



Guía de apoyo para evaluar pruebas de especificidad para organismos de control biológico (Parasitoides y depredadores)

Versión: 01
Elaborado por: GT – CB
Fecha: 13/12/2020
Aprobado por: Res. 288/98 -20D
Fecha: 16 /12/2020

CONTENIDO

1.	Introducción	3
2.	Consideraciones para pruebas de rango de hospedantes:	3
3.	Pruebas de laboratorio	4
3.1.	Para pruebas con parasitoides	4
3.2.	Para pruebas con depredadores	6
4.	Pruebas de terreno	7
5.	Referencias	7

1. Introducción

Las pruebas de especificidad tienen como objetivo determinar si un agente de control biológico (ACB) puede ser autorizado a ingresar a un país con riesgo mínimo que se produzca una ampliación del rango de hospederos (presa), especialmente hacia especies nativas, evitando de esa manera un efecto no deseado sobre la entomofauna nativa.

Existe una amplia literatura sobre pruebas de especificidad para el control de malezas, en los cuales se han basado los análisis de riesgo para ACB. Sin embargo, no existen guías especializadas para realizar pruebas de especificidad para artrópodos, debido a la gran amplitud de especies (ACB) y hospederos (presa). Por lo cual, esta guía tiene como objetivo apoyar a los profesionales de las ONPF del COSAVE, para evaluar si una prueba de especificidad considera aspectos claves para aprobar su realización.

Las pruebas de especificidad generalmente se realizan básicamente en condiciones de laboratorio, siendo de suma importancia que sean llevadas en las condiciones adecuadas para que sean consideradas válidas.

Se debe tener presente que la aceptación de una presa por un parasitoide o un depredador, en condiciones de laboratorio, no necesariamente significa que ese ACB lo hará en condiciones de campo.

2. Consideraciones para pruebas de rango de hospedantes:

- 2.1. Uso de controles: Incluir la exposición de algunos parasitoides o depredadores al hospedero objetivo para demostrar óptima condición sanitaria y fertilidad adecuadas para parasitar con éxito. En ausencia de tales controles, la falta de parasitación o alimentación en la presa de una especie no objetivo no se distingue del fracaso para atacarlo, simplemente porque los parasitoides/depredadores utilizados fueron de muy baja calidad para atacar a cualquier especie no objetivo.
- 2.2. Utilizar ACB de alta calidad: Los ACB utilizados deben ser de edad y madurez reproductiva adecuadas para estar preparado conductualmente para reconocer a los hospedantes y ovipositar en ellos.
- 2.3. Utilice hospederos/presas de alta calidad: Es preferible criar las especies no objetivo utilizadas en las evaluaciones, pero si se deben usar muestras recolectadas en el campo, es importante controlar que estén sanas, no parasitadas y libres de patógenos.
- 2.4. Estar atento a la diapausa inducida por el hospedero en parasitoides: En ocasiones, los parasitoides inmaduros entran en diapausa en sus huéspedes y su falta de desarrollo podría interpretarse erróneamente como falta de idoneidad del hospedante.

- 2.5. Tener en cuenta el comportamiento parasitoide hacia los posibles huéspedes.
- 2.6. Elegir los estadios apropiados: Los parasitoides de hospederos larvales o ninfales con frecuencia ovipositan en determinados estadios y terminan de desarrollarse completamente en estadios posteriores o pupas. Cuando una especie no objetivo es morfológicamente similar o está relacionada con una especie objetivo, es más lógico seleccionar para probar la misma etapa (estadio) que las especies objetivo.
- 2.7. Seleccione las condiciones que limitan la mortalidad del hospedero. Para los parasitoides que atacan a las larvas jóvenes, si el tiempo de exposición es demasiado largo o la relación parasitoide-huésped demasiado alta, es probable que muchos hospederos mueran por superparasitismo. Este problema se puede corregir exponiendo los hospederos a un solo ejemplar del parasitoide a la vez y luego retirar la larva para prevenir ataques posteriores.

3. Pruebas de laboratorio

3.1. Para pruebas con parasitoides

- Deben considerar un número mínimo de repeticiones, que permitan realizar un análisis estadístico.
- Deben incluir controles positivos (parasitoide con la especie objetivo y el vegetal en el cual se alimenta) y negativos (sólo el hospedero y el vegetal en el que se alimenta). Esto permite verificar que se están dando las condiciones adecuadas para que se desarrollen.
- Se debe verificar que en las pruebas se empleen procedimientos que maximicen las probabilidades que las especies bajo prueba sean aceptadas para oviponer.
- Se debe describir las condiciones de crianza (parasitoide y hospederos). Las especies no objetivo (herbívoro) deben ser criadas en las plantas nativas u otras que permitan su crianza.
- Deben considerarse pruebas con y sin elección de hospederos.
- Deben incluir pruebas sin elección con hembras con y sin experiencia de oviposición.
- En las pruebas sin elección es aconsejable usar hembras del parasitoide con experiencia en oviposición en la especie objetivo y sin experiencia de oviposición (por separado). Los estudios indican que con hembras (parasitoides) que han tenido contacto con la especie objetivo y después se las utiliza para parasitar una especie no objetivo, se podría obtener un resultado muy diferente a usar hembras que nunca han tenido contacto con su hospedero habitual.

- Se deben utilizar parasitoides que hayan sido retirados inmediatamente después de su emergencia, para evitar que produzca una habituación a la especie objetivo al vegetal original o alternativo.
- Los adultos deben ser mantenidos con una fuente de comida adecuada (ej. agua-miel) por unos días después de su eclosión antes de ser usado en las pruebas, especialmente en aquellas especies que tienen un bajo índice de ovogénesis (más sinovigénica). Las especies proovigénicas, nacen con una cantidad completa de huevos maduros (y suelen poseer una menor longevidad), a diferencia de las sinovigénicas. Para diseñar las pruebas se puede considerar el índice de ovogénesis desarrollado por Jarvis et al. (2001).
- La especie objetivo y las no objetivo deben presentarse en superficies inertes (en lo posible).
- Cuando se usa una hembra que se le ha permitido oviponer, se le debe mantener un periodo sin la presencia del hospedero antes de iniciar la prueba.
- Calidad del parasitoide y especies objetivo/no objetivo (estado de vigor). Deben seleccionarse individuos sanos.
- La aceptación de la especie no objetivo se debería evaluar mediante la emergencia del parasitoide, midiendo la tasa de parasitismo.
- Aquellos hospederos que no terminaron su desarrollo deberían ser disectados para determinar la causa de muerte (se puede medir la tasa de encapsulación).
- Se puede medir el tamaño de los adultos obtenidos en la especie no objetivo, versus la especie objetivo (menor tamaño, menor longevidad y menor fecundidad). Así la razón sexual desviada hacia los machos significa una baja calidad del hospedero.
- El tamaño mínimo de la arena de experimentación debe ser acorde con el tamaño del ACB y hospederos (especie objetivo/no objetivo).
- Para parasitoides que no responden a señales a gran distancia para establecer contacto con su potencial hospedero, se aconseja que las áreas de experimentación sean lo más simple posible.
- Para parasitoides que responden a señales a gran distancia se debe utilizar arenas de experimentación de mayor tamaño (los túneles de viento proveen espacio suficiente para activar el vuelo de los parasitoides hacia el hospedero).
- Limpieza de los lugares donde se lleven a cabo las pruebas (ej. el uso de algunos productos químicos podría alterar el resultado de la actividad del parasitoide)
- Los agentes deberían haber tenido alimentos y agua adecuados antes de la prueba, y la prueba debe usar temperaturas, humedad y regímenes de luz adecuados.

- Debe considerar condiciones de temperatura, humedad relativa y fotoperiodo óptimas para el desarrollo del parasitoide y de las especies objetivo/no objetivo.

Nota: Tener presente que no todos los hospederos en los cuales los parasitoides se desarrollan en laboratorio, lo son en el campo. Esto es especialmente válido para parasitoides Idiobiontes (Aquellos que matan a su presa (cuando oviposita), tales como parasitoides de huevos, pupas y adultos.

3.2. Para pruebas con depredadores:

- Debe considerar un número mínimo de repeticiones, que permitan realizar un análisis estadístico.
- Debe incluir controles positivos (con la presa objetivo y el vegetal en el cual se alimenta) y negativos (sólo la presa y el vegetal en el que se alimenta). Esto permite verificar que se están dando las condiciones adecuadas para que la presa y el ACB se desarrollen.
- El depredador y presas (objetivo/no objetivo) utilizados, deben provenir de crías de laboratorio.
- Criar y mantener el depredador en una especie diferente a la especie objetivo (cuando sea posible).
- Calidad del ACB y las presas (estado de vigor). Deben seleccionarse individuos sanos.
- Mantener al depredador sin la presa (objetivo/no objetivo) por un periodo antes de iniciar las pruebas (el tiempo depende de la longevidad del depredador).
- Debido a que tanto las larvas/ninfas, como los adultos se alimentan de la presa, se deben evaluar ambos estados de desarrollo.
- Considerando que la edad del depredador influye en la producción de huevos, para diseñar las pruebas se deben considerar ejemplares de diferentes edades (jóvenes versus maduros).
- Se deben utilizar ejemplares del depredador alimentados con y sin la presa objetivo en pruebas separadas.
- Para evaluar un depredador se puede utilizar: Tasa de alimentación, sobrevivencia del adulto, oviposición y desarrollo de la larva/ninfa.
- Para determinar la alimentación se puede medir el número de presas por unidad de tiempo (usualmente se utiliza un periodo de 24 horas o menos).
- Para aquellas presas en que no es fácil medir el número de ejemplares consumidos (ej. especies gregarias), cuando la presa muda de estado de desarrollo durante la prueba o cuando ocurre reproducción durante la prueba (ej. algunas especies de la familia

Adelgidae), se puede medir el tiempo de sobrevivencia del depredador.

- Evaluar la oviposición de un depredador, permite determinar si: El depredador puede producir huevos maduros cuando se alimenta de una presa no objetivo. Cuantos huevos puede producir cuando se alimenta de la presa objetivo, versus la presa no objetivo.
- Debe considerar condiciones de temperatura, humedad relativa y fotoperiodo óptimas para el desarrollo del parasitoide y de las especies objetivo/no objetivo.

4. Pruebas de terreno (cuando sea factible)

Las pruebas de terreno tienen la desventaja que son difíciles de realizar, pues entre otros aspectos, las probabilidades de escape son mayores que en laboratorio.

Por eso, a pesar que algunos autores indican que se deben hacer estudios en terreno y luego en laboratorio, se hace exactamente lo contrario, primero por el riesgo de escape y segundo por el alto grado de complejidad de trabajar controladores biológicos, especialmente cuando se trata del control de plagas forestales que atacan árboles en pie.

Algunos alcances:

Pruebas sin elección: Un organismo de control biológico con una sola especie hospedera no objetivo, por un periodo de tiempo en cajas (incluye placas Petri, contenedores plásticos, o cajas de variados tamaños), bajo condiciones de laboratorio estándar.

Pruebas con elección: Un organismo de control biológico con dos o más especies hospederas, la respuesta es medida en la preferencia entre las opciones. La especie objetivo es frecuentemente, pero no siempre, una de las opciones ofrecidas.

5. Referencias

- **Hoddle, M. (2004).** Analysis of fauna in the receiving area for the purpose of identifying native species that exotic natural enemies may potentially attack, Chapter 4. *In: Assessing Host Ranges for Parasitoids and Predators used for Classical Biological Control: A Guide to Best Practice* (Van Driesche & Reardon, Eds.). Morgantown, W V, U.S. Forest Service. Pp: 24-39.
- **Jarvis, M., Hempel, G., Fern P., Harvey, J. & N. Kidd (2001).** Life-history strategies in parasitoids wasp: a comparative analysis of "ovigeny". *Journal of Animal Ecology* 70:442-458.

- **Sands, D. & Van Driesche, R. (2020).** Host range testing techniques for parasitoids and predators. 1st International Symposium on Biological Control of Arthropods. consultado en: <https://www.bugwood.org/arthropod/day1/sands.pdf>
- **Van Driesche, R. & Murray, J. (2004).** Parameters used in Laboratory host ranges test, Chapter 6. *In: Assessing Host Ranges for Parasitoids and Predators used for Classical Biological Control: A Guide to Best Practice* (Van Driesche & Reardon, Eds.). Morgantown, W V, U.S. Forest Service. Pp: 56-66.
- **Withers, T. & B. Browne. (2004).** Behavioral and Physiological processes affecting outcomes of Host ranges testing, Chapter 5. *In: Assessing Host Ranges for Parasitoids and Predators used for Classical Biological Control: A Guide to Best Practice* (Van Driesche & Reardon, Eds.). Morgantown, W V, U.S. Forest Service. Pp: 40-55.