABORATORIO

Modelización de la eficacia de insecticidas para el control del piojo rojo de California

Enrique Moltó, Patricia Chueca, Sandra Santiago y Cruz Garcerá.

Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA).
Ctra. Moncada-Náquera, km 4,5. 46113-Moncada, Valencia.

El piojo rojo de California (*Aonidiella aurantii* Maskell) es una plaga que ocasiona grandes pérdidas económicas en la citricultura de la Comunidad Valenciana. Este trabajo presenta un método de laboratorio para relacionar las características de los depósitos de insecticida con su eficacia, en función de la fase de desarrollo del insecto. Se concluye que es imprescindible el tratamiento en las fases sensibles (estados larvarios iniciales), ya que en las fases adultas disminuye mucho la eficacia del insecticida aunque se dupliquen o cuadripliquen las dosis.

El piojo rojo de California (*Aonidiella aurantii* Maskell) es la especie más perjudicial en la citricultura española. Produce daños por la succión de la savia de cualquier órgano de la planta y, en casos extremos, puede llegar a causar la muerte del árbol. Sin embargo, y dada su preferencia por el fruto, todos los métodos de control se dirigen a evitar la presencia del escudo de la cochinilla sobre el mismo, ya que ésta provoca su depreciación inmediata debido al aspecto del fruto (**foto 1**).

En la Comunidad Valenciana, el piojo rojo de California se detectó con carácter de plaga en 1985 en Alzira (Valencia), pero está extendiéndose por todas las zonas de cultivo de cítricos peninsulares.

Los plaguicidas más utilizados en nuestro país son: clorpirifos, metidation, piriproxifen y buprofezin. Actualmente se está introduciendo el uso de diversos aceites minerales como una alternativa con menor impacto medioambiental, ya que los problemas relacionados con el uso de plaguicidas organofosforados se han incrementado paralelamente al aumento de la superficie cultivada e intensidad de su empleo. Al mismo tiempo, se estima que los tratamientos fitosanitarios suponen la mayor parte de los costes de producción de cítricos. Tanto para reducir los costes de los tratamientos como para disminuir los riesgos ambientales se hace necesario disminuir la cantidad de



Foto 1. La presencia del escudo de la cochinilla sobre el fruto provoca su depreciación en el mercado.

productos fitosanitarios aplicados en el campo, pero de forma que éstos sigan siendo eficaces en el control de la plaga.

La mecanización de los tratamientos es fundamental para reducir los costes, y por ello, los equipos de distribución de tratamientos fitosanitarios basados en sistemas hidráulicos asistidos por aire, comúnmente llamados turboatomizadores o equipos hidroneumáticos, se están imponiendo en nuestra citricultura frente a las máquinas hidráulicas tradicionales a base de pistolas y mangueras. Las ventajas de los primeros son claras: mayores rendimientos horarios, menor necesidad de mano de obra, deposición más uniforme del producto, menor escurrimiento, etc. Dada la versatilidad de estos equipos, para aprovechar correctamente sus posibilidades, deben conocerse las condiciones óptimas de trabajo: tipo de boquillas, presión de trabajo, velocidad de avance, caudal de aire suministrado, volumen de caldo que se debe distribuir en la parcela, etc. No obstante, las recomendaciones actuales sobre las dosis que se deben aplicar en el campo se realizan mediante métodos de prueba y error o a partir de ensayos aislados.

Por este motivo, el Centro de Agroingeniería del Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias está trabajando para establecer modelos que relacionen la deposición de los insecticidas con la mortalidad esperada del piojo rojo de California en sus diferentes estadios. Éste es el paso inicial para establecer la dosis y el momento óptimos

para el control de la plaga, con el propósito de reducir la presencia de residuos de insecticidas.

En el trabajo que aquí se presenta se desarrolla un método de laboratorio para relacionar las características de las deposiciones de los productos con la eficacia obtenida sobre el piojo rojo de California en distintas fases de su desarrollo, con el fin de sentar una base científica para la recomendación de dosis en los tratamientos.

Materiales y métodos

Forma de aplicación

En este trabajo los productos se aplicaron mediante una torre de pulverización de precisión de Potter (Potter, 1952) (**foto 2**). Ésta consta de un cilindro metálico, en cuya parte superior se encuentra la boquilla y un pequeño depósito, en el que se coloca el líquido que se aplica. En su parte inferior cuenta con una plataforma en la que se dispone la muestra sobre la que se aplica el producto. La pulverización se produce por medios neumáticos.

En experimentos anteriores realizados con la torre de Potter se comprobó que gran parte del volumen de caldo que se coloca en el depósito no llega al objetivo, pues se evapora rápidamente o se adhiere a las paredes del cilindro. Los experimentos demuestran que los porcentajes de caldo recuperado sobre las muestras son muy pequeños, variando entre un 4,8% y un 7,1%.

Método para describir la pulverización

En primer lugar, se midieron diversos parámetros para describir cómo se produjo la pulverización. Para ello, se pulverizó agua con co-

”
El primer paso para establecer la dosis y el momento de aplicación para el control óptimo de la plaga consiste en establecer modelos que relacionen la deposición de los insecticidas con la mortalidad sobre la misma. El objetivo es reducir los costes de los tratamientos, los riesgos ambientales y la presencia de residuos en la cosecha

lorantes sobre colectores cuadrados de PVC de 4 cm de lado, que presentan un comportamiento de retención de gotas similar al que se produce en la superficie de las hojas de cítricos (Mercader *et al.*, 1995), para posteriormente utilizar un sistema de análisis de imágenes que permitiese medir los parámetros más importantes de la pulverización (recubrimiento, número de impactos/cm², etc.). El colorante empleado fue un quelato de hierro en una concentración del 1% en peso, con el objetivo de producir el contraste necesario con el fondo para posteriormente poder analizar las muestras.

Los colectores pulverizados se fotografiaron con una cámara digital bajo un sistema de iluminación compuesto por una campana de aluminio que servía como soporte y dos lámparas fluorescentes circulares. Para evitar vibraciones y realizar todas las fotografías en condiciones similares, la cámara se montó sobre un soporte a una altura de 27,5 cm sobre las muestras. Para calibrar las imágenes se fotografió una regla en las mismas condiciones de amplificación en que se habían fotografiado los colectores y se estimó la equivalencia de los píxeles en μm .

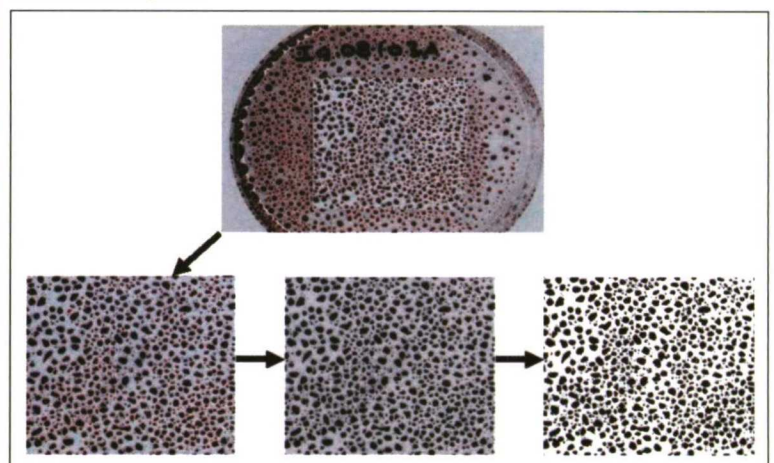
Tras la calibración, se analizaron las imágenes (**foto 3**). El análisis consta de cuatro fases:

- Recorte de una región representativa de la imagen mediante una selección manual.
- Conversión a escala de grises (256 niveles de gris).
- Umbralización de la imagen. El valor umbral lo define el operario en cada imagen por comparación del resultado de la segmentación con la imagen original.



Foto 2 (izquierda). Torre de Potter utilizada para la aplicación de tratamientos.

Foto 3 (abajo). Determinación de las características de la deposición mediante análisis de imágenes.



• Extracción de las características de la imagen y de los objetos. El parámetro principal objeto de estudio fue el recubrimiento (%), aunque también se determinó el tamaño de los impactos y el número de impactos por centímetro cuadrado.

Cría del insecto y medida de la eficacia del tratamiento

Paralelamente, se realizó una cría del insecto sobre limones, según el protocolo desarrollado por la Unidad de Entomología del IVIA. Se estudió la mortalidad sobre cuatro fases de desarrollo del insecto, que se denominaron:

- L1, que comprende los estadios larva 1 y muda 1.
- L2, que comprende los estadios larva 2 y muda 2.
- L3-H, que comprende los estadios hembra joven, hembra adulta y hembra grávida (H1, H2 y H3).
- PP, que comprende los estadios macho prepupa y macho pupa.

Para conseguir individuos de una fase de desarrollo concreta para cada ensayo, se esperó a que las larvas evolucionaran durante un número de días prefijado. Este tiempo fue de cinco días para L1, de nueve para L2 y de quince para L3-H y PP.

Para estimar la mortalidad, antes de realizar el tratamiento, se identificaron 50 individuos vivos por limón, marcando a su alrededor con un rotulador permanente (**foto 4**). Diez días después del tratamiento, se contó el número de individuos marcados que no habían

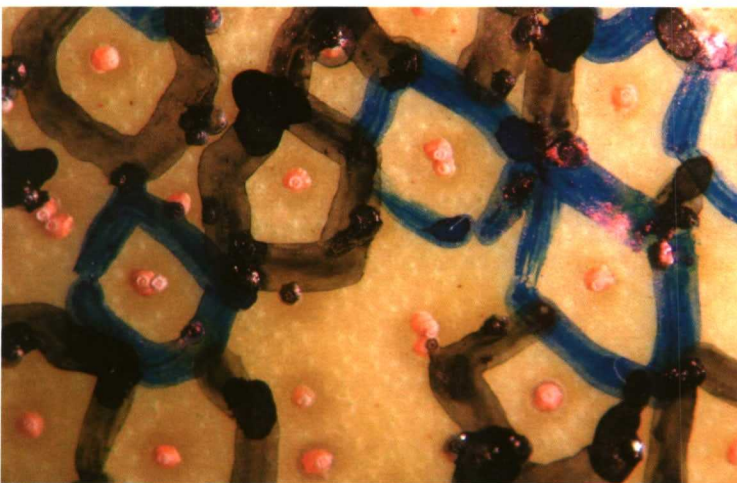
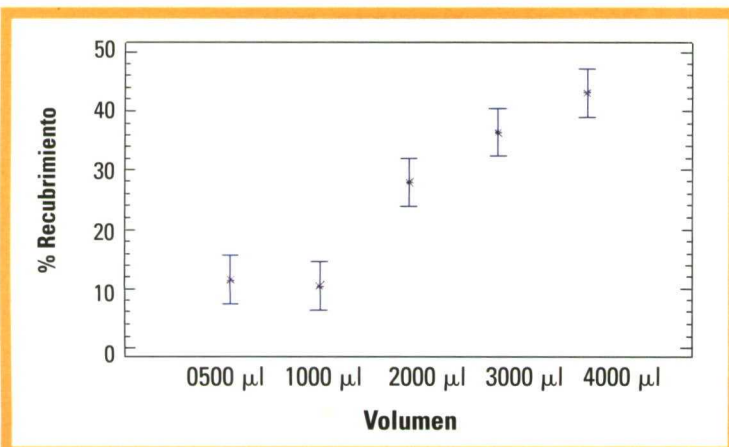


Foto 4. Limón infestado con piojo rojo de California antes de ser aplicada la pulverización. Marcado de los individuos.

Figura 1.

Recubrimiento alcanzado en cada aplicación en función del volumen aplicado.



Para conseguir en la fase PP niveles similares de eficacia a los de las fases larvarias se necesitan deposiciones con el doble de la materia activa, mientras que deposiciones con el cuádruplo de la materia activa sólo servirían para elevar la mortalidad de la fase L3-H hasta un 65%, ya que ésta no aumenta a pesar de que se incremente mucho la dosis

evolucionado (por lo que estaban presumiblemente muertos debido al tratamiento), frente al total de individuos marcados.

Factores estudiados

En el trabajo que se muestra, se emplearon dos productos organofosforados (producto A y producto B), aplicados cada uno de ellos a la máxima concentración de etiqueta indicada para el tratamiento de cochinillas en cítricos.

Se realizó un diseño de experimentos de dos factores: el factor volumen de caldo a cinco niveles, cuatro volúmenes de caldo (tratamiento 1, con 1.000 µl; tratamiento 2, con 2.000 µl; tratamiento 3, con 3.000 µl y tratamiento 4 con 4.000 µl), más un testigo, y el factor fase de desarrollo, con los cuatro niveles de desarrollo antes mencionados (L1, L2, L3-H, PP). En los experimentos se realizaron cinco repeticiones, repartidas aleatoriamente en el tiempo. Es importante señalar que la dosis (cantidad de materia activa por unidad de superficie) aplicada en el tratamiento 1 es la mitad que la del 2, la tercera parte de la del 3 y la cuarta de la del 4, es decir, los diferentes tratamientos implican un aumento de dosis a base de incrementar el volumen manteniendo constante la concentración del producto.

Análisis estadístico

La herramienta estadística que se empleó fue el análisis de la varianza (Anova), tanto en su versión multifactorial (en los ensayos de eficacia) como unifactorial (influencia del tratamiento sobre los parámetros de deposición). La hipótesis de normalidad se evaluó mediante el test de Shapiro-Wilks sobre los residuos de los modelos y la hipótesis de homocedasticidad (igualdad de varianzas entre niveles de los factores) mediante el test de Levene. Todos los test se realizaron para un nivel de confianza del 95%. Para la comparación de medias se empleó el test de Tukey, que disminuye el error de primera especie.

Cuando no se cumplió alguna de las hipótesis del Anova, los datos se sometieron al análisis de la varianza no paramétrico de Kruskal-Wallis. En este caso, para determinar entre qué niveles del factor se encuentran diferencias estadísticamente significativas, se representa el diagrama Box-Whisker con los intervalos de confianza para la mediana. En este trabajo sólo se presentan los resultados del Anova, por ser más conocida su interpretación.

Resultados

Estudios sobre la deposición

En cuanto al recubrimiento alcanzado en cada aplicación, el factor volumen resultó significativo pero, como se observa en la **figura 1**, no



PHINEAS TAYLOR BARNUM



*Mandarinas de primavera[®]
sin semillas*

Fáciles de pelar y con un excelente sabor y color

HÍBRIDO	FECHA DE RECOLECCIÓN			
GOLD NUGGET	ENERO	FEBRERO	MARZO	
TRIPLOIDES	3 VARIETADES PARA UNA COSECHA			
VARIEDAD	FECHA DE RECOLECCIÓN			
TAHOE GOLD TDE3	ENERO	FEBRERO	MARZO	
YOSEMITE GOLD TDE4		FEBRERO	MARZO	ABRIL
SHASTA GOLD TDE2			MARZO	ABRIL MAYO

se dan diferencias significativas entre los volúmenes menores (500 μl y 1.000 μl), pese a que la cantidad de materia activa depositada se duplica. Sí que se encuentran diferencias significativas entre estos dos y todos los demás. El porcentaje de recubrimiento en estos casos aumenta casi de manera proporcional al volumen.

En base al porcentaje de caldo recuperado, la concentración empleada y la riqueza en materia activa de cada uno de los productos, se estimó la cantidad de materia activa por unidad de superficie pulverizada con cada volumen ensayado (**cuadro I**).

En cuanto a la mortalidad, con los dos productos se observan diferencias significativas entre el control y el resto de tratamientos (**figura 2**), resultando también significativas las diferencias de mortalidad entre las fases de desarrollo.

Así, se observa que las fases L1 y L2 son las más sensibles, ya que presentan los mayores valores de mortalidad. También se observa que incluso al aplicar la menor cantidad de materia activa (mínimo volumen pulverizado y mínimo recubrimiento) (0,88 $\mu\text{g ma A/cm}^2$ y 0,99 $\mu\text{g ma B/cm}^2$), ya se alcanza el máximo de mortalidad (96%).

La fase PP es menos sensible y se observa un aumento en la mortalidad entre 1.000 y 2.000 μl (entre 0,88 y 1,64 $\mu\text{g ma/cm}^2$) con el producto A, hasta llegar a un 30% de recubrimiento, y entre 1.000 y 3.000 μl (entre 0,99 y 3,47 $\mu\text{g ma/cm}^2$) con el producto B, hasta llegar casi a un 40% de recubrimiento, pasando de una mortalidad del 68% a una del 83% en el primer caso, y de un 80% a un 98% en el segundo. A partir de estos volúmenes, la mortalidad ya no aumenta significativamente.

La fase L3-H es la menos sensible, ya que presenta los valores de mortalidad más bajos. Se observa que el aumento de volumen de 1.000 μl a 2.000 μl (de 0,88 a 1,64 $\mu\text{g ma/cm}^2$ con el producto A y de 0,99 a 2,17 $\mu\text{g ma/cm}^2$ con el producto B), que implica un aumento del recubrimiento hasta un 30%, no produce un aumento de mortalidad estadísticamente significativo, pero el paso a 3.000 μl sí (2,82 $\mu\text{g ma A/cm}^2$ y 3,47 $\mu\text{g ma B/cm}^2$), con casi un 40% de recubrimiento, aumentando la mortalidad de un 40% a un 65% con el producto A y de un 30% a un 60% con el producto B. La mortalidad se mantiene pese a aumentar el volumen de caldo a 4.000 μl (3,82 $\mu\text{g ma A/cm}^2$ y 4,74 $\mu\text{g ma B/cm}^2$) y por tanto el recubrimiento hasta un 43%.

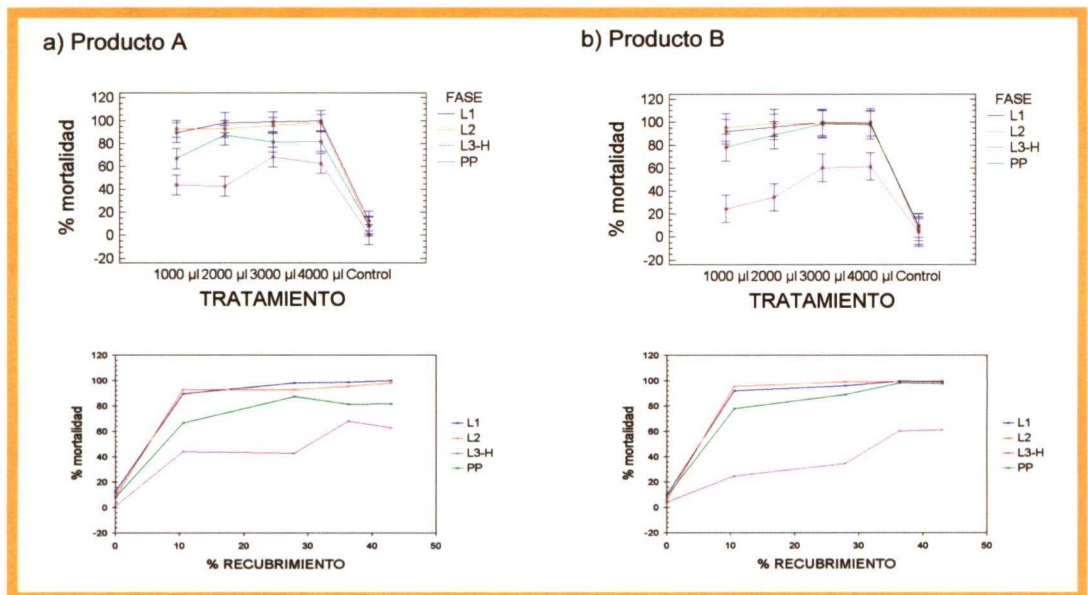
Cuadro I.

Estimación de la cantidad de materia activa (ma) pulverizada del producto A y el B ($\mu\text{g ma/cm}^2$) (media \pm error estándar).

TRATAMIENTOS	$\mu\text{g m. a. A/cm}^2$	$\mu\text{g m. a. B/cm}^2$
1.000 μl	0,88 \pm 0,10	0,99 \pm 0,10
2.000 μl	1,64 \pm 0,18	2,17 \pm 0,21
3.000 μl	2,82 \pm 0,25	3,47 \pm 0,11
4.000 μl	3,82 \pm 0,28	4,74 \pm 0,23
Control	Testigo	Testigo

Figura 2.

Mortalidad del piojo rojo de California en base al tratamiento realizado y el porcentaje de recubrimiento en cada fase de desarrollo.



Conclusiones

Este trabajo presenta un método de laboratorio para relacionar la forma en que se distribuye un tratamiento fitosanitario con la mortalidad que se espera sobre los distintos estadios de una plaga. El método se puede adaptar al estudio del efecto de distintos insecticidas sobre distintas plagas y puede servir de base para la elaboración de las recomendaciones para los tratamientos de campo. En la actualidad se emplea para establecer las recomendaciones de uso de aceites minerales contra el piojo rojo de California. En trabajos futuros se abordarán precisamente estas dos cuestiones.

En cuanto a la eficacia obtenida con los distintos tratamientos organofosforados contra *A. aurantii*, se ha observado un máximo de mortalidad para las fases L1 y L2 a partir de dosis equivalentes a 0,88 $\mu\text{g ma A/cm}^2$ y 0,99 $\mu\text{g ma B/cm}^2$. El aumento de materia activa, de recubrimiento y de tamaño de los impactos no ha supuesto ningún aumento significativo de la mortalidad.

Para conseguir en la fase PP niveles similares de eficacia a los de las fases más sensibles, se han necesitado deposiciones con el doble de la materia activa, mientras que deposiciones con el cuádruplo de la materia activa sólo servirían para elevar la mortalidad de la fase L3-H hasta un 65%, ya que ésta no aumenta a pesar de que se aumenta mucho la dosis.

Además de establecer una dosis de partida para dos insecticidas, que en principio debería ser la dosis objetivo en los tratamientos de campo (hipótesis que está siendo contrastada en la actualidad), otra de las consecuencias prácticas de este trabajo es demostrar la enorme importancia que tiene realizar los tratamientos de campo cuando la plaga se encuentra en sus primeros estadios de desarrollo, ya que posteriormente el tratamiento no va a controlarla tan eficazmente. ■

Bibliografía

- C. Potter (1952) An improved laboratory apparatus for applying direct sprays and surface films, with data on the electrostatic charge on atomized spray fluids. *Ann Appl Biol*, Marzo 1952 vol. 39, nº 1: 1-29.
- G. Mercader, J. Pellicer, F. Fabado, E. Moltó y F. Juste (1995) Influencia de los colectores sobre los parámetros característicos de la pulverización en cítricos. VI Congreso de la SECH. Barcelona 1995, 322.