

Patógenos y parásitos para el control de la procesionaria del pino, *Thaumetopoea pityocampa* (D. y Schiff.) (Lep.: Notodontidae)

E. VARGAS OSUNA, J. MUÑOZ LEDESMA, H. K. ALDEBIS y C. SANTIAGO-ALVAREZ

Tres parasitoides, *Meteorus versicolor* Wesmael, *Phryxe caudata* Rond. y *Compsilura concinnata* Meig., y dos hiperparásitos, *Pteromalus chrysos* y *Gelis* sp., se encontraron asociados a poblaciones larvarias de *Thaumetopoea pityocampa* D. y Schiff. en pinares del Sur de España.

Se aislaron también tres entomopatógenos, dos cepas de *Bacillus thuringiensis* subesp. *aizawai* (H7), una de *B. thuringiensis* subesp. *konkukian* (H34), una del virus de la poliedrosis citoplásmica (VPC) y otra del hongo *Beauveria bassiana*.

Las larvas de cuarto estadio resultaron susceptibles a cepas de *B. thuringiensis* de los serotipos H7 (*B. thuringiensis* subesp. *aizawai*), H27 (*B. thuringiensis* subesp. *mexicanensis*), H34 (*B. thuringiensis* subesp. *konkukian*) y H37 (*B. thuringiensis* subesp. *andaluciensis*), aisladas de suelos andaluces y que forman parte de la colección de cepas autóctonas existente en la Cátedra de Entomología Agrícola de la ETSIAM de Córdoba.

E. VARGAS OSUNA, J. MUÑOZ LEDESMA, H. K. ALDEBIS y C. SANTIAGO-ALVAREZ. Cátedra de Entomología Agrícola. Departamento de Ciencias y Recursos Agrícolas y Forestales. ETSIAM. Universidad de Córdoba. Apartado de Correos 3048. 14080 Córdoba.

Palabras clave: *Thaumetopoea pityocampa*, parasitoides, patógenos, *Bacillus thuringiensis*.

INTRODUCCION

El notodóntido, *Thaumetopoea pityocampa* (D. y Schiff.), especie distribuida por toda la cuenca mediterránea (BALACHOWSKY, 1972) ocasiona daños de consideración en los pinares (ROBREDO, 1980).

Las orugas viven agrupadas y protegidas por un abrigo de naturaleza sedosa, denominado bolsón, del cual salen para alimentarse de las acículas más cercanas. En primavera, cuando las larvas alcanzan su máximo desarrollo, bajan del árbol en procesión para buscar un lugar adecuado en donde enterrarse a poca profundidad y confeccionar una cámara para pupar. Los daños no impiden normalmente la nueva brotación del pino

pero dificultan el crecimiento del árbol y crea un desequilibrio funcional que favorece el ataque de otras especies fitófagas (GÓMEZ DE AIZPÚRUA, C., 1986).

La lucha química viene siendo la forma habitual del control de esta especie mediante tratamientos aéreos con insecticidas de síntesis con bajo poder residual (fenitrotión, cipermetrina, deltametrín, etc.) (LIÑÁN, 1992) o inhibidores de la síntesis de la quitina como el diflubenzurón (ROBREDO, 1980).

El carácter gregario de las larvas de *T. pityocampa* y la naturaleza estable del ecosistema en el que se desarrollan, son apropiados para el empleo de enemigos naturales como agentes de control de sus poblaciones. Los insecticidas microbianos a base de *Ba-*

cillus thuringiensis subesp. *kurstaki* en aplicaciones aéreas a UBV se han empleado con notable éxito (ROBREDO y OBAMA, 1987).

El presente trabajo tiene por objeto el reconocimiento de parásitos y patógenos asociados a poblaciones naturales de *T. pityocampa* en Andalucía para su posible utilización como agentes de control de esta especie.

MATERIALES Y METODOS

Las prospecciones de campo se llevaron a cabo por pinares de las provincias de Córdoba, Granada y Jaén desde noviembre de 1992 a marzo de 1993. Los bolsones recogidos se trajeron al laboratorio donde periódicamente se les aportaban acículas frescas procedentes del mismo lugar de recogida. Se realizaron observaciones diarias para extraer de los bolsones las larvas parasitadas, muertas o con sintomatología anormal. Los parásitos se determinaron mediante claves y posteriormente se enviaron a especialistas para la confirmación específica.

Los agentes causales de la muerte y sintomatología anormal se determinaron, aislaron y caracterizaron de acuerdo a las técnicas descritas por POINAR y THOMAS (1984). Las cepas de *B. thuringiensis* aisladas se identificaron por serología siguiendo el método descrito por DE BARJAC (1981).

Para la determinación de los virus ocultos se procedió a su purificación por centrifugación diferencial en gradiente discontinuo de sacarosa y al estudio morfológico de los cuerpos de inclusión y viriones mediante microscopía electrónica de transmisión, según el método descrito por VARGAS-OSUNA *et al.* (1994).

La toxicidad para *T. pityocampa* de algunas cepas de *Bacillus thuringiensis*, aisladas de suelos andaluces, pertenecientes a la colección de la Cátedra de Entomología Agrícola de la ETSIAM de Córdoba, se comparó con la de la cepa de *B. thuringiensis* subesp. *kurstaki*, base del producto comercial Bactospeine. Se emplearon larvas de cuarta edad recogidas en un pinar de El

Cabril, en la Sierra de Hornachuelos, en enero de 1993.

Las suspensiones de los productos bacterianos se obtuvieron por multiplicación de cada cepa en medio de cultivo líquido. A grupos de 15 larvas confinadas en cajas Petri de plástico se les ofrecen acículas tratadas por inmersión con la correspondiente suspensión bacteriana en agua que contenía 0,1 % de Tween 80. A las larvas testigo se les ofrecen acículas previamente sumergidas en agua destilada con mojante. Las condiciones de los ensayos fueron de 26° C, 70 % HR y fotoperiodo de 14 h luz: 10 h oscuridad. Debido al modo de acción de esta bacteria, primero toxemia y posterior invasión corporal por la espora (HUBER y LÜTHY, 1981), dos días después de la muerte de las larvas se hicieron los correspondientes diagnósticos para determinar la presencia de células vegetativas de *B. thuringiensis* en la hemolinfa.

RESULTADOS Y DISCUSION

Las especies de parasitoides y patógenos asociadas a las poblaciones larvianas de *T. pityocampa* en las zonas de muestreo se indican en el Cuadro 1.

Los taquínidos *Phryxe caudata* Rond. y *Compsilura concinnata* Meig. han sido citados con anterioridad en España como parásitos de la procesionaria del pino. *Phryxe caudata*, que emergió de hasta el 4 % de las larvas presentes en un mismo bolsón, es un parásito específico que puede acompañar a *T. pityocampa* durante su prolongada diapausa (CABRAL, 1979). Por ello, se le considera de importancia para el control natural de esta especie y puede ser un candidato apropiado para su empleo como agente de lucha biológica. En cambio, *Compsilura concinnata*, bastante frecuente especialmente en Baleares, no es específico de la procesionaria (MAPA, 1981), por lo que para su empleo en lucha biológica se debe estudiar previamente la relación que guarda con las otras especies hospedadoras.

Cuadro 1.—Patógenos y parásitos asociados a poblaciones de *Thaumetopoea pityocampa* en Andalucía

Situación taxonómica			Fecha	Localidad
VIRUS	Reoviridae	Virus de la Poliedrosis Citoplásmica (VPC)	7/2/93	Cazorla (Jaén)
HONGOS	Deuteromicetos	<i>Beauveria bassiana</i>	24/11/92	Córdoba
BACTERIAS	Bacillaceae	<i>Bacillus thuringiensis</i>	7/2/93	Cazorla (Jaén)
		Serotipo H7 subesp. <i>aizawai</i>	1/11/92	Córdoba
		Serotipo H34 subesp. <i>konkukian</i>	7/2/93	Cazorla (Jaén)
INSECTOS	HYMENOPTERA Braconidae Ichneumonidae Pteromalidae	<i>Meteorus versicolor</i> Wesmael	/2/93	Orgiva (Granada)
		<i>Gelis</i> sp.		
		<i>Pteromalus chrysos</i> Walker		
	DIPTERA Tachinidae	<i>Phryxe caudata</i> Rond.	15/11/93	Muriano (Córdoba)
		<i>Compsilura concinnata</i> Meig.	7/2/93 7/2/93	Cazorla (Jaén) Cazorla (Jaén)

El endoparásito solitario *Meteorus versicolor* Wesmael fue el himenóptero que se encontró con mayor frecuencia en los bolsos recogidos. Esta especie, al parecer, utiliza a *T. pityocampa* como hospedador durante el invierno, mientras que en primavera parasita otras especies, como *Lymantria dispar* y *Euproctis chryorrhoea* (CADAHIA *et al.*, 1967). De algunas pupas de este parasitoides emergieron dos especies de hiperparásitos, el ichneumónido *Gelis* sp., que oviposita en los capullos del parásito primario, y *Pteromalus chrysos*, especie ampliamente distribuida en Europa, citada como hiperparásito de muchas especies de lepidópteros (HUDDLESTON, comun. pers.) y asociada también a *T. pityocampa* en Italia (GRAHAM, 1969).

Algunas larvas que presentaban retraso en el crecimiento y movilidad reducida se vio que estaban infectadas por el virus de la poliedrosis citoplásmica (VPC). En las células columnares del mesenterón se detectaron cuerpos de inclusión poliédricos que contenían partículas virales de la forma y tamaño característicos de este tipo de virus (Figura 1), que ha sido citado con anterioridad en poblaciones larvarias de *T. pityocampa* (VAGO, 1958). En España fue detectada su

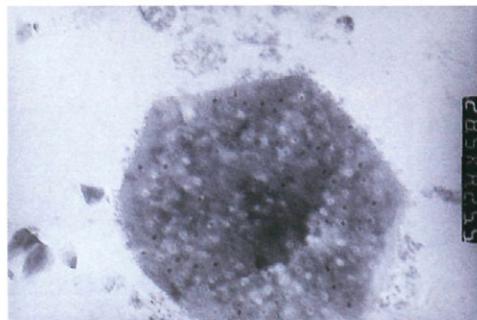


Fig. 1.—Cuerpo de inclusión, al microscopio electrónico de transmisión, del Virus de la Poliedrosis Citoplásmica aislado de larvas de *Thaumetopoea pityocampa*.

presencia, con carácter epizootico, en el Norte de la Península (GÓMEZ DE AIZPÚRUA y RUPÉREZ, 1968). La situación enzoótica de la virosis en nuestra área de estudio puede indicar baja presencia del inóculo o alta resistencia de la población larvaria de *T. pityocampa* a la infección por el VPC. No obstante, las posibilidades prácticas de este virus son grandes como ha sido puesto de manifiesto por ensayos en campo (GRISON, 1961; GRISON *et al.*, 1959; GÓMEZ DE AIZPÚRUA y RUPÉREZ, 1968).

Algunas larvas se encontraron micosadas y de ellas se aisló el hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana*, especie que ya ha sido citada en la Península Ibérica sobre *T. pityocampa* (CABRAL, 1979) y que es frecuente encontrarla en Andalucía afectando a insectos de diversos órdenes (SANTIAGO-ALVAREZ, 1991).

De las larvas en las que se encontró *B. thuringiensis* en su hemocele se aislaron cepas de la bacteria, pertenecientes a los serotipos H7, *B. thuringiensis* subesp. *aizawai* y H34, *B. thuringiensis* subesp. *konkukian*. El serotipo H7 se ha aislado en España de ortópteros y lepidópteros (ALDEBIS *et al.*, 1994) e incluso de suelo en la Península (SANTIAGO-ALVAREZ y ALDEBIS, 1991) e Islas Canarias (datos no publicados). Por otro lado, el H34 se encontró por primera vez en suelos del Extremo Oriente (INSTITUTO PASTEUR, 1992) y se ha aislado también de suelos de Andalucía (datos no publicados).

Las larvas de *T. pityocampa* son susceptibles a las cepas de *B. thuringiensis* aisladas del suelo, pertenecientes a los serotipos H7 (*B. thuringiensis* subesp. *aizawai*), H27 (*B. thuringiensis* subesp. *mexicanensis*), H34 (*B. thuringiensis* subesp. *konkukian*) y H37

(*B. thuringiensis* subesp. *andaluciensis*) (Cuadro 2). De las cinco cepas ensayadas la correspondiente al serotipo H7 presenta una alta actividad, similar a la del serotipo 3a3b3c (*B. thuringiensis* subesp. *kurstaki*) base del producto comercial Bactospeine. Las restantes cepas presentan una menor actividad; no obstante, dado que la cepa del serotipo H37, *B. thuringiensis* subesp. *andaluciensis*, recientemente descrito (SANTIAGO-ALVAREZ *et al.*, 1994), sólo ha resultado tóxica para *T. pityocampa* se está procediendo a ensayar sobre esta especie todas las cepas existentes en la colección.

AGRADECIMIENTOS

Los autores desean expresar su agradecimiento al Dr. H. P. Tschorsnig y al Dr. T. Huddleston por la identificación de las especies de taquínidos y de himenópteros, respectivamente.

Asimismo, agradecemos a la Comisión Interministerial de Ciencia y Tecnología, a través del Proyecto AGR90-0445, el apoyo económico gracias al cual ha sido posible la realización del presente trabajo.

Cuadro 2.—Pruebas de patogenicidad de cepas de *B. thuringiensis* sobre larvas de cuarto estadio de *Thaumetopoea pityocampa*

Cepas	Dosis*	N	Mortalidad larvaria	
			n	%
Testigo	0	15	0	0,0
EA 10090	$2,7 \times 10^5$	15	15	100,0
<i>B. th.</i> subesp. <i>aizawai</i>	$2,7 \times 10^6$	15	15	100,0
EA 10190	$2,6 \times 10^5$	15	6	40,0
<i>B. th.</i> subesp. <i>andaluciensis</i>	$2,6 \times 10^6$	15	10	66,7
EA 10390	$1,9 \times 10^5$	15	2	13,3
<i>B. th.</i> subesp. <i>mexicanensis</i>	$1,9 \times 10^6$	15	15	100,0
EA 10490	$2,2 \times 10^5$	15	6	40,0
<i>B. th.</i> subesp. <i>konkukian</i>	$2,2 \times 10^6$	15	9	60,0
Bactospeine	$2,7 \times 10^5$	15	15	100,0
<i>B. th.</i> subesp. <i>kurstaki</i>	$2,7 \times 10^6$	15	15	100,0

* Dosis en cristales + esporas/ μ l.

N: número de larvas tratadas.

ABSTRACT

VARGAS OSUNA, E.; MUÑOZ LEDESMA, J.; ALDEBIS, H. K. y SANTIAGO-ALVAREZ, C., 1994: Pathogens and parasites for control of *Thaumetopoea pityocampa* (D. y Schiff.) (Lep.: Notodontidae). *Bol. San. Veg. Plagas*, 20(2): 511-515.

Three parasitoids, *Meteorus versicolor* Wesmael, *Phryxe caudata* Rond. and *Compsilura concinnata* Meig. and two hyperparasitoid species, *Pteromalus chrysos* and *Gelis* sp., were found associated with larval populations of *Thaumetopoea pityocampa* (D. y Schiff.) in Southern Spain.

Also from *T. pityocampa* larvae were isolated two strains of *Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai* (H7), one of *B. thuringiensis* subsp. *konkukian* (H34), one of cytoplasmic polyhedrosis virus (CPV), and one of *Beauveria bassiana*.

Fourth-instar *T. pityocampa* larvae were susceptibles to four *B. thuringiensis* strains from serotypes H7 (*B. thuringiensis* subsp. *aizawai*), H27 (*B. thuringiensis* subsp. *mexicanensis*), H34 (*B. thuringiensis* subsp. *konkukian*) y H37 (*B. thuringiensis* subsp. *andalucensis*), isolated from soils in Andalucía and belonging to the autochthonous strains collection of Cátedra de Entomología Agrícola of ETSIAM, University of Córdoba.

Key words: *Thaumetopoea pityocampa*, parasitoids, pathogens, *Bacillus thuringiensis*.

REFERENCIAS

- ALDEBIS, H. K.; VARGAS OSUNA, E. y SANTIAGO-ALVAREZ, C., 1994: Caracterización serológica de cepas de *Bacillus thuringiensis* Berliner aisladas de insectos españoles. *Bol. San. Veg. Plagas* (en prensa).
- BALACHOWSKY, A. S., 1972: *Entomologie appliquée à l'Agriculture*. Tomo II. Volumen 2. pp. 1249. Masson et Cie. París.
- BARJAC, H. DE, 1981: Identification of H-serotypes of *Bacillus thuringiensis*. En *Microbial control of pests and plant diseases 1970-1980* (H. D. Burges, ed.), pp. 35-43. Academic Press. London.
- CABRAL, M. T., 1979: Contribução para o conhecimento da tabela de vida da processionária do pinheiro (*Thaumetopoea pityocampa* Schiff.). *Anais do Instituto Superior de Agronomia*, 38: 181-195.
- CADAHIA; DEMOLIN y BIBLIOTI, 1967: *Meteorus versicolor* Wesm. var. *decoloratus* Ruthe (Hym. Braconidae) parasite nouveau de *Thaumetopoea pityocampa* Schiff. (Lep. Thaumetopoeidae). *Entomophaga*, 12: 355-361.
- GÓMEZ DE AIZPÚRUA, C., 1986: Biología y morfología de las orugas Lepidoptera. Vol. 2. Cossidae-Sphingidae-Thaumetopoeidae- Lymantriidae-Arctiidae. *Bol. San. Veg.*, Fuera de Serie 6: 1-239.
- GÓMEZ DE AIZPÚRUA, C. y RUPÉREZ, A., 1968: Epizootia espontánea sobre *Thaumetopoea pityocampa* Schiff., causada por un virus citoplásmico, *Smithia-virus pityocampae* VAG. *Graellsia*, 23: 221-226.
- GRAHAM, M. W. R. de V., 1969: The Pteromalidae of north-western Europe (Hymenoptera: Chalcidoidea). *Bulletin of the British Museum Natural History (Entomology)*, Supplement 16: 527-528.
- GRISON, P., 1961: Les méthodes de lutte microbiologique contre la processionnaire du pin. *Phytiatrie-Phytopharmacie*, 10: 205-210.
- GRISON, P.; MAURY, R. y VAGO, C., 1959: La lutte contre la processionnaire du pin *Thaumetopoea pityocampa* Schiff. dans le Massif du Ventroux. Essai d'utilisation pratique d'un virus spécifique. *Rev. Forest. Franc.*, 5: 353-370.
- HUBER, E. y LÜTHY, P., 1981: *Bacillus thuringiensis* delta-endotoxin: composition and activation. En: *Pathogenesis of Invertebrate Microbial Diseases*. E. W. Davidson, Ed. pp. 208-234. Allanheld, Osmun. New Jersey.
- INSTITUTO PASTEUR, 1992: Collection of *Bacillus thuringiensis* and *Bacillus sphaericus* (classified by H Serotypes). *Catalogue of strains n.º 1*. International Entomopathogenic Bacillus Centre. París.
- LIÑÁN, C., 1992: *Vademecum de productos fitosanitarios y nutricionales 1992*. C. Liñán, Ed. Madrid. 540 pp.
- MAPA, 1981: *Plagas de insectos en las masas forestales españolas*. pp. 51-64.
- POINAR, G. O. y THOMAS, G. M., 1984: *Laboratory guide to insect pathogens and parasites*. 392 pp. Plenum Press. New York.
- ROBREDO, F., 1980: Tratamientos masivos con diflubenzuron contra la processionaria del pino en España. *Bol. Serv. Plagas*, 6: 141-154.
- ROBREDO, F. y OBAMA, E., 1987: Soybean oil as ULV carrier in forest spraying using *Bacillus thuringiensis*. *Maed. Fac. Landbouww. Rijksuniv. Gent.*, 52: 757-762.
- SANTIAGO-ALVAREZ, C., 1991: The knowledge of fungal entomopathogens in Spain. *IOBC/WPRS Bulletin*, XIV/7: 85-89.
- SANTIAGO-ALVAREZ, C. y ALDEBIS, H. K., 1991: Two *Bacillus thuringiensis* strains active against *Spodoptera litoralis* y *Spodoptera exigua*. *Internacional Conference on the biology of Bacillus thuringiensis*, 28-31 julio. Oxford.
- SANTIAGO-ALVAREZ, C.; LÓPEZ-ESCUADERO, J.; ALDEBIS, H. K.; VARGAS-OSUNA, E.; COSMAO DUMANOIR, V.; FRACHON, E. y BARJAC, H. de, 1994: A new serotype of *Bacillus thuringiensis* from Spain. *J. Invertebr. Pathol.* (en prensa).
- VAGO, C., 1958: Virose intestinale chez la Processionnaire du pin *Thaumetopoea pityocampa* Schiff. (Lepidoptera). *Entomophaga*, 3: 35-37.
- VARGAS-OSUNA, E.; ALDEBIS, H. K.; CABALLERO, P.; LIPA, J. J. y SANTIAGO-ALVAREZ, C., 1994: A newly described *Baculovirus* (subgroup B) from *Ocnogyna baetica* (Rambur) (Lepidoptera: Arctiidae) in Southern Spain. *J. Invertebr. Pathol.*, 63: 31-36.