

**INSTITUTO TECNOLÓGICO DE COSTA RICA
ESCUELA DE BIOLOGÍA
INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA**

INFORME DE PRÁCTICA DE ESPECIALIDAD

**ELABORACIÓN DE UN PROCEDIMIENTO PARA DETERMINAR EL
RIESGO AMBIENTAL EN LA INTRODUCCIÓN DE INVERTEBRADOS
PARA CONTROL BIOLÓGICO Y UN POSTERIOR ANÁLISIS DE
FACTIBILIDAD UTILIZANDO *HETERORRABDITIS BACTERIOPHORA* Y
AMBLYSEIULUS SWIRSKII
Enero 2004– Febrero 2005**

Marco Antonio Chacón Carrillo

CARTAGO, 2006

ÍNDICE GENERAL

Descripción	Página
ÍNDICE DE FIGURAS	IV
ÍNDICE DE CUADROS	V
ÍNDICE DE ANEXOS	VI
AGRADECIMIENTOS	IX
DEDICATORIA	X
I. INTRODUCCIÓN	1
II. OBJETIVOS	4
A. OBJETIVOS GENERALES	4
B. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	4
III. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	5
A. EL USO DE INVERTEBRADOS EN LA AGRICULTURA	5
B. CLASIFICACIÓN DE LOS DIFERENTES TIPOS DE ENEMIGOS NATURALES	5
<i>B.1. Controladores biológicos depredadores</i>	5
<i>B.2. Controladores biológicos parasitoides</i>	6
<i>B.3. Controladores biológicos patógenos</i>	6
C. VALORACIÓN DE RIESGO AMBIENTAL DE ENEMIGOS NATURALES UTILIZADOS EN EL CONTROL BIOLÓGICO	7
D. TIPOS DE RIESGO PRODUCTO DEL USO DEL CONTROL BIOLÓGICO.....	7
<i>D.1. Efectos directos</i>	7
<i>D.2. Efectos indirectos</i>	8
E. METODOLOGÍA PARA UN PROCESO DE VALORACIÓN DE RIESGO AMBIENTAL DE INVERTEBRADOS DE CONTROL BIOLÓGICO	9
F. PROCEDIMIENTOS PARA LA REGULACIÓN DE INVERTEBRADOS DE CONTROL BIOLÓGICO	10
G. SITUACIÓN DE LA REGULACIÓN DE INVERTEBRADOS UTILIZADOS EN EL CONTROL BIOLÓGICO EN COSTA RICA	12
H. INFORMACIÓN GENERAL DE HETERORABDITIS BACTERIOPHORA	13
<i>H.1. Ciclo de vida de Heterorabditis bacteriophora</i>	13
I. INFORMACIÓN GENERAL DE AMBLYSEIULUS SWIRSKII	14
IV. MATERIALES Y MÉTODOS	15
A. UBICACIÓN DEL PROYECTO Y ESPECIALISTAS	15
<i>A.1. En la realización de la propuesta de riesgo ambiental y requerimientos de regulación</i>	15
<i>A.2. Valoración de la propuesta de riesgo ambiental y requerimientos de regulación</i>	15
B. DESIGNACIÓN DE UNA COMISIÓN EVALUADORA DEL PROCESO DE REGULACIÓN DE INVERTEBRADOS PARA CONTROL BIOLÓGICO	16
C. BÚSQUEDA EN FUENTES BIBLIOGRÁFICAS DE LA INFORMACIÓN QUE SUSTENTA EL PROYECTO 16	
D. PROPUESTA DEL PROCEDIMIENTO PARA DETERMINAR EL RIESGO AMBIENTAL DE LA INTRODUCCIÓN DE AGENTES INVERTEBRADOS PARA CONTROL BIOLÓGICO	17
<i>D.1. Determinación de los posibles peligros de la introducción de agentes invertebrados para control biológico y su respectiva evaluación</i>	18
E. ANÁLISIS DE FACTIBILIDAD DEL PROCEDIMIENTO PROPUESTO PARA LA DETERMINACIÓN DEL RIESGO AMBIENTAL DE LA INTRODUCCIÓN DE AGENTES INVERTEBRADOS PARA CONTROL BIOLÓGICO	

<i>E.1. Selección de los agentes para la realización del estudio de factibilidad</i>	18
<i>E.2. Realización del análisis de factibilidad</i>	19
<i>E.3. Mantenimiento de los agentes de control biológicos</i>	19
<i>E.4. Análisis de factibilidad del procedimiento propuesto</i>	21
F. ANÁLISIS DE LA SITUACIÓN ACTUAL DE LA REGULACIÓN DE INVERTEBRADOS EN COSTA RICA	
24	
V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	25
A. ANÁLISIS DE LA SITUACIÓN ACTUAL EN LA REGULACIÓN DE INVERTEBRADOS EN COSTA RICA	
25	
<i>A.1. Experiencia en la regulación actual de Costa Rica</i>	25
B. PROPUESTA DE GUÍA DE PROCEDIMIENTOS PARA EL ANÁLISIS DE RIESGO AMBIENTAL	27
<i>B.1. Definiciones</i>	28
<i>B.3. OBJETIVO</i>	29
C. PROPUESTA PARA LA VALORACIÓN DE DATOS OBTENIDOS DEL PROCEDIMIENTO DE ANÁLISIS DE RIESGO AMBIENTAL	36
D. ANÁLISIS DE FACTIBILIDAD DEL PROCEDIMIENTO PROPUESTO PARA DETERMINAR EL RIESGO Y SISTEMA DE VALORACIÓN DE LOS DATOS GENERADOS	39
<i>D.1. Análisis de factibilidad del procedimiento de análisis de riesgo ambiental y valoración utilizando el ácaro depredador A. swirskii</i>	40
<i>D.2. Análisis de factibilidad utilizando el nematodo entomopatógeno Heterorabditis bacteriophora</i>	52
<i>D.3. Estudio de factibilidad de la valoración de datos obtenidos del procedimiento de análisis de riesgo ambiental para la introducción de A. swirskii y H. bacteriophora</i>	55
<i>D.4. Síntesis del estudio de factibilidad del procedimiento de análisis de riesgo ambiental para la introducción de A. swirskii y H. bacteriophora</i>	60
VI. CONCLUSIONES	62
VI. CONCLUSIONES	62
VII. RECOMENDACIONES	64
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	65
ANEXOS	68
ANEXO 1	68

ÍNDICE DE FIGURAS

Número	Descripción	Página
1.	Elementos con los que debe contar una cámara de producción de ácaros depredadores.	20
2.	Distribución del polen. Cada punto indica los sitios donde se colocó el polen.	21
3.	Esquema de la metodología utilizada para la evaluación de comportamiento de alimentación.	22
4.	Procedimiento para evaluar el efecto de <i>H. bacteriophora</i> en especie objetivo y no objetivo.	23
5.	Valoración de riesgo ambiental de un agente controlador biológico invertebrado.	36
6.	Estadios larvales del la especie <i>Gynaikothrips garitacambronaroi</i>	47
7.	Depredación de <i>A. swirskii</i> a <i>Gynaikothrips</i> .	48
8.	Comportamiento depredador de <i>A. ramachandrai</i> .	50
9.	Estadios larvales de <i>Phillophaga sp.</i> infectados por <i>H. bacteriophora</i> .	54
10.	Sintomatología observada en posibles individuos infectados en la lombriz común de tierra.	54

ÍNDICE DE CUADROS

Número	Descripción	Página
1.	Lista propuesta de los diferentes expertos en las diferentes familias y áreas del control biológico de invertebrados.	27
2.	Probabilidad de establecimiento, dispersión, ámbito de hospederos, efectos.	37
3.	Magnitud para el establecimiento, dispersión, ámbito de hospedero, efectos.	37
4.	Propuesta para la determinación de índice de riesgo	38
5.	Desarrollo de estadios inmaduros de <i>A. swirskii</i>	41
6.	Factores clave de los estadios susceptibles de <i>Gynaikothrips garitacambronaroi</i> al ataque del acaro.	48
7.	Esperanza de vida para <i>Gynaikothrips ficorum</i> .	49
8.	Índice de riesgo de <i>A. swirskii</i>	58
9.	Dificultades presentadas durante la aplicación del procedimiento.	60

ÍNDICE DE ANEXOS

Número	Descripción	Página
1	Procedimiento de regulación de invertebrados propuesto por la comisión designada por GTZ	68

ELABORACIÓN DE UN PROCEDIMIENTO PARA DETERMINAR EL RIESGO AMBIENTAL DE LA INTRODUCCIÓN DE INVERTEBRADOS DE USO AGRÍCOLA, Y UN POSTERIOR ANÁLISIS DE FACTIBILIDAD UTILIZANDO *HETERORRABDITIS BACTERIOPHORA* Y *AMBLYSEIUS SWIRSKII*

Noviembre 2004– noviembre del 2005

Marco A. Chacón Carrillo*

RESUMEN

El presente proyecto inicio por la iniciativa de la Empresa Reflex Centroamérica representante del los productos Koppert Biological Systems, industria de controladores biológicos, y se origino producto de la ausencia clara en la actual regulación de invertebrados controladores biológicos. Se elaboró un documento para la regulación de invertebrados y recomendaciones en cuanto al profesional que debe encargarse de la elaboración y evaluación (donde se recomienda una lista de expertos) de la información suministrada. El documento se elaboró con expertos en el área tanto a nivel internacional como nacional. Entre los expertos mundiales se tomó con la experiencia del Dr. Joop Van Lenteren, quién es un experto en la valoración de introducción de invertebrados en europa y entre los expertos nacionales se encuentra el Dr. Paul Hanson. Producto de las recomendaciones de los expertos se elaboró un procedimiento que evalúe riesgos ambientales bajo los parámetros como: dispersión, establecimiento, ámbito de hospederos, efectos directos e efectos indirectos. Todos estos puntos se toman en cuenta en un cuestionario que forme un proceso de regulación bajo un marco de trabajo con puntos como identificación, eficacia, riesgo de salud y riesgo ambiental. Como siguiente paso se realizó una valoración haciendo uso de dos productos elaborados con invertebrados un ácaro depredador y un nematodo entomopatógeno (*Amblyseius swirskii* y *Heterorhabditis bacteriophora* respectivamente). El procedimiento se valoró en los agentes indicando su riesgo y dándosele una respectiva valoración de acuerdo con los datos presentados. Por medio del procedimiento utilizado se determinó que sí puede existir efectos directos sobre una especie nativa no objetivo (*Gynaikothrips nr ficorum*) y en el nematodo entomopatógeno *H. bacteriophora* se determino que no existen efectos directos ni indirectos sobre otras especies objetivos. Dicha valoración indico que si funciona para la valoración de riesgo ambiental tanto en ácaros y nematodos controladores biológicos; sin embargo en la determinación del ámbito de hospederos los costos de realización de los ensayos son sumamente costosos (aproximadamente entre \$3000 a \$5000 para dos posibles especies no objetivo), por lo que se recomienda hacer uso del criterio de los expertos indicados en el documento haciendo uso de información disponible.

* Informe de Práctica de Especialidad, Escuela de Biología, Instituto Tecnológico de Costa Rica, Cartago. 2006.

**CONSTANCIA DE DEFENSA PÚBLICA DEL
PROYECTO DE GRADUACIÓN**

**ELABORACIÓN DE UN PROCEDIMIENTO PARA DETERMINAR EL
RIESGO AMBIENTAL DE LA INTRODUCCIÓN DE INVERTEBRADOS DE
USO AGRÍCOLA, Y UN POSTERIOR ANÁLISIS DE FACTIBILIDAD
UTILIZANDO *HETERORRABDITIS BACTERIOPHORA* Y *AMBLYSEIULUS
SWIRSKII***

Noviembre 2004– noviembre del 2005

Proyecto de Graduación defendido públicamente ante el Tribunal Examinador integrado por el MSc. Vladimir Villalba; el Ir. Edwin Smit y el Msc. Axel Retana; como requisito parcial para optar al grado de Bachiller en Ingeniería en Biotecnología del Instituto Tecnológico de Costa Rica.

MSc. Vladimir Villalba
I.T.C.R

MSc. Axel Retana
U.C.R.

Bach. Edwin Smit
Reflex Centroamérica S.A.

Marco A. Chacón Carrillo
Estudiante

AGRADECIMIENTOS

Al Profesor Vladimir por guiarme antes y durante el proyecto de tal forma que nunca se diera un paso atrás.

A Edwin Smit, quien me brindo la oportunidad de realizar el proyecto, por su aporte económico para la realización del mismo y el apoyo durante la comisión.

A Focko y Helen que me hicieron sentir en casa durante el tiempo que se desarrollo el proyecto en Holanda.

Al Dr. Joop Van Lenteren, quien me brindo las herramientas necesarias para la realización del proceso de regulación y estudio de riesgo ambiental.

Al Ir. Muriel Klein Beckman por sus valiosos consejos e información brindada para el análisis del procedimiento establecido por la OECD y las muestras para el análisis de riesgo ambiental.

Al Ir. Johannete Klapwijk por la ayuda en el análisis de la escogencia de los posibles agentes para probar el proceso recomendado y por los procedimientos para la cría y ensayos para los análisis de ámbito de hospederos.

A la MS.c. Dahyra Machado, por su apoyo del procedimiento durante el proceso de la comisión.

Al Dr. Paul Hanson por sus valiosos consejos para la realización del proceso de regulación de invertebrados.

Al MS.c. Axel Retana por brindarme su apoyo en la realización de la valoración del proceso y por depositar la confianza en poder realizar los ensayos en la Universidad de Costa Rica.

Al asistente del Profesor Axel, Jerson Garita, por su invaluable aporte en el desarrollo del análisis de los datos en el estudio de ámbito de hospederos.

A Danny Humphreys y Ana Patricia Guzman quienes aportaron valiosos consejos durante el desarrollo del proyecto.

Por ultimo a todas las personas que no recuerdo su nombre en este momento pero tengo toda la certeza de que fue indispensable su aporte.

A la vida que me llevo a conocer todas las personas que quisieron que este proyecto se hiciera realidad (quienes pueden tener toda la confianza de expresar este documento como propio de ellos) y a todas a aquellas que no lo quisieron, por que al final predomina la verdad, que es este documento, un documento sin fines de interés económico, que asegura el ambiente y facilita la utilización de herramientas limpias a los agricultores.

DEDICATORIA

A mi abuelo Efraín Chacón Corrella que ha sido un ejemplo entre los agricultores que buscan por herramientas que sean más limpias y saludables para poder aplicarlas en sus cultivos. Aquellos agricultores e inocentes que no pueden ser olvidados, que han caído por el uso de los agroquímicos, Abuelos, Padres, Madres e hijos que hoy los extrañamos.

**Es nuestro deber sagrado el no olvidar
y hacer que su muerte no sea en vano.**

A mis Padres Esther y Miguel quienes les debo todas mis virtudes, mi vida y estudios producto de los muchos sacrificios que han hecho para que un día como el de hoy puedan sentir motivo de orgullo de sus hijos.

A mi Hermana Lynda por nunca dejarme que me de por vencido a pesar de las muchas cuestas que nos de la vida. A mi primo Jonathan quien me ha enseñado que la vida se tiene que agarrar bien fuerte entre las manos a pesar de las muchas injusticias que existan, pues es bella.

A mis amigos que son aquella familia que escogemos entre extraños, Danny, Anita, Kenneth, y Marcia que al igual que mi familia de sangre han estado con migo en las buenas y en las malas.

Por ultimo pero no menos importante a el profesor Vladimir, quién no solo a sido un tutor sino una guía y ejemplo de honestidad, trabajo y esfuerzo.

Marco

I. INTRODUCCIÓN

Cuando una especie insectil, por lo general, abunda y causa daño económico en los cultivos agrícolas se le considera como plaga. Para reducir las poblaciones por lo usual se hace uso de insecticidas químicos; estas sustancias representan peligros para la salud pública, especialmente cuando sus residuos permanecen en nuestros alimentos. El sobre uso y abuso de insecticidas puede alterar el ambiente provocando la muerte de pájaros, peces e insectos benéficos (Hanson, 1993). Más importante es el recordar los miles de agricultores que han sido afectados por el uso de agroquímicos. Como consecuencia de estas claras desventajas en el uso de agroquímicos se ha buscado otras opciones donde resalta el manejo integrado de plagas.

El manejo integrado de plagas consiste en la utilización de diferentes técnicas para reducir las poblaciones de plagas y a su vez disminuye el uso de plaguicidas. Entre esas técnicas se puede nombrar el control biológico. El control biológico se define como “la regulación de la población de un organismo por medio de otro” (Hanson, 1993), y parte del principio de que en la naturaleza todo organismo tiene uno o más antagonistas que lo eliminan o compiten con él. En la naturaleza los enemigos naturales mantienen las poblaciones de sus presas u hospedantes por debajo de los niveles donde se les considera como plaga, sin embargo en las modificaciones que realiza el hombre en la agricultura el control biológico natural no funciona. No obstante el hombre puede tratar de restablecer un equilibrio entre las plagas y sus enemigos naturales realizando introducciones de estas especies (Hanson, 1993).

Los parasitoides, depredadores y algunos entomópatógenos de especies plagas pertenecen a diferentes clases de invertebrados (Nematodos, Arácnidos e Insectos). Una gran variedad de órdenes, familias y géneros de insectos, proveen un antagonismo efectivo para el control biológico; no obstante el control biológico con agentes benéficos se pensaba que era ecológicamente seguro por muchos años, también cuando las especies o variedades no son nativas; los cuestionamientos han sido levantados en cuanto a cuáles agentes son realmente ecológicamente seguros (Bathon, 1990).

Producto de los cuestionamientos de seguridad ambiental diferentes países han elaborado procedimientos para la introducción de agentes de control biológico, y en algunos casos específicos para invertebrados.

Los lineamientos de los organismos benéficos en el continente americano se han estado unificando como bloque y en un solo caso funciona aisladamente. Entre los bloques encontramos a la Organización Norteamericana de Protección a las plantas (NAPPO), la cual esta constituida por Canadá, Estados Unidos y México y a la MERCOSUR con los países sudamericanos.

El bloque norteamericano trabaja bajo las Normas Regionales de Medidas Fitosanitarias (NRMF) número 12. La NIMF 12 se conoce como “Directrices sobre la petición para la liberación de Agentes Entomófagos Exóticos para el Control Biológico de Plagas” dicha norma fue aprobada el 15 de octubre del 2000 y la fecha para revisión es octubre 2005 (por lo que se encuentra todavía en vigencia) (NAPPO, 2000).

El bloque sudamericano conformado por la MERCOSUR decidió adoptar el “Código de Conducta para la importación y liberación de agentes exóticos de control biológico” de 1996 en sus versiones español y portugués, en donde los estados partes del MERCOSUR debieron incorporarlo a sus ordenamientos jurídicos nacionales antes del día 1 de abril del 2001 (www.mrree.gub.uy, 2004), indicando que ya se encuentra en vigencia.

Colombia es el único caso aislado que presenta una reglamentación individual. Donde por medio del Instituto Colombiano Agropecuario (ICA) pone en funcionamiento el “Reglamento Técnico en relación con el control de calidad, registros, comercialización, aplicación y uso de Bioinsumos y Extractos vegetales de uso agrícola” el cual se encuentra en este momento en vigencia (ICA, 2001). Entre estos tres ejemplos se puede observar que la MERCOSUR tomó la propuesta dada por la FAO, en donde figuran los países Chile, Argentina, Brasil, Paraguay y Uruguay.

La unión europea por otra parte se está uniendo bajo el documento “Guideline on Information Requirements for Import and Release of Invertebrate Biological Control Agents (IBCA) in European Countries” Dicho proceso esta próximo de ser utilizado, a finales del año 2005 y parte ya se encuentra en practica (Com. pers. Van Lenteren, 2005).

Todos los lineamientos anteriores tienen como objetivo que los beneficios que hayan de derivarse se consigan sin efectos significativos y se asegure de promover prácticas que aseguren una utilización eficaz e inocua reduciendo al mínimo el riesgo en la salud y en el ambiente.

La ausencia de procesos específicos para la regulación de invertebrados utilizados en el control biológico o también llamados de uso agrícola pone en peligro el medio ambiente. La liberación de un invertebrado sin previo estudio puede resultar en un desequilibrio en las poblaciones de otros insectos, pues el tipo de aplicación para este tipo de control biológico es inundativa, lo que significa que su efecto se debe a las liberaciones masivas de individuos. Un ejemplo con resultados negativos en el ambiente producto de la introducción de un organismo exótico fue la liberación del coleóptero *Harmonia axyridis* en sitios donde no era nativo. Producto de esta liberación las poblaciones de coleópteros denominados vulgarmente como mariquitas se están desplazando producto de la alta depredación que presente el organismo exótico (Com. pers. P. Hanson, 2005).

En la actualidad en Costa Rica no existe ninguna regulación específica para productos elaborados con invertebrados; a pesar de la ausencia de una reglamentación específica se está regulando con el proceso de registro de plaguicidas químicos, donde la mayoría de los requisitos no aplican para agentes de control biológico (Com. pers. A. Jiménez 2004). Por lo tanto el siguiente trabajo pretende la elaboración de un procedimiento específico para productos elaborados a base de invertebrados en donde se pueda realizar un estudio de riesgo ambiental para la introducción de insectos nativos y exóticos. En esta investigación se enfocará en las liberaciones de invertebrados periódicas e importaciones, las cuales se pueden dar simultáneamente.

II. OBJETIVOS

A. Objetivos generales

- Elaborar un procedimiento que determine el riesgo ambiental.
- Elaborar una propuesta de reglamentación de registro en la introducción de insectos controladores biológicos en Costa Rica.

B. Objetivos específicos

- Evaluar el procedimiento actual y profesionales encargados de elaborarlo y valorarlo.
- Determinar los posibles riesgos ambientales en los que puede influir la introducción de un insecto controlador.
- Proponer los requerimientos necesarios que indiquen los posibles efectos al introducir un insecto controlador biológico.
- Especificar la metodología para el análisis de resultados.
- Determinar la factibilidad del procedimiento propuesto a través de una propuesta de requisitos para el registro de este tipo de productos.
- Evaluar la factibilidad de realización del procedimiento, haciendo uso de ejemplos representativos de arácnidos, nematodos e insectos.

III. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

A. El uso de invertebrados y nematodos en la agricultura

El control biológico consiste en la utilización de enemigos naturales para la reducción de plagas, enfermedades y mala hierba (Hanson y Hilje 1993, Lenteren 1997). Se pueden manipular los enemigos naturales de tres formas: a) importando enemigos exóticos, b) criándolos masivamente para hacer liberaciones periódicas y c) conservando los enemigos nativos mediante el manejo del ambiente en el que viven (Hanson, 1993). El control biológico de insectos mediante la introducción y establecimiento permanente de enemigos naturales exóticos se ha practicado por más de 100 años, las liberaciones aumentativas de insectos benéficos para el control de plagas en invernaderos y en campo datan de los años 20 (Lenteren y Woets citado por Lenteren, 1997).

La introducción de enemigos naturales durante el transcurso de la historia se le ha considerado como una actividad empírica, la cual dependerá del conocimiento del practicante en control biológico. Recientemente se ha realizado un acercamiento científico donde se ha evaluado los enemigos naturales en cuanto a que conlleva a la eficiencia, también han buscado una reducción en los costos de investigación y por último limitando el riesgo en las importaciones (Lenteren citado por Lenteren 1997).

B. Clasificación de los diferentes tipos de enemigos naturales

Los organismos utilizados en el control biológico, presentan diferentes biología por los cuales realizan la función antagónica sobre los otros organismos. La depredación, parasitoidización y patógenos son las biología presentes entre los agentes de control biológico.

B.1. Controladores biológicos depredadores

Como depredadores de insectos se incluyen tanto animales, vertebrados (pájaros sapos, lagartijas, etc...) como invertebrados (insectos, arañas, ácaros, etc...); Se dice que los depredadores más importantes en el control biológico de insectos son los invertebrados, específicamente los que se encuentran en la clase arácnida e insecta. Algunos grupos están compuestos totalmente por depredadores, como las arañas e insectos del orden Neuroptera. Otros grupos como chinches, abejones, moscas y hormigas, contienen tanto depredadores como no depredadores (Hanson y Hilje, 1993).

Entre otros depredadores que en la actualidad también son ampliamente utilizados en el control biológico se encuentran los ácaros, para el control de araña roja, mosca blanca y trips (Malais y Ravensberg, 2003).

La mayoría de las mariquitas o también conocidas como vaquitas (abejorros de la familia Coccinellidae) son depredadores con los cuales se ha alcanzado excelentes resultados en el control de áfidos y escamas; sin embargo, existen unas cuantas especies de la misma familia que se alimentan de cultivos y se les considera como plagas (Hanson y Hilje, 1993).

B.2. Controladores biológicos parasitoides

Este tipo de controladores se les denomina de dicha forma por un parecido no real con los parásitos. Los parásitos son organismos que nunca o casi nunca matan a su hospedante. A diferencia los parasitoides siempre matan a su hospedante. Con el parecido de los parásitos los parasitoides completan su ciclo de vida en asociación íntima dentro o sobre el cuerpo del hospedante. La principal diferencia entre un parasitoide y un depredador en términos de control biológico es que el primero se desarrolla en un solo hospedante mientras que el segundo necesita consumir más de una presa en su ciclo de vida. Los parasitoides son principalmente avispas muy pequeñas (Himenópteras) y algunas moscas del género Tachinidae. Se dice que al menos el 80% de las avispas son parasitoides y solo el 15% de moscas lo son (Hanson y Hilje, 1993) y algunos Thrips (Com. pers. Retana, 2006).

B.3. Controladores biológicos patógenos

Los patógenos, a diferencia de los parasitoides son muchísimo más pequeños y no siempre matan a su hospedante. Para que un patógeno mate a su hospedante, debe haber existido reproducción dentro de él o un ataque masivo, y el hospedante muere con miles de patógenos dentro de él, mientras que los parasitoides solamente un individuo es capaz de matar al hospedante sin reproducirse dentro de él (Hanson y Hilje, 1993). Entre los organismos que presentan hábitos patógenos se encuentran los nematodos, bacterias, protozoarios, hongos y virus.

Entre los controladores biológicos patógenos que resaltan actualmente se encuentran los nematodos. Los nematodos son gusanos redondos, generalmente microscópicos, los cuales no tienen ninguna relación con los gusanos como la lombriz de tierra. Existen 14 familias de nematodos que presentan parásitos obligados de insectos, pero solo nueve contienen especies que atacan insectos considerados como plagas. Las especies de la familia Steinernematidae y Heterorabditidae (Neoaplectanidae) entran al insecto por la boca o por otro orificio liberando una bacteria que mata al insecto (Stock, 2004).

C. Valoración de riesgo ambiental de enemigos naturales utilizados en el control biológico

La introducción deliberada o accidental de especies de sus ámbitos nativos a nuevos ambientes es el mayor peligro para la diversidad biológica. Los controladores biológicos invertebrados son aplicados en diferentes partes del mundo para el control de plagas. En algunos casos se ha reportado efectos negativos de las liberaciones. Sin embargo la nueva tendencia mundial que se dirige a la utilización de agentes de control biológico podría resultar en problemas. Un incremento en el número de proyectos que serán ejecutados por personas no entrenadas en identificación, evaluación y liberación de agentes biocontroladores y un incremento en el número de agentes que se encontrarán disponibles para el control de organismos plagas llevaran a un problema el cual puede resultar irreversible. Mientras este proceso se acelera documentos para de requerimientos de registro de enemigos naturales y métodos para la valoración son necesitados y generalmente se encuentran en desarrollo (Lenteren y Loomans, 1999).

D. Tipos de riesgo producto del uso del control biológico

Los agentes de control biológico no necesariamente se quedan en el mismo punto donde se liberaron. Por la dispersión a otros sitios pueden causar efectos indirectos o directos.

D.1. Efectos directos

Como efectos directos de introducciones y liberaciones, puede ocurrir reducción o extinción de especies nativas. Sin embargo la utilización de parasitoides, los cuales son considerados muy específicos en cuanto a la selección del hospedante, se dice que el

poner en peligro fauna nativa por la introducción de estos insectos es muy rara. En contraste la utilización de insectos depredadores polífagos podrían atacar otros insectos que sean considerados como los objetivos a controlar (Lenteren, 1997).

De acuerdo con el párrafo anterior es importante recalcar que existe una diferencia de riesgo al introducir:

1. Parasitoide (que son muy específicos).
2. Depredador (que son polífagos, lo que significa que se alimentan de varias especies de presas).

La extinción de una especie considerada como plaga o de una especie que no sea considerada como no objetivo es poco probable. Las especies que no son consideradas como plagas no han sido exterminadas en más de 100 años de control biológico. Pero lo que si ha ocurrido es la disminución de las poblaciones tanto de la plaga como la del enemigo natural. La búsqueda del comportamiento de los enemigos naturales y la forma en que los herbívoros se pueden defender por si mismos en contra de estos enemigos previenen la extinción (Lenteren, 1997).

D.2. Efectos indirectos

1. De la depredación o parasitoidización en enemigos naturales nativo producto de la introducción de un organismo puede ocurrir una disminución de estas especies.
2. De la competencia por presa u hospedante con especies locales.
3. El Hábitat puede ser modificado.

Un ejemplo de estos puntos son las introducciones de depredadores polífagos y parasitoides no solo han llevado a una disminución en lepidópteros masticadores, sino, también a una reducción de otros masticadores que no son plagas, dando como resultado una reducción en avispas depredadoras nativas y en las poblaciones de aves. Innumerables efectos son posibles, las especies pueden interactuar al compartir presas, hospedantes, parasitoides o patógenos. Información natural histórica en las especies en donde involucre en tales efectos indirectos pueden ser utilizados, para una posible predicción de los efectos indirectos. Literatura reciente sobre introducción de enemigos naturales no ha proporcionado ninguna evidencia sobre la extinción de especies como consecuencia del control biológico (Lenteren, 1997).

E. Metodología para un proceso de valoración de riesgo ambiental de invertebrados de control biológico

El reto en el desarrollo de una metodología para la valoración es el desarrollar un protocolo y lineamiento que prevenga serios errores en la importación y liberación de agentes exóticos potencialmente dañinos, mientras que al mismo tiempo permita la utilización de los organismos que son ecológicamente seguros. Se espera que un procedimiento de valoración de riesgo para controladores biológicos integrara:

1. Información en el potencial del agente a establecerse,
2. Sus habilidades de dispersión,
3. Su ámbito de hospedante o alimentación,
4. Y sus efectos indirectos especies no objetivos (Lenteren y Loomans, 1999).

Con la finalidad de que el proceso sea práctico, se debe contemplar que sea:

1. Cuantificable, de tal forma que los efectos en el ambiente de los diferentes agentes de control biológico puedan ser comparados y las elecciones puedan realizarse.
2. Consista en un procedimiento con pasos secuenciales, de tal forma que los agentes controladores puedan ser identificados como seguros, rápidamente y a un bajo costo (Lenteren y Loomans, 1999).

La valoración de riesgo ambiental debe de ser dispuesta en una estructura de trabajo para la regulación en la importación y liberación de agentes de control biológico y se debe de contemplar los puntos tales como: caracterización, riesgo en salud, riesgo ambiental y eficacia. El estudio de riesgo relacionado con la liberación de enemigos naturales demanda integración de conocimientos en aspectos como la biología y la ecología de interacciones (Lenteren y Loomans, 1999).

Tomando en cuenta los puntos anteriores se debe de proponer una extensiva metodología evaluación de riesgo para los nuevos enemigos naturales que se desee utilizar y un rápido chequeo para enemigos naturales que ya se encuentren en uso. En cuanto a la evaluación de riesgo exhaustiva el método consistirá en pasos y procesos cuantificables, donde claramente segura o inequívocamente dañino los enemigos pueden ser identificados. El aplicante debe de proveer la suficiente y confiable información en cuanto al tema para que se permita la importación o liberación del agente de control

biológico. Para los enemigos naturales que ya se encuentran en uso (aproximadamente 200 especies a nivel mundial), el chequeo rápido que se debe de proponer una metodología de pasos y preguntas sin embargo solo debe de presentar información que se encuentre disponible, mientras que el exhaustivo se debe de presentar toda la información ya sea obteniéndola al hacer ciencia (Lenteren y Loomans, 1999).

Los resultados de un método rápido para los controladores biológicos invertebrados que ya se encuentren en uso, facilitará al establecimiento de listas de especies que puedan ser utilizadas en ciertas y específicas áreas o ecoregiones del mundo. Esto tendrá como resultado una gran reducción de costos en la regulación de la mayoría de los agentes de control biológico (Lenteren y Loomans, 1999).

F. Procedimientos para la regulación de invertebrados de control biológico

Para enemigos naturales utilizados en el control biológico como en el caso de ácaros e insectos no se evaluaban rigurosamente, mientras que existiera conocimiento de que no atacaran especies que no sean consideradas plagas, o especies benéficas y no presentaran riesgo a la salud humana. Sin embargo recientemente dos organizaciones en los Estados Unidos (Plant Protection and Quarantine Division of the Animal and Plant Health Inspection Service) han iniciado la realización de valoraciones de riesgo ambiental antes de la introducción de enemigos naturales exóticos. Esta regulación se basa en una revisión extensiva de literatura, de los métodos de control y de los enemigos naturales de la plaga y un posterior análisis de los expertos. Para la introducción de un enemigo exótico también se utiliza lo que se le denomina en inglés “Finding of No Significant Impact (FONSI)” que puede ser traducido al español como “Determinación de impactos no significativos”. Este procedimiento consiste en:

1. Determinación de los límites del ámbito de hospedantes.
2. Información de efectos no negativos a otros enemigos naturales.
3. Información acerca de efectos no negativos a especies que se encuentren en peligro de extinción.
4. Evidencia de efectos negativos no significativos de impacto ambiental (Lenteren, 1997).

La IIBC de forma diferente a una nueva introducción y liberación de organismos exóticos prepara un documento voluntariamente de acuerdo con el documento de FAO

sobre Código de Conducta. El documento contienen información sobre la plaga y el enemigo natural, una valoración del riesgo potencial. Para cada caso específico la valoración debe contener los siguientes puntos:

- **Un resumen del organismo plaga**, las plantas hospedantes, importancia económica, beneficios y desventajas de métodos diferentes.
- **Determinación taxonómica** del enemigo natural (métodos tradicionales morfológicos y técnicas moleculares).
- **Información de la biología** del enemigo natural.
- **Escaneo de seguridad**: evaluación del enemigo natural para determinar que no realice daño a otros organismos benéficos, en peligro, u otros organismos no objetivos. Información sobre posibles peligros.
- **Evaluación de la especificidad** de hospedantes de los enemigos naturales. Este punto se considera como el más importante de todo el estudio. Sin embargo no todos las especies en riesgo de ser atacadas pueden ser evaluadas, pues esto significaría cientos de pruebas de los hospedantes potenciales de los depredadores, parasitoides y patógenos. También el comportamiento completo de estos controladores biológicos no puede predecirse completamente de estudios pre-introductorios y además no se puede dar una garantía de seguridad nunca puede garantizarse (Lenteren, 1997).

En cuanto a la evaluación de la especificidad requerida, depende de las circunstancias. Por ejemplo un enemigo natural exótico introducido para el control de plagas bajo condiciones de invernadero y que no puede sobrevivir fuera de las condiciones controladas, no debe de ser analizado bajo tantos criterios de seguridad en comparación con un organismo que sí sobreviva fuera de estos ambientes.

Las pruebas sobre especificidad de hospedante/presa deben de ser realizadas en laboratorio y campo. Preferiblemente en el país de origen de la plaga y el enemigo natural. Los experimentos realizados en el laboratorio deben de consistir en probar una variedad de hospedantes/presas los cuales se encuentran en el ecosistema en donde los parasitoides o depredadores serán liberados o donde puedan dispersarse. Las pruebas para parasitoides (Himenóptera y Díptera) pueden ser limitadas, ya que la íntima relación

fisiológica con los hospedantes previene de un desarrollo en especies que no estén relacionadas al hospedante. En el caso de depredadores generalistas, las pruebas de ámbito de presas son muy importantes. También si existe información sobre especies relacionadas y pueda dar información sobre especificidad de hospedantes/presas, puede ser anexada a la información para la regulación (Lenteren, 1997).

G. Situación de la regulación de invertebrados utilizados en el control biológico en Costa Rica

En Costa Rica y el resto del mundo existe una nueva orientación de desarrollo sostenible, manejo integrado de plagas, protección al medio ambiente, consumo productos orgánicos y control biológico, por lo que se hace visible una clara tendencia en cuanto a disminución y alternativas al uso de agroquímicos. Entre las alternativas al uso de agroquímicos se encuentran los bioplaguicidas como alternativa inmediata al uso de plaguicidas (Hanson y Hilje, 1993).

Sin embargo existe escepticismo en cuanto a si su impacto en el medio ambiente es positivo o negativo. Los países centroamericanos para proteger el medio ambiente y aprobar el uso de bioplaguicidas hacen uso de la ley de registro. La ley de registro para bioplaguicidas (donde se contempla los microbianos y botánicos) indica en sus principios la protección de los cultivos y cosechas de plagas y enfermedades, también la protección de la salud humana, animal y del medio ambiente de la aplicación de bioplaguicidas Sin embargo los plaguicidas insectiles en América Central están considerados como plaguicidas químicos en los sistemas de registro nacional (Comp. pers. J. Duran, 2004). En Costa Rica solamente se encuentran registrados dos productos plaguicidas insectiles (Cotedia y SPIDEX), el cual es un insecto parasitoide (*Cotesia flavipes*) y un ácaro depredador (*Phytoseiulus persimilis*). En el caso del producto COTEDIECA se ofrece solamente a los productores que se encuentren en la Liga Cañera y en el producto SPIDEX fue registrado bajo por la Finca Flores del Iztarú donde solamente se ha utilizado en sus invernaderos. Ambos productos fueron registrados haciendo uso de la legislación donde fue considerado como plaguicida químico (Comp. pers. D. Salazar, 2005).

H. Información general de *Heterorabditis bacteriophora*

Los nematodos son similares en su forma a pequeños anelidos, sin embargo son muy diferentes a ellos en su anatomía. Taxonómica mente se clasifican dentro de Nematoda considerado de igual forma como un invertebrado. Entre los nematodos resaltan algunas especies que son útiles para el hombre, entre ellos los nematodos entomopatógenos (Bathon, 1990). Los nematodos entomopatógenos son parásitos de insectos que completan parte de su ciclo de vida dentro de un insecto. Muchas especies de nematodos pueden matar al insecto durante este proceso y algunos ya son reconocidos como agentes controladores biológicos (Cranshaw y Zimmerman, 1999).

Heterorabditis bacteriophora es una de estas especies utilizadas en el control biológico, sin embargo es poco común en el mercado, ya que es difícil de criar y es muy susceptible a cambios ambientales extremos. Sin embargo en pruebas realizadas en campo sobrepasa los resultados en comparación con la especie *Steinernema* (especie de nematodo entomopatógeno) para el control de *Phyllophaga spp.* También ha sido utilizado en pruebas bajo condiciones de invernadero donde se le ha encontrado una alta efectividad en el control de plagas que atacan las (Cranshaw y Zimmerman, 1999).

H.1. Ciclo de vida de *Heterorabditis bacteriophora*

Los nematodos entomopatógenos son móviles y se trasladan en cortas distancias en busca del insecto hospedante. En comparación *H. bacteriophora* se dice que es más móvil que los nematodos de la familia Steinernematidae. Los nematodos utilizan del dióxido de carbono o tal vez otros químicos para encontrar a su hospedante. Estos organismos matan a su hospedante liberando una bacteria (cepas de la especie *Xenorhabdus*). La bacteria se desarrolla dentro de la cavidad del cuerpo del hospedante susceptible. El hospedante muere con la sangre envenenada (septicemia) en pocos días. El insecto muerto generalmente permanece con su forma original. Por lo general también ocurren cambios de color en el hospedante durante el proceso. El estado con la actividad de control biológico, o sea, cuando invade al hospedante es el estado juvenil (J3). El nematodo entra a través de aberturas naturales, tales como, espiráculos, boca y ano. Dentro del insecto, el nematodo se desarrolla rápidamente entre los primeros cinco a ocho días. Normalmente

de una a dos generaciones se desarrollan en el hospedante, dependiendo de la calidad del hospedante y la temperatura (Cranshaw y Zimmerman, 1999).

De acuerdo con investigadores costarricenses *H. bacteriophora*, es una especie que se encuentra de forma nativa en el país, sin embargo no se tiene ningún dato sobre los efectos en otras especies que no sean consideradas como plagas y que sean nativas de nuestro país y que puedan dar indicio sobre algún posible riesgo ambiental (Com. pers. L. Uribe, 2005).

I. Información general de *Amblyseiulus swirskii*

La especie *Amblyseiulus swirskii* pertenece a la familia Phytoseiidae. Dicha familia es conocida por ser cosmopolita y como depredadores activos. Entre las especies que se conoce de las que se alimenta *Amblyseiulus swirskii*, se encuentra: *Tetranychus urticae*, diferentes especies del género *Thrips*, *Aphis gossypi*, *Bemisia tabaci*, *Trialeurodes vaporariorum* entre otras especies. Por su comportamiento como depredador a sido utilizado para el control biológico en cultivos ornamentales y alimenticios en el mediterráneo y Europa (Hoda *et al*, 1986).

A pesar de que la familia Phytoseiidae es cosmopolita, la especie *A. swirskii* es exótica para nuestro país y debe ser manipulada con suma precaución pues su liberación masiva puede afectar otras especies del país que no son plagas.

A. swirskii al igual que otras especies de phytoseiide es un depredador generalista, lo que significa que ataca varias especies y además no solamente se alimenta de organismos presas, sino, también de polen, néctar o miel. Según expertos la capacidad de estos organismos de utilizar otros alimentos que no sean presas es significativa, pues en ausencia o en escasez de presas el depredador puede persistir en el sitio de liberación.

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

A. Ubicación del proyecto y especialistas

A.1. En la realización de la propuesta de riesgo ambiental y requerimientos de regulación

El proyecto inicio producto de la iniciativa de la empresa Reflex Centroamérica S.A., bajo la tutoría del presidente Edwin Smit. Dicha empresa representa a la multinacional Koppert Biological Systems en Costa Rica. El proyecto se desarrolló inicialmente en ambas empresas. La empresa Koppert Biological Systems desarrolla productos para la protección biológica de cultivos y polinización natural. Desde 1967 la empresa Koppert desarrolla y entrega diferentes enemigos naturales para el control de plagas y varias especies de abejorros para polinización natural. Koppert tiene una gama de más de 30 especies para el control biológico. Los productos desarrollados han sido aplicados en cultivos ornamentales, vegetales, en viveros y cultivos en maceta en más de 40 países, entre ellos Costa Rica.

El procedimiento tiene como finalidad la regulación de invertebrados en Costa Rica, por lo que se buscó el apoyo de la institución gubernamental Alemana GTZ bajo el soporte del Dr. Ulrich Rotinger. Dicha institución ha desarrollado dos procesos de regulación, el proceso de registro de agentes microbiológicos de uso agrícola y uno para extractos botánicos de uso agrícola. Estos dos procesos de registro en la actualidad forman parte de la legislación de Costa Rica.

Con la finalidad de desarrollar un procedimiento específico para invertebrados se solicitó la ayuda del experto internacional en el área Dr. Joop Van Lenteren en la universidad de Wageningen en los edificios de entomología ubicados en Wageningen Holanda. El Dr. Van Lenteren ha desarrollado bases para el desarrollo de regulaciones para los agentes de control biológico en la Unión Europea y actualmente esta desarrollando el procedimiento para agentes de control biológico del bloque MERCOSUR.

A.2. Valoración de la propuesta de riesgo ambiental y requerimientos de regulación

De la escogencia de los posibles agentes para validar el proceso, se trabajó con diferentes agentes de control biológico en las instalaciones de la empresa Koppert

Biological Systems en Berkel en Rodenrijs en Holanda, bajo la tutoría de las investigadoras Johannette Klapwijk y Muriel Clain Beckman.

El proceso de validación se realizó en tres sitios. La parte teórica del procedimiento se realizó con los datos proporcionados por la empresa Reflex Centroamérica S.A. La parte práctica de los ensayos realizados con el ácaro depredador se realizó en los laboratorios de entomología de la Universidad de Costa Rica. Los ensayos realizados con el nematodo entomopatógeno se realizaron en el laboratorio de Microbiología del Instituto Tecnológico de Costa Rica.

B. Designación de una comisión evaluadora del proceso de regulación de invertebrados para control biológico

La realización de un procedimiento de este tipo, tiene la finalidad de funcionar como reglamento y que sea adoptado por el gobierno, por lo que se buscó la cooperación de la institución GTZ, la cual realizó la conformación de una comisión, constituida por representantes del Ministerio de Agricultura y Ganadería, dos empresas privadas (Reflex Centroamérica, Biocontrol), Universidades estatales (Universidad de Costa Rica e Instituto Tecnológico de Costa Rica) y otros institutos de educación superior (CATIE). En dicha comisión se aprobó los puntos que se consideraban como aceptables para tal proceso a criterio de la mayoría de los integrantes de la comisión. Sin embargo, para efectos del siguiente documento se señalaran los puntos propuestos por el editor y se compararan con el documento realizado por la comisión en lo que concierne a el estudio de riesgo ambiental y posteriores recomendaciones en cuanto a todo el proceso de regulación.

C. Búsqueda en fuentes bibliográficas de la información que sustenta el proyecto

Durante el proceso se hizo una búsqueda exhaustiva de material bibliográfico para sustentar, justificar y desarrollar el tema propuesto, por lo que se acudió a bibliotecas especializadas en temas de seguridad ambiental de la introducción de agentes de control biológico; Biblioteca personal del especialista Paul Hanson (UCR), Biblioteca Personal del especialista Joop Van Lenteren (Wageningen University) y Biblioteca de la empresa Koppert Biological Systems, Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG) en el área de riesgo ambiental (Departamento de Análisis de Riesgo).

Las referencias encontradas ampliaron el conocimiento en temas relacionados con la realización de estudios de riesgo ambiental y su posterior valoración, regulaciones internacionales en el desarrollo de estudios de riesgo ambiental en el área de la introducción de agentes invertebrados utilizados en el control biológico. También se pudo determinar un ejemplo de un organismo que representa riesgo ambiental al ser introducido en ambientes exóticos.

D. Propuesta del procedimiento para determinar el riesgo ambiental de la introducción de agentes invertebrados para control biológico

Se planteó la elaboración de un procedimiento que determinará el riesgo ambiental de las introducciones de invertebrados de uso de control biológico, el cual estuviera conformado por un cuestionario, siendo esta la forma utilizada unánimemente por todos los procedimientos internacionales consultados para la elaboración del mismo (FAO 1997, NAPPO 2000, OECD 2004). También en conjunto al procedimiento de riesgo ambiental se realizó un proceso para la valoración de la información que se pueda generar producto del primer procedimiento. De esta manera se podrá aceptar o rechazar una solicitud de liberación o importación de un agente de control biológico de forma objetiva y justificada (Com. pers. J. Van Lenteren, 2005).

Como complemento a la revisión bibliográfica se tomaron en cuenta las recomendaciones de los especialistas en el área (Dr. Paul Hanson y Dr. Joop Van Lenteren), eliminando las que no son posibles de aplicar en Costa Rica, como son: dispersión, que toma en cuenta como bases de referencia estaciones climáticas muy marcadas, invierno y verano como en los países europeos, ya que estas no se encuentran en el país. Entre las recomendaciones que se formularon se resaltó la importancia de la realización de una lista de organismos que han representado riesgo ambiental y otra lista con organismos benéficos que ya han sido utilizados mundialmente sin ningún problema de riesgo ambiental y salud a nivel mundial.

En la elaboración del procedimiento de riesgo ambiental se insertará dentro de un marco de trabajo que involucre puntos como caracterización e identificación, riesgo en salud, riesgo ambiental y eficacia, siendo este un punto recomendado por el experto Dr. Joop Van Lenteren.

D.1. Determinación de los posibles peligros de la introducción de agentes invertebrados para control biológico y su respectiva evaluación

En cuanto a los posibles peligros sobre introducciones de agentes invertebrados y casos con efectos secundarios posteriores a introducciones de controladores biológicos fueron extraídos de entrevistas no dirigidas realizadas al especialista Dr. Paul Hanson y Dr. Joop Van Lenteren, quienes son autoridades en el control biológico a nivel internacional. Con respecto a la evaluación de los riesgos sobre la introducción de agentes de control biológico de invertebrados, se realizó entrevistas dirigidas al experto en riesgo ambiental de introducciones de agentes de control biológico al Dr. Joop Van Lenteren y también se hizo uso de los procedimientos de evaluación planteados por el, en el texto *Environmental risk assessment of exotic natural enemies used in inundative biological control* (Lenteren *et al*, 2003).

E. Análisis de factibilidad del procedimiento propuesto para la determinación del riesgo ambiental de la introducción de agentes invertebrados para control biológico

Es importante recalcar que desde el punto de vista científico el procedimiento para determinar el riesgo ambiental presenta todos los requerimientos necesarios, sin embargo, queda un cuestionamiento ¿Es posible su realización? Por tal motivo se decidió llevar a cabo una validación del procedimiento utilizando dos organismos invertebrados que han sido utilizados en el control biológico. No obstante, al tomar dicha dirección en la elaboración del procedimiento se indujo a la realización de otras metodologías tales como: la escogencia de los organismos, el mantenimiento de los organismos, la realización de los ensayos y la evaluación de datos generados a partir de los ensayos realizados y de la información aportada para determinar el potencial de riesgo ambiental.

E.1. Selección de los agentes para la realización del estudio de factibilidad

Se realizaron entrevistas no dirigidas a las especialistas Ir. Johannette Klapwijk y Ir. Muriel Klain Beckman (Investigadoras para la empresa Koppert Biological Systems) sobre los posibles agentes para el análisis de factibilidad del procedimiento propuesto. Como producto de estas entrevistas se decidió la utilización de los organismos *Heterorhabditis bacteriophora* y *Amblyseius swirskii*. También con respecto a este

mismo tema se realizó una entrevista al especialista Dr. Joop Van Lenteren, quien propuso la utilización de un parasitoide (*Eretmocerus eremicus*).

E.2. Realización del análisis de factibilidad

Posteriormente a la selección se procedió a la recolección de datos de los organismos seleccionados. Se obtuvo referencias, todas en inglés, que facilitaron la comprensión de los estudios de riesgo ambiental y de los agentes utilizados para el análisis de factibilidad (*Heterorhabditis bacteriophora* y *Amblyseius swirskii*) y sus implicaciones. Con los datos recolectados se procedió a satisfacer los datos requeridos por el proceso de determinación de riesgo ambiental. Los agentes que se seleccionaron para ser evaluados fueron aportados por la empresa Koppert Biological Systems.

E.3. Mantenimiento de los agentes de control biológicos

La realización del análisis de factibilidad tomó un período de tiempo superior a los 3 meses, por lo que se necesitó una metodología para el mantenimiento de los organismos para poder realizar los ensayos.

El mantenimiento de *H. bacteriophora* fue muy sencillo pues solamente se almacenó en refrigeración en temperaturas entre los 2-6°C en la oscuridad por un período de aproximadamente un mes, donde posteriormente se utilizó para realizar el ensayo para el estudio de riesgo ambiental.

Para el mantenimiento del ácaro *A. swirskii* se realizó un método de crianza, con la finalidad de tener ácaros disponibles para los ensayos requeridos por el estudio de riesgo ambiental.

E.3.1. Metodología de crianza de *A. swirskii*

Para la producción tanto de ácaros depredadores se debe iniciar con un pie de cría. El pie de cría consiste en la captura de individuos (Controlador biológico) extraídos por lo usual de los centros de orígenes de la plaga. La extracción de los centros de orígenes de la plaga se debe a la presencia de toda la diversidad genética disponible de la especie a producir y de esta forma no incurrir en problemas de consanguinidad, además solamente en estos sitios es donde se encuentran los enemigos naturales de las plagas. En la captura de especies con potencial en control biológico, se debe conocer con detalle el ciclo de vida del organismo. Para este caso específico se observa que el organismo presenta en su

fase adulta un comportamiento de alimentación de amplio ámbito , el cual va desde polen hasta de etapas inmaduras de varios insectos. Como método de captura para *A. swirskii* se cultivaron plantas de *Ricinus communis*. Dicha especie de arbusto presenta alta producción de polen, por lo que *A. swirskii* desarrolla una población en estos arbustos. Posteriormente se recolectan hojas del arbusto, las cuales portan a los individuos en diferentes estadios, sin embargo, se recolectan solamente las hembras adultas para establecer una población en el laboratorio.

No obstante, en la metodología de crianza se utilizó como pie de cría el producto ya elaborado denominado comercialmente como SWIRSKI-MITE de la empresa Koppert Biological Systems. Dicho producto esta elaborado por 12500 ácaros depredadores de la especie *A. swirskii*. Este presenta la singularidad de ser una mezcla de *A. swirskii* con aserrín, por lo que se tiene que separar el aserrín de los individuos. Para dicho procedimiento se recomienda utilizar fuentes de luz que no generen calor. Se debe realizar los siguientes pasos y a bajas temperaturas:

1. Se esterilizó el área de trabajo y se trabajó con condiciones asépticas (sin hacer uso del mechero).
2. Se preparó el sitio donde se criaran los insectos el cual debe presentar todas las características de la representación esquemática de la figura 1.

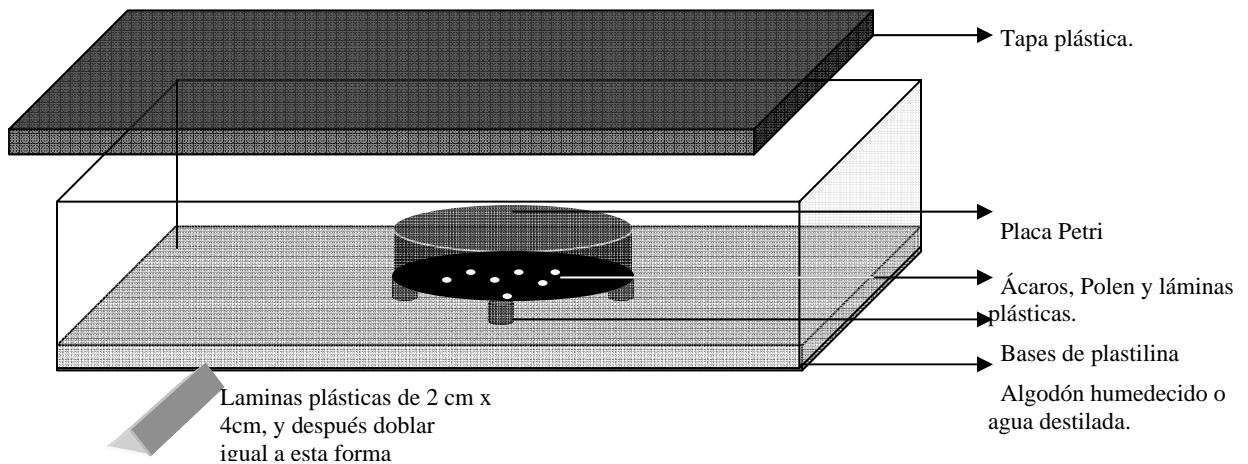


Figura 1. Elementos con los que debe contar una cámara de producción de ácaros depredadores.

3. Dentro de la placa petri se preparó láminas plásticas en forma de pequeños techos (Ver fig. 1), los cuales imitaran las venas centrales de las hojas, donde los ácaros pueden ovopositar o reposar.
4. Antes de introducir los ácaros en la cámara, se suplió de alimento, el cual fue polen. Se debe de suplir de 0.5g – 1g (La cantidad no tiene que ser exacta, solamente se debe espolvorear polen con el pincel en los puntos indicados y con un mínimo de dos veces por semana) de polen cada vez que se requirió (en caso de que se contamine, deteriore o se acabe). El polen se puede distribuir como lo indica la figura 2. Dicha distribución del polen facilitó la localización de los ácaros para los conteos y su manipulación.

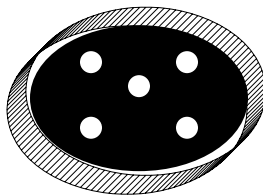


Figura 2. Distribución del polen. Cada punto indica los sitios donde se colocó el polen.

5. Para iniciar una población significativa se tomó entre 10-60 individuos, en su mayoría hembras y se dispusieron en las placas petri (las placas se encontraban, forradas en su superficie de cinta adhesiva negra, para facilitar los conteos de los individuos, sin embargo se recomiendan superficies plásticas de 8 x 15 cm.). La separación y manipulación de los individuos, se realizó con una jeringa o pincel mojados levemente con agua esterilizada y destilada.

E.4. Análisis de factibilidad del procedimiento propuesto

Con la finalidad de analizar la factibilidad del proceso se hizo pasar las especies *H. bacteriophora* y *A. swirskii*, a través del procedimiento recomendado. Con la información recolectada en la empresa Koppert Biological Systems y en la Universidad de Wageningen, se analizó la factibilidad del procedimiento propuesto y la del procedimiento de ámbito de hospedantes por medio de las pruebas recomendadas internacionalmente, siendo ésta la única parte práctica que se aceptó en el proceso final. Estos puntos se realizaron con las especies seleccionadas.

E.4.1. Procedimientos utilizados para la validación de la prueba ámbito de hospedantes para la especie *A. swirskii*

En el ensayo propuesto, se escogió una especie que no sea objetivo de control del ácaro depredador y que además se encontrara cerca del sitio donde se pretenda liberar. Bajo esta descripción se escogió la especie *Gynaikothrips garitacambronaroi*, ya que es una especie que se encuentra prácticamente en todo el país y no está reportada como plaga (Com. pers. A. Retana, 2005). Posteriormente a la selección de la especie no objetivo se determinó una metodología para el ensayo de ámbito de hospedante tomando en cuenta las necesidades de ambos organismos (en este caso el ácaro depredador y el trip) en donde se pudiera determinar la alimentación del ácaro. Para observar este comportamiento se realizaran los siguientes pasos.

1. Se colectó hojas infestadas de *Ficus sp.* de trips con etapas tempranas (Larvas y huevos). Se utilizó una especie de Thrips (*Gynaikothrips garitacambronaroi*) la cual no es considerada plaga, además se encuentra reportada solamente para Costa Rica y México.
2. En un sistema como el de la figura 3. Se dispusieron del máximo de cantidad de hojas por contenedor, sin que las hojas peguen entre si o con las paredes del recipiente.

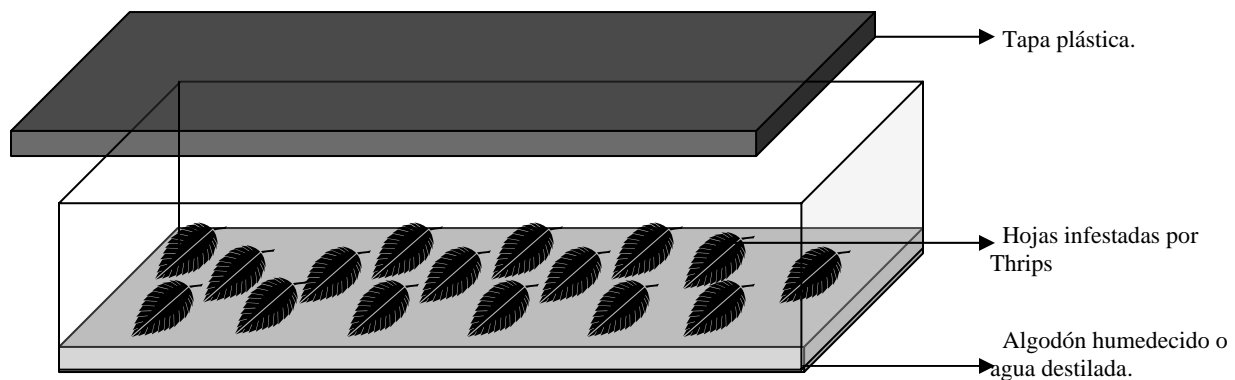


Figura 3. Esquema de la metodología utilizada para la evaluación de comportamiento de alimentación del *A. swirskii*.

3. Se dispuso entre cinco a cuatro trips por hoja en diferentes estadios (Huevo, inster 1, inster 2, inster 3, en donde el inster 3 y 4 se unieron bajo el inster 3, por su tamaño y baja probabilidad de ataque en comparación con la especie objetivo). Realizándose aproximadamente 66 repeticiones, y sumado un total de 330 individuos del trips en diferentes estadios.
4. Por hoja se dispuso un ácaro hembra con dos días sin alimentación (con hambre).
5. Posteriormente se realizaron conteos (# de huevos ovopositados por el ácaro, # de individuos del trips depredados) cada dos días hasta llegar al sexto día.
6. Al sexto día se realizó un conteo final de los trips no depredados tomando en cuenta el estado larval en que se encontraron.

E.4.1. Procedimientos utilizados para la validación de la prueba ámbito de hospedantes para la especie *H. bacteriophora*

Por medio del siguiente ensayo se simuló las condiciones de campo utilizando suelo. Se añadió nemátodos en una proporción de $0.4 - 0.5 \times 10^6$ juveniles (J3) por m^{-2} determinándose por medio de conteos de nematodos al estereoscopio.

La solución se añadió en vasos plásticos de 100 ml, llenándolos de aproximadamente de 70gr de suelo sin esterilizar (Ver fig. 4). Antes de agregar el suelo se dispuso de 3 a 4 lombrices por vaso, siendo estos organismos los no objetivos a evaluar. Se evaluaron más de 40 individuos.



Figura 4. Procedimiento para evaluar el efecto de *H. bacteriophora* en especie objetivo y no objetivo

El mismo ensayo se realizó en el hospedante objetivo (*Phyllophaga sp.*) como control positivo y como control negativo tanto al *Phyllophaga sp.* como a la lombriz común de tierra se les agregó agua en lugar de la solución de nematodos. Para el mantenimiento de

los individuos de *Phyllophaga sp.* se sembró una planta de zacate. Por otra parte para el mantenimiento de la lombriz común se le agregó hojarasca en descomposición (Ver figura 4).

E.5. Evaluación de los resultados obtenidos del procedimiento la prueba ámbito de hospedantes para la especie *A. swirskii* y *H. bacteriophora*

Se les realizó estudios estadísticos a los ensayos realizados a ambas especies no objetivos según el organismo controlador a evaluar. A ambas especies no objetivos se les realizó la prueba del X² para determinar si hubo diferencia significativa a las poblaciones hospederas o depredadas después del ensayo. Por otra parte a la depredación del trip, se le realizó estimaciones de la tabla de vida, a través de los Factores de Análisis Clave (Morris, 1959).

F. Análisis de la situación actual de la regulación de invertebrados en Costa Rica

Aspectos sobre la realidad del país en la regulación de invertebrados fueron complementados por medio de entrevistas no dirigidas a la Ing. Aura Jiménez del departamento de registro de insumos agropecuarios del Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG). También se realizaron entrevistas (no dirigidas) a empresas que tienen productos a base de invertebrados con respecto al procedimiento que actualmente regula dicha clase de productos.

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A. Análisis de la situación actual en la Regulación de invertebrados en Costa Rica

A.1. Experiencia en la regulación actual de Costa Rica

De acuerdo con las entrevistas realizadas a las empresas que tienen productos a base de invertebrados en Costa Rica (Flores del Iztrarú, Biocontrol S.A., DIECA S.A., Reflex Centroamérica S.A.). Se determinó que el procedimiento que rige actualmente solicita información que no compete para productos con estas características, ya que el formulario de información pide datos tales como volatilidad y composición química, los cuales hacen que el proceso de registro sea un proceso tedioso y largo. Por unanimidad se planteó la necesidad de un procedimiento completamente nuevo y que sea específico para productos que tengan como base invertebrados controladores biológicos. Con excepción de una empresa se indicó la necesidad de un proceso de estudio de eficacia que sea acorde con los controladores biológicos, pues estos productos en la mayoría de los casos son utilizados en el manejo integrado de plagas. De acuerdo con los entrevistados a excepción de uno de los representantes de las empresas, indican un procedimiento completamente diferente al análisis de eficacia, en donde se eliminen las pruebas de campo y limitándose a los beneficios que ofrece la utilización de un controlador de este tipo utilizando bibliografía disponible (Com. pers. E. Smit, D. Salazar y R. Selva, 2005).

Esta decisión por tomar un proceso de eficacia que tome en cuenta solamente los beneficios e información bibliográfica que justifique la eficacia del producto concuerda con las normas europeas y con las recomendaciones del experto Dr. Joop Van Lenteren. Lo que se indica es que el control biológico de invertebrados en estudios de eficacia son extremadamente variables, especialmente sino, existe una cría masiva. El análisis de eficacia para controladores biológicos invertebrados no debe ser como un proceso de eficacia para químicos. Como último punto de la justificación del proceso europeo, el uso de invertebrados para control biológico es utilizado en programas de manejo integrado de plagas en donde no se debe de alcanzar entre el 90-100% de control (Lenteren, *et al*, 2003).

A.1.1 Profesional que recibe el personal que destaca en el área de registro de productos elaborados a base de invertebrados

El proceso en que actualmente rige consiste en la recepción de documentos para el registro de insecticidas, los cuales son elaborados por la empresa que pide el registro del producto para poder ser comercializado. En cuanto al proceso no hubo ninguna queja por parte de los entrevistados, sin embargo, sí se realizaron quejas por parte del evaluador de la información del procedimiento. Pues por su amplia experiencia en el registro de insecticidas químicos; no existe capacidad para el análisis de información de productos elaborados con artrópodos. También en el caso de la elaboración de la información por parte de la empresa solamente puede ser realizada por egresados del colegio de agrónomos, donde se imparte el curso para el registro de productos químicos para uso agrícola, donde no se realiza ningún estudio sobre productos controladores biológicos.

A pesar de que los entrevistados opinen que debe de realizarse un cambio por el evaluador de la documentación (que es un agrónomo por vocación), reiteran la necesidad de mantener al elaborador (o denominando regente) siendo el mismo (que de igual forma es un agrónomo por vocación). La respuesta ante tal contradicción la respondió uno de los entrevistados en donde indica “la función de un regente agrónomo economiza costos pues puede realizar registros tanto de productos químicos como biológicos”(Com. Pers. F. Piedra, 2005).

En la actualidad las universidades de Costa Rica e Instituto Tecnológico de Costa Rica imparten el curso de Control Biológico en la escuela de Biología y Biotecnología respectivamente. En todo Costa Rica estas son las dos únicas instituciones y departamentos que imparten estos cursos a nivel de pregrado y posgrado.

Por la misma dificultad de valoración y aplicación de un procedimiento específico de este tipo se recomienda realizar el análisis con el experto para cada agente, según su clasificación taxonómica. De tal forma que el experto en una familia específica sea el que analice la especie que pertenece a la familia que estudia. Producto de esta recomendación se realizó una pequeña base de datos según los expertos y su área de trabajo taxonómica de las familias conocidas en el control biológico, la cual se resume en el cuadro 1.

Cuadro 1. Lista propuesta de los diferentes expertos en las diferentes familias y áreas del control biológico de invertebrados.

Instituto	Especialista	Área de trabajo
UCR. Entomología	Dr. Paul Hanson	Taxonomía e identificación de Himenoptera y Profesor control biológico.
CATIE	MSc. Manuel Carballo	Control Biológico en Mosca Blanca.
UCR. Museo entomología	Dra. Helga Blanco Metzler	Control Biológico (Dinámica de poblaciones)
UCR. Museo entomología	Dr. Hugo Aguilar Piedra	Acarología, control biológico de ácaros y con ácaros depredadores.
UCR. Museo entomología	Msc. Ramon Mexzón	Taxonomía e identificación de Microhimenopteros.
UCR. Museo entomología	Ing. Gilberto Corrales	Lepidoptera (Control de polillas)
INBIO	Msc. Ronald Zúñiga	Identificación y taxonomía Ichneumonidae (Parasitoides)
UCR Entomología	Msc. Hernan Camacho	Control biológico de la Mosca de la Fruta (Machos estériles y parasitoides)
UCR Entomología	Msc. Daniel Briceño	Control biológico Mosca del Mediterraneo
INBIO	Msc. Manuel Zumbado	Identificación y taxonomía de Identificación y taxonomía Tachinidae
UCR Entomología	Msc. Edgar Rojas	Control Biologico de Malezas con invertebrados
UCR Entomología	Msc. Gim Luwis	Especialista en Hemiptera
UCR Entomología	Msc. Axel Retana	Trips taxonomía y sistemática, Consultor de microartropodos plaga.
UCR Entomología	Msc. Alejandro Valerio	Braconidae
CIA (Centro de investigaciones agronomicas)	Msc. Lidieth Uribe	Nematodos entomopatógenos
CIA	Sonia Ramírez	Hongos entomopatógenos.

B. Propuesta de Guía de procedimientos para el análisis de riesgo ambiental

Es importante recalcar que el procedimiento de riesgo ambiental debe de estar dentro de un marco de trabajo que involucre puntos como caracterización e identificación, riesgo en salud, riesgo ambiental y eficacia, donde se tomará información de los diferentes puntos para realizar el estudio de riesgo ambiental, sin embargo la base de riesgo ambiental se identifica en el mismo procedimiento.

REQUISITOS CIENTIFICO-TÉCNICOS PARA LA REGULACIÓN DE PLAGUICIDAS ELABORADOS CON CONTROLADORES BIOLÓGICOS CON FINES DE COMERCIALIZACIÓN E INVESTIGACIÓN

B.1. Definiciones

Para efectos de la siguiente directriz se entiende por:

Agente de control biológico: Enemigo natural, antagonista o competidor u otra entidad biótica capaz de reproducirse, utilizados para control de plagas. (FAO, 1999)

Antagonista: Un organismo (Usualmente patógeno) el cual no significa daño al hospedantes pero su colonización del hospedantes protege al hospedantes de hacer un subsecuente daño por la plaga (FAO, 1999).

Autoridad Nacional Designada (AND): La institución o instituciones de gobierno, que están legalmente encargadas de reglamentar el registro, la fabricación, la formulación, distribución o utilización de plaguicidas. Es decir, la aplicación de la legislación sobre plaguicidas.

Control biológico: Estrategia de control contra las plagas en que se utilizan enemigos naturales, antagonistas o competidores vivos, u otras entidades bióticas capaces de reproducirse. (FAO, 1999)

Entomófago: Organismo que se alimentan de insectos. (NAPPO, 2000)

Especímenes muestra: Una serie de individuos provenientes de un población específica depositada en una colección profesional. (NAPPO, 2000)

Exótico: No nativo a un país, ecosistema o ecoárea en particular (se aplica a organismos que se han introducido intencionalmente o accidentalmente como consecuencia de actividades humanas). (FAO, 1999)

Liberación (en el medio ambiente): La liberación intencional de un organismo en el medio ambiente. (FAO, 1999)

Permiso de importación: Documento oficial que autoriza la importación de un producto básico de conformidad con requisitos fitosanitarios específicos. (FAO, 1999)

Petición: Una solicitud formal por escrito que se realiza a una agencia reguladora con la cual se busca la aprobación para la liberación de un agente de control biológico exótico. (NAPPO, 2000)

Procedimiento de operación normalizado (PON): Prácticas de laboratorio codificadas para el manejo de agentes de control biológico en cuarentena o contención. (NAPPO, 2000)

B.2. Introducción

Los requerimientos de los datos técnicos de plaguicidas de organismos invertebrados, ácaros y nematodos han sido planteados en forma armónica por los documentos “Directrices sobre la petición para la liberación de Agentes Entomófagos Exóticos para el Control Biológico de Plagas” de NAPPO (conformado por México, Estados Unidos y Canadá), el “Código de Conducta para la Importación y Liberación de Agentes Exóticos de Control Biológico de FAO” (La cual fue aceptada por la MERCOSUR en los países miembros Argentina, Brasil, Paraguay y Uruguay), “Guidance for Information Requirements for Regulation of invertebrates as Biological Control Agents” de OECD (La cual esta compuesta por 30 países miembros de Norte América, Europa y el Pacífico) y la “Directriz Regional para el Registro de Plaguicidas Microbianos de uso Agrícola con fines de comercialización en América Central” de OIRSA.

Es importante recalcar que la armonización entre los documentos de los bloques facilita el registro de éstos plaguicidas, amplia las herramientas disponibles para el Manejo Integrado de Plagas (MIP), garantizando la eficacia de los productos, la salud humana y seguridad en el medio ambiente.

Las diferencias que existen entre los requisitos de los plaguicidas sintéticos y los plaguicidas elaborados con organismos invertebrados (insectos, ácaros y nematodos) es abismal. Esta diferencias demuestra la necesidad de reglamentos específicos, ya que la naturaleza y propiedades de los organismos invertebrados (presentan posibilidad de causar algún desequilibrio ambiental) requiere de estudios específicos.

Los organismos invertebrados, ácaros y nematodos para el control de plagas comprenden un amplio ámbito de especies, por lo cual, no todos los datos o estudios pueden ser apropiados para un agente específico. De tal manera que, los datos requeridos para el registro de un plaguicida confeccionado con invertebrados, ácaros o nematodos, dependen en gran medida de su identificación, propiedades biológicas, su naturaleza y uso propuesto.

Ventajas de los productos elaborados con invertebrados:

- Están presentes en la naturaleza.
- Prácticamente no existe peligro para la salud humana, animal y el ambiente
- Son altamente específicos para el organismo que desean controlar.
- Al no existir hospedante o presa específica disminuye su población después de la aplicación (No existen efectos residuales).
- Son una herramienta en el Manejo Integrado de Plagas.

B.3. OBJETIVO

La reglamentación se ocupa de la importación de agentes exóticos de control biológico invertebrados capaces de reproducirse. Con fines de investigación y para su liberación en el campo en el control biológico, así como los utilizados como plaguicidas biológicos.

Esta reglamentación pretende ayudar al investigador a redactar una petición para la liberación de agentes invertebrados exóticos, nativos o que ya se encuentran en uso. Una petición reglamentada de igual manera ayudará a los revisores y funcionarios del MAG a evaluar el riesgo de introducción de plagas exóticas cuyo fin es el control biológico.

1. Información del aplicante
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Nombre y dirección del aplicante, incluyendo nombre de una persona para contactar.
2. Información del producto y propósito de uso
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Nombre del producto ▪ Nombre científico de las especies por ser liberadas (todos los nombres de las especies para productos mezclados) ▪ Método para administrar y formulación (especies solas, especies mixtas, entre otras. ▪ Función del agente (parasitoide, depredador) ▪ Nombre de la especie a ser controlada ▪ Sitios de liberación (protegida, semiprotégida como invernadero o campo abierto) ▪ Cualquier característica específica, de la cepa envuelta en (resistencia a pesticidas, diapausa o capacidad para buscar. ▪ Estadios de vida del agente por ser liberado (pupa, adulto). ▪ Recomendación para el método usado (frecuencia, números liberados).
3. Información de identidad
<p>3.1 Identificación</p> <p>a. La identificación exacta, incluyendo nombre del identificador y método utilizado para la identificación, donde la caracterización sea suficiente del agente para que permita su reconocimiento inequívoco:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Orden, familia, género, especie (incluyendo autoridad científica) y donde sea apropiado, subespecie, variedad, tipo (sinónimo, nombres comunes si existen). • Carta de reconocimiento (por el país receptor) de una autoridad científica declarando la identidad del organismo. • Descripción general diagnóstica de todos los estados del agente, incluyendo detalles en cualquier dificultad taxonómica con el grupo (especies complejas, especies crípticas, pobremente estudiadas). • Cuando sea apropiado, Información molecular conocida (marcadores microsátélites únicos) utilizada para el diagnóstico, especialmente en especies complejas o crípticas. <p>b. Deposición de una especie comprobante, en una colección reconocida internacionalmente o centro de investigación determinada por el AND:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Nombre y localización del o los instituto(s) donde la especie comprobante esta depositada.

3.2 Origen

Origen del pie de cría (Especie o nivel taxonómico menor).

- a. Si es colectado en campo para una liberación inmediata indicar información de la colecta (Sitios y fechas), incluyendo:
 - Área geográfica (Latitud, Longitud y altitud del sitio).
 - Descripción de los Hábitat y hospedantes donde fue colectado.
 - Descripción del tiempo del año cuando se realizó la colecta.

- a. Si proviene de un cultivo de laboratorio o de un establecimiento de producción, incluir información del cultivo stock, incluyendo:
 - Número de individuos de la población fundadora.
 - Período de tiempo / número de generación del cultivo
 - Frecuencia y fuente de los individuos utilizados para refrescar los cultivos del laboratorio.
- b. Fuente inmediata del organismo (sitio de producción del organismo).
 - Fabrica (Nombre y dirección, incluyendo localización del sitio de producción)
- c. Cualquier otra fuente donde el cultivo sea colectado.

4. Información de la distribución actual

- Áreas conocidas del origen natural del agente
- Áreas conocidas donde el agente ha sido introducido intencionalmente o accidentalmente. (Se debe de detallar las liberaciones en la sección 6)

5. Información de la biología y ecología (en la actual distribución del agente)

La información proveída a continuación es la base para el estudio de riesgo ambiental. (Ver sección 10)

5.1 Biología

- Descripción de la biología del agente, incluyendo ciclo de vida, y número de generaciones por año.
- Información del desarrollo y biología reproductiva (reproducción sexual/asexual, alimentación y hábitos de parasitoidización , periodo de desarrollo, potencial de reproducción, longevidad)

5.2 Mecanismos de sobrevivencia

- Mecanismos conocidos de sobrevivencia de condiciones extremas (diapausa, quiescencia, migración)

<p>5.3 Mecanismos de dispersión</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Mecanismos conocidos de dispersión (malo/buen volador, comportamiento migratorio conocido).
<p>5.4 Condiciones climáticas</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Descripción de las condiciones climáticas donde el agente se encuentra. ▪ Descripción de las condiciones climáticas donde el agente ha sido introducido intencional o accidentalmente.
<p>5.5 Ámbito de Hábitat</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Descripción del hábitat(s) donde el agente se encuentra. ▪ Descripción del hábitat(s) donde el agente ha sido introducido intencional o accidentalmente. ▪ Información disponible de los requerimientos específicos (Charral, bosque, etc.) factores conocidos que limiten el hábitat. (Comportamiento de oviposición)
<p>5.6 Ámbito de Hospedantes</p> <p>Información de efectos conocidos en organismos no objetivos:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Lista de hospedantes conocidos diferentes al organismo(s) objetivo(s). • Lista de organismos no objetivos que han sido previamente probados, incluyendo hospedantes que no fueron aceptados en la prueba. ▪ Procedimientos utilizados para determinar el ámbito de hospedantes (relación filogenético, experimentación). <ul style="list-style-type: none"> - Metodología utilizada para las pruebas de ámbito de hospedantes (Diseño experimental, condiciones de la prueba, metodologías para la cría del organismo para la especie no objetivo, estadios de vida probados.
<p>5.7 Enemigos naturales / patógenos</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Detalles de los enemigos naturales, incluyendo patógenos conocidos que ataquen el agente.
<p>6. Información de introducciones previas</p>
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Historia de liberaciones o introducciones accidentales, consecuencias conocidas incluyendo efectos es especies no objetivos.

7. Más información del agente

- Descripción de características especiales del agente (si aplica) como:
 - Cepa con resistencia al frío
 - Cepa con resistencia a pesticidas (si hay indicar que la resistencia)
 - Cepa con resistencia para la habilidad de la búsqueda
 - Cualquier mutación conocida, incluyendo información en la diferencia de la cepa salvaje.
 - Cualquier selección deseable o no deseable.
 - Modificaciones genéticas especies/cepas

8. Información en los contaminantes

- Descripción de las medidas que aseguran la pureza (especies/cepas) del producto.
- Declaración de que el producto se encuentra fuera de contaminantes como patógenos o hiperparasitoides.
- Descripción de coformulantes utilizados en el producto.
 - Material planta, presa viva o otros alimentos de comida.
 - Material utilizado para el transporte del agente (si aplica)
- Describa cualquier otro contaminante que se pueda presentar.

9. Información para la valoración de seguridad y efectos en la salud humana

- Notificación de cualquier coformulante, incluyendo declaración riesgo potencial conocido para la salud humana.
- Información disponible daños relevantes que pueda afectan a la salud de humanos y animales y también de la introducción del organismo (alergias, irritación a la piel, vectores de enfermedad).
- Valoración de seguridad en la salud humana incluyendo métodos para limitar la exposición del operador, cuando sea necesario.

10. Información para la valoración de riesgo ambiental

La información presentada en las secciones previas, en particular en la sección 5, forma base para la valoración de riesgo ambiental. La valoración de riesgo ambiental debe de tomar en cuenta todo el país en donde las liberaciones se realicen, pero debe indicar la variación de donde afecta más regionalmente. La información requerida en las secciones 10.1-10.3 son consideradas esenciales para la valoración de riesgo ambiental, y puede ser dada de literatura publicada. Reportes o experimentación de la compañía.

10.1. Potencial de establecimiento

Condiciones (incluyendo extremas) que afecten la sobrevivencia del agente y reproducción en el ámbito de distribución actual.

- **Contraste físico:**
 - Igualdades climáticas / diferencias entre el área actual y el área donde se intentará la liberación (temperatura, altitud, humedad, largo de las horas del día).
 - Potencial de dispersión, basado de la información suministrada en el punto 5.2.
 - Habilidad para la sobrevivencia y temperaturas de reproducción a temperaturas fuera de lo normal al ámbito (tolerancia al frío) temperatura mínima y máxima para el desarrollo y sobrevivencia
 - Habilidad a la sobrevivencia para sobrevivir a la humedad, fuera del ámbito normal.
 - Probabilidad de sobrevivencia temporal.
- **Fuentes de emergencia en ausencia de la especie objetivo:**
 - Disponibilidad y utilización del hospedante apropiado (Objetivo y no objetivo) en términos de corta y larga sobrevivencia.
 - Disponibilidad del hábitat apropiado, vegetación y fuentes de alimentos de plantas.
- Cualquier evidencia de establecimiento como resultado de liberaciones previas o accidentales fuera de Costa Rica (se indica en punto 6)

10.2. Valoración de Ámbito de Hospedantes

- Potencial para utilizar hospedantes no objetivos que se encuentran silvestremente o en plantas cultivadas.
- Efectos directos posibles en hospedantes no objetivos, filogenéticamente o ecológicamente relacionados al hospedante objetivo.

10.3. Posibles efectos directos en plantas

- Posibles efectos directos en plantas objetivos y no objetivos.

<p>10.4. Información adicional en efectos directos o indirectos en especies no objetivos</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Competencia con, o desplazamiento de los enemigos naturales nativo, en el área que se intenta realizar la liberación. ▪ Potencial para mezclarse con enemigos naturales o biotipos que sean nativos en el área de liberación. ▪ Otras emergencias en la presencia de enemigos naturales o patógenos del agente por ser liberado. ▪ Presencia de enemigos naturales, incluyendo patógenos que puedan afectar el establecimiento del agente. ▪ Potencial de dispersión, basada en la información dada en el punto 5.3 ▪ Valoración previa de riesgo, para la misma especie (cepa, biotipo) con nueva información y relevante, incluyendo país de aplicación. ▪ Posible beneficio ambiental , por ejemplo comparar los efectos benéficos del agente en comparación con métodos tradicionales de control
<p>10.5. Resumen y conclusiones</p> <p>Información disponible resumida para indicar el riesgo potencial y beneficios al ambiente.</p>
<p>11. Información para la valoración de eficacia y beneficio económico</p> <p>Información relevante en</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Contribución del control de la especie objetivo. ▪ Beneficios económicos de la utilización del agente
<p>12. Datos de aseguramiento</p> <p>El aplicante o autorizado, debe de tomar las medidas bajo las condiciones de la licencia, tomando en cuenta los siguiente:</p> <ul style="list-style-type: none"> (a) Todos los procedimientos de seguridad deben de estar puestos en su lugar. (b) Cualquier información relevante de efectos adversos, el cual esta relacionado con el agente , debe ser reportado a la autoridad competente (c) Información de los sitios y fechas de las aplicaciones o liberaciones de los agentes deben de estar hechas para la autoridad competente, si es requerida.

Del procedimiento anteriormente propuesto, se cumple con los puntos indicados por los entrevistados tales como: es un procedimiento específico para controladores biológicos invertebrados, presenta un proceso de eficacia acorde con el producto.

No se pudo realizar la lista de organismos benéficos y no benéficos (organismos que se les demostrara efectos en el ambiente) recomendada por lo expertos, ya que no existen registros de los organismos introducidos recientemente según la literatura consultada.

C. Propuesta para la valoración de datos obtenidos del procedimiento de análisis de riesgo ambiental

La principal propuesta consiste en una evaluación que analice los invertebrados clasificándolos de dos diferentes formas: exótico o nativo (dentro de nativo se encuentran los que ya han sido utilizados en el país que no han presentado efectos negativos en el ambiente y los de utilización generalizada en el mundo que de igual forma no presenten efectos negativos en el ambiente). Parte de la propuesta como se ha mencionado anteriormente es la realización de una lista que facilite el proceso de invertebrados beneficiosos e impida la entrada de los invertebrados riesgosos. Para la propuesta de valoración se recomienda hacer un análisis respectivo tomando la clasificación como lo indica la figura 5.

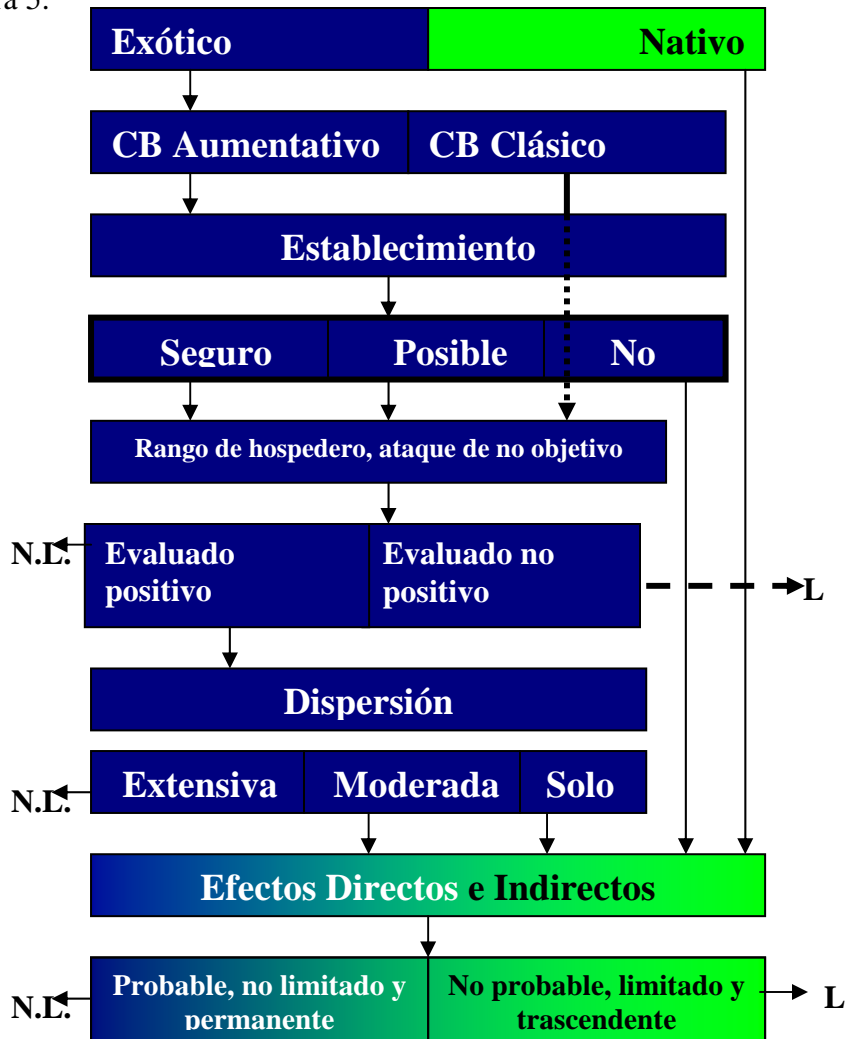


Figura 5. Esquema simplificado de una valoración de riesgo ambiental de un agente controlador biológico invertebrado. L, NL, CB: Liberación, No liberación, Controlador Biológico, respectivamente recomendada (Lenteren y Loomans 2005).

Cada punto indicado en el análisis de datos de riesgo ambiental debe ser valorado. Lo que significa que debe asignársele una numeración. La numeración da un criterio de comparación con otros organismos. Además este criterio se mantendrá indefinidamente a menos que se aporte información científica indicando lo contrario. La asignación de valores se podrá realizar tomando en cuenta los cuadros 2 y 3.

Cuadro 2. Descripción de la probabilidad de establecimiento, dispersión, ámbito de hospederos, efectos directos e indirectos (Van Lenteren *et al.*, 2003).

Establecimiento¹ en hábitat no objetivo	Potencial² de dispersión	Ámbito de³ Hospedantes	Efectos directos e Indirectos
(1)Poco probable	< 10 m	0 especies	Poco probable
(2)Improbable	< 100 m	1-3 especies	Improbable
(3)Posible	< 1,000 m	4-10 especies	Posible
(4)Probable	< 10,000 m	11-30 especies	Probable
(5)Muy probable	> 10,000 m	>30 especies	Muy probable

¹ la susceptibilidad de pasar condiciones adversas (invierno o verano: requerimientos físicos) la disposición de refugios.

² Distancia de movimiento por liberación (tomar el numero de generaciones por estación); determinación de curva de dispersión, en puntos de muestreo a los 10, 100, y 1000m, en un periodo de vida de 50%.

³ la susceptibilidad de encontrar su ámbito de hospederos ecológica en el área de liberación.

Cuadro 3. Descripción para la magnitud para el establecimiento, dispersión, ámbito de hospedero, efectos directos e indirectos. (Van Lenteren *et al.*, 2003).

Magnitud	Establecimiento¹ en hábitat no objet.	Potencial² dispersión	Ámbito de³ hospedantes	Efectos Directos⁴ e Indirectos⁵
(1)Mínima	local (trasciende en tiempo y espacio)	< 1%	Especies	< 5% mortalidad
(2)Menor	<10%	< 5%	Genero	< 40% mortalidad
(3)Moderada	10 – 25%	< 10%	Familia	< 40% mortalidad y o > 10% términos cortos supresión de la población
(4)Mayor	25 – 50%	< 25%	Orden	> 40% términos cortos disminución de la población, o > 10% de permanente supresión de la población
(5)Masiva	> 50%	> 25%	Nada	> 40% términos largos supresión de la población o extinción local

¹ porcentaje de hábitat no objetivo potencial donde el agente puede establecerse.

² porcentaje de dispersión del agente liberado del área objetivo.

³ Ámbito taxonómico de ataque del agente.

⁴ efecto directo: mortalidad, supresión de la población o extinción local directamente afectada en organismos no objetivos.

⁵ efecto indirecto: mortalidad, supresión de la población de una o más especies no objetivos que sean indirectamente influenciadas por la liberación del agente

Posteriormente al determinar la probabilidad y magnitud del establecimiento, dispersión, ámbito de hospedante, efectos directos e indirectos del agente, se debe de realizar la valoración total del agente invertebrado (índice de riesgo). Dicha valoración total si es menor a 35 se le considera de bajo riesgo, de 35 a 70 de riesgo medio y si es superior a 70 de alto riesgo (donde la liberación no es recomendada). La valoración total puede estimarse haciendo uso del cuadro 4.

Cuadro 4. Propuesta para la determinación de índice de riesgo de un agente controlador biológico.

A) Sitio en donde se pretende liberar:

Criterio	Probabilidad	Magnitud	P x M
Establecimiento	1-5	1-5	1-25
Dispersión	1-5	1-5	1-25
Ámbito de hospedantes	1-5	1-5	1-25
Efectos directos	1-5	1-5	1-25
Efectos indirectos	1-5	1-5	1-25

SUM = índice de riesgo
5-125

B) Sitio en donde se pretende liberar

Criterio	Probabilidad	Magnitud	P x M
Establecimiento	1-5	1-5	1-25
Dispersión	1-5	1-5	1-25
Ámbito de hospedantes	1-5	1-5	1-25
Efectos directos	1-5	1-5	1-25
Efectos indirectos	1-5	1-5	1-25

SUM = índice de riesgo
5-125

D. Análisis de factibilidad del procedimiento propuesto para determinar el riesgo y sistema de valoración de los datos generados

Como se mencionó durante la metodología, el procedimiento sería probado utilizando dos agentes invertebrados. Los agentes invertebrados seleccionados fueron *Heterorabditis bacteriophora* y *Amblyseius swirskii*. Dichos agentes fueron seleccionados por sus características como controladores biológicos.

La escogencia de un nematodo entomopatógeno (*Heterorabditis bacteriophora*) tiene la finalidad de comprobar si la decisión tomada por la comisión encargada de elaborar el procedimiento de regulación es correcta, donde se indicó que los nematodos entomopatógenos no deben de pertenecer al proceso de regulación de invertebrados, sino, al de microbiológicos (Ver anexo 1). Dicha decisión es contradictoria, ya que los nematodos pertenecen a los Artrópodos o también denominados como invertebrados. Esta decisión también va en contradicción a los procesos de regulación de NAPPO y OECD en donde los nematodos se encuentran dentro del procedimiento de invertebrados. Como punto final el proceso de regulación de microbiológicos se basa en gran medida en un análisis de toxicología, nuevamente EPA indica que los nematodos entomopatógenos están exentos de de pruebas toxicológicas (Sotck, 2004).

El seleccionar un ácaro depredador generalista, y también con la característica de que es exótico para nuestro país (*Amblyseius swirskii*) garantiza que necesariamente tiene que atravesar todos los pasos del proceso, de tal forma que puede evaluarse completamente el procedimiento de riesgo ambiental.

Los puntos que se tomaron en cuenta del proceso de regulación para ser aplicados en estos dos organismos son los que se indican en el mismo procedimiento como base para el análisis de riesgo ambiental (Secciones 3, 4, 5 y 10.1-10.3), además de una parte de identificación del agente controlador biológico para determinar si el agente es exótico o nativo.

D.1. Análisis de factibilidad del procedimiento de análisis de riesgo ambiental y valoración utilizando el ácaro depredador *A. swirskii*

D.1.1. Sección 3 del procedimiento, identificación de *A. swirskii*

Género y especie: *Amblyseius swirskii* Athias-Henriot, 1962, (Chant & McMurtry), 2004, (= *Typhlodromips swirskii* (Athias-Henriot), 1962, Moraes *et al.*, 2004)

Orden: Acarina

Familia: Phytoseiidae

Nombre común: ácaro depredador

Descripción morfológica:

- ✓ Huevos: ovales, color blanco – transparente.
- ✓ Larva: tres pares de patas, 2 setas curvadas al final de la cara dorsal.
- ✓ Proto- y deutoninfas: cuatro pares de patas.
- ✓ Adulto: 2 largos pelos al final de la cara dorsal.

(Athias-Henriot, 1962, Grinberg *et al.*, 1972)

Como resultado de la evaluación de la información de identificación y la consulta del especialista en ácaros, se determinó que la especie *A. swirskii* es exótica para nuestro país. Cumpliendo este punto como la carta de reconocimiento por el país receptor. Por último todavía no se ha designado una colección reconocida internacionalmente, no obstante el Museo de insectos de la Universidad de Costa Rica debe ser la institución que realice la función de la deposición de la especie testigo.

D.1.2. Sección 4 del procedimiento, origen y distribución actual de *A. swirskii*

Amblyseius swirskii aparece de forma natural en países orientales de la cuenca del Mediterráneo, como por ejemplo, Israel, Italia, Chipre y Egipto. En Israel, aparece en zonas altas de Golan, norte de Galilea, valle de Hula, valle de Yizre'el, Carmel, la llanura costera, estribaciones y colinas de Judea y norte de Negev. Se han realizado liberaciones de este ácaro depredador dentro de programas de control biológico clásico en EE.UU., en 1983, como agente de control biológico contra el ácaro de los cítricos (Swirski y Amitai, 1997; Informe anual de los organismos beneficiosos introducidos en los EE.UU. y sus territorios, 1983; Distribución de Fauna Italiana).

D.1.3. Sección 5 del procedimiento, Biología y ecología de *A. swirskii*

D.1.3.1. Sección 5.1. Biología y Ciclo de Vida

Los estadios de desarrollo son similares a los de otros fitoseidos: huevo, larva, proto- y deutoninfa y ácaro adulto. Los huevos se depositan en el envés de las hojas, a menudo en la pilosidad que se encuentra cerca de las venas particularmente en cultivos de pimiento. La duración del desarrollo depende de la temperatura, el tipo y disponibilidad de presa y otras fuentes de alimento y la humedad relativa. La duración total (de huevo a adulto) es de 5 a 6 días a 26°C y 70% HR (El-Laithy & Fouly, 1992).

Cuadro 5. Duración del desarrollo (en días) de estadios inmaduros de *Typhlodromips* (= *Amblyseius*) *swirskii*, a 26°C y 70% HR (fuente: El-Laithy & Fouly, 1992).

	Hembra	Macho
Huevo	1,84 ± 0,39	1,37 ± 0,29
Larva	0,90 ± 0,10	0,75 ± 0,17
Protoninfa	1,37 ± 0,31	1,87 ± 0,52
Deutoninfa	1,56 ± 0,38	1,37 ± 0,34
Total	3,84 ± 0,58	3,56 ± 0,60
<u>Ciclo de vida</u>	<u>5,50 ± 0,50</u>	<u>5,18 ± 0,56</u>

Se pudieron encontrar hembras con huevos maduros, machos, huevos, larvas y ninfas a lo largo de todo el invierno. La tasa de oviposición disminuye a lo largo de las semanas más frías, pero aumenta de nuevo cuando lo hace la temperatura (Swirski y Amitai, 1997).

D.1.3.2. Sección 5.2. Mecanismos de sobrevivencia

No se encontró información con respecto a mecanismos de sobrevivencia de condiciones extremas en la literatura consultada y no se sabe si existe este tipo de información. Sin embargo para un país como Costa Rica esta información no es necesaria pues no existen estaciones climáticas muy marcadas.

D.1.3.3. Sección 5.3. Mecanismos de dispersión

El ácaro depredador puede recorrer amplias distancias. Después de su introducción, se desplazará al interior del cultivo. Se encuentra normalmente en lugares escondidos como a lo largo de las venas de las hojas y en las flores.

D.1.3.4. Sección 5.4. Condiciones climáticas

Las condiciones climáticas generales de Israel que es el país donde se encuentra naturalmente *A. swirskii* se conoce por tener alta luminosidad, una estación lluviosa de Noviembre a Abril. Los ámbitos de precipitación van de 20-30cm y en el norte de 2.5cm. En la parte sur del país se distingue por un verano muy húmedo e inviernos mojados en la costa. En el Valle de Jordania presenta veranos secos y calientes con condiciones semiáridas (Israel Ministry of Foreign Affairs, 2003).

D.1.3.5. Sección 5.5. Ámbito de Hábitat

En Israel, este ácaro fitoseido es la especie predominante y más abundante en cítricos a lo largo de la llanura costera. También se encontró en árboles frutales de hoja caduca y subtropicales, vid, hortícolas, algodón, especies forestales y arbustos, así como en diversas plantas anuales y perennes. *A. swirskii* es abundante en Egipto en vid, manzanos, membrillo, higuera y algodón (Ragusa y Swirski, 1975).

Plantas hospedantes: *Acer obtusifolium* (Aceraceae), *Nerium oleander* (Apocynaceae), *Ceratonia siliqua*, *Gleditsia sinensis* (Caesalpiniaceae), *Lonicera japonica*, *Lonicera* sp., *Viburnum tinus* (Caprifoliaceae), diversas Chenopodiaceae, *Aster* sp., *Centaurea ascalonica*, *Centaurea* sp., *Chrysanthemum* sp., *Conyza bonariensis*, *Conyza* sp., *Inula viscosa*, *Inula* sp., *Sinapis* sp. (Compositae), *Convolvulus* sp. (Convolvulaceae), *Diospyros kaki* (también asociados con mosca blanca), *D. virginiana* (Ebenaceae), *Equisetum ramosissimum* (Equisetaceae), *Ricinus communis* (Euphorbiaceae), *Quercus calliprinos*, *Q. ithaburensis*, *Quercus* sp. (Fagaceae), *Geranium purpureum* (Geraniaceae), *Bambusa* sp., *Cynodon dactylon* (Gramineae), *Carya pecan* (Juglandaceae), *Mentha* sp., *Rosmarinus officinalis* (Labiatae), *Laurus nobilis*, *Persea americana* (Lauraceae), *Asparagus* sp. (Liliaceae), *Alcea setosa*, *Alcea* sp., *Gossypium* sp. (cotton), *Thespesia* sp. (Malvaceae), *Acacia raddiana* (Mimosaceae), *Broussonetia papyrifera*, *Ficus carica*, *Morus nigra* (Moraceae), *Eucalyptus* sp., *Myrtus communis*, *Psidium guajava* (Myrtaceae), *Epilobium hirsutum* (Onagraceae), *Cocos* sp.

(Palmaceae), *Dalbergia sissoo*, *Wisteria sinensis* (Papilionaceae), *Pinus halepensis* (Pinaceae), *Polygonum equisetiforme* (Polygonaceae), *Punica granatum* (Punicaceae), *Amygdalus communis*, *Crataegus azarolus*, *Eriobotrya japonica* (hojas y yemas), *Fragaria* sp. (fresa), *Malus sylvestris*, *Prunus salicina*, *Pyracantha crenato-serrata*, *Rosa* spp., *Rubus sanctus* (Rosaceae), *Citrus aurantium*, *C. grandis*, *C. limon*, *C. medica*, *C. paradisi*, *C. reticulata* (Clementino), *C. sinensis* (Shamouti, Valencia, Washington Navel), Oroblanco (cruce entre *C. grandis* y *C. paradisi*), *Poncirus trifoliata* (Rutaceae) (a menudo debajo del cáliz del fruto y en telas de araña, también asociado con el ácaro rojo de los cítricos, *Panonychus citri* (McGregor) y la mosca blanca de los cítricos, *Parabemisia myricae* (Kuwana)), *Populus alba* (Salicaceae), *Solanum lycopersicum*, *S. melongena*, *S. villosum*, *Solanum* sp., *Withania somnifera* (Solanaceae), *Thymelaea hirsuta* (Thymelaeaceae), *Ulmus* sp. (Ulmaceae), *Lantana camara*, *Phyla* sp. (Verbenaceae), *Viola* sp. (Violaceae), *Vitis riparia*, *V. vinifera* (Vitaceae). También se encuentra en restos vegetales debajo de *Rosa polyantha* (Rosaceae) y *Citrus sinensis* (Rutaceae). También se recogieron algunos ejemplares en residuos domésticos (Momen y El-Saway, 1993; Teich, 1966; Ragusa y Swirski, 1977; Ragusa y Swirski, 1975; Swirski y Amitai, 1997).

D.1.3.6. Sección 5.6. Ámbito de Hospedantes

Amblyseius swirskii depreda sobre la mosca blanca del tabaco *Bemisia tabaci*, la mosca blanca de los invernaderos *Trialeurodes vaporariorum* y el trips occidental de las flores *Frankliniella occidentalis*.

Amblyseius swirskii es un depredador facultativo y también se alimenta y reproduce con polen como alimento. Estos depredadores pueden sobrevivir o reproducirse con una amplia variedad de materia orgánica, tanto viva como inerte (Ragusa & Swirski, 1975; Momen & El-Saway, 1993; Hoda *et al.*, 1986).

Hábitos alimenticios: En estudios de laboratorio sobre el comportamiento alimenticio, el desarrollo y la reproducción de *A. swirskii* con varios tipos de dietas, el porcentaje de ninfas que llegaron a la madurez fue alto y la tasa de oviposición de las hembras fue de media a alta cuando se alimentaron de *Tetranychus cinnabarinus* Boisduval, *Eutetranychus orientalis* (Klein) (Acarina, Tetranychidae), *Brevipalpus phoenicis*

(Geijkes) (Acarina, Tenuipalpidae), *Retithrips syriacus* Mayet (Thysanoptera, Thripidae), huevos de *Prays citri* Millière (Lepidoptera, Yponomeutidae) y *Ectomyelois ceratoniae* (Zeller) (Lepidoptera, Pyralidae). Sobre *Phyllocoptruta oleivora* (Ashmead) (Acarina, Eriophyidae), un porcentaje bastante alto (72,4%) alcanzó la madurez, la tasa de oviposición de las hembras fue bajo pero constante y la supervivencia de los machos baja. Con huevos de *Spodoptera littoralis* (Boisduval) (Lepidoptera, Noctuidae) muchas ninfas alcanzaron la madurez, pero la tasa de oviposición de las hembras fue muy baja. Sobre *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Aleurodoidea, Aleurodidae), el porcentaje de supervivencia de los juveniles fue bastante alto y la tasa de oviposición media. Aunque las ninfas se alimentaron con facilidad de ninfas de 1^{er} estadio de *Aonidiella aurantii* (Maskell) (Coccoidea, Diaspididae), solamente alrededor del 38,2% llegaron a la madurez, pero la tasa de oviposición de las hembras fue muy alta. Cuando *A. swirskii* se crió sólo con melaza de *Pseudococcus* sp. near *citriculus* Green (Coccoidea, Pseudococcidae), ninguna ninfa alcanzó el estadio adulto y la oviposición de las hembras fue muy baja. Con polen de ricino, *Carpobrotus edulis*, almendros, aguacate y maíz se obtuvo una supervivencia de ninfas media – alta y una tasa de oviposición muy alta. El polen de limonero demostró ser una dieta mucho menos eficaz (Swirski *et al.*, 1967a).

Dietas basadas en huevos o larvas L₁ de los coccidos (Coccoidea, Coccidae) *Coccus hesperidum* Linnaeus, *Saissetia oleae* (Oliver), *S. coffeae* (Walker) y de las cochinillas algodonosas (Coccoidea, Pseudococcidae) *Pseudococcus* sp. near *citriculus* Green y *P. longispinus* Targioni-Tozzetti, incluso con la adicción de melaza, no fueron satisfactorias; sólo unas pocas ninfas de *A. swirskii* alcanzaron la madurez y la oviposición fue baja. De todas manera, la adicción de melaza a una dieta a base de *Tetranychus cinnabarinus* Boisduval (Acarina, Tetranychidae) incrementó la tasa de oviposición. Podemos citar que hembras y machos alimentados con melaza de *Saissetia oleae* copularon inmediatamente y las hembras fueron inseminadas, pero la oviposición de esas hembras fue prácticamente nula (Ragusa y Swirski, 1977).

Ragusa y Swirski (1975) realizaron diversos ensayos de laboratorio sobre el comportamiento alimenticio, desarrollo y oviposición de *A. swirskii* alimentado con polen de diversas especies de plantas adventicias de cultivos de cítricos de Israel.

En observaciones de campo y ensayos de laboratorio, se constató que *A. swirskii* era un depredador de *Bemisia tabaci* (Teich, 1966). *A. swirskii* se encontró asociado a *Parabemisia myricae* (Kuwana) (Aleurodoidea, Aleurodidae) en cultivos de aguacate y cítricos, y era el fitoseido más común en cítricos (junto a *Typhlodromus athiasae* Porath and Swirski) (Swirski *et al* 1967).

En ensayos de laboratorio, adultos de *A. swirskii* depredaron sobre todos los estadios de *P. myricae* y las hembras realizaron la oviposición. Los estadios juveniles del fitoseido llegaron al estadio adulto alimentándose de huevos y larvas de la mosca blanca (Nomikou *et al*, 2001).

En cuanto a las metodologías utilizadas para determinar los ámbitos de hospedantes, no se indicó explícitamente la metodología de cría para las especies no objetivos en la bibliografía consultada. Por lo que no se puede exigir esta información.

D.1.3.6. Sección 5.7. Enemigos naturales / patógenos

No se encontró en ninguna de las publicaciones disponibles información de los enemigos naturales o patógenos de *A. swirskii*.

D.1.4. Información para la valoración de riesgo ambiental

D.1.4.1. Sección 10.1. Potencial de establecimiento

- **Condiciones que afecten la sobrevivencia del agente**

A. swirskii presenta la característica que la tasa de oviposición disminuye durante las semanas frías, pero se incrementa al aumentar la temperatura. (Swirski y Amitai, 1997). No se encontró más información en cuanto a la afección de condiciones, incluyendo las extremas en *A. swirskii*.

- **Contraste físico**

Por otra parte al comparar las condiciones físicas del área natural del ácaro con las que presenta nuestro país, se observa una clara ventaja para el agente. El agente sobrevive en las zonas donde las condiciones climáticas son adversas por las bajas temperaturas, en comparación Costa Rica no presenta estaciones climáticas muy marcadas y casi no existen cambios significativos entre las estaciones de verano e invierno. Al no existir cambios significativos de temperatura en Costa Rica la tasa de oviposición del ácaro se

mantendrá estable haciendo que la población se mantenga muy homogénea durante todo el año. Sin embargo, se presenta un contraste en cuanto a la precipitación, la cual es mucho mayor en Costa Rica en comparación con Israel (en Costa Rica existen precipitaciones superiores a los 3000 cm por año mientras que en Israel tienen un máximo de 30 cm por año (Israel Ministry of Foreign Affairs, 2003), siendo este un factor que posiblemente afecte la población de *A. swirskii*.

De acuerdo con la información disponible de dispersión de *A. swirskii* (recorre largas distancias). Al momento de ser aplicado se distribuirá a todo el cultivo para posteriormente enfocarse en el interior del cultivo. Esta dispersión puede considerarse superior a los 1000m, ya que las aplicaciones realizadas son para controlar sitios con áreas superiores a éste valor.

- **Habilidad a la sobrevivencia**

El aumento de la temperatura provoca que aumente la actividad de *Amblyseius swirskii* en términos de consumo de presas, mientras que las bajas temperaturas provocan una menor capacidad de depredación. Esta capacidad es mayor bajo condiciones de oscuridad completa o fotoperíodo corto y menor con fotoperíodos largos. Este fenómeno explica la tendencia del ácaro a aparecer en las hojas más bajas de la planta hospedante (Yousef *et al.*, 1982).

En cuanto a información sobre la influencia de la humedad, no se encontró en toda la literatura consultada. Por otra parte a la habilidad de sobrevivencia, se le puede nombrar también como requisitos ambientales de la especie, siendo esta otra forma para presentar los resultados.

- **Fuentes de emergencia en ausencia de la especie objetivo**

A. swirskii presenta la característica de ser un depredador generalista, además como lo indica el apartado ámbito de hospedero, se menciona la capacidad de alimentarse de polen en caso de que no exista especie objetivo, facilitando el establecimiento de la especie. Por otra parte gran cantidad de especies vegetales que se encuentran en la región natural de *A. swirskii* se encuentran en Costa Rica representadas taxonómicamente en familia, género y especie.

D.1.4.2. Sección 10.2. Valoración de ámbito de hospedantes

Según lo que se recomienda para realizar este tipo de ensayos, es la utilización de insectos objetivo y puedan ser afectados por el agente controlador biológico. Con la descripción anterior para Costa Rica en el caso de *A. swirskii* que es un depredador de trips, se puede estimar que por m² existe 2.6 especies que puede atacar, lo que significa que por km² son más de 20 individuos. Lo que puede llevar a una conclusión de que la evaluación de las posibles especies que puede atacar este ácaro es casi imposible (Com. pers. A. Retana, 2005).

- **Investigación práctica en Costa Rica con una posible especie susceptible al ataque de *A. swirskii***

De acuerdo con la recomendación del especialista en control biológico de trips MS.c. Axel Retana se recomendó la utilización del trip *Gynaikothrips garitacambronaroi* (Ver fig. 8) el cual está establecido en todo el país. Dicha especie no es considerada plaga.



Figura 6. Diferentes estadios larvales de la especie *Gynaikothrips garitacambronaroi* (A: 2X)

Además de encontrarse en todo el país, la especie es abundante y de fácil acceso, lo que la hace una especie susceptible al ataque del ácaro depredador. Para poder investigar el efecto sobre la especie se utilizaron diferentes individuos en diferentes estadios larvales, de dicha manera se podría determinar cual era el estadio larval más susceptible al ácaro, o si ninguno lo era. El análisis de factores clave indicó que si existe efecto depredador del ácaro sobre *Gynaikothrips garitacambronaroi* como lo indica el cuadro 6.

Cuadro 6. Análisis de factores clave de los estadios susceptibles de *Gynaikothrips garitacambronaroi* al ataque del acaro *A. swirskii*

	%previo al estadio muerto	Numero de muertos	Numero de vivos	log de vivos	K
Etapa adulta					
Hembras			43.14	1.63	
Huevo					
Hembras*huevos	0	0	13029.14	4.11	
Larva I					0.053
Muerte por acaro	11.6	1510.08	11519.06	4.06	
Larva 2					0.106
Muerte por acaro	21.72	2501.93	9017.12	3.95	
Larva 3 o más					0.116
Muerte por acaro	23.44	2114.42	6902.69	3.83	

A menor k mayor efecto de depredación del acaro. Los estadios inster 1 y 2 fueron los más afectados de los estadios susceptibles.

Las etapas larva 1 o 2 son los que reciben el mayor efecto de depredación por el ácaro, de acuerdo con el análisis de factores clave, y con las observaciones realizadas (Ver fig.6). También se determinó por medio de un análisis de X^2 que el efecto fue significativo entre el tamaño de la población inicial y la final por efecto de depredación del ácaro ($X^2= 43.14$, $gl =1$, $p= 3.93 \times 10^{-11}$). En términos de porcentaje el efecto fue de 52.29% de mortalidad en los diferentes estadios.



Figura 7. Depredación de *A. swirskii* a *Gynaikothrips nr. ficorum*, estado larval inster 2. (A: 4X)

También de acuerdo con el cuadro de esperanza (Cuadro 6) de vida de la especie hermana (*Gynaikothrips ficorum*) se puede comparar el efecto del ácaro, el cual se da sobre uno de los estadios menos susceptibles a la mortalidad (Larva I y II con un 8.6% de mortalidad bajo condiciones naturales).

Cuadro 7. Tabla de esperanza de vida para *Gynaikothrips ficorum* en condiciones naturales. San José, Costa Rica (fuente: Retana, *et al*, 1996)

Estadio	Qx
Huevo	0.744
Larva I	0.086
Larva II	0.333
Prepupa	0.380
Pupa I	0.590
Pupa I	0.000
Adulto	1.000

A pesar de los resultados obtenidos para determinar el efecto de depredación por el ácaro en ésta especie no objetivo (*Gynaikothrips garitacambronaroi*), se presentaron dos problemas que afectaron el ensayo. La población del ácaro depredador utilizada para realizar los ensayos en especies no objetivos se contaminaron con la presencia de *Tyrophago putrescentiae*. *T. putrescentiae* es un ácaro ligado a problemas de esterilidad, el cual desplazó la población de *A. swirskii* al acaparar la fuente de alimentación (polen). Esta contaminación hizo que casi todos los pie de cría se perdieran.

El otro problema se presentó por la presencia de *Androthrips ramachandrai*, el cual se confundía con las ninfas de *Gynaikothrips garitacambronaroi*. *A. ramachandrai* dificultó el análisis del ensayo pues también presenta un comportamiento depredador (Ver fig, 8. a.), por lo que en los ensayos en que se observó depredación por *A. ramachandrai* fueron eliminados, sin embargo, no se evaluó es punto. Este comportamiento depredador por *A. ramachandrai* puso en evidencia la posible competencia con *A. swirskii*, pero el efecto no es substancial, la especie *A. ramachandrai* se alimentó del ácaro depredador (ver fig. 8. b.).

Figura 8. Observación realizada del comportamiento depredador de *A. ramachandrai*. a. depredación de otro trip. b. depredación de un ácaro depredador. (A: 4X)



De acuerdo con el especialista MS.c. Axel Retana ensayos de este tipo para 1 o 2 especies tienen un valor aproximado que va de los \$3000 a \$5000. El costo varía si las instalaciones son brindadas o no. Por otra parte el tiempo invertido en una investigación de este tipo (1 o 2 posibles especies susceptibles), toma un tiempo superior a los 3 meses.

Los costos y el tiempo necesitado para realizar un ensayo de este tipo hacen que el proceso de regulación sea prácticamente imposible. La eliminación de estos ensayos del proceso facilitarían el acceso incluso hasta a pequeños empresarios, ya que de mantenerse solo estaría al alcance de las grandes empresas. Por otra parte la información bibliográfica es suficiente para determinar un ámbito de hospedantes susceptibles en el país en donde se interesa introducir.

D.1.4.3. Sección 10.3. Posibles efectos directos en platas

El único efecto que se reporta de *A. swirskii* a plantas objetivos y no objetivos que sean directos, es la posible polinización, ya que el ácaro se alimenta de polen.

D.1.4.4. Sección 10.4. Efectos directos e indirectos en especies no objetivo

La única información disponible para este apartado fue generada a partir de la investigación práctica en Costa Rica con una posible especie susceptible al ataque de *A. swirskii*. De acuerdo con la investigación existe un efecto significativo en la depredación de *A. swirskii* en la especie *Gynaikothrips garitacambronaroi*, y el efecto fue mayor en

las etapas larvales inster 1 y 2. El porcentaje de depredación obtenida en el laboratorio es de 52%. Sin embargo bajo condiciones de campo existe la presencia de polen y otros organismos de lo que se puede alimentar, factores no analizados en la investigación.

También en la investigación se determinó que existe un efecto competencia con *A. ramachandrai*, el cual depreda *Gynaikothrips garitacambronaroi* al igual que *A. swirskii*. Sin embargo, el efecto no considerable ya que se realizaron observaciones de depredación de *A. ramachandrai* a *A. swirskii*.

D.1.4.4. Sección 10.4. Resumen y conclusiones

A. swirskii es una especie que presenta todas las características para establecerse y dispersarse en el país. Además presenta el comportamiento de ser un depredador generalista, lo que lo hace riesgoso para el ambiente. Sin embargo es una herramienta muy útil en el control biológico de plagas para mosca blanca y trips. Costa Rica es uno de los mayores consumidores de agroquímicos en donde los efectos no dejan de ser visibles. Entre los efectos se puede nombrar el ser el segundo país en el mundo con cáncer gástrico. La utilización de *A. swirskii* disminuiría el uso de químicos tales como Confidort, Applaud entre otros peritroides, los cuales son sumamente costosos y altamente tóxicos.

D.2. Análisis de factibilidad utilizando el nematodo entomopatógeno *Heterorabditis bacteriophora*

D.2.1. Sección 3 del procedimiento, identificación de *H. bacteriophora*

Orden: Nematoda

Familia: Heterorhabditidae

Nombre común: nematodo entomopatógeno

Caracteres diagnósticos:

- ✓ Estilete: ausente.
- ✓ Extremo anterior truncado o moderadamente redondeado.
- ✓ 6 labios que pueden estar parcialmente fusionados en la base y cada uno de ellos con una papila genital.
- ✓ Estoma corto y ancho.
- ✓ Esófago con procorpus moderadamente dilatado.
- ✓ Poro excretor localizado a nivel del istmo en las hembras a nivel de bulbo.
- ✓ Hermafroditas con esperma localizado en la porción proximal del ovotestis. Vulva funcional.
- ✓ Hembras anfimícticas con ovarios pares.
- ✓ Vulva no funcional.
- ✓ Cola aguzada con dilatación postanal.
- ✓ Glandulas rectales presentes.
- ✓ Machos con testis único, bursa presente papilas o rayos bursales.
- ✓ Especulas pares, separadas, gubernáculo presente.
- ✓ J3 (infectivos juveniles) con poro excretor localizado por debajo del anillo nervioso.

Familia Heterorabditidae (Poinar, 1976)

De acuerdo con la descripción realizada y con la consulta de la experta en nematodos entomopatógenos MSc. Lideth Uribe, dicha especie ha sido registrada en nuestro país considerándosele nativa en el procedimiento propuesto. También en la literatura se encuentra con una biogeografía que consta de Africa, Asia, Australia y Centroamérica, la cual puede ser detectada por medio molecular tomando en cuenta los datos del GenBank

de secuencia de ADN, cuya identificación es 18S (AFO36593, 5.8s (U65497) (Stock, 2004).

De acuerdo con el esquema presentado en la figura 5, las especies que sean nativas pasan directamente a efectos directos e indirectos en especies que no sean objetivos. Sin embargo a pesar de que sea nativa se planteo la consulta sobre efectos directos sobre otras especies que se encuentren en el suelo. Un ejemplo importante es la lombriz común de tierra, la cual presenta un papel ecológicamente importante en el suelo. Producto de la consulta se realizó un análisis sobre los efectos de *H. bacteriophora* en la lombriz común de tierra.

D.2.1. Sección 10.2 Valoración de ámbito de hospedantes y 10.4. Efectos directos e indirectos en especies no objetivo

- **Investigación practica sobre los efectos directos de la utilización de *H. bacteriophora* en especies no objetivos.**

Acorde con el cuestionamiento mencionado, se efectuó un análisis tomando en cuenta la actividad entomopatógena que presenta el nematodo. El análisis consistió en observar el número de afectados en una población de lombriz. No obstante, al no existir literatura citada sobre el efecto de la lombriz en un hospedero alternativo como gusanos segmentados como lo es la lombriz común de tierra, se realizó un control positivo que fue la utilización de un organismo objetivo (*Phyllophaga spp.*) para poder observar los efectos del nematodo y compararlos con los de la lombriz de tierra.

Los efectos en el control positivo fueron claramente visibles, se observaron inicialmente cambios en la coloración de los individuos infectados, los cuales pasaron de un blanco a un rojo ladrillo o anaranjado (Ver fig.9). Posteriormente los cuerpos se hinchan y explotan. Al explotar se liberaron nuevamente los nematodos. También se determinó por medio de un análisis de X² que el efecto entomopatógeno fue significativo entre el tamaño de la población inicial y la final por efecto *H. bacteriophora* (X²= 12.78, gl =1, p= 0.00034). Se obtuvo un 64.28% de mortalidad en la población del organismo objetivo (control positivo).



Figura 9. Diferentes estadios larvales de *Phillophaga sp.* infectados por *H. bacteriophora*.

A los organismos que presentaron la sintomatología se les realizó un corte longitudinal para confirmar la presencia de los nematodo, en donde al 100% de los individuos se les encontró el nematodo. Este método se utilizó para poder confirmar la presencia del nematodo en el organismo no objetivo.

En cuanto a la muestra (lombriz de tierra), la sintomatología no era clara en comparación con el control positivo. Inicialmente se observó abscesos en diferentes individuos (Ver fig.10.a.). Posteriormente a la muerte de estos individuos se les realizó la prueba confirmatoria, donde se obtuvo como resultado positivo para el 100% de los individuos con abscesos (Ver fig. 10.b.).

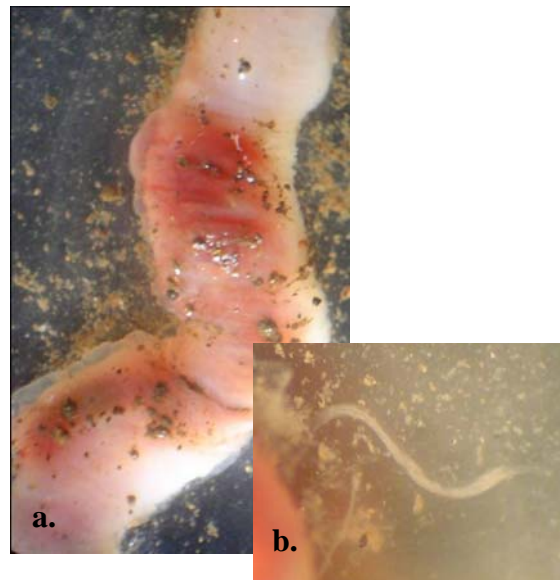


Figura 10. Sintomatología observada en posibles individuos infectados en la lombriz común de tierra. a. abscesos y abultaciones. b. prueba confirmatoria a

Ya identificada la sintomatología se determinó por medio de un análisis de X² que el efecto entomopatógeno no fue significativo entre el tamaño de la población inicial y la final por efecto *H. bacteriophora* (X²= 1.42, gl =1, p= 0.23). Se obtuvo una mortalidad de 27.28% en la población del organismo no objetivo (muestra).

En cuanto al testigo los resultados fueron los esperados, ya no hubo mortalidad, por lo que no hubo efecto entomopatógeno significativo entre el tamaño de la población inicial y final por efecto de *H. bacteriophora* (X²= 0, gl =1, p=1). Se obtuvo una mortalidad del 0% en la población del organismo no objetivo (testigo).

D.3. Estudio de factibilidad de la valoración de datos obtenidos del procedimiento de análisis de riesgo ambiental para la introducción de *A. swirskii* y *H. bacteriophora*

Para la realización de este punto de acuerdo con la literatura y expertos consultados el evaluador y elaborador del documento debe presentar una formación básica de la taxonomía e identificación, ecología y biología de controladores biológicos en general (Com. pers. P. Hanson, 2005).

D.3.1. Análisis de factibilidad de la valoración de los datos del análisis de riesgo ambiental de *A. swirskii*

- **Determinación exótica/nativa**

Como punto inicial de la valoración de datos, de acuerdo con la descripción y taxonomía se debe de determinar si es nativo o no lo es. En este caso para *A. swirskii* y de acuerdo con la consulta del especialista Dr. Hugo Aguilar Piedra, la especie es exótica para nuestro país.

- **Determinación del tipo de control biológico (aumentativo o clásico)**

Para determinar este punto el evaluador inicialmente debe manejar los conceptos sobre el control biológico clásico y aumentativo.

En términos muy sencillos el **control biológico clásico** se reconoce por la realización de introducciones de especies exóticas de parasitoides o depredadores. Implica también la búsqueda de enemigos naturales en el sitio de origen de la plaga y su posterior cría, multiplicación y liberación en los sitios donde la plaga a colonizado. Mientras el **control biológico aumentativo** (también denominado por aumento), se caracteriza por la forma de liberación la cual es masiva y periódica de entomófagos (inundativa), o de la liberación de unos pocos individuos que sobrevivirán varias generaciones (Madrigal, 2001).

Tomando en cuenta lo anterior se puede determinar que *A. swirskii* se debe de considerar como control biológico clásico. Al determinarse como control biológico clásico según el esquema de la figura 5, al ser determinado como control biológico clásico no es necesario que pase por el análisis de establecimiento; no obstante se evaluará a modo de práctica.

- **Establecimiento**

Para evaluar la probabilidad y magnitud de establecimiento de acuerdo con el cuadro 2. y tomando en cuenta la información suministrada del apartado de la sección 10.1 del procedimiento de análisis recomendado se puede obtener como resultado una probabilidad probable (valor asignado 4) pues las condiciones que presentan Costa Rica le resultan favorables a la oviposición, en cuanto a la magnitud es mayor del 50% de establecimiento en áreas no objetivo, nuevamente las condiciones que presenta Costa

Rica tanto físicas como ambientales son similares a las del sitio de origen del agente (valor asignado 5).

- **Ámbito de hospedantes**

En este caso el ámbito de hospedantes o mejor denominado comportamiento de alimentación, la especie *A. swirskii* tomando en cuenta solamente la información bibliográfica donde se indica que se alimenta de diferentes huevos de lepidópteros, acarinos, cocidos, aleurodoides llevan a la certeza que presenta un ámbito de hospederos superior a 30 especies llevando a una valoración de 5 en probabilidad y con respecto a la magnitud y observando que ataca especies de diferente orden se valora como masiva (valor asignado 5). El análisis realizado confirma la probabilidad del ámbito de hospedantes. De acuerdo con el esquema de la figura 5 el agente no debe ser liberado pues cabe en la casilla evaluado positivo, sin embargo el proceso puede continuar a petición del interesado.

- **Dispersión**

La información disponible de dispersión en este caso para *A. swirskii* es escasa. Lo único que se indica es la alta movilidad que tiene el agente, llevando a considerársele como buen dispersor. Para poder realizar el análisis de la dispersión sea realizado por el especialista propuesto (ver cuadro 1); no obstante, la valoración se realizó en este caso por el editor de este proyecto. El ácaro se utiliza para el control de plagas en sitios superiores a los 1000m asegurando que se encuentra en áreas superiores a ésta (valoración asignada 4). Y de acuerdo con experiencias en Europa la dispersión del ácaro en el área objetivo es superior a 25% (valoración asignada 5).

- **Efectos directos e indirectos a las especies**

Para la valoración de efectos directos e indirectos se debe de tomar en cuenta que el ácaro se alimenta también de polen además de otros organismos, aunque en las investigaciones realizadas en laboratorio se determinó que presenta un efecto significativo en la depredación de una especie no objetivo *Gynaikothrips garitacambronaroi* y la depredación fue de un 52.29%. Como se mencionó inicialmente se alimenta de otras fuentes que no se tomaron en cuenta en la investigación. El porcentaje de depredación es mucho menor en campo pues presenta otras fuentes de alimentación y las condiciones no son óptimas. En cuanto a la probabilidad de efectos

directos e indirectos la investigación demostró que son posibles (Efecto directo: depredación de una especie no objetivo, Efecto indirecto: competencia por depredación de *A. ramachandrai*) asignándosele un valor de 3. La magnitud de acuerdo con la investigación realizada y tomando en cuenta que no se analizaron variables importantes que se encuentran en campo se le asigna una mortalidad menor al 40%, siendo esta la casilla es la más acercada al valor obtenido en la investigación (valor asignado 2). Por otra parte el efecto de competencia que se encontró es casi nulo con *A. ramachandrai* pues se alimenta también de *A. swirskii* asignándosele la menor valoración 1 en magnitud y probabilidad.

- **Índice de valoración**

Cuadro 8. Determinación de índice de riesgo de *A. swirskii* controlador biológico.

A) Sitio en donde se pretende liberar: Costa Rica, zona metropolitana

Criterio	Probabilidad	Magnitud	P x M
Establecimiento	4	5	20
Dispersión	4	5	20
Ámbito de hospedantes	5	5	25
Efectos directos	3	2	6
Efectos indirectos	1	1	1

72

De acuerdo al índice de valoración de riesgo ambiental *A. swirskii* (ver cuadro 7) no debe ser liberado, a pesar de esto, debe tomarse en cuenta que el ensayo de ámbito de hospedantes se realizó en laboratorio sin la presencia de condiciones ambientales que afecten su alimentación y sin la presencia de otros posibles alimentos; por lo que se deben realizar otros estudios que determinen su verdadero efecto a otras especies que no sean objetivo. Otra opción es preguntar por el criterio del experto en el área si recomendaría o no la liberación del agente, tomando en cuenta los beneficios y las consecuencias de su liberación

D.3.2. Análisis de factibilidad de la valoración de los datos del análisis de riesgo ambiental de *H. bacteriophora*

- **Determinación exótica/nativa**

De acuerdo con la descripción y taxonomía se debe de determinar si es nativo o no lo es. En este caso para *H. bacteriophora* y de acuerdo con la consulta de la especialista MSc. Lidieth Uribe, la especie es nativa para nuestro país pues ya se han hecho aislamientos de esta especie en hospederos susceptibles. Se cuestionó los efectos de directos sobre la lombriz común de tierra.

- **Efectos directos e indirectos a las especies**

Al ser un organismo que infecta o no infecta el hospedante, se realizó el análisis para ver el efecto sobre una población conocida. Donde se obtuvo que no hay efecto entomopatógeno de *H. bacteriophora* sobre la población de lombrices. Al no haber efecto sobre la lombriz común de tierra, no existen efectos indirectos sobre los organismos que dependen de la lombriz común de tierra.

- **Índice de valoración**

H. bacteriophora al ser nativa, se obvia todos los pasos del análisis de riesgo ambiental, como lo indica el esquema de la figura 5. Y al no existir ningún efecto sobre la lombriz común de tierra se aprueba la liberación a menos que se exponga información que indique efectos indirectos y directos que pongan en peligro la flora y fauna de Costa Rica.

D.4. Síntesis del estudio de factibilidad del procedimiento de análisis de riesgo ambiental para la introducción de *A. swirskii* y *H. bacteriophora*

En ambos organismos se pudo analizar el riesgo ambiental y su respectiva valoración. La valoración se realizó con la dificultad de que no se pudo presentar toda la información requerida, u con otras dificultades. A continuación se detalla una lista con los puntos en donde hubo dificultad para encontrar la información requerida y su respectiva consecuencia.

Cuadro 9. Dificultades presentadas durante la aplicación del procedimiento en las especies *A. swirskii* y *H. bacteriophora*

Dificultad	Efecto
Ausencia de información en la sección 5.2	No afectó la valoración del riesgo ambiental de la especie <i>A. swirskii</i> .
Ausencia de información en la sección 5.7	No afectó la valoración del riesgo ambiental de la especie <i>A. swirskii</i> . Sin embargo es información importante que puede afectar la toma de decisiones.
La información de la sección 10.2 debe de obtenerse producto de investigación	Para el desarrollo de este punto se tomó más de tres meses en el análisis de una sola especie no objetivo.
La información de la sección 10.2 para su obtención requiere de instalaciones y laboratorios especializados, además de expertos en el área que corresponda a la taxonomía del insecto.	Presenta un costo que puede oscilar entre los \$3000-\$5000, para un estudio de una a dos especies. A demás no existe un procedimiento específico para la importación de agentes exóticos dificultando el proceso.
La información para la realización de la sección 10.2. es utilizada también en la sección 10.4. (es importante recordar que los costos de la sección 10.2 hacen sumamente costoso y tedioso el proceso de análisis)	Depende de los costos y tiempo del punto 10.2.

La mayor dificultad del procedimiento es la realización de la sección 10.2. Pero cabe la posibilidad de la realización de estos puntos de acuerdo al criterio del especialista en el área. Si el punto 10.2 se realiza tomando en cuenta las observaciones de los especialistas,

dejando por fuera la generación de datos producto de la investigación científica, tal y como se realiza en Estados Unidos, México y Canadá (NAPPO, 2000).

No obstante el procedimiento de riesgo ambiental demostró su capacidad en el análisis del nematodo entomopatógeno *H. bacteriophora*. Una igualdad que indica que los nematodos se deben de mantener a un proceso de regulación de invertebrados es la baja o nula toxicidad y el cuestionamiento de seguridad ambiental que presentan los artrópodos.

Se logró la realización de un procedimiento de análisis de riesgo ambiental y su respectiva metodología para la valoración de datos.

VI. CONCLUSIONES

1. Actualmente las empresas que trabajan en esta área se enfrentan un procedimiento no indicado para productos elaborados con invertebrados, por lo que se ha creado la necesidad de un nuevo proceso de regulación de invertebrados de uso de control biológico con la finalidad de realizar liberaciones ambientalmente seguras.
2. El nuevo procedimiento para el análisis de riesgo ambiental debe ser elaborado y evaluado por profesionales que hayan tenido la formación indicada con respecto a taxonomía, biología, ecología de invertebrados controladores biológicos y el mismo debe presentar un procedimiento de eficacia donde no se tome en cuenta los ensayos de campo, pero sí la literatura que compruebe su efecto el cual puede ser similar al propuesto en este documento.
3. Los efectos directos e indirectos sobre otras especies no objetivos en el uso de controladores biológicos invertebrados son los principales riesgos ambientales.
4. El origen, dispersión, establecimiento, ámbito de hospederos y efectos directos e indirectos son los principales criterios que deben ser considerados por los investigadores al determinar los riesgos ambientales que conllevan la introducción de invertebrados.
5. Se propuso un marco de trabajo donde la identificación, eficacia y riesgos en salud son aspectos primordiales que deben formar parte del proceso de regulación de invertebrados para control biológico demostró su utilidad y aceptación ante los diferentes expertos en control biológico en el país.
6. Se determinó una escala de valores de acuerdo a los datos generados producto del procedimiento recomendado como análisis de riesgo ambiental. Una vez realizada la valoración para una especie, no es necesario volver a realizarla para otros productos elaborados con la misma especie, siempre y cuando no se genere información nueva indicando lo contrario a la valoración inicial.

7. A través del procedimiento recomendado se evaluó el riesgo ambiental de la liberación e introducción de un nematodo entomopatógeno (*H. bacteriophora*) y un ácaro depredador (*A. swirskii*) provando que el procedimiento funciona.

VII. RECOMENDACIONES

1. Procurar la integración de profesionales, que presenten la formación académica indicada en las normativas internacionales para elaborar y evaluar información de productos elaborados con invertebrados.
2. Realizar un estudio de factibilidad a los puntos del proceso de regulación que no se les realizó (Todo lo demás al estudio de riesgo ambiental).
3. Procurar el mantenimiento y actualización de la lista de expertos periódicamente.
4. Realizar una posible lista de organismos benéficos y no benéficos (de control biológico que se les demostrara efectos en el ambiente), a través de la lista de expertos propuesta.
5. Una vez ya realizado el análisis de riesgo ambiental para una especie se debe de continuar revisando literatura con respecto a la especie periódicamente.
6. Para poder disminuir los costos del procedimiento la información de la sección 10.2. debe darse producto del criterio del experto en el área basado en literatura disponible de introducciones previas del agente a otros sitios exóticos, y no producto de investigación científica.
7. Unificar las secciones del análisis de riesgo ambiental 10.2 y 10.4

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Annual report of introduced beneficial organisms released in the United States and territories – 1983.
- Bathon, H. 1990. Impacto of Entomopathogenic Nematodes on Non-target Hosts. *Biocontrol Science and Technology* 6. Pp 421-432.
- Cave, 1995. Parasitoides de plagas agrícolas en América Central. Zamorano Escuela Agrícola Panamericana. Honduras, Tegucigalpa. Pp 202.
- Cranshaw, W. y Zimmerman, R. 1999. *Insect Parasitic Nematodos*. Colorado, United States. Colorado State University. Consultado el 5 de set. 2005. Disponible en www.colostate.edu/Depts/CoopExt/
- Distribution of the Italian fauna. Consultado el 2 de oct del 2005. Disponible en: <http://www.faunaitalia.it/invertebrates/families/phytoseiidae.html>
- El-Laithy & A.H. Fouly, 1992. Life table parameters of the two phytoseiid predators *Amblyseius scutalis* (Athias-Henriot) and *A. swirskii* A.-H. (Acari, Phytoseiidae) in Egypt. *J. Appl. Ent.* 113: 8-12.
- FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación), 1996. Código de conducta para la importación y liberación de agentes de control biológicos exóticos. 26 p.
- Hanson, P. y Hilje, L, 1993. *Control Biológico de Insectos*. Turrialba, Costa Rica. Centro Agronomico de Investigación y Enseñanza. p. 40
- Hoda, F.M., M.E. El-Naggar, A.H. Taha & G.A. Ibrahim, 1986. Effect of different types of food on fecundity of predacious mite *Amblyseius swirskii* Athias-Henriot (Acari: Phytoseiidae). *Bull. Soc. ent. Egypte* 66: 113-116.
- ICA (Instituto Colombiano Agropecuario), 2001. Reglamento Técnico en relación con el control de calidad, registros, comercialización, aplicación y uso de Bioinsumos y Extractos vegetales de uso agrícola, ICA, Bogota, 2001.

- Israel Ministry of Foreign Affairs, 2003. Climatic Conditions during the year in Israel. Consultado el 5 de enero del 2006. Disponible en: <http://www.mfa.gov.il>
- Lenteren, J y Loomans, A. 1999. An advanced quick scan method as a tool for environmental risk assessment of invertebrate biological control agents. Wageningen, The Netherlands. 1 - 2 p.
- Lenteren, J. 1997. Benefits and risks of introducing exotic macro-biological control agents into Europe. Bulletin OEPP/EPPO 27: 15-27
- Lenteren, J. Babendreier, D. Bigler, F. Burgio, G. Hokkanen, H. Kuske, S y Loomans, A. 2003. Environmental risk assessment of exotic natural enemies used in inundative biological control. BioControl 48: 3-28.
- Malais, M y Ravensberg, 2003. Knowing and recognizing. The biology of glasshouse pests and their natural enemies. Berkel en Rodenrijs, The Netherlands, Koppert B.V. 288 p.
- Momen, F.M. & S.A. El-Saway, 1993. Biology and feeding behaviour of the predatory mite, *Amblyseius swirskii* (Acari: Phytoseiidae). Acarologia 34(3): 199-204.
- NAPPO (Organización Norteamericana de protección a las plantas, 2000. "NAPPO Directrices sobre la petición para la liberación de agentes entomófagos exóticos para el control biológico de plagas", NAPPO, Octubre.
- Nomikou, M., A. Janssen, R. Schraag & M.W. Sabelis, 2001. Phytoseiid predators as potential biological control agents for *Bemisia tabaci*. Experimental and Applied Acarology 25: 271-291.
- OECD (Organisation for Economic Co-operation and Development), 2004. Guidance for Information Requirements for Regulation of Invertebrates as Biological Control Agents (IBCA). 22 p.
- Ragusa, S. & E. Swirski. 1975. Feeding habits, development and oviposition of the predatory mite *Amblyseius swirskii* Athias-Henriot (Acarina: Phytoseiidae) on pollen of various weeds. Israel Journal of Entomology 10: 93-103.

Retana, A. Ramirez, S. Peinador, M. 1996. Tabla de vida y observaciones de las agallas de *Gynaicothrips ficorum* (Thysanoptera: Phlaeothripidae) en el campo. Revista Biología Tropical 44(3)/45(1): 651-653.

Stock, P. 2004. Biología, ecología, y sistemática de nematodos parásitos de insectos. Una alternativa en el manejo integrado de plagas agrícolas y urbanas. San José, Costa Rica, Centro de Investigaciones Agronomicas (CIA). 80 p.

Swirski, E. & S. Amitai, 1997. Annotated list of phytoseiid mites (Mesostigmata: Phytoseiidae) in Israel. Israel Journal of Entomology 31: 21-46.

Swirski, E. & S. Amitai, 1997. Annotated list of phytoseiid mites (Mesostigmata: Phytoseiidae) in Israel. Israel Journal of Entomology 31: 21-46.

Swirski, E. Amitai, S. Dorzia, N. 1967. Laboratory studies on the feeding, development and reproduction of predaceous mites on various kinds of food substances. In Israel Agriculture Rehovot 17: 2.

www.mrree.gub.uy, 2005. El Tratado de Asunción, el Protocolo de Ouro Preto, la Decisión N° 6/96 del Consejo del Mercado Común. Visitado 14 de marzo de 2005. Disponible en:

www.mrree.gub.uy/Mercosur/GrupoMercadoComun/Acta04/anexo3.html

Yousef, A., A.H. El-Keifl & A.M. Metwally, 1982. Zur Wirkung von Temperatur und Photoperiode auf die Entwicklung, Ernährung und Eiablage der Raubmilbe *Amblyseius swirskii* Ath.-Henr. (Acari, Gamasida, Phytoseiidae). Anz. Schädlingskde., Pflanzenschutz, Umweltschutz 55: 107-109.

ANEXOS

ANEXO 1

Procedimiento propuesto por la Comisión para la elaboración de un procedimiento de regulación para invertebrados de uso agrícola nombrada por la institución alemana GTZ.