

BOLETÍN DE SANIDAD VEGETAL

VOLUMEN 33 - NÚMERO 4 - 2007 - 4º Trimestre

PLAGAS



MINISTERIO
DE AGRICULTURA, PESCA
Y ALIMENTACIÓN

SECRETARÍA GENERAL
DE AGRICULTURA Y
ALIMENTACIÓN

DIRECCIÓN GENERAL
DE AGRICULTURA

BOLETIN PLAGAS

Este Boletín publica bajo la forma de artículos los resultados de investigación científica o aplicada en los campos de la sanidad vegetal y ciencias afines. Los trabajos no podrán presentarse al mismo tiempo para su publicación en otra revista, sin autorización del Consejo de Redacción. Esta autorización comportará la obligación de mencionar el origen del artículo y nombre del autor. Los trabajos publicados en el Boletín reflejan únicamente los criterios de sus autores.

SUSCRIPCIONES

Las suscripciones al Boletín de Sanidad Vegetal Plagas, de publicación trimestral, así como la venta de números ya aparecidos, deberán solicitarse a:

Centro de Publicaciones
Paseo Infanta Isabel, 1
28014 Madrid (España)
Fax: 91 347 57 22
e-mail: mcruzpf@mapya.es
El precio de suscripción anual:
España 43,00 euros
Extranjero 59,50 euros
Número suelto 14,60 euros

El pago se efectuará mediante cheque bancario nominativo a: «M.A.P.A. - Publicaciones» o por giro postal a la dirección arriba indicada.

INTERCAMBIOS

Este Boletín puede ser objeto de intercambio con otras publicaciones cuya temática sea afín. Para establecer dicho intercambio, las instituciones deberán dirigirse a la redacción del mismo.

NUESTRA PORTADA



Detalle de hojas de *Eucalyptus globulus* con presencia de lesiones características de *Mycospharella*.

INSTRUCCIONES A LOS AUTORES

Texto: Los manuscritos deben ser redactados de manera concisa y dactilografiada de forma clara, con amplios márgenes, párrafos separados y a doble espacio, incluidos el resumen, leyendas a las figuras y cuadros, referencias y notas al pie. De forma general se tendrá en cuenta el esquema usual de presentación: Introducción. Material y métodos. Resultados. Discusión. Resumen en español e inglés y, en su caso, en el idioma del texto. Referencias bibliográficas. El título deberá estar seguido por el nombre del autor o autores, la afiliación institucional, la dirección postal completa y la dirección de correo electrónico cuando proceda, indicando a la redacción cuál es la persona de contacto. Los resúmenes en español deberán estar seguidos de listado de palabras clave. El resumen en los idiomas distintos al del texto, o "abstract", deberá ir precedido de la referencia bibliográfica correspondiente. Los nombres latinos deberán subrayarse o dactilografiarse en tipo de letra diferente al del texto.

Para autores extranjeros que así lo deseen, podrá publicarse su trabajo en el idioma original, incorporando un resumen en español e inglés.

Los manuscritos deberán enviarse en soporte magnético acompañados de dos copias en papel. En el caso de que un mismo autor envíe más de un manuscrito, cada trabajo se remitirá en un disco distinto. Deberán tener la siguiente extensión máxima, incluidos figuras y cuadros según se trate de:

Artículo: 16 páginas.

Comunicación: 1000 palabras, que pueden incluir figuras y cuadros.

Nota: 500 palabras que, excepcionalmente podrá incluir alguna figura. Para mayor rapidez las notas pueden enviarse por correo electrónico: aburgosr@mapya.es.

Figuras y cuadros: Los dibujos deben ser los originales y dispuestos para la impresión, con leyendas claras y rótulos de no menos de 2 milímetros de altura para que admitan una posible reducción a ancho de caja o ancho de columna.

Se recomienda la aportación de fotografías en color, que deben ser recortadas y encuadradas en el caso de diapositivas, reduciendo el campo a las imágenes esenciales.

Los pies de las figuras deben presentarse en hoja aparte, numeradas, entendiéndose como tales gráficos, figuras y fotografías. Los cuadros deberán numerarse y con su número se referirán en el texto, para independizarlos del mismo. Tanto las figuras como los cuadros deben situarse, aproximadamente, mediante indicaciones en los márgenes del manuscrito.

Referencias: Las referencias bibliográficas aparecerán en el texto mediante el nombre del autor, en mayúsculas, seguido del año, de la forma siguiente:

GARCIA-JIMENEZ, J., VELAZQUEZ, M. T., ALFARO, A. 1989. Secuencia de síntomas en el colapso del melón. *Bol. San. Veg. Plagas*, 15 (4): 333-342.

Para remisión de artículos y demás información dirigirse a la Redacción del Boletín:

Subdirección General de Agricultura Integrada y Sanidad Vegetal

Redactora Jefe de la Revista Boletín de Sanidad Vegetal - Plagas

Alfonso XII, 62

28014 MADRID (España)

VOLUMEN 33
n m. 4
2007
4.º Trimestre

DIRECTOR

Francisco Mombiola

DIRECTORA ADJUNTA

Cristina Clemente

REDACTORA JEFE

Adela Burgos

CONSEJO DE REDACCIÓN

Antonio Bello

Juan I. Calvo

José M.º Cobos

Pedro del Estal

José García-Jiménez

Concepción Jordá

Alfredo Lacasa

Cristina Noval

Cándido Santiago

Julio C. Tello

Juan J. Tuset

Carlos Zaragoza

EDITOR

Centro de Publicaciones

Agrarias, Pesqueras y

Alimentarias

ISSN: 0213-6910

NIPO: 251-07-014-1

Depósito Legal: M-2975-1976

Imprime: I.G. Saljen, S.L.

SUMARIO

ENTOMOLOGÍA

I. ARMENDÁRIZ, L. DE LA IGLESIA, Y. SANTIAGO, G. CAMPILLO, C. ALBERTE, L. MIRANDA, S. JUÁREZ, A. PÉREZ-SANZ. Ciclo del prays del olivo (*Prays oleae* Bern.) en Arribes del Duero 443

M. V. MUJICA, I. B. SCATONI, J. FRANCO, S. NUÑEZ, C. M. BENTANCOURT. Fluctuación Poblacional de *Frankliniella occidentalis* (Pergande) (Thysanoptera: Thripidae) en *Vitis vinifera* L. cv. Italia en la Zona Sur de Uruguay 457

L. VALVERDE, E. VIRLA. Parasitismo natural de huevos de las principales especies de Noctuidae (Lepidoptera) plagas en el cultivo de soja en Tucumán, Argentina 469

I. ARMENDÁRIZ, G. CAMPILLO, A. PÉREZ-SANZ, C. CAPILLA, J. S. JUÁREZ, L. MIRANDA. La polilla del racimo (*Lobesia botrana*) en la D.O. Arribes, años 2004 a 2006 477

A. IBÁÑEZ-JUSTICIA, A. SOTO, M. MARTÍNEZ GONZALVO, E. PÉREZ-LAORGA ARIAS. Distribución y abundancia de *Lymantria dispar* (Linnaeus, 1758) (*Lepidoptera: Lymantriidae*) en las principales masas de carrasca *Quercus ilex* (L.) subsp. *rotundifolia* (Lam.) y alcornoque *Quercus suber* (L.) de la Comunitat Valenciana 491

PATOLOGÍA

L. OTERO, O. AGUÍN, M. J. SAINZ, J. P. MANSILLA. El género *Mycosphaerella* en plantaciones de *Eucalyptus* de Galicia 503

ANA J. GONZÁLEZ, M. ROSARIO RODICIO. Caída de botón floral en kiwi causada por *Pseudomonas viridiflava* y *Pseudomonas syringae* en el Principado de Asturias 517

M. E. SÁNCHEZ, N. LUCHI, J. E. SÁNCHEZ, J. J. JIMÉNEZ, A. TRAPERO, P. CAPRETTI. La podredumbre radical del pinsapo I: Identificación específica del agente causal 527

P. DE VITA, J. J. JIMÉNEZ, A. TRAPERO, P. CAPRETTI, M. E. SÁNCHEZ. La podredumbre radical del pinsapo II: Diseminación de *H. abietinum* en bosques de *Abies pinsapo* 537

D. RODRÍGUEZ-JURADO, J. BEJARANO-ALCÁZAR. Dispersión de *Verticillium dahliae* en el agua utilizada para el riego de olivares en Andalucía 547

TERAPÉUTICA

- E. B. COUTO, C. F. WILCKEN, F. B. SARRO, E. D. VELINI. Avaliação de metil jasmonato na indução de resistência de plantas de *Eucalyptus* spp. ao psilídeo-de-concha *Glycaspis brimblecombei* Moore (Hemiptera: Psyllidae) 563
- M. BOTTON, A. NONDILLO, M. ZART, S. PINENT, W. GENTA. Avaliação de inseticidas para o controle de *Frankliniella rodeos* (Moulton, 1933) (Thysanoptera: Thripidae) em uva de mesa no Brasil 575

OTROS TEMAS

- J. SNAIKI, A. NADIF, M. OUHSSINE. El establecimiento de una cartografía de algunas plagas de la remolacha azucarera de la región del Gharb en Marruecos 581
- J. E. ARAYA, T. CURKOVIC, A. CAYO. Uso de irradiación gamma como método de control cuarentenario de *Frankliniella australis* (Morgan) (Thysanoptera: Thripidae) 589
- RECENSIÓN DE PUBLICACIONES 595

Ciclo del prays del olivo (*Prays oleae* Bern.) en Arribes del Duero

I. ARMENDÁRIZ, L. DE LA IGLESIA, Y. SANTIAGO, G. CAMPILLO, C. ALBERTE, L. MIRANDA, S. JUÁREZ, A. PÉREZ-SANZ

Durante los años 2004 a 2007 en el marco del Proyecto INTERREG III-A "MOA-BAPE" se están realizando estudios en olivares de la zona de Arribes del Duero (Castilla y León). Entre los objetivos del proyecto está el del conocimiento del ciclo biológico de una de las principales plagas, el prays del olivo (*Prays oleae*), buscando sus enemigos naturales e intentando formular modelos predictivos. La presencia de adultos fue comprobada semanalmente entre los meses de marzo y noviembre mediante el uso de trampas delta con feromonas. En distintos momentos del ciclo se procedió a la recogida de hojas, flores y frutos. Se presentan las curvas de vuelo y se relacionan con datos meteorológicos; humedad y temperatura. Se comprueba la presencia de las tres generaciones anuales: filófaga, antófaga y carpófaga, valorando los daños ocasionados por cada una de ellas. Se concluye que tanto la presencia de prays como sus daños son reducidos en esta zona de cultivo. Teniendo datos completos únicamente de dos años son necesarias más campañas para afinar en la biología y modelización de la especie de cara a la predicción y racionalización de tratamientos.

I. ARMENDÁRIZ, L. DE LA IGLESIA, Y. SANTIAGO, G. CAMPILLO, C. ALBERTE, L. MIRANDA, S. JUÁREZ, A. PÉREZ-SANZ. Dpto. de Hortofruticultura. Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León. Ctra. Burgos Km. 119, 47071 Valladolid (España). ita-armgonig@itacyl.es

Palabras clave: Castilla y León, daños, plagas, meteorología, integral térmica.

INTRODUCCIÓN

El cultivo del olivo está limitado por las condiciones climáticas en Castilla y León a las provincias de Ávila y Salamanca y, en menor proporción, a Zamora y Valladolid. Según los datos oficiales (MAPA, 2005), la superficie cultivada en la región es de 7.200 ha, cifra muy pequeña si se compara con el total nacional, 2.456.000 ha, siendo España el primer productor mundial de aceite de oliva. Esta pequeña superficie está también relacionada con el modo de explotación, al que en muchos casos se puede considerar de subsistencia. En general no se encuentran grandes olivares, sino pequeñas masas asociadas a otros cultivos como la vid o el

almendro. La producción está destinada principalmente al consumo local, sin existir ninguna figura de calidad asociada, lo cual no impide que el producto final sea muy apreciado por los consumidores.

Es frecuente la localización de estos olivos en terrazas sobre las laderas de gran pendiente de esta zona. Esta característica así como la edad avanzada de los olivos, el elevado riesgo de abandono de este cultivo por el envejecimiento de los agricultores y los bajos rendimientos conseguidos por la escasa tecnificación del cultivo, ponen en peligro la conservación de estos olivares de gran valor ambiental y social.

La zona conocida como Arribes del Duero está en el límite norte del cultivo del olivo en

Castilla y León y se reparte entre las provincias de Zamora y Salamanca. El clima de la meseta castellana presenta rasgos claros de continentalidad, con marcadas oscilaciones térmicas diarias y estacionales y extremos típicos; inviernos rigurosos y veranos calurosos y secos. Sin embargo en las laderas ribereñas del Duero esta oscilación térmica se atenúa, pudiéndose hablar de un microclima que permite la presencia de cultivos típicamente mediterráneos como la vid, el almendro y el olivo.

Dentro del proyecto de Cooperación Transfronteriza "Identificación de los agentes patógenos y beneficiosos de los principales cultivos de las regiones fronterizas Tras Os Montes y Castilla y León para la realización de estrategias de control razonadas" (MOABEPE), financiado por INTERREG III-A, se ha llevado a cabo el estudio durante los años 2004 a 2007 de olivares en Arribes del Duero. En dicho proyecto participan, por parte española, el Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León, y por parte portuguesa, la Escola Superior Agrária de Bragança y la Direcção Regional de Agricultura de Tras-Os-Montes.

Desde el punto de vista agronómico y biológico, la escasa presencia del olivo en la zona condiciona el manejo del cultivo en cuanto a la presencia de plagas, fauna auxiliar y control fitosanitario. En principio, un menor número de tratamientos fitosanitarios redundaría en una entomofauna más diversa que facilita un control natural de plagas. Un mayor conocimiento del ciclo de las plagas y las posibilidades de previsión ayudarán a un uso más racional y efectivo de los productos químicos.

La polilla del olivo (*Prays oleae* Bernard, 1788) es, junto a la mosca del olivo (*Bactrocera oleae* Gemlin, 1788), la principal plaga del olivar en la zona. Presenta tres generaciones anuales que se denominan en función de la parte del árbol afectada. Así la primera es la filófaga, cuyas larvas en invierno se alimentan de hojas y brotes. Los adultos resultantes de esta generación producen una nueva generación en primavera, la antófaga,

que ataca a las flores. La tercera y última generación es la más dañina y se conoce como carpófaga, ya que ataca a los frutos, provocando su caída en dos momentos del año. Se desarrolla en verano y las puestas de otoño originarán la generación filófaga del siguiente año.

Las poblaciones de *P. oleae* están sometidas en condiciones naturales a ciertos controles, climáticos y de otros tipos, que regulan las poblaciones. Si la humedad relativa desciende del 50-60% los huevos se desecan en unas horas. Temperaturas superiores a 30°C y humedades menores al 20% dificultan la entrada de larvas en los frutos. Idénticas temperaturas y humedades superiores al 70% provocan la muerte de los huevos (CIVANTOS, 1998). Las temperaturas bajas en invierno y altas en verano provocan la mortalidad de huevos y larvas (BARRANCO *et al.*, 2006). Existe una dependencia altamente significativa entre la mortalidad de las larvas filófagas invernantes y el número de días del invierno con temperatura mínima igual o inferior a 0°C, mientras que en el caso de larvas de quinta edad y crisálidas, es la temperatura mínima el factor climático que influye decisivamente (RAMOS *et al.*, 1978). Temperaturas inferiores a 10-12°C reducen la actividad de los adultos, pudiendo ser nocivas si están por debajo de 7°C (DE ANDRÉS, 2001; CIVANTOS, 1998). Para el cálculo de las integrales térmicas KUMRAL *et al.* (2005) proponen el umbral de 10,85°C para el desarrollo larvario a partir del 1º de enero. En el estudio se usa este valor.

Otros factores como el parasitismo son importantes y ayudan a controlar las poblaciones, al igual que la predación por *Chrysopa carnea* y otros agentes.

Respecto a los daños la generación filófaga es la menos dañina y en general no requiere un tratamiento salvo en viveros y árboles jóvenes (BARRANCO *et al.*, 2004). En ocasiones al final del período puede atacar a las yemas emergentes y entonces sí provoca daños más importantes (DE ANDRÉS, 2001).

Se calcula que una larva de prays de la generación antófaga puede destruir entre 20 y 30 flores. Si el cuajado del olivo es muy bajo y la población de prays elevada esta pérdida puede afectar a la producción final. Como compensación un menor número de frutos se traduce en un aumento de su tamaño (BARRANCO *et al.*, 2004).

La presencia de las larvas en los frutos en la generación carpófaga provoca dos caídas de fruto, una en junio-julio, que viene asociada con una caída fisiológica, y otra más dañina en septiembre-octubre. La caída de junio supone un cierto control de la plaga ya que las larvas que están dentro de estas aceitunas no podrán completar su ciclo. Por otro lado el engrosamiento de frutos provoca en ocasiones el enquistamiento y la muerte de las larvas, actuando así como un control natural de las poblaciones de prays (CIVANTOS, 1998).

MATERIAL Y MÉTODOS

El año 2004 se comenzó el estudio con dos parcelas de olivo P1 y P2 (Cuadro 1). De esta campaña se tienen datos únicamente de los meses comprendidos entre julio y octubre, por lo que se omitirán en adelante. Durante el año 2005 se monitoreó la presencia de la polilla en tres parcelas P1, P2 y P4. En 2006 se repitió el proceso en 4 parcelas P1, P3, P4 y P5. Estas mismas se mantienen en 2007. Para el seguimiento del prays se colocaron colgadas de los olivos elegidos tres trampas tipo delta con feromona, a dos

metros de altura y separadas al menos 50 m entre sí. Las trampas se revisan semanalmente y las feromonas se reemplazan cada seis semanas. En el Cuadro 1 se indican las características de las parcelas.

Las parcelas presentan olivos centenarios. En el caso de la parcela P3 están rebrotados tras un incendio ocurrido en 1997. La única parcela que tiene riego, de forma esporádica, es la P5.

Los datos meteorológicos son registrados por una estación meteorológica situada en el municipio de Fermoselle, estando las parcelas distribuidas en un radio de 18 km de la estación. Los registros se realizan cada 10 minutos. Mediante ellos se conoce la temperatura y humedad de los periodos de estudio y se calculan las integrales térmicas. Los años 2005 y 2006 fueron climatológicamente muy diferentes. Del año 2007 aportamos la información que tenemos hasta el momento (junio).

Para el estudio de los daños producidos por la generación filófaga se toman en varias ocasiones a principios del año 10 hojas de 10 árboles en cinco repeticiones por parcela y se observan en el laboratorio para ver la presencia de galerías y larvas de prays. Para la generación antófaga en el momento de la floración se toman grupos de 5 inflorescencias en 10 árboles para ver puestas de prays y presencia de larvas. Para la generación carpófaga se recogen 10 aceitunas en 10 árboles e igualmente se recogen 300 aceitunas caídas por parcela.

Cuadro 1. Datos de las parcelas de estudio. Municipio, coordenadas UTM, variedad de olivo y años muestreados.

Código parcela	P1	P2	P3	P4	P5
Municipio	Fermoselle	Corporario	Fermoselle	Villarino de los Aires	Fermoselle
UTM	29T X 718112 Y 4576928	29T X 701809 Y 4566373	29T X 712888 Y 4574466	29T X 713462 Y 4572748	29T X 715604 Y 4574898
Variedad	Manzanilla	Manzanilla	Manzanilla	Cornicabra	Manzanilla
2004	X	X			
2005	X	X		X	
2006	X		X	X	X
2007	X		X	X	X

RESULTADOS: CURVAS DE VUELO

Las Figuras 1 y 2 muestran la curva general de vuelo de la polilla para el total de las parcelas en 2005 y 2006.

En ambos años son visibles los vuelos de las tres generaciones, filófaga, antófaga y carpófaga. La más importante en número de adultos es la antófaga (48% en 2005 y 64% en 2006), seguida de la filófaga (26 y 24%) y por último la carpófaga (26 y 12%). La

presencia del prays en los olivares fue más importante en 2006, especialmente en la primera y segunda generación con máximos que llegan a 100 polillas/trampa/día. En 2005 la presencia fue menor, siendo la generación carpófaga proporcionalmente más importante.

El Cuadro 2 nos indica los momentos de los tres máximos de población y su intensidad.

Comparando los años de estudio, los máximos de la generación filófaga (Cuadro 2) se

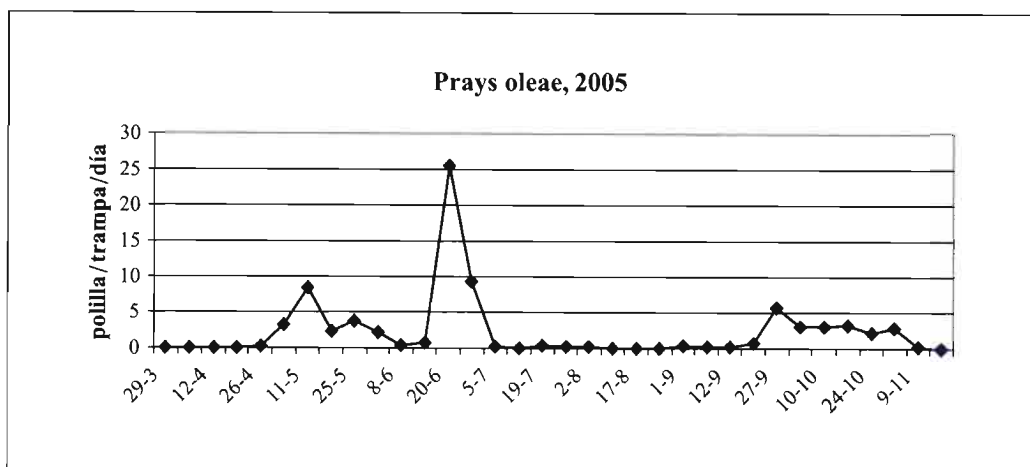


Figura 1. Curva de vuelo general de *P. oleae* en Arribes del Duero, año 2005.

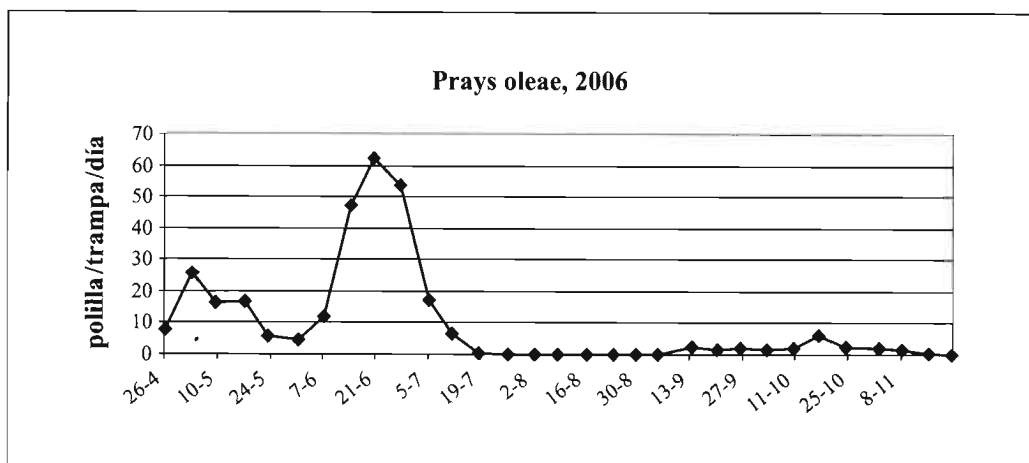


Figura 2. Curva de vuelo general de *P. oleae* en Arribes del Duero, año 2006.

Cuadro 2. Fechas y valores de los máximos de vuelo *P. oleae* para las tres generaciones

filófaga	P1	P2	P3	P4	P5
2005	2ª dec. mayo	2ª dec. mayo	-	2ª dec. mayo	-
	16,11	7,14	-	8,48	-
2006	2ª dec. mayo	-	3ª dec. abril	1ª dec. mayo	1ª dec. mayo
	29,83	-	24,17	16,56	46,86
2007	1ª dec. mayo	-	3ª dec. mayo	2ª dec. mayo	2ª dec. mayo
	29,94	-	31,48	24,83	28,29
antófaga	P1	P2	P3	P4	P5
2005	3ª dec. junio	3ª dec. junio		3ª dec. junio	
	24,21	15,42		25,56	
2006	2ª dec. junio		2ª dec. junio	3ª dec. junio	3ª dec. junio
	61,00		68,57	44,06	100,00
2007	2ª dec. junio		2ª dec. junio	2ª dec. junio	2ª dec. junio
	32,57		21,86	48,24	29,81
carpófaga	P1	P2	P3	P4	P5
2005	3ª dec. sept.	3ª dec. sept.		3ª dec. sept.	
	12,80	9,33		5,72	
2006	2ª dec. oct.		2ª dec. oct.	2ª dec. oct.	2ª dec. oct.
	10,29		2,10	5,71	5,90

producen en el mes de mayo, en su mayoría en la segunda decena. En 2005 estos valores fueron menores con respecto a 2006 y 2007 en los que se mantienen semejantes. La parcela 3 presenta su máximo tempranamente en 2006, en la 3ª decena de abril. En general en este año se adelantó esta generación.

En referencia a la generación antófaga los máximos se reparten entre la 2ª y la 3ª semana de junio. De nuevo en 2005 son menores para alcanzar la cota en 2006 y bajar algo en 2007.

Los valores de la generación carpófaga para 2005 y 2006 se presentan en fechas diferentes, ocurriendo en 2005 en la 3ª semana de septiembre y atrasándose en 2006 a la 2ª decena de octubre. Los cifras son semejantes en ambos años.

El Cuadro 3 indica la duración en días de las generaciones en 2005 y 2006, tomando como tal el tiempo entre la aparición de adultos de una generación y la siguiente. La más corta es la filófaga, seguida de la antófaga, siendo la más larga la carpófaga.

HUMEDAD Y TEMPERATURA

El moderado carácter continental del clima en la zona de estudio y la influencia oceánica permite una humedad relativa más bien alta. 2006 presentó mayor pluviosidad frente a 2005 (512 mm y 333 mm respectivamente) y la humedad relativa media fue superior (64,20% de media frente a 59,75%).

Cuadro 3. Duración de las generaciones en días de *P. oleae* en los Arribes, años 2005 y 2006.

	P1	P2	P3	P4	P5	media
filófaga	46,5	35	43	46,5	50	44,2
antófaga	92,5	96	105	91,5	89	94,8
carpófaga	139	131	148	138	139	139

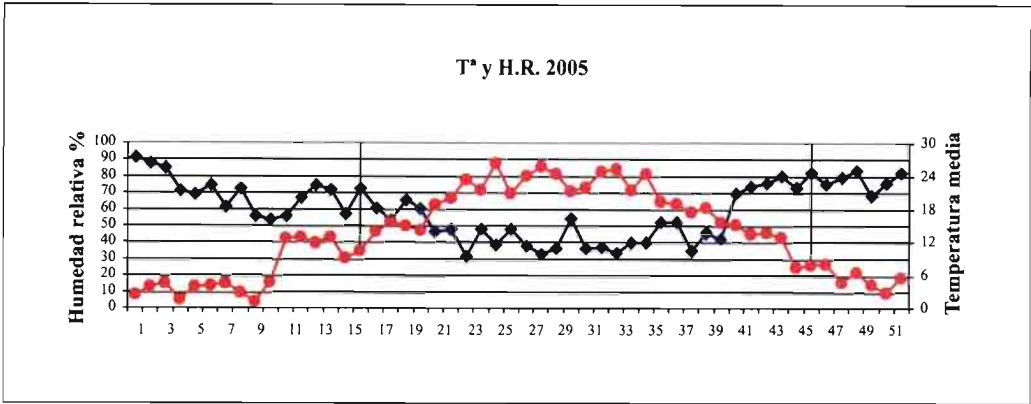


Figura 3. Temperatura y humedad relativa medias semanales en 2005. Las barras verticales engloban el período estudiado.

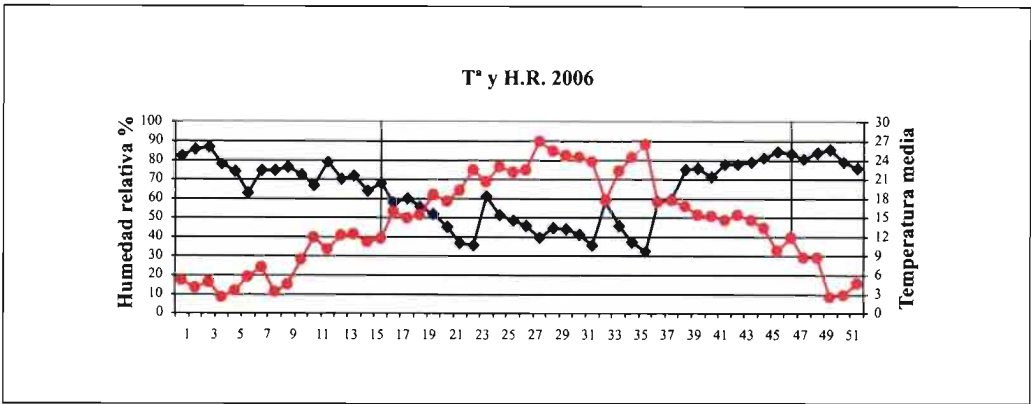


Figura 4. Temperatura y humedad relativa medias semanales en 2006. Las barras verticales engloban el período estudiado.

En 2005 el periodo con humedad superior a 60% se extiende durante el otoño y el invierno. La media de la humedad primaveral fue de un 60% y la del verano de un 41%, no bajando nunca del límite del 31%. En 2006 la humedad relativa ambiental supera el 60% durante el otoño, invierno y comienzo de primavera. La media de primavera es un 58% y la de verano un 46% y nunca baja por debajo del 32%.

En las Figuras 3 y 4 se indica para los años 2005 y 2006 los valores de humedad relativa y temperatura media semanal. Las

humedades altas (>70%) se dan en momentos en que la temperatura es baja. La humedad relativa nunca desciende por debajo del 20% pero sí hay varios períodos en el final de la primavera, todo el verano y comienzo del otoño en que baja del límite del 50%, lo cual debe producir mortalidad de huevos.

Respecto a la temperatura se constatan heladas esporádicas invernales que propician la mortalidad de larvas invernantes. En los períodos en los que se monitorea a los adultos únicamente al final (semanas 46 y 47 de 2005) la temperatura mínima está por deba-

jo de 7°C. En este mismo período la temperatura máxima está siempre por encima de 12°C (salvo la semana 46 en 2006), pero la mínima en ocasiones no los supera al final de primavera y comienzo del otoño. Esto indica momentos del día en que los adultos no están activos. Teniendo en cuenta que los hábitos

de la especie son principalmente crepusculares ello puede suponer una inactividad total en estas fechas.

Las Figuras 7 y 8 relacionan como ejemplo los grados-día con el porcentaje acumulado de adultos para la parcela P4 en 2005 y 2006. Las Figuras manifiestan en general

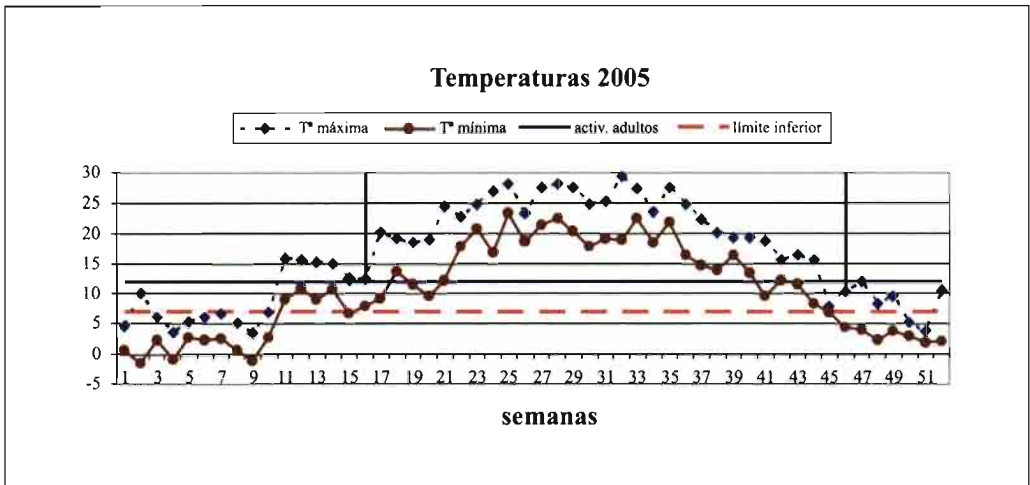


Figura 5. Temperaturas máximas y mínimas semanales y límites de actividad de adultos y desarrollo de larvas en 2005. Las barras verticales engloban el periodo estudiado.

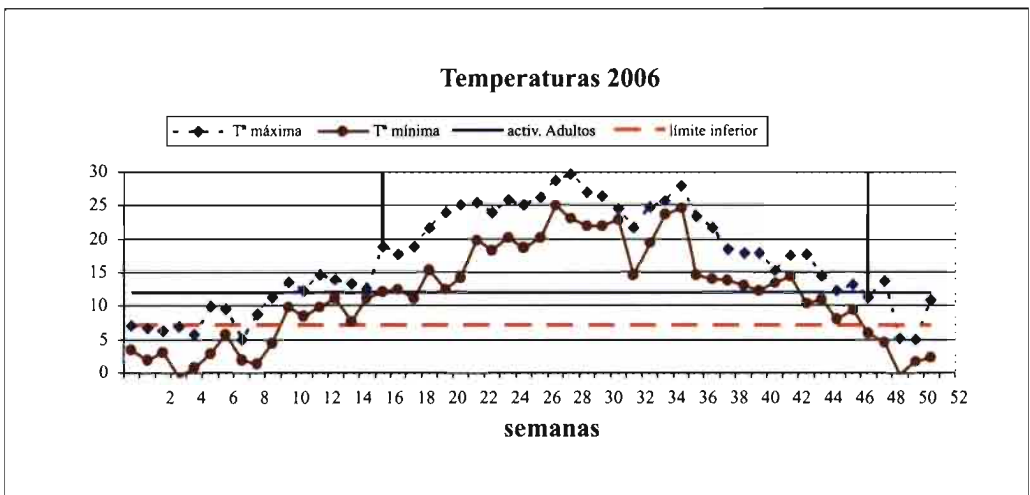


Figura 6. Temperaturas máximas y mínimas semanales y límites de actividad de adultos y desarrollo de larvas en el año 2006. Las barras verticales engloban el periodo estudiado.

una dinámica parecida de la especie en ambos años, con las diferencias de valor numérico de las generaciones, es decir, su importancia relativa anual.

El Cuadro 4 refleja las medias de grados-día transcurridos entre la aparición de los individuos de una generación y la siguiente, así como los intervalos de KUMRAL *et al.*

(2005) para Turquía. Las coincidencias son mayores en la generación antófaga, que por otra parte es la que necesita mayor número de grados-día. La generación filófaga necesita muchos menos grados-día en Arribes (menos de la mitad) que en Turquía. Por último la carpófaga está en situación contraria, ya que presenta más grados día que en el

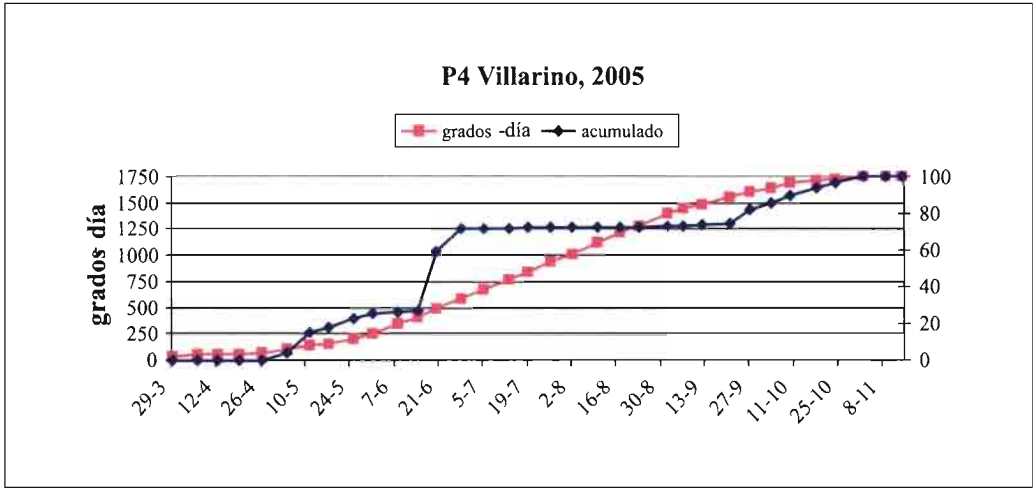


Figura 7. Grados-día (10,85°C) y porcentaje de adultos acumulado para la parcela P4 en 2005.

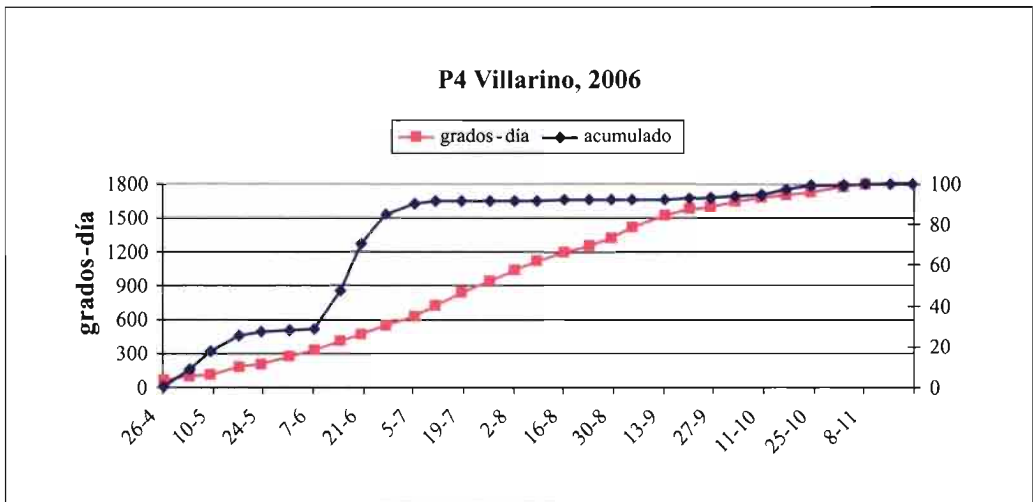


Figura 8. Grados-día (10,85°C) y porcentaje de adultos acumulado para la parcela P4 en 2006.

Cuadro 4. Medias de grados día para las generaciones antófaga, carpófaga y filófaga en los años 2005 y 2006 y los intervalos de KUMRAL *et al.* 2005.

	P1	P2	P3	P4	P5	media	Kumral et al., 2005
filófaga	285,18	233,35	229,65	285,18	291,95	265,06	610-722
antófaga	1109,00	1142,75	1251,80	1119,98	1075,25	1139,76	1134-1382
carpófaga	395,88	380,50	342,05	384,90	456,30	391,93	208-312.5

estudio en Turquía. Estas divergencias pueden ser achacables a las distintas regiones de estudio, con climas muy diferentes.

DAÑOS

GENERACIÓN FILÓFAGA

Esta generación presenta en el estudio alrededor de un cuarto de efectivos de adultos. En el Cuadro 5 pueden verse los porcentajes de afeción de hojas. A finales de enero de 2006 en cuatro parcelas muestreadas no superan el 10% las hojas afectadas. Los datos de 2007 en los meses de febrero y marzo son concordantes con estas cifras, aumentando hasta mediados de abril con un valor máximo de 17,6% de hojas afectadas en P5. En el último muestreo de primeros de mayo el porcentaje de hojas afectadas llega al 30% en dos parcelas. En este momento ya no hay larvas en las hojas. ALDEBIS *et al.* (2004) encuentran valores de presencia de larva de más de un 50% en Cabra (Córdoba) para la variedad Picudo en los años 2001 y 2002, siendo en otras variedades los valores más semejantes a los de este estudio. Teniendo en cuenta que las larvas únicamente producen una disminu-

ción de la capacidad fotosintética en la hoja y que ésta no se desprende cabe deducir que los daños son mínimos y no justifican un tratamiento.

GENERACIÓN ANTÓFAGA

En 2005 se realizaron tres muestreos de flores en la primera y segunda decena de junio en la parcela 4. El Cuadro 6 indica el porcentaje de huevos por flor y es en general bajo, no superando la tasa de 0,13. En el último muestreo (20 de junio) no aparecen huevos. Respecto al % de flores afectadas varió entre el 6,7 y 8,7%. En 2007 se realizaron tres muestreos a finales de mayo y primera quincena de junio. El número de huevos es máximo en el primero para después disminuir. Las flores afectadas aumentan del 1º al 2º con un máximo de 9,85%.

En el tercer muestreo los frutos estaban en su mayoría cuajados y era difícil ver el daño de las larvas, lo cual explica el descenso pronunciado en ambos parámetros.

La afeción es muy pequeña frente a la estimación de un 21% de inflorescencias atacadas en España en 1997 (CIVANTOS, 1998). BENTO *et al.* (2000) encuentran porcentajes de flores atacadas variables entre el

Cuadro 5. Porcentaje de hojas afectadas por larvas de *P. oleae* en 2006 y 2007.

	P1	P2	P3	P4	P5
2006 enero		9,0	8,0	1,0	8,0
2007 febrero	5,8	-	8,2	5,0	11,0
2007 marzo	10,0	-	5,8	8,2	11,0
2007 abril	14,6	-	13,4	13,4	17,4
2007 abril	16,8	-	9,8	12,2	17,6
2007 mayo	30,5	-	16,5	30,0	25,5

Cuadro 6. Número de huevos de *P. oleae* por flor y % de flores atacadas en 2005 y 2007.

huevos/flor	P3	P4	P5	%flores atacadas	P3	P4	P5
08/06/2005			0,13	08/06/2005			8,69
14/06/2005			0,04	14/06/2005			6,70
29/05/2007	1,08	2,06	4,51	29/05/2007	1,69	2,06	3,45
05/06/2007	0	1,58	1,64	05/06/2007	5,29	8,45	9,85
12/06/2007	0,55	0,54	0,00	12/06/2007	0,27	3,22	3,29

6,26 y el 15,15% en los años 1996 y 1998 en la región próxima de Tras Os Montes, valores más cercanos a los de este estudio. El estudio de ALDEBIS *et al.* (2004) presenta valores semejantes de inflorescencias afectadas (entre un 2,66% y un 8,69). Considerando que las larvas en ocasiones no impiden la fecundación el daño originado por esta generación puede considerarse como ligero. Esta afirmación debe en todo caso matizarse con el cuajado que se dé cada año, ya que si éste es muy bajo el daño sí puede ser significativo.

GENERACIÓN CARPÓFAGA

La Figura 9 indica la curva de vuelo de prays en 2005, y el número de huevos/fruto. Los muestreos se realizaron entre el 27 de

junio y el 14 de noviembre. Los últimos huevos se encuentran el 17 de agosto. Los valores oscilan entre un mínimo de 0,03 y un máximo de 0,16, ambos en el mes de agosto.

En 2006 entre los meses de junio y noviembre se realizaron 23 muestreos en las parcelas 3 y 4. La Figura 10 indica el porcentaje de daño acumulado en frutos, que en ningún caso llega al 4,5%. Se comprueba cómo la afección es notoriamente mayor en la parcela de Villarino (P4) que en el Pisón (P3).

Si hacemos referencia a las aceitunas caídas durante este período los porcentajes de aceitunas afectadas por prays se elevan a cifras entre 48,1 y 73,8% (Fig. 11). Se indica igualmente el porcentaje de prays parasitados por himenópteros. Este varía entre el

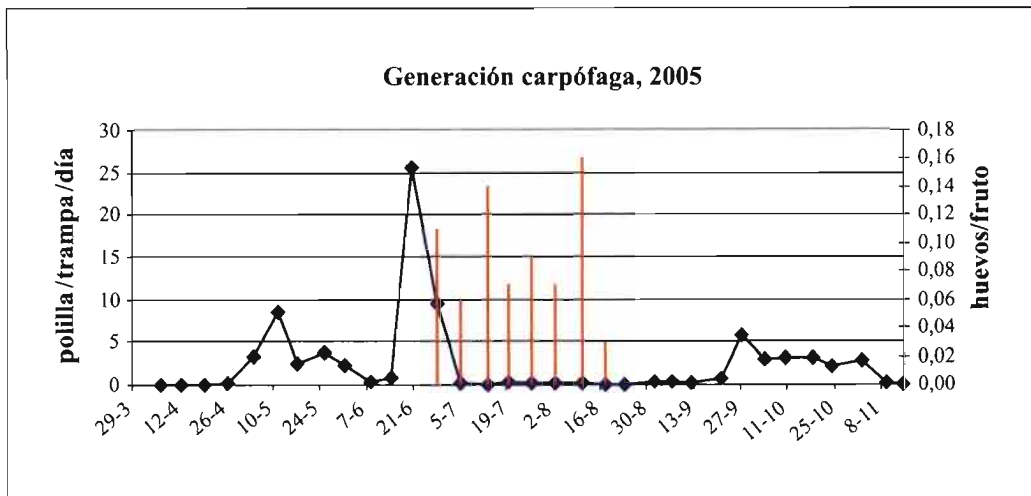


Figura 9. Curva de vuelo (línea) en P2 y número de huevos (barras) por fruto en 2005.

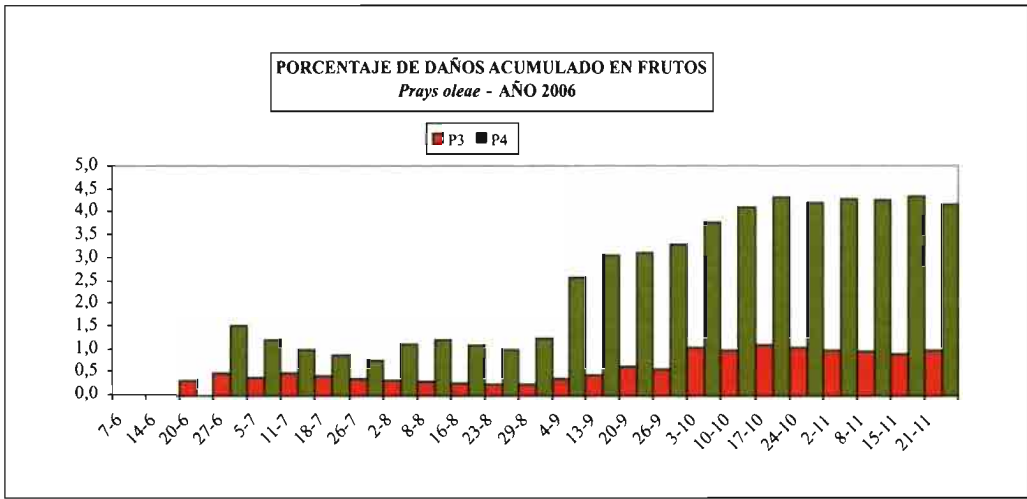


Figura 10. Porcentaje de daños acumulado por *P. oleae* en frutos en árbol en 2006.

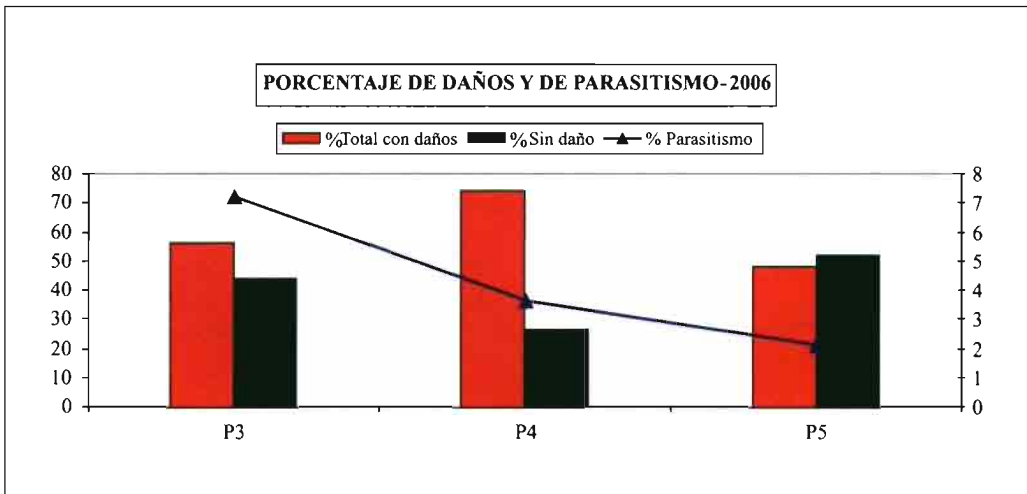


Figura 11. Porcentaje de daños por *P. oleae* acumulado en frutos caídos en 2006 y porcentaje de parasitismo.

2,1 y el 7,2%. Los adultos del himenóptero quedan dentro del hueso sin poder salir y en consecuencia su estado para la determinación no es bueno. Algunos ejemplares se han determinado provisionalmente como *Bracon laetus*.

CIVANTOS (1998) habla de un 1% de caída de frutos en España en 1997, cifra que se

elevó al 13% en 1985. BENTO *et al.* (2000) estiman en un 51,68% el porcentaje de frutos atacados en un olivar sin tratamiento de Mirandela (Tras Os Montes), lo cual se traduce en una pérdida de 846 kg/ha en cosecha. ALDEBIS *et al.* (2004) encuentran valores medios entre 4,10 y 15,07% de frutos dañados por esta generación en aceitunas

caídas, valor notoriamente inferior al nuestro pero en olivares sometidos a tratamientos químicos.

DISCUSIÓN

El carácter de zona marginal y fronteriza de cultivo le confiere un valor añadido en un escenario de cambio climático. Si, como se supone, el clima mediterráneo se extenderá hacia el norte en los años sucesivos (OFICINA NACIONAL DEL CAMBIO CLIMÁTICO, Ministerio de Medio Ambiente, 2005), cabe suponerse una ampliación del cultivo del olivo que se encontrará en situaciones similares al estudio actual.

La poca densidad de plantación de olivares, la existencia de zonas de vegetación natural así como la débil presión con tratamientos químicos ayuda sin duda a mantener un control natural efectivo de la plaga, con lo que los niveles de la misma no son alarmantes. Un muestreo provisional de la zona arroja hasta el momento 96 especies de insectos determinadas (ARMENDÁRIZ *et al.*, 2006), entre las cuales hay varios himenópteros, encontrándose un porcentaje significativo de parasitismo. En consecuencia los daños producidos por las distintas generaciones de prays no son importantes en la zona de estudio.

La fenología de la polilla está influenciada principalmente por la temperatura (KUMRAL *et al.*, 2005). La zona de estudio presenta condiciones climatológicas adecuadas al desarrollo de la plaga a pesar de su carácter de continentalidad moderada. El reducido número de heladas en invierno, la elevada humedad relativa y las temperaturas moderadas en verano son factores que favorecen la presencia de prays.

Por lo visto anteriormente el desarrollo de la plaga va a estar condicionado por la climatología y el estado fenológico del cultivo. El conocimiento de la conjunción de estos factores puede posibilitar previsiones más

certeras sobre ataques futuros y momentos de tratamiento.

A la hora de prever los daños y debido a la biología de la especie los datos aislados de las capturas en trampas no proporcionan una base sólida para la previsión de ataques (KUMRAL *et al.*, 2005; RAMOS *et al.*, 1990). Estos últimos autores encuentran sin embargo una relación vuelo/daños según la diferencia entre primeros vuelos y primeras oviposiciones. Este extremo no es comprobable en el estudio por carecer de las fechas de puesta.

De cara a establecer el punto cronológico de partida para calcular los grados-día el 1 de enero, fecha habitualmente empleada, no refleja ningún evento biológico en prays, ya que las larvas de la generación filófaga vienen desarrollándose desde antes. (KUMRAL *et al.*, 2005). Por otro lado hay que fijar un umbral térmico, ya que este difiere entre autores y entre zonas de estudio. Es esperable que éste sea distinto para cada una de las generaciones y dentro de ellas para las distintas formas biológicas (huevo, larva, pupa y adulto), como se deduce de los estudios de SHEHATA *et al.* (2003).

Sin duda son necesarios datos de campañas sucesivas para afinar en el conocimiento del ciclo y la postulación y validación de modelos que permitan la previsión de los ataques de prays y faciliten la racionalización de los tratamientos.

AGRADECIMIENTOS

A Albino Bento, José Alberto Pereira, Susana Ventura Pereira y demás integrantes del equipo de la Escola Superior Agrária de Bragança por sus enseñanzas en el campo de la olivicultura. Al Ayuntamiento de Fermoselle y a los propietarios de las parcelas por su colaboración desinteresada. A Sara González por el tratamiento de los datos. A Miguel Miranda, Iván Sanz, Almudena Díez y María Codesal, alumnos en prácticas.

ABSTRACT

ARMENDÁRIZ I., L. DE LA IGLESIA, Y. SANTIAGO, G. CAMPILLO, C. ALBERTE, L. MIRANDA, S. JUÁREZ, A. PÉREZ-SANZ. 2007. Cycle of the olive moth (*Prays oleae* Bern.) in Arribes del Duero. *Bol. San. Veg. Plagas*, 33: 443-455.

During years 2004 to 2007, within the framework of INTERREG III-A "MOABA-PE" Project, studies are being made in olive groves of the zone of Arribes del Duero (Castilla y León). One of the objectives of the project is the knowledge of the biological cycle of one of the main pest, the olive moth (*Prays oleae*), looking for its natural enemies and trying to build predictive models. The presence of adults was verified weekly between the months of March and November by means of the use of delta traps with pheromones. At certain moments of the cycle there were collected leaves, flowers and fruits. The flight curves are showed and they are related to weather data; humidity and temperature. The presence of the three annual generations is verified: phyllophagous, anthophagous and carpophagous, valuing the damages caused by each one of them. The conclusion is that the presence of prays and their damages are reduced in this zone of culture. Having complete data only of two years more campaigns are necessary to sharpen in Biology and modelización of the species facing the prediction and rationalization of treatments.

Key words: Castilla y Leon, damages, pest, meteorology, thermal integral.

REFERENCIAS

- ALDEBIS, H. K., AVILA, A., MATAS, P., VARGAS-OSUNA, E. 2004. Evaluación de los daños causados por la polilla del olivo, *Prays oleae* Bern., en distintas variedades y condiciones de cultivo. *Bol. San. Veg. Plagas*, **30** (4): 649-656.
- ARMENDÁRIZ, I., DE LA IGLESIA, L., PÉREZ-SANZ, A., CAMPILLO, G., ALBERTE, C., AGUADO, L. O., MIRANDA, L., JUÁREZ, S., SANTIAGO, Y. 2006. El cultivo del olivo en Arribes de Duero: plagas y fauna auxiliar. *Revista Melhoramento*, **41**: 115-121.
- BARRANCO, D., FERNÁNDEZ-ESCOBAR R., RALLO, L. 2004. El cultivo del olivo. 5ª Ed. Mundi-Prensa eds. Madrid. 800 pp.
- BENTO, A., TORRES, L., LOPES, J., PEREIRA, A. 2001. Avaliação de prejuícos causados pela traça da oliveira, *Prays oleae* (Bern.) em Trás-Os-Montes. *Revista de Ciências Agrárias*, **XXIV**(1-2): 89-96.
- CIVANTOS, M., 1998. El prays y el barrenillo del olivo. *Phytoma España*, **102**: 124-129.
- DE ANDRÉS CANTERO, F. 2001. Enfermedades y plagas del olivo. 4ª Ed. Riquelme y Vargas. Jaén. 646 pp.
- KUMRAL, N. A., KOVANCI, B., AKBUDAK, B. 2005. Pheromone trap catches of the olive moth, *Prays oleae* (Bern.) (Lep., Plutellidae) in relation to olive phenology and degree-day models. *Journal of Applied Entomology*, **129** (7): 375-381.
- MAPA. En internet: <http://www.mapa.es/ministerio/pags/hechoscifras/espanol/pdf/09.pdf>, consultada el 21-03-07.
- OFICINA NACIONAL DEL CAMBIO CLIMÁTICO. 2005. Principales Conclusiones de la Evaluación Preliminar de los Impactos en España por efecto del Cambio Climático. Secretaría General Técnica. Ministerio de Medio Ambiente. 39 pp.
- RAMOS, P., CAMPOS, M., RAMOS, J. M. 1978. Influencia de los factores ambientales sobre la mortalidad de larvas y crisálidas de *Prays oleae* Bern. (Lep. Plutellidae). *Bol. Asoc. Esp. Entomología*, **2**: 143-147.
- RAMOS, P., RAMOS, J. M., JONES, O. T. 1990. The influence of asynchrony between olive moth (*Prays oleae* Bern.) adult emergence and olive fruit phenology in determining subsequent fruit infestation. *Acta Horticulturae*, **286**: 391-394.
- SHEHATA, W. A., ABOU-ELKHAIR, S. S., STEFANOS, S. S., YOUSSEF, A. A., NASR, F. N. 2003. Biological studies on the olive leaf moth, *Palpita unionalis* Huebner (Lepid., Pyralidae), and the olive moth, *Prays oleae* Bernard (Lepid., Yponomeutidae). *Anzeiger fuer Schaedlingskunde*, **76** (6): 155-158.

(Recepción: 10 julio 2007)

(Aceptación: 5 septiembre 2007)

Fluctuación Poblacional de *Frankliniella occidentalis* (Pergande) (Thysanoptera: Thripidae) en *Vitis vinifera* L. cv. Italia en la Zona Sur de Uruguay

M. V. MUJICA, I. B. SCATONI, J. FRANCO, S. NUÑEZ, C. M. BENTANCOURT

En Uruguay la viticultura se concentra en la zona sur, ocupa 8500 hectáreas y sólo una pequeña proporción es uva para consumo en fresco. Entre las uvas blancas, el cultivar Italia es el predominante. Desde la introducción de *Frankliniella occidentalis* al país, los daños de trips sobre este cultivar son más severos. No existen estudios que permitan atribuir dichos daños a esta especie, no se conoce su ciclo estacional, ni se han validado métodos de monitoreo que permitan cuantificar su abundancia y definir la oportunidad de aplicar medidas de control. Los objetivos del presente trabajo son: determinar el ciclo estacional de *F. occidentalis*, relacionarlo con la presencia de daños y validar un método de muestreo que permita identificar los momentos de mayor abundancia de poblaciones. Se trabajó en dos viñedos, uno conducido en lira y otro en parral, desde brotación a cosecha. La determinación de la fluctuación poblacional se realizó mediante golpeo de racimos y trampas adhesivas amarillas. En las evaluaciones realizadas sobre racimos se detectó *F. occidentalis* en el momento de la floración. En función de su abundancia, a esta especie se le pueden atribuir los daños por oviposición que se visualizaron un mes después. El método de muestreo que estimó mejor la densidad de la población en el período crítico de la viña fue la trampa colocada en el suelo, aunque el golpeo determinó la presencia de los trips en el racimo. La relación varianza/media dejó de manifiesto que las poblaciones de trips se distribuyen de forma agregada.

M. V. Mujica, I. B. Scatoni, J. Franco, C. M. Bentancourt. Facultad de Agronomía, Avda. E. Garzón 780, 12900 Montevideo, Uruguay. E mail: iscatoni@fagro.edu.uy
S. Nuñez. Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria, R. 48 Km. 10, Canelones, Uruguay.

Palabras clave: trips, métodos de muestreo, distribución espacial.

INTRODUCCIÓN

En Uruguay la viticultura se concentra principalmente en la zona sur del país y ocupa alrededor de 8500 hectáreas, de las cuales el cultivar Italia es el predominante dentro de las variedades blancas para consumo en fresco (URUGUAY, 2003).

Desde el punto de vista de los insectos plaga, la viticultura uruguaya presenta una situación privilegiada, y en la mayoría de los casos no se realizan intervenciones con

insecticidas. Las cochinillas harinosas, *Planococcus ficus* (Signoret) (Homoptera: Pseudococcidae), y las lagartitas de los racimos, *Argyrotaenia spheropa* (Meyrick), *Bonagota salubricola* (Meyrick) (Lepidoptera: Tortricidae), constituirían las principales plagas que afectan la calidad de los racimos (BENTANCOURT & SCATONI, 1999). El monitoreo permanente y la aplicación de técnicas culturales han llevado a que estas especies raramente alcancen niveles que justifiquen medidas específicas de control.

Sin embargo, la introducción de *Frankliniella occidentalis* (Pergande) a Uruguay (TERRA *et al.*, 1999), puso en riesgo la situación privilegiada de los viñedos uruguayos ya que sus daños se hacen cada vez más evidentes, principalmente en uvas blancas para consumo en fresco. Las lesiones consisten en manchas en forma de halos blancos que rodean el sitio donde las hembras de trips insertan los huevos en las bayas en desarrollo. Hasta ese entonces los daños de trips revestían escasa importancia, las especies citadas eran *Heliothrips haemorrhoidalis* (Bouché), *Thrips tabaci* Lindeman e *Isonurothrips australis* Bagnal (BENTANCOURT & SCATONI, 1999).

El monitoreo es la base para el manejo racional de plagas, sin embargo, en Uruguay no se han evaluado métodos de monitoreo para trips en vid, por lo que frente a la situación planteada para *F. occidentalis* se realizan preventivamente intervenciones con insecticidas. El principio activo más utilizado es endosulfan (SPÍNOLA, 1997) aunque en viñedos bajo normas de producción integrada sólo se permiten aplicaciones con spinosad (URUGUAY, 2005).

El uso de trampas adhesivas de colores para detectar la presencia y cuantificar la densidad poblacional de diferentes especies de trips es una práctica corriente y numerosos trabajos hacen referencia a los factores que afectan la eficiencia de estas trampas; entre ellos, las preferencias por color, altura idónea de colocación en el cultivo y el efecto de la incorporación de sustancias atrayentes (MOFFIT, 1964, BEAVERS *et al.*, 1971, YUDIN *et al.*, 1987, KIRK, 1984, 1987, BRODSGAARD, 1989, GILLESPIE & VERNON, 1990, VERNON & GILLESPIE, 1990, CABELLO *et al.*, 1991, HEINZ *et al.*, 1992, CARRIZO, 1998, SÁNCHEZ *et al.*, 1998, GONZÁLEZ HERNÁNDEZ *et al.*, 1999, PEARSALL & MYERS, 2001).

Los hábitos polífagos de algunas de las especies de trips, la constante migración entre cultivos y hacia la vegetación espontánea, hacen que los registros de capturas en trampas deban ser complementados con

otras técnicas de monitoreo que permitan verificar la presencia del insecto en el cultivo y asociarla con los estados fenológicos en los que las plantas se vuelven más susceptibles y manifiestan daños de envergadura. González (1999) afirma que *F. occidentalis* es atraído a los racimos desde inicios de la floración y que las hembras penetran entre las fisuras de las caliptras cuando éstas se encuentran muy apretadas sobre los estambres y pistilo de las bayas, allí oviponen sobre la pared del ovario y luego abandonan la baya. Según GONZÁLEZ (1999) este comportamiento puede verificarse sacudiendo los racimos dentro de bolsas de polietileno.

El presente trabajo se propone conocer la variación estacional de *F. occidentalis*, correlacionarla con la presencia de daños sobre los cultivos de vid y validar un método de muestreo que permita identificar los momentos de mayor abundancia de poblaciones para optimizar los eventuales tratamientos de control.

MATERIALES Y MÉTODOS

La colecta de trips se realizó en la zona de Melilla (departamento de Montevideo) sobre uva de mesa, *Vitis vinifera* L. cv. Italia. Para esto se seleccionaron dos viñedos de un establecimiento, uno conducido en parral (0.30 ha) y otro en lira (0.37 ha), de 14 y 15 años de implantados respectivamente. Ambos fueron divididos en doce sectores, y se tomaron muestras de una planta por sector, seleccionada al azar. Las plantas seleccionadas se siguieron a lo largo de todo el período de evaluación, que comenzó con la brotación (5/10/05) y finalizó con la cosecha (28/2/06). Durante este período no se realizaron tratamientos insecticidas.

Para la determinación de la fluctuación poblacional se utilizaron trampas adhesivas de color amarillo. Estas tenían una superficie de 208 cm² cuadrados (16 x 13 cm) pintadas de ambos lados con esmalte amarillo cromo, referenciado por el sistema L*a*b como L: 80.71; a: + 4.35 y b: + 81.80 (CIE, 1976).

Sobre una de las superficies se aplicó una fina capa de pegamento Tangle-trap (Thanglefoot Company, MI 49504 USA). Las trampas se colocaron verticalmente en número de 12 por viñedo, una por sector, la mitad colgadas de las plantas y el resto fijas mediante una estaca al suelo (Fig. 1).

Para constatar la presencia de trips en los racimos de las plantas previamente seleccionadas, se golpearon dos racimos por sector dentro de bolsas de polietileno hasta el momento de floración (Fig. 2). Después de la floración y debido a que el tamaño de los racimos hacía difícil el golpeo, se continuó la colecta de trips usando un algodón embebido en acetato de etilo colocado en el fondo de las bolsas. De este modo los vapores producidos mataban a los insectos, que caían al fondo de la bolsa. Estas evaluaciones se realizaron en horas del mediodía, en forma semanal hasta fines de diciembre, cuando las bayas alcanzaron más de 1 cm de diámetro, y dos veces por semana en el período de flo-



Figura 1. Bolsas de polietileno envolviendo racimos usadas en el método de golpeo.

ración según GONZÁLEZ (1999). Su recomendación responde al hecho de que la floración de la viña es bastante concentrada en el tiempo, y muestreos más espaciados podrían perder este período, crítico para la aparición de trips.

Los ejemplares colectados eran conservados en tubos de vidrio con alcohol al 70% para su posterior identificación. *F. occidentalis* fue separada de las otras especies de trips capturadas en trampas adhesivas siguiendo las claves de MOUND *et al.* (1976), MOUND & KIBBY (1998), MOUND & MARULLO (1996); DE SANTIS *et al.* (1980), SOTO & RETANA (2003). Para verificar las identificaciones, se realizaron preparaciones microscópicas (MOUND & MARULLO, 1996) y se consultó la colección de trips del Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (I.N.I.A. Las Brujas).

Los conteos de *F. occidentalis* obtenidos en trampas y en las plantas de viña por el método del golpeo se procesaron por sector, por método de muestreo y por fecha. Con esa información se construyeron gráficos de población parcial, para posteriormente comparar estadísticamente la variación entre viñedos.

Para cuantificar los daños se consideró "racimo dañado" como el que por lo menos presentaba una baya con lesión de trips. Los racimos se evaluaron desde cuajado hasta



Figura 2. Trampas adhesivas amarillas colocadas en el interior de la planta y a nivel del suelo en *Vitis vinifera* L. cv. Italia.

fin de la primera quincena de diciembre. El procedimiento consistió en revisar dos racimos de cada una de las plantas seleccionadas en los doce sectores de muestreo y cuantificar el número de racimos dañados por sector y de bayas dañadas por racimo.

Análisis estadístico

Los datos fueron procesados usando el Modelo Lineal Generalizado para conteos y proporciones y el Modelo no Lineal para la estimación de curvas. Se usaron los procedimientos GLM, GENMOD y NLIN del programa SAS versión 9.1 (2003).

El análisis estadístico se realizó en tres etapas: comparación de la abundancia y fluctuación de las poblaciones de trips presentes en ambos viñedos; comparación de la eficiencia de los métodos de muestreo; estimación de la distribución espacial en el viñedo.

La fluctuación poblacional de esta especie en los dos viñedos fue analizada a través de modelos logísticos de crecimiento poblacional (procedimiento NLIN – SAS 2003), considerando por separado los datos provenientes de los distintos tipos de muestreo. Se trabajó con la proporción acumulada de individuos en función del tiempo. Se estimaron los parámetros de las curvas logísticas, los intervalos de confianza para cada uno de ellos y el momento en que las poblaciones de trips alcanzaron el 50% de la población (punto de máxima velocidad de crecimiento).

Para la comparación de los métodos de muestreo se dividió el período en tres etapas considerando las fluctuaciones poblacionales: la primera comprendida entre el 05/10/05 y el 09/11/05, la segunda entre el 09/11/05 y el 18/01/06, y la tercera entre el 18/01/06 y el 28/2/06. Para comparar las proporciones se utilizó un Modelo Lineal Generalizado asumiendo distribución binomial y función de enlace logit. La comparación se hizo utilizando el procedimiento GENMOD (SAS, 2003). Se calcularon los intervalos de confianza para estimar la verdadera proporción de insectos para cada período y para cada método.

La distribución espacial de *F. occidentalis* se estudió a través de la relación varianza – media, propuesta por TAYLOR (1961). Las capturas procedentes de cada viñedo, se agruparon por fecha, y se calcularon la media y la varianza. Por regresión lineal (método de los mínimos cuadrados), se calcularon los parámetros “a” y “b” de la ecuación de Taylor para cada viñedo. Las curvas estimadas se compararon utilizando los intervalos de confianza obtenidos para los dos parámetros (“a” y “b”) (RUESNIK, 1980, SOUTWOOD, 1978).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Frankliniella occidentalis fue colectada tanto en los golpesos como en las trampas adhesivas amarillas. Otras especies de trips capturadas en trampas aunque con baja frecuencia fueron *Frankliniella schultzei* (Trybon), *Chirothrips* sp y especímenes del suborden Tubulifera. Ninguno de estos tiene a la viña como hospedero (LEWIS, 1973, MOUND & MARULLO, 1996, RAO & ALDERMAN, 2005). *F. occidentalis* fue la especie más abundante y constante durante todos los meses estudiados, representando en algunas fechas el 100 % de la población.

Variación estacional de *Frankliniella occidentalis* y su relación con los daños

La fluctuación poblacional de *F. occidentalis* fue similar en ambos viñedos (Fig. 3). Si bien se colectaron ejemplares en las trampas a lo largo de todo el período de estudio, las poblaciones de *F. occidentalis* muestran un incremento sustancial a partir de la segunda quincena de noviembre, y alcanzan la mayor abundancia en la primera quincena de diciembre. Estos resultados se registran tanto en trampas colocadas a nivel del suelo como en las aéreas. La diferencia radica en el número de insectos colectados por ambos métodos: mientras las trampas colocadas a nivel del suelo colectaron en promedio 100 o más individuos en los momentos de mayor captura, las trampas aéreas sólo llegaron a un promedio de

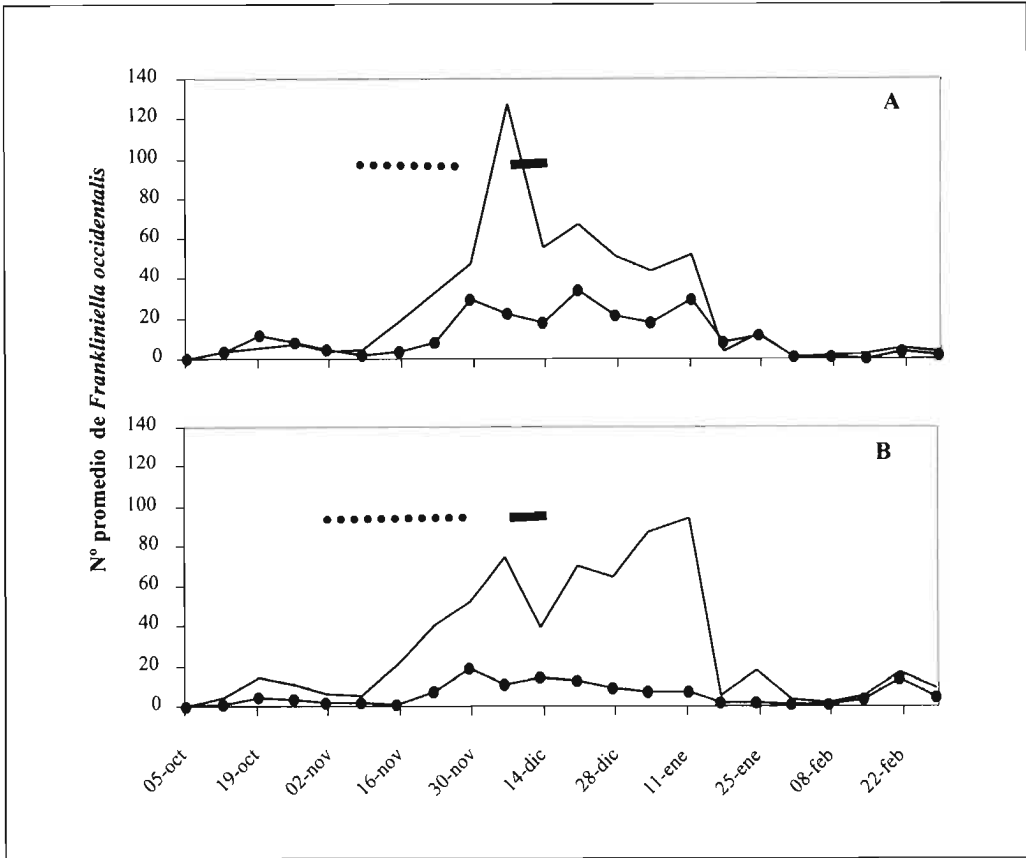


Figura 3. Capturas promedio de *Frankliniella occidentalis* en trampas adhesivas amarillas colocadas a nivel de suelo (—) y entre la vegetación (·-·) en *Vitis vinifera* L. cv. Italia conducidos en lira (A) y parral (B). Períodos en los que se colectaron *F. occidentalis* por golpeo y se detectaron daños p .

20 o más ejemplares por trampa, en los mismos períodos. La diferencia observada puede deberse, entre otras cosas, a la cubierta vegetal de la entrefila, que contenía varias especies hospederas de *F. occidentalis* como manzanilla, nabo silvestre y trébol blanco, entre otras. Además de estas especies hay que considerar los frutales cercanos implantados en la zona.

La presencia de *F. occidentalis* en los racimos fue detectada por el método del golpeo y el máximo de colecta se registró en la segunda quincena de noviembre en ambos viñedos, coincidiendo con el momento de caída de caliptras (Fig. 3), pero no con el

momento de mayor abundancia de trips detectado en las trampas. La estrecha relación entre el período de antesis de la vid con la abundancia de adultos de trips en el racimo, probablemente refleja la atracción del polen como fuente de alimento para estos insectos, lo que posiblemente influye en su reproducción (JENSEN *et al.*, 1992, RIPA *et al.*, 1993). KIRK (1987) determinó que otras especies de trips, en Australia y Nueva Zelanda, consumen diariamente grandes cantidades de polen e incluso son capaces de reducir los rendimientos a cosecha. Probablemente los trips estén presentes en la vegetación circundante, y en el momento de flo-



Figura 4. Daños realizados por la oviposición de *Frankliniella occidentalis* sobre bayas de *Vitis vinifera* L. cv. Italia. Nótese en la figura derecha la suberificación de la zona donde se realizó la puesta.

ración se trasladan a los racimos para alimentarse y depositar los huevos. *F. occidentalis* fue la única especie que se colectó de los racimos, contrariamente a lo citado para Uruguay por BENTANCOURT & SCATONI (1999), quienes mencionaban para la viña *Heliethrips haemorrhoidalis* (Bouché), *Isoneurothrips australis* Bagnal y *Thrips tabaci* Lindeman. KIRK (2001) sostiene que *F. occidentalis* se convierte en la especie de trips predominante, desplazando a las otras previamente establecidas. Probablemente una situación similar se esté dando en la vid en el país.

Los daños observados sobre las bayas fueron halos blanquecinos rodeando la zona de puesta (Fig. 4), lo que coincide ampliamente con los descriptos para *F. occidentalis* en la literatura (JENSEN *et al.*, 1992, RIPA *et al.*, 1993, GONZÁLEZ, 1999, BIAGGIONI *et al.*, 2002). Se visualizaron entre el 6 y el 13 de diciembre, cuando las bayas tenían el tamaño de una arveja, y un mes después de haberse detectado la presencia del trips en racimos. JENSEN *et al.* (1992) y GONZÁLEZ (1999) concluyeron que el principal problema es la herida de puesta no cicatrizada, que persiste y deprecia la calidad del racimo y favorece la entrada de patógenos. Según GONZÁLEZ (1999) este daño es particularmente severo en los cultivares Italia, Red

Globe, Superior, Dawn, Almería y Calmería. JENSEN *et al.* (1992) en California, observaron además de la mancha en halo, bronceados en las bayas y daños sobre la brotación y hojas. Sin embargo, en los viñedos evaluados no se observaron otro tipo de lesiones además de las provocadas por la puesta, que pudiera ser atribuidas a trips y el porcentaje de racimos afectados fue del 25% para el viñedo conducido en lira y del 33% para el parral.

En la comparación de las poblaciones de trips entre viñedos, se utilizaron solamente los datos correspondientes a capturas en trampas. Los parámetros de la ecuación logística calculados para los dos viñedos y los dos métodos de muestreo son diferentes (Fig. 5). Las curvas ajustadas para las trampas ubicadas entre la vegetación muestran un crecimiento más lento que las colocadas sobre la superficie del suelo; esta diferencia es mayor en la trampa colocada en el suelo, lo que también puede inferirse observando la figura 1. Sin embargo, el momento en el que se alcanzan el 50% de la población (pi = punto de inflexión) se corresponde con los muestreos de mediados de diciembre. En el viñedo conducido en lira coinciden en la fecha (13/12/05) y la diferencia entre los dos tipos de trampas es menor a una semana en el parral (13/12/05 y 20/12/05).

Evaluación de los métodos de muestreo

El número absoluto de insectos colectados varió sustancialmente según el método de muestreo. Sin embargo, esto difiere cuando se consideran las proporciones de captura. Como se aprecia en el cuadro 1, la relación de capturas fue similar entre los dos viñedos; las mayores capturas se obtuvieron en las trampas adhesivas amarillas colocadas al nivel del suelo, seguidas de las aéreas y el golpeo.

El período de muestreo se dividió teniendo en cuenta la fluctuación poblacional, para evaluar la eficiencia de los métodos. Siguiendo este procedimiento se observaron diferencias significativas en función del período considerado (Cuadros 2 y 3). En los períodos 1 (5/10/05 al 9/11/05) y 3 (18/1/06

al 28/2/06), cuando las densidades poblacionales son bajas (Fig. 3), las trampas aéreas son mejores estimadores de la abundancia, o al menos iguales a las colocadas a nivel del suelo. En cambio, en el período 2 (9/11/05 al 18/1/06), cuando se concentra la mayor abundancia poblacional las trampas ubicadas a nivel del suelo capturan más individuos y reflejan mejor lo que sucede en la planta. Este constituye el momento crítico para la viña, ya que en este período quedó comprendida la floración de los cultivos evaluados, se detectaron trips en los racimos por el método del golpeo y se verificaron daños por oviposición un mes después. Sin duda estas trampas tienen la desventaja de que se ensucian mucho, de que capturan un mayor número de insectos y de que la vegetación

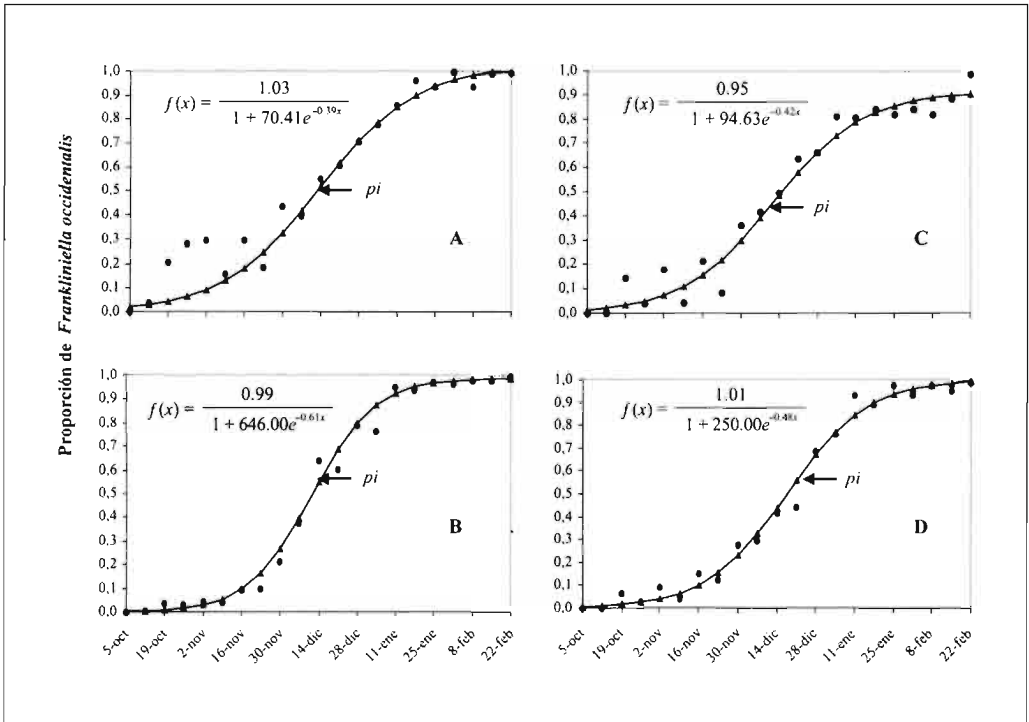


Figura 5. Valores esperados (▲) según el modelo logístico y observados (●) de *Frankliniella occidentalis* en función de las fechas de muestreo en *Vitis vinifera* L. cv. Italia. A: conducido en lira, trampas adhesivas amarillas colocadas en la planta; B: conducido en lira, trampas adhesivas amarillas colocadas a nivel del suelo; C: conducido en parral, trampas adhesivas amarillas colocadas en la planta; D: conducido en parral, trampas adhesivas amarillas colocadas a nivel del suelo (π = punto de inflexión).

Cuadro 1. Porcentaje de capturas de *Frankliniella occidentalis* en trampas adhesivas amarillas colocadas en la vegetación, a nivel del suelo y en golpes en *Vitis vinifera* L. cv. Italia conducido en lira y parral.

	Trampas Aéreas (%)	Trampas de Suelo (%)	Golpeos (%)
Total por método (lira)	16,37	83,25	0,38
Total por método (parral)	30,36	69,52	0,12

Cuadro 2. Estimación de la proporción e intervalos de confianza (95%) de capturas de *Frankliniella occidentalis* en trampas adhesivas amarillas colocadas en la vegetación y a nivel del suelo en *Vitis vinifera* L. cv. Italia conducido en lira en tres períodos de tiempo.

Método de muestreo	Proporción	Intervalo de confianza	
		Li	Ls
Período 1 (05/10/05 – 09/11/05)			
Trampa Aérea	0,16 a	0,10	0,16
Trampa Suelo	0,05 b	0,03	0,06
Período 2 (09/11/05 – 18/01/06)			
Trampa Aérea	0,74 b	0,72	0,80
Trampa Suelo	0,90 a	0,88	0,92
Período 3 (18/01/06 – 28/2/06)			
Trampa Aérea	0,11 a	0,09	0,13
Trampa Suelo	0,05 b	0,04	0,07

Li: límite inferior Ls: límite superior Valores seguidos por diferente letra son estadísticamente diferentes en la prueba de Chi-cuadrado ($P \leq 0.05$).

Cuadro 3. Estimación de la proporción e intervalos de confianza (95%) de capturas de *Frankliniella occidentalis* en trampas adhesivas amarillas colocadas en la vegetación y a nivel del suelo en *Vitis vinifera* L. cv. Italia conducido en parral en tres períodos de tiempo.

Método de muestreo	Proporción	Intervalo de confianza	
		Li	Ls
Período 1 (05/10/05 – 09/11/05)			
Trampa Aérea	0,11 a	0,07	0,15
Trampa Suelo	0,07 a	0,05	0,08
Período 2 (09/11/05 – 18/01/06)			
Trampa Aérea	0,69 b	0,63	0,74
Trampa Suelo	0,85 a	0,82	0,86
Período 3 (18/01/06 – 28/2/06)			
Trampa Aérea	0,21 a	0,17	0,26
Trampa Suelo	0,84 b	0,08	0,11

Li: límite inferior Ls: límite superior Valores seguidos por diferente letra son estadísticamente diferentes en la prueba de Chi-cuadrado ($P \leq 0.05$).

circundante puede afectar las capturas, por lo que no debe ser descartada la verificación de la presencia de trips en el cultivo en el momento de la floración empleando el método del golpeo. El período 2 es también inte-

resante desde el punto de vista de la revisión de un posible esquema de control de estos insectos, ya que si bien los daños se visualizan en la primera quincena de diciembre, los mismos fueron ocasionados previo a la flora-

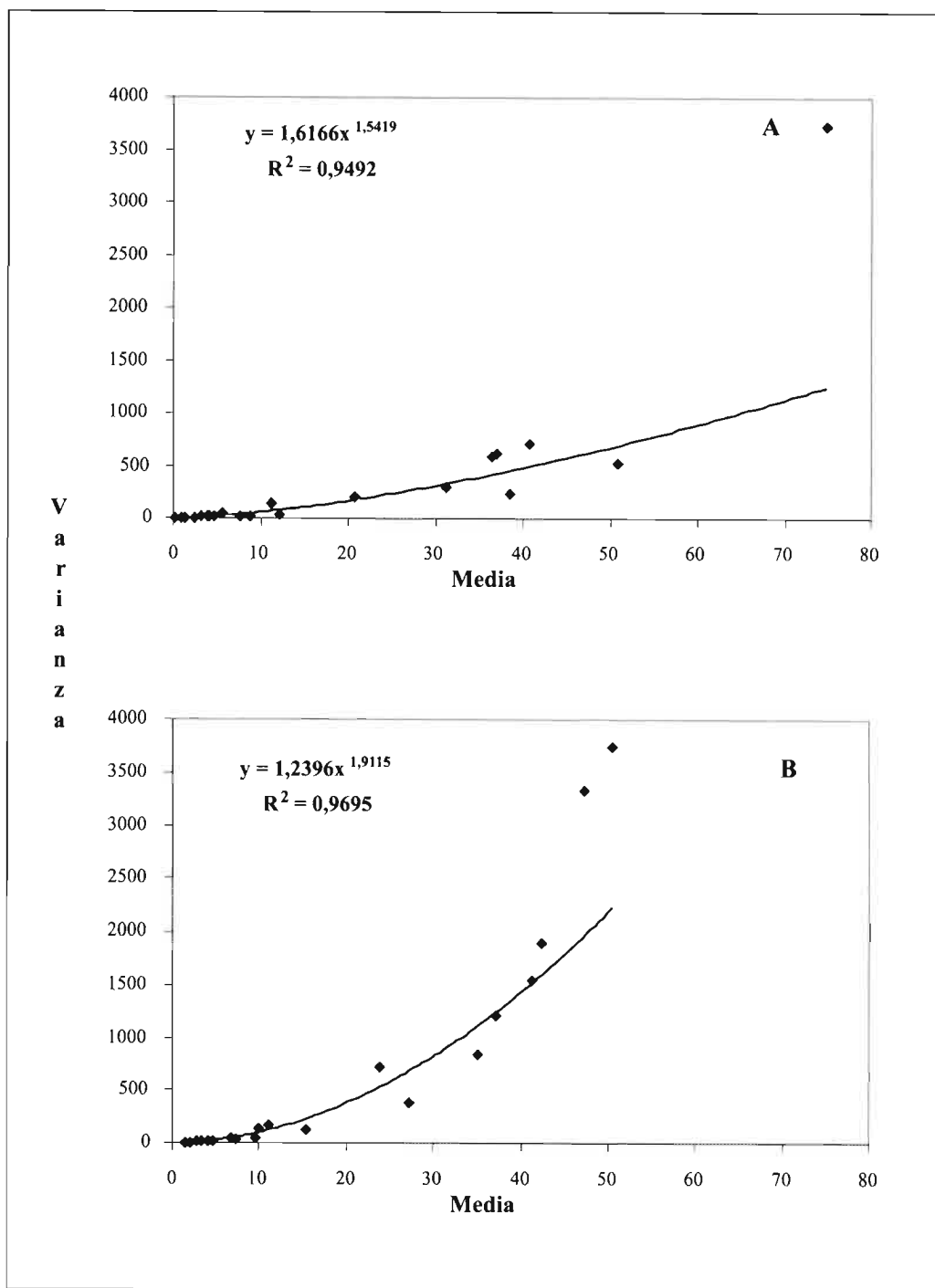


Figura 6. Relación varianza - media para *Frankliniella occidentalis* capturadas en trampas adhesivas amarillas y ajuste de la ecuación de Taylor en *Vitis vinifera* L. cv. Italia conducida en lira (A) y parral (B).

ción cuando las caliptras aún no se habían desprendido. Como la severidad de los daños observados fue baja, menos de 5 bayas afectadas en racimos de más de 100, el daño se puede revertir realizando el raleo de las bayas afectadas sin desmerecer la calidad comercial de los racimos.

Distribución espacial de *Frankliniella occidentalis* en los viñedos

En la figura 6 se observan las relaciones varianza - media y la ecuación de Taylor con los valores de los coeficientes estimados por regresión para los datos correspondientes a *F. occidentalis*. Como se puede apreciar los

valores de "b" obtenidos indican la presencia de una distribución agregada o de contagio $b(1,4; 2,0)$. Los valores de "a" y "b" encontrados son similares a los citados por CARRIZO y KLASMAN (2002) para *F. occidentalis* en diferentes cultivos hortícolas y florales. Estos parámetros son significativamente diferentes entre los viñedos conducidos en lira y parral, y por lo tanto se deben usar ecuaciones diferentes según el método de conducción para la estimación de las varianzas al momento de determinar los planes de muestreo (y el número de trampas apropiado), el que dependerá del momento y la densidad esperada de la plaga.

ABSTRACT

MUJICA M. V., I. B. SCATONI, J. FRANCO, S. NUÑEZ, C. M. BENTANCOURT. 2007. Population Fluctuation of *Frankliniella occidentalis* (Pergande) (Thysanoptera: Thripidae) on *Vitis Vinifera* L. cv. Italia in the South of Uruguay. *Bol. San. Veg. Plagas*, **34**: 457-467.

Viticulture in Uruguay is concentrated in southern zone, occupies 8500 hectares and only a small part is for fresh consumption, cv. Italia predominates among white varieties. After *F. occidentalis* introduction to the country, thrips damage on white table grapes is more severe. There are no studies that relate the damage to this species, its seasonal cycle is unknown, and no monitoring methods are validated to quantify its abundance and define the application of control measures. The goals of this research were: to determine the seasonal cycle for this species, to correlate it with damages and to validate a sampling method to identify moments of greatest populations. The research was done in two vineyards, with two different conduction systems, from bud break to harvest. The fluctuation of populations for different thrips species was studied using bunch tapping and yellow sticky traps. On bunch evaluations *F. occidentalis* was detected at flowering time, its abundance permits its association with oviposition damages observed one month later. No other kind of damage that could be associated to thrips was observed. The sampling method that best estimated population density at the critical period was traps on the ground; although the tapping method indicated thrips presence in bunches. Variance/media relation showed aggregated distribution in thrips populations.

Key words: thrips, sampling techniques, spatial distribution.

REFERENCIAS

- BEAVERS, J., A. SHAW & R. HAMPTON. 1971. Color and height preference of the citrus thrips in navel orange grove. *J. Econ. Entomol.*, **64**: 1112-1113.
- BENTANCOURT, C. & I. SCATONI. 1999. Guía de insectos y ácaros de importancia agrícola y forestal en el Uruguay. Montevideo, Facultad de Agronomía - PREDEG/GTZ. 435 pp.
- BIAGGIONI, R., M. TAMAI, S. BATISTA, S. SILVEIRA NETO & S. DE SALVO. 2002. Occurrence of thrips on Niagara table grape, and its control with the insecticides thiacloprid and methiocarb associated with *Metarhizium anisopliae*. *Rev. Bras. Frutic.*, **24**: 269-272.
- BROADSGAARD, H. 1989. Coloured sticky traps for *Frankliniella occidentalis* (Pergande) (Thysanoptera: Thripidae) in glasshouses. *Z. Ang. Entomol.*, **107**: 136-140.
- CABELLO, T., M. ABAD & F. PASCUAL. 1991. Capturas de *Frankliniella occidentalis* (Pergande) (Thysanoptera: Thripidae) en trampas de distintos colores en cultivos en invernaderos. *Bol. San. Veg. Plagas*, **17**: 265-270.

- CARRIZO, P. 1998. Eficiencia de capturas con trampas de *Frankliniella occidentalis* (Pergande) en el cultivo de pimiento en invernáculo y en malezas en el Gran La Plata. *Rev. Fac. Agron., La Plata*, **103**: 1-10.
- CARRIZO, P. & R. KLASMAN. 2002. Muestreo para el seguimiento poblacional de *Frankliniella occidentalis* (Pergande, 1895) (Thysanoptera: Thripidae) en cultivo de *Dianthus caryophyllus* (Cariophyllaceae) en invernadero. *Entomotropica*, **17**: 7-14.
- CIE (Comisión Internacional de l'Éclairage). 1976. 18 th Session, London, England, Setember 1975. *CIE Publication*, **36**.
- DE SANTIS, L., A. GALLEGU & E. MERLO. 1980. Estudio sinóptico de los thysanopteros argentinos. *Obra del centenario del Museo de La Plata.*, **6**: 91-166.
- GILLESPIE, D. & R. VERNON. 1990. Trap catch of western flower thrips (Thysanoptera: Thripidae) as affected by color and height of sticky traps in mature greenhouse cucumber crops. *J. Econ. Entomol.* **83**: 971-975.
- GONZÁLEZ HERNÁNDEZ, H., A. MÉNDEZ, A. VALLE DE LA PAZ & M. GONZÁLEZ RÍOS. 1999. Selección de trampas de color y fluctuación poblacional de trips del aguacate en Michoacán, México. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, **5**: 287-290.
- GONZÁLEZ, R. 1999. El trips de California y otros tisanopteros de importancia hortofrutícola en Chile (Thysanoptera: Thripidae). Universidad de Chile. Serie Ciencias Agronómicas. 143 pp
- HEINZ, K., M. PARELLA & J. NEWMAN. 1992. Time-efficient use of yellow sticky traps in monitoring insect populations. *J. Econ. Entomol.*, **85**: 2263-2269.
- JENSEN, F., D. FLAHERTHY & D. LUVISI. 1992. Thrips. In Grape Pest Management. D. L. Flaherty ed. California, University of California, pp: 193-201.
- KIRK, W. 1984. Ecologically selective coloured traps. *Ecol. Entomol.*, **9**: 35-41.
- KIRK, W. 1987. How much pollen can thrips destroy?. *Ecol. Entomol.*, **12**: 31-40.
- KIRK, W. 2001. The pest and vector from the West: *Frankliniella occidentalis* Proceedings of the 7th International Symposium on Thysanoptera. Reggio, Calabria, Italy.
- LEWIS, T. 1973. Thrips their biology, ecology and economic importance. Academic Press, 349 pp.
- MOFFIT, H. 1964. A color preference of the western flower thrips, *F. occidentalis*. *J. Econ. Entomol.*, **57**: 604-605.
- MOUND, L. A., & G. KIBBY. 1998. Thysanoptera: an identification guide 2nd. Edition. CAB International. 70 pp.
- MOUND, L. A. & R. MARULLO. 1996. The thrips of Central and South America: an introduction (Insecta: Thysanoptera). Associated Publishers. Gainesville, Florida, USA. 487 pp.
- MOUND, L. A., G. MORISON, B. PITKIN & J. PALMER. 1976. Handbook for the identification of British Insects. Thysanoptera. Royal Entomological Society of London. 79 pp.
- PEARSALL, I. & J. MYERS. 2001. Spatial and temporal patterns of dispersal of western flower thrips (Thysanoptera: Thripidae) in nectarine orchards in British Columbia. *J. Econ. Entomol.*, **94**: 831-843.
- RAO, S. & S. ALDERMAN. 2005. Infestation of bent grass by a new seed pest, *Chirothrips manicatus* (Thysanoptera: Thripidae), in Oregon. *J. Entomol. Soc. British Columbia*, **102**: 77-78.
- RIPA, R., F. RODRÍGUEZ & R. VARGAS. 1993. Asociación entre trips (*Thrips tabaci* Lindeman y *Frankliniella cestrum* Moulton) durante la floración en uva de mesa y "russet" en la cosecha. II. Aspectos Biológicos. *Agricultura Técnica (Chile)*, **53**: 16-22.
- RUESNIK, W. 1980. Introduction to sampling theory. In Kogan, M y Herzog, D. editores: Sampling Methods in Soybean Entomology. Springer Verlag, New York, 587 pp.
- SÁNCHEZ, J., A. LACASA, L. GUTIERREZ & J. CONTRERAS. 1998. Comparación de procedimientos de muestreo de *Frankliniella occidentalis* (Pergande) (Thys.: Thripidae) y *Orius spp.* Wolf (Hemip.: Anthocoridae) en pimiento. *Bol. San. Veg. Plagas*, **24**: 183-192.
- SAS INSTITUTE INC. 2003. Software: Changes and enhancements through Release 9.1. Cary, N.C: Sas/Stat@. 1167 pp.
- SOTO, G. & A. RETANA. 2003. Calve ilustrada para los géneros de Thysanoptera y especies de *Frankliniella* presentes en cuatro zonas hortícolas en Alajuela, Costa Rica. *Agronomía Costarricense*, **27**: 55-68.
- SOUTHWOOD, T. 1978. Ecological methods, with particular reference to animal populations. London, Chapman and Hall. 524 pp.
- SPÍNOLA, I. 1997. Cultivo de uva de mesa en Uruguay. INIA Uruguay. Serie Técnica 86. 162 pp.
- TAYLOR, L. 1961. Aggregation, variance and the mean. *Nature*, **189**: 732-735.
- TERRA, A., I. FRIONI & C. MOREY. 1999. Presencia de *Frankliniella occidentalis* (Pergande) , 1895 (Thysanoptera: Thripidae) en Uruguay. In Resúmenes del VII Congreso Nacional de Horticultura. Montevideo. Uruguay, 8 al 11 de junio.
- URUGUAY. 2003. La viticultura en Uruguay. Contribución a su conocimiento. Montevideo, MGAP-DIEA. 31 pp.
- URUGUAY, 2005. Directivas y Normas de Producción Integrada de Frutas, actualizaciones 2005. Montevideo, AFRUPI, INIA, Facultad de Agronomía, JUNAGRA.
- VERNON, R. & D. GILLESPIE. 1990. Spectral responsiveness of *Frankliniella occidentalis* (Thysanoptera: Thripidae) determined by trap caches in greenhouses. *Environ. Entomol.*, **19**: 1229-1241.
- YUDIN, L., W. MITCHELL & J. CHO. 1987. Color preference of thrips (Thysanoptera: Thripidae) with reference to aphids (Homoptera: Aphididae) and leafminer in hawaiian lettuce farms. *J. Econ. Entomol.* **80**: 51-55.

(Recepción: 30 julio 2007)

(Aceptación: 12 noviembre 2007)

Parasitismo natural de huevos de las principales especies de Noctuidae (Lepidoptera) plagas en el cultivo de soja en Tucumán, Argentina

L. VALVERDE, E. VIRLA

Se evaluó el parasitismo natural de huevos de las tres principales especies de lepidópteros plaga del cultivo de soja (*Anticarsia gemmatalis* Hübner (Noctuidae, Catocalinae), *Rachiplusia nu* (Guenée) y *Pseudoplusia* (= *Chrysodeixis*) *includens* (Walker) (Noctuidae, Plusiinae) en la provincia de Tucumán (Argentina). Se realizaron muestreos semanales en un área de 2 ha, revisando 240 foliolos en cada muestreo. Los parasitoides oófagos encontrados fueron *Trichogramma pretiosum* Riley, *Trichogramma* sp. (Hym. Trichogrammatidae) y *Encarsia porteri* (Mercet) (Hym. Aphelinidae). Estos parasitoides fueron obtenidos desde las tres especies de lepidópteros. Se determinó un 72,6 % de parasitismo total, siendo *A. gemmatalis* la especie más afectada (80,3 %), seguida por *Rachiplusia nu*.

L. VALVERDE. Fundación Miguel Lillo. Instituto de Entomología. Miguel Lillo 251. (4.000) San Miguel de Tucumán, Argentina. E-mail: lvalverde@hotmail.com.
E. VIRLA. CONICET-PROIMI, Av. Belgrano y Pasaje Caseros, T4001MVB. S. M. de Tucumán, Argentina. evirla@hotmail.com.

Palabras clave: *Trichogramma* spp, *Encarsia porteri*, *Anticarsia gemmatalis*, *Rachiplusia nu*, *Pseudoplusia includens*.

INTRODUCCIÓN

Condicionado, entre otras razones, por la coyuntura internacional de precios, la soja se ha convertido en los últimos años en el principal cultivo de la Argentina, tanto en superficie cultivada como en producción total. En la campaña agrícola 1988/89 se sembraron 4,6 millones de hectáreas y la producción alcanzó los 6,5 millones de toneladas. Sólo quince años después, en la campaña 2003/2004, la superficie sembrada con esta oleaginosa ascendió a 14,2 millones de hectáreas y la producción fue 7 veces mayor (34,8 millones de toneladas) que lo cosechado en 1989 (SAGPyA, 2003). La expansión de este cultivo, particularmente en el noroeste argentino, se realizó en detri-

mento de otros cultivos y de áreas con cobertura natural; como resultado de esto, el paisaje agrícola de la región cambió sustancialmente.

En el norte de Argentina, el cultivo de soja es atacado por varias especies de lepidópteros defoliadores. Durante muchos años se consideró a *Anticarsia gemmatalis* (Hübner) (Noctuidae, Catocalinae) como la plaga principal, y a *Rachiplusia nu* (Guenée) y *Pseudoplusia* (= *Chrysodeixis*) *includens* (Walker) (Noctuidae, Plusiinae) como plagas secundarias (LAZARO *et al.*, 1989); esta situación ha cambiado y estudios de campo basados en la abundancia de huevos de las tres especies demostraron un aumento en la población de *R. nu* (VALVERDE, 2007), alcanzando valores similares a *A. gemmatalis*.

En Argentina, y particularmente en las provincias del noroeste, el control de estas plagas se realiza casi exclusivamente mediante el uso de los insecticidas clorpirifos (organofosforado) y cipermetrina (piretroide), realizándose un promedio de 3 aplicaciones en cada campaña agrícola. Como es sabido, el abuso en la aplicación de pesticidas trae aparejado una serie de efectos negativos al agroecosistema, como destrucción de controladores naturales, inducción o resurgimiento de plagas secundarias y desarrollo de resistencia, así como aumento en costos de producción e impacto sanitario en la población.

La revisión bibliográfica revela que existe un importante complejo de enemigos naturales que contribuyen al control natural de estas plagas; entre ellos se destacan los parasitoides oófagos (NAGARAJA and NAGARRATTI, 1973; FERREIRA y PANIZZA, 1978; MARSTON *et al.*, 1984; HASSELL, WAAGE, 1984; ARRETZ *et al.*, 1985, 1994; POLASZEK, 1991; BOTTO *et al.*, 1991a,b, 1992; RIZZO y SAINI, 1996); MOLINARI y MONETTI, 1997; KNUTSON, 1998; FOERSTER and AVANCI, 1999); sin embargo los estudios realizados en cultivos de soja del noroeste argentino y particularmente en la región de Tucumán son escasos (FRIAS *et al.*, 1991-93; OVRUSKI, y FRIAS, 1995; VALVERDE, 2003). La identificación, modo de acción y cuantificación de la ocurrencia de los parasitoides y su relación con los niveles poblacionales de las plagas aquí tratadas son aspectos esenciales para el desarrollo de programas racionales para el control de las mismas. El objetivo de este estudio fue, ante el cambio sustancial del paisaje agrícola de la región, determinar la ocurrencia de especies de parasitoides de huevos de las tres especies de lepidópteros plagas de soja y evaluar su nivel de ataque.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizaron muestreos semanales entre enero y abril de 2004, en un cultivo comercial de soja implantado en la localidad de El Bracho (26° 59' S y 65° 11' O, Dept. Cruz Alta). La parcela bajo estudio, de aproximadamente

2 ha, recibió las prácticas agronómicas convencionales con siembra directa de la semilla y 3 aplicaciones de insecticidas (cipermetrina, 24 de enero, 20 de febrero y 24 de marzo). En cada fecha de muestreo se colectaban 60 foliolos desde 40 plantas, elegidas al azar. El material fue trasladado en bolsas de papel al laboratorio para su posterior revisión con ayuda del microscopio estereoscópico, a fin de aislar los huevos de los foliolos.

Los huevos encontrados fueron colocados individualmente en cápsulas de gelatina (2 cm x 0,5 cm de diámetro), mantenidos en condiciones de laboratorio (24 ± 2 °C, 75-85 % de HR y fotoperíodo natural) y revisados periódicamente para verificar la emergencia de las larvas de lepidópteros o de parasitoides. Tanto el corion de los huevos como la genitalia de los parasitoides fueron diafanizados durante 20 minutos con lacto fenol y montados en solución de Hoyer siguiendo las técnicas clásicas de microscopía óptica. La identificación de los huevos se realizó según la estructura y el diseño del área micropilar del córion, consultando los trabajos de PETERSON (1964), ANGULO y WEIGERT (1975), WEIGERT y ANGULO (1977), GREGORY and BARFIELD (1989), ANGULO y OLIVARES (1991).

Los datos obtenidos fueron analizados, según correspondiera, mediante test "T" de Student o por medio de ANOVA seguido por un test de Tukey para la separación de medias con un nivel de 0,05 de significancia. Se utilizó el programa InfoStat® Profesional 2005d1.

Este trabajo se realizó en los laboratorios del Instituto de Entomología de la Fundación Miguel Lillo (Tucumán), y los especímenes de referencia se depositaron en la colección del mismo Instituto.

RESULTADOS

Los huevos de las principales especies de lepidópteros noctuidos plagas de soja fueron atacados por tres especies de microhimenópteros calcidoideos: *Trichogramma pretiosum* Riley, *Trichogramma* sp. (Hym.: Trichogrammatidae) y *Encarsia porteri* (Mercet)

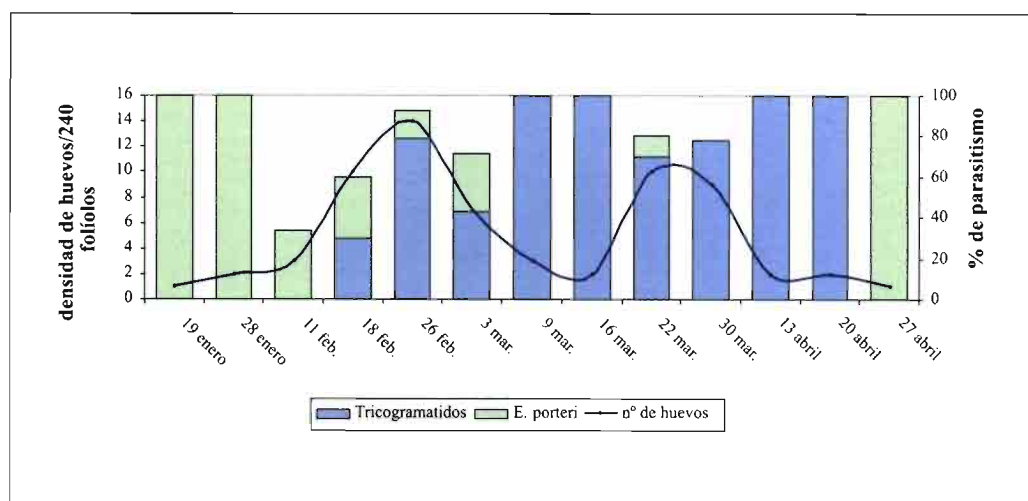


Figura 1. Densidad media de huevos de *A. gemmatalis* porcentaje de parasitismo en el cultivo de soja.

(Hym., Aphelinidae). De las dos especies de *Trichogramma*, *T. pretiosum* fue la más frecuente y abundante; la otra especie está siendo estudiada por la especialista del grupo. Debido a la dificultad de su identificación específica, fueron consideradas en esta contribución como un complejo. *E. porteri* es un parasitoide heterónimo dado que sus hembras son endoparasitoides de varias especies de Hemiptera Sternorrhyncha (mayormente Aleyrodidae) y los machos se desarrollan a expensas de huevos de diferentes especies de Lepidoptera. En este estudio, siempre se obtuvo un solo individuo por huevo.

Durante el desarrollo del cultivo, y considerando la totalidad de los huevos de Noctuidae colectados, se registró un porcentaje de parasitismo de 72,6 %.

El 80,3% de los huevos de *A. gemmatalis* recolectados en la campaña estaban parasitados. El complejo de los tricogramátidos atacó a los huevos de esta plaga significativamente más que el afelínido ($P < 0,05$).

E. porteri detecta los huevos de *A. gemmatalis* en las etapas vegetativas tempranas del cultivo, cuando la densidad de huevos es aun muy baja. El complejo de tricogramátidos aparece recién cuando el cultivo tiene un mes y medio de sembrado (Fig. 1).

El porcentaje total de parasitismo en *R. nu* fue 69,4 %. En esta especie no hubo diferencias estadísticamente significativas entre los huevos parasitados por tricogramátidos y por *E. porteri* ($P > 0,05$).

Rachiplusia nu se establece rápidamente en el cultivo, oviponiendo cuando las plantas tienen de 2 a 3 hojas. En esta especie, al igual de lo registrado para *A. gemmatalis*, se observa que *E. porteri* está presente tempranamente en el cultivo (Fig. 2). Las diferencias en el nivel de parasitismo por parte de tricogramátidos y el afelínido no fueron estadísticamente significativas ($P > 0,05$).

El porcentaje de parasitismo registrado para *P. includens* fue 57,9%. Al analizar los registros de parasitismo en esta especie, a fin de determinar una preponderancia del ataque de los tricogramátidos sobre *E. porteri*, no se observaron diferencias estadísticamente significativas ($P > 0,05$).

Si examinamos los niveles de parasitismo que afectan a las tres especies plagas en relación con los niveles de ataque de los dos grupos de oófilos (afelínido y tricogramátidos) podríamos decir que *E. porteri* ataca más a los Plusiinae, sin embargo estadísticamente solo se pudieron determinar diferencias significativas entre *A. gemmatalis* y *P. inclu-*

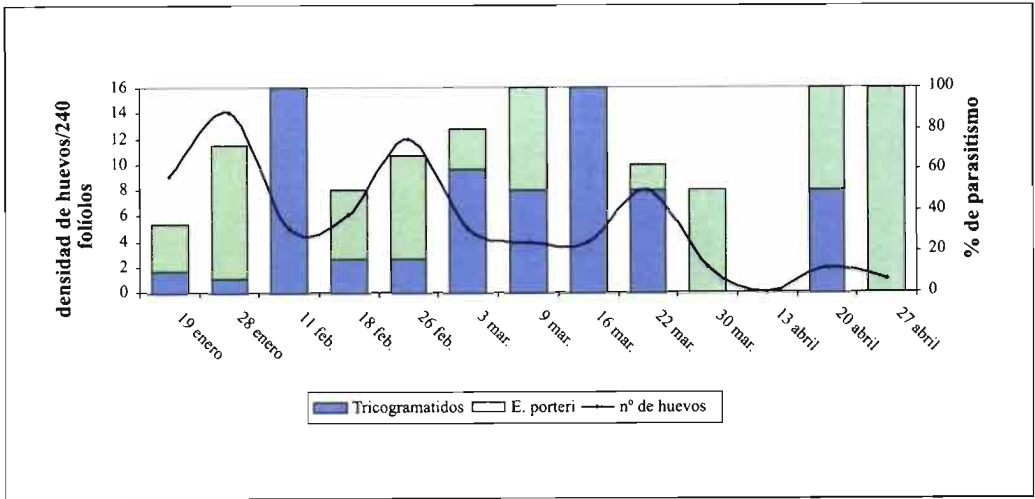


Figura 2. Densidad media de huevos de *R. nu* y porcentaje de parasitismo en el cultivo de soja.

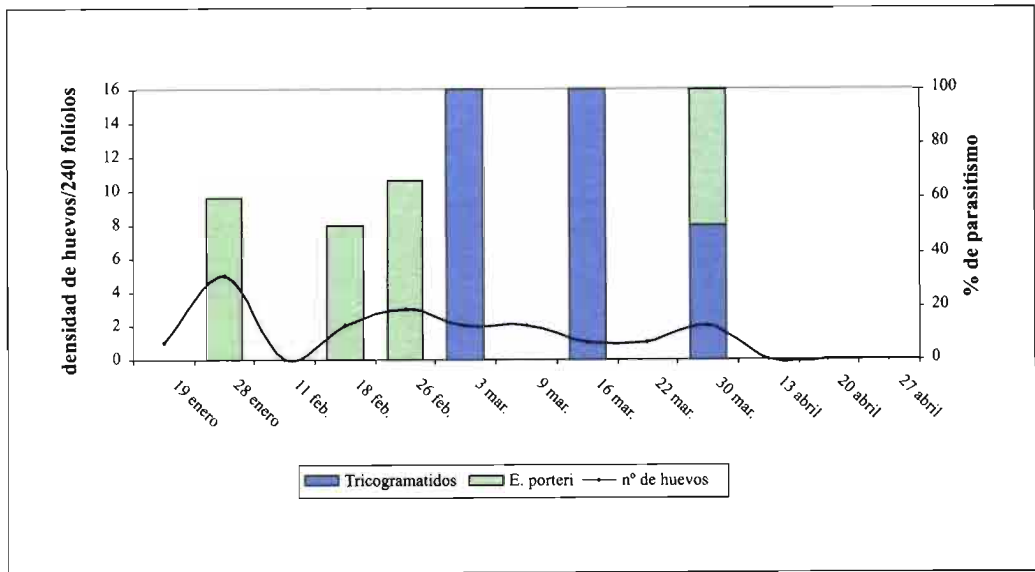


Figura 3. Densidad media de huevos de *P. includens* y porcentaje de parasitismo en el cultivo de soja.

Cuadro 1. Parasitismo de los huevos de las tres especies plagas en el cultivo de soja.

	<i>A. gemmatalis</i> (n: 66)	<i>P. includens</i> (n: 19)	<i>R. nu</i> (n: 72)
Parasitismo total (%)	80,3	57,9	69,4
% <i>E. porteri</i>	24,5	63,6	52,0
% tricogramátidos	75,5	36,4	48,0

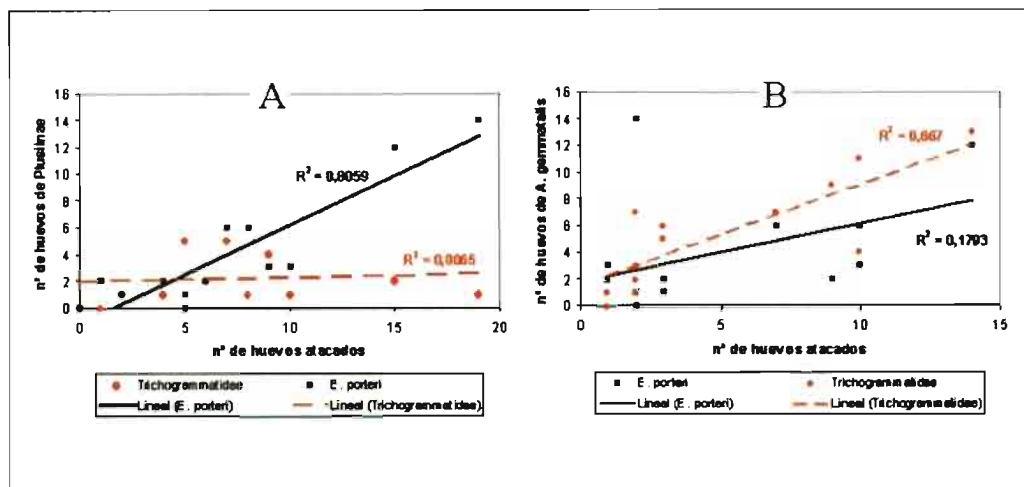


Figura 4. Relación entre la presencia de huevos de Plusiinae (A) y de *A. gemmatalis* (B), y sus parasitoides oófilos.

dens. Con respecto a los tricogramátidos, se determinó una significativa diferencia a favor de *A. gemmatalis* (Cuadro 1).

Al considerar los niveles de ataque de los dos grupos de parasitoides a través del desarrollo del cultivo, es posible observar el predominio de *E. porteri* en la primera y última etapa del mismo. Los tricogramátidos alcanzan niveles importantes recién a partir de febrero cuando el cultivo ya cuenta con 45 días de desarrollo, esto podría estar asociado al mayor desarrollo de la planta, ya que le brinda más protección cuando el follaje de hileras paralelas se juntan.

Haciendo un estudio con la relación existente entre la presencia de huevos de Plusiinae y de *A. gemmatalis* con la de sus parasitoides, se verifica una mayor asociación entre los de Plusiinae con *E. porteri*, y del complejo de Trichogrammatidae con *A. gemmatalis* (Fig. 4).

DISCUSIÓN

En este estudio de parasitismo natural de huevos de *A. gemmatalis*, *R. nu* y *P. includens*, *E. porteri* se comportó únicamente como solitaria; VISCARRET y LOPEZ (2004) mencionan que, bajo condiciones de labora-

torio, se pueden desarrollar hasta dos individuos macho de *E. porteri* cuando ataca huevos de *Cydia pomonella* Linnaeus (Lepidoptera, Tortricidae).

FRIAS *et al.* (1991-93) al estudiar las especies de parasitoides de huevos de lepidópteros noctuidos de la soja en Tucumán mencionan dos especies de parasitoides (identificadas posteriormente por OVRUSKI y FRIAS (1995) como *T. pretiosum* y *E. porteri*); ellos observaron que el número de huevos atacados por *T. pretiosum* fue superior a los afectados por *E. porteri*, salvo al final del estado vegetativo y principio del reproductivo. Los autores no hacen referencia a la identidad de los Noctuidae involucrados en el estudio. Nuestra contribución no solo determina la identidad de los hospedadores sino que demuestra la existencia de al menos dos especies de *Trichogramma* actuando en el cultivo. Los valores medios de parasitismo total son similares a los determinados por FRIAS *et al.* (1991-93) para la campaña 1990-91, pero en contraposición, en nuestro estudio el número de huevos afectados por *E. porteri* fue mayor en la primera y última etapa del cultivo.

Los tricogramatidos comienza su accionar después de los 45 días de implantado el

cultivo, cuando los huevos de *A. gemmatalis* comienzan a ser mas frecuentes en el mismo (Fig. 1). Además el atraso en el incremento de estos parasitoides podría ser su umbral térmico en el desarrollo (BASSO y PINTUREAU, 2004), la necesidad de un mayor desarrollo de las plantas del cultivo aportándole mas refugio, esto ha sido ampliamente mencionada en la literatura (a modo de ejemplo ver ALTIERI *et al.*, 1993).

En la naturaleza, *E. porteri* demostró una tendencia a parasitar mayormente huevos de Plusiinae (*R. nu* y *P. includens*), y el complejo de *Trichogramma* al Catocalinae *A. gemmatalis*. La única referencia argentina respecto a preferencias de hospedador para *E. porteri* es la de VISCARRET and LOPEZ (2004), quienes aportan información obtenida a través de estudios de laboratorio de libre elección enfrentándolo con huevos de *A. gemmatalis* (la única especie de Noctuidae), de *C. pomonella* (Lepidoptera, Tortricidae), *Diatraea saccharalis* (Fabricius.) (Lepidoptera, Crambidae) y *Sitotroga cerealella* (Oliver) (Lepidoptera, Gelechiidae), y determinaron una preferencia hacia *A. gemmatalis*.

La mayor abundancia de huevos afectados por *E. porteri* durante las primeras etapas de cultivo podría relacionarse con su preferencia por los Plusiinae, que son los primeros en detectarse en el cultivo, como fuera señalado por VALVERDE (2007).

CONCLUSIONES

En base a este estudio se puede concluir que:

Las tres especies de parasitoides ófagos (*T. pretiosum*, *Trichogramma* sp. y *Encarsia porteri*) afectaron huevos de *Anticarsia gemmatalis*, *Rachiplusia nu* y *Pseudoplusia includens*.

Los parasitoides ófagos representaron un importante factor de mortalidad, ya que el 72,6 % del total de los huevos monitoreados estaban parasitados.

En la naturaleza, y al atacar las plagas de referencia, *Encarsia porteri* se comporta como parasitoide solitario, emergiendo solo un ejemplar de cada huevo.

Solo en la primera y última etapa del cultivo el nivel de ataque de *Encarsia porteri* supera a los tricogramátidos.

La colonización del cultivo por parte de los *Trichogramma* se verifica unos 45 días después de implantado el cultivo, posiblemente cuando el desarrollo vegetativo del cultivo es tal que el follaje de plantas de hileras contiguas se interconectan.

A. gemmatalis mostró el nivel mas alto de parasitismo, seguida por *R. nu*.

Los huevos de *A. gemmatalis* son atacados principalmente por los tricogramátidos, y los de Plusiinae por *Encarsia porteri*.

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. R. Querino de la Univ. de San Paulo (Brasil) por la identificación de los *Trichogramma* spp.. Al Dr Gregory Evans (Systematic Entomology Laboratory Beltsville, USA) por la identificación de *Encarsia porteri*. A Fani Dragh por su permanente colaboración, y a Francisco Sánchez por su ayuda en el trabajo de campo y laboratorio.

ABSTRACT

VALVERDE L., E. VIRLA. 2007. Natural parasitism of eggs of the main species of Noctuidae (Lepidoptera) pest affecting soybeans crops in Tucumán province, Argentina. *Bol. San. Veg. Plagas*, **33**: 469-476.

The natural parasitism of eggs parasitoids of the three major Lepidoptera pest (*Anticarsia gemmatalis* Hübner (Noctuidae, Catocalinae), *Rachiplusia nu* (Guenée) and *Pseudoplusia includens* (Walker) (Noctuidae, Plusiinae)) affecting crops in Tucumán province (Argentina) was evaluated. Weekly samples were taken in a 2 ha crop; 240 foliolum per sample were observed. Three oophagous parasitoids were recorded: *Trichogramma*

pretiosum Riley, *Trichogramma* sp. (Hym. Trichogrammatidae), and *Encarsia porteri* (Mercet) (Hym. Aphelinidae). They attacked eggs of the three Lepidoptera pests. The estimated parasitism rate was 72.6% of the whole collected eggs, being *Anticarsia gemmatalis* the most affected species (80.3%) followed by *Rachiplusia nu*.

Key words: *Trichogramma* spp, *Encarsia porteri*, *Anticarsia gemmatalis*, *Rachiplusia nu*, *Pseudoplusia includens*.

REFERENCIAS

ALTIERI, M. A., CURE, J. A. and GARCIA, M. A. 1993. *The role and enhancement of parasitic hymenoptera biodiversity in agroecosystems*. En: *Hymenoptera and biodiversity*. pp: 257-275. J. La Salle y I. D. Gauld (eds.) CAB International, Wallingford, UK.

ANGULO, A. O. y WEIGERT, G. T. H. 1975. Estados inmaduros de lepidópteros Noctuidos de importancia económica en Chile y claves para su determinación. *Bol. Soc. Biol. Concepc.* Publ. Esp. N° 1: 153 pp.

ANGULO, A. y OLIVARES, T. 1991. Microestructura del exocorion en huevos de algunas especies de noctuidos (Lepidoptera: Glossata: Noctuidae). *Ans. Ins. Pat. Ser. Cs. Nats.* Punta Arenas (Chile) **20** (1): 95-100.

ARREZ, P., LAMBOROT, L. y GUERRERO, S. M. A. 1985. Evaluación del parasitismo sobre los estados inmaduros de la cuncunilla verde del fríjol *Rachiplusia nu* (Guenée) en praderas de alfalfa. *Rev. Chilena Ent.*, **12**: 209-215.

ARREZ, P., LAMBOROT, L., GUERRERO, S. M. A y ARAYA, J. E. 1994. Parasitismo de huevos y larvas de *Rachiplusia nu* (Guenée) (Lepidoptera: Noctuidae) en fríjol cultivado en la región metropolitana, Chile. *Bol. San. Veg. Plagas*, **20**: 909-917.

BASSO, C. y PINTUREAU, B. 2004. Las especies de *Trichogramma* de Uruguay (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Rev. Soc. Entomol. Argent.*, **63** (1-2): 71-80.

BOTTO, E. A., STILINOVIC, D., GRECO, C. y CEDOLA, C. 1991a. Empleo de *Trichogramma* sp. (Hym. Trichogrammatidae) para el control biológico de lepidópteros plagas por medios inundativos. Resúmenes del II Congreso Argentino de Entomología. La Cumbre, Córdoba: 63.

BOTTO, E. A., SIDORKEWICZ, N. STILINOVIC, D. GRECO, C. y CARRIZO, P. 1991b. Estudios biológicos sobre *Trichogramma pretiosum* Riley, nueva cita para la entomofauna argentina. Resúmenes del II Congreso Argentino de Entomología. La Cumbre, Córdoba: 181.

BOTTO, E. A., SEGADE, G., NIENSTEDT, K., CEDOLA, C., CERIANI, S. y CARRIZO, P. 1992. Parasitismo natural de lepidópteros plagas de la soja y de la alfalfa por *Trichogramma* spp. (Hymenoptera: Trichogrammatidae). En: Resúmenes VIII Jornadas Fitosanitarias Argentinas, Paraná.

FERREIRA, B. S. C. y PANIZZI, A. R. 1978. Distribución de ovos e lagartas de *Anticarsia gemmatalis* Hübner en plantas de soja. *An. Soc. entomol. Brasil*, **7**: 54-59.

FOERSTER, L. and AVANCI, M. 1999. Egg parasitoids of *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae) in soybeans. *An. Soc. entomol. Brasil*, **28** (3):545-548.

FRIAS, E. A., OVRUSKI, S. M. y POPICH, S. B. 1991-93. Parasitoides de huevos de lepidópteros noctuidos encontrados en cultivos de soja y su evaluación como agentes de control. *Rev. Invest. CIRPON*, **9**: 29-35

GREGORY, B. M. AND BARFIELD, C. S. 1989. *Guide to the identification of some lepidoptera eggs found on Florida soybean. Glicine max (L) Merit*. Agricultural Experiment Station. Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida, Gainesville. *Monograph.*, **15**: 1-15.

HASSELL, M. P. and WAAGE, A. 1984. Host-parasitoid population interactions. *Ann. Rev. Entomol.*, **29**: 89-114.

KNUTSON, A. 1998. *The Trichogramma manual*. Texas Agricultural Extension Service. The Texas A&M University System. 44 pp.

LAZARO, H. O., GLENCROSS, S. y NASCA, A. 1989. Comportamiento de las poblaciones de fitófagos mas importantes asociados a cultivos de soja en la Provincia de Tucumán. R. Argentina. IV conferencia mundial de investigación en Soja. Bs. As., (Rep. Argentina), (3): 1546-1551.

MARSTON, N., HOSILTILR, D., PINNELL, R., DICKERSON W. and SMITH, D. 1984. Natural mortality of lepidopteran egg and larvae in Missouri soybeans. *Ann. ent. Soc. Amer.*, **77**: 21-28.

MOLINARI, A. M. y MONETTI, C. 1997. Parasitoides (Hymenoptera) de insectos plaga del cultivo de soja en el centro sur de la provincia de Santa Fe (Argentina). *Rev. Soc. Entomol. Argent.*, **56** (1-4): 43 - 46.

NAGARAJA, H. and NAGARRATTI, S. 1973. A Key to some new world species of *Trichogramma* (Hymenoptera: Trichogrammatidae), with descriptions of four new species. *Proc. Ent. Soc. Wash.* **75** (3) : 288-297.

OVRUSKI, S. M. y FRIAS, E. A. 1995. Presencia de *Encarsia porteri* (Hymenoptera: Aphelinidae) parasitoidizando huevos de lepidópteros noctuidae plagas del cultivo de soja en Tucumán, Argentina. *Rev. Soc. Entomol. Argent.*, **54** (1-4): 25-29.

PETERSON, A. 1964. Egg types among moths of the noctuidae (Lepidoptera). *Florida Ent.*, **47**: 71-91.

POLASZEK, A. 1991. Eggs parasitism in Aphelinidae (Hymenoptera Chalcidoidea) with special reference to *Centrodora* and *Encarsia*. *Bull. Ent. Res.*, **81**: 97-106.

RIZZO, H. F. y SAINI, E. D. 1990. *Insectos perjudiciales al cultivo de soja en la Argentina y sus principales enemigos naturales*. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. 44pp.

SAGPYA, 2003. Estimaciones Agrícolas. Secretaría de Agricultura Ganadería Pesca y Alimentación, Buenos Aires, Argentina.

- VALVERDE, 2003. Importante presencia de parasitoides oófagos de lepidópteros plagas de soja en Tucumán Argentina. *Acta zool. Lilloana*, **47**(1-2): 137-141.
- VALVERDE, 2007. Abundancia y distribución de los huevos de las principales especies de lepidópteros noctuidos plagas en el cultivo de soja en Tucumán, Argentina. *Bol. San. Veg. Plagas*, **33**: 163-168.
- VISCARRET, M. M. y LOPEZ, S. N. 2004. Biological studies on *Encarsia porteri* (Mercet) (Hymenoptera: Aphelinidae) an heterotrophic parasitoid of *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae) complex. *Biological Control*, **30**: 236-240.
- WEIGERT, G.Th. y ANGULO, A. O. 1977. Nuevos tipos de huevos en noctuidos chilenos (Lepidoptera: Noctuidae). *Bol. Soc. Biol. Concepc.*, **51** (1): 289- 298.
- (Recepción: 27 agosto 2007)
(Aceptación: 11 enero 2008)

La polilla del racimo (*Lobesia botrana*) en la D.O. Arribes, años 2004 a 2006

I. ARMENDÁRIZ, G. CAMPILLO, A. PÉREZ-SANZ, C. CAPILLA, J. S. JUÁREZ, L. MIRANDA

Durante los años 2004 a 2006 en el marco del Proyecto INTERREG III-A "MOA-BAPE" se han realizado estudios en viñedos de la D.O. Arribes (Castilla y León) con el objetivo de conocer el ciclo biológico de una de las principales plagas de la vid, la polilla del racimo (*Lobesia botrana*). La presencia de adultos fue comprobada semanalmente entre los meses de abril y octubre mediante el uso de trampas tipo delta con feromonas. Se presentan las curvas de vuelo y se relacionan con datos climatológicos; humedad, temperatura, precipitación, viento y radiación. Es constatable la presencia de al menos tres generaciones anuales de la polilla. Existe una correlación fuerte entre los grados-día calculados a partir del 1º de enero con un umbral de 10°C y la población acumulada de polilla. El factor climatológico más limitante es la humedad relativa, al bajar por debajo del 40% en algunos momentos. Se concluye que la presencia de polilla es reducida en esta zona vitivinícola, existiendo una disminución de su incidencia notoria en el último año (2006). Las condiciones climatológicas propicias para el desarrollo de la plaga, con humedades relativas, temperaturas, vientos y radiación moderados y la ausencia de tratamientos específicos sugiere la existencia de un control natural efectivo de la plaga en esta zona.

I. ARMENDÁRIZ, G. CAMPILLO, A. PÉREZ-SANZ, C. CAPILLA, J. S. JUÁREZ, L. MIRANDA. Dpto. de Hortofruticultura. Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León. Ctra. Burgos Km. 119, 47071 Valladolid (España). ita-armgonig@itacyl.es

Palabras clave: Castilla y León, daños, plagas, meteorología, integral térmica.

INTRODUCCIÓN

La polilla del racimo (*Lobesia botrana* Den. y Schiff.) es uno de los insectos que más pérdidas ocasiona en los viñedos del área mediterránea, siendo la plaga clave de este cultivo (COSCOLLÁ, 1997). Se trata de una plaga reciente y dinámica, ya que los primeros ataques fueron apreciados a finales del S. XIX en Austria, estando ya presente en el primer tercio del S. XX en todas las zonas vitícolas europeas.

Además de los ataques directos de la polilla del racimo que inciden sobre la cantidad y la calidad de la uva, existe una clara relación entre los mismos y la aparición de

podredumbres del racimo originadas mayoritariamente por *Botrytis cinerea*.

La confusión a la hora de reconocer la polilla y el hecho de que no hay una relación directa entre la presencia de adultos en las trampas y los daños en cultivo hace que el control no se haga siempre de forma racional y efectiva, realizándose tratamientos en momentos no adecuados y con materias activas de muy amplio espectro que afectan negativamente al equilibrio del medio.

Por todo ello en el año 2000 el Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León inició el estudio de esta plaga en las DD.OO. Cigales y Rueda. A partir de ese año el trabajo se fue ampliando a otras zonas con inte-

rés vitícola de Castilla y León. Este estudio se ha realizado en colaboración directa con técnicos y agricultores, evaluando la presencia y los daños reales y potenciales de esta plaga a lo largo de las campañas. La instalación de estaciones meteorológicas posibilita la recopilación de datos climatológicos para su posterior relación con el ciclo biológico de la plaga.

Dentro del proyecto de Cooperación Transfronteriza "Identificación de los agentes patógenos y beneficiosos de los principales cultivos de las regiones fronterizas Tras Os Montes y Castilla y León para la realización de estrategias de control razonadas" (MOABEPE), financiado por INTERREG III-A, se ha llevado a cabo el estudio durante los años 2004 a 2006 de viñedos en Arribes del Duero. En dicho proyecto participan, por parte española, el Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León, y por parte portuguesa, la Escola Superior Agrária de Bragança y la Direcção Regional de Agricultura de Tras-Os-Montes.

MATERIAL Y MÉTODOS

La zona conocida como Arribes del Duero se reparte entre las provincias de Zamora y Salamanca con una extensión de 625 km². El clima de la meseta castellana presenta rasgos claros de continentalidad, con marcadas oscilaciones térmicas diarias

y estacionales y extremos típicos; inviernos rigurosos y veranos calurosos y secos. Sin embargo, en las laderas ribereñas que forma el Duero en su encajonamiento fronterizo durante 140 Km., esta oscilación térmica se atenúa, pudiéndose hablar de un microclima que permite la presencia de cultivos típicamente mediterráneos como el almendro y el olivo. En julio de 2007 ha sido reconocida la Denominación de Origen vitivinícola de Arribes (B.O.C y L. n.º 146, 27 de julio de 2007).

La monitorización de la polilla se realiza mediante trampas delta con feromona específica para la especie, dos trampas por parcela separadas al menos 50 metros. Cada trampa consiste en una caseta tipo Delta sujeta a una estaca de madera de 1,5 m y en su interior una placa engomada y la feromona que se cambia cada 6 semanas.

Los muestreos son semanales, desde abril a octubre, realizándose el recuento del número de adultos en las placas engomadas y registrando igualmente el estado fenológico predominante del cultivo.

Han sido diez las parcelas estudiadas (Cuadro 1). Están situadas en las localidades de Fermoselle (Zamora) y Aldeadávila, Corporario, Masueco, Pereña y Villarino (Salamanca). En general presentan mezclas de variedades, siendo la forma de conducción en vaso, salvo la parcela 5 que está en espaldera. La densidad de plantación suele ser

Cuadro 1. Datos de las parcelas estudiadas.

PARCELA	VARIEDAD	PLANTACIÓN	MUNICIPIO
P1	Malvasía y Málaga	1982	Fermoselle
P2	Morisco, Selva y Malvasía	1980 y 2000	Fermoselle
P3	Juan García y Tinta Jeromo	1945	Corporario
P4	Rufete y Verdejo	1924	Aldeadávila
P5	Tempranillo	2001 y 2004	Fermoselle
P6	Bruñal, Juan García, Rufete, Malvasía, Verdejo, Gajo Arroba, Puesta en Cruz	1940	Villarino
P7	Juan García y Malvasía	1940	Villarino
P8	Juan García y Malvasía	1950	Pereña
P9	Juan García y Malvasía	1950	Pereña
P10	Juan García y Bastardillo Serrano	1990	Masueco

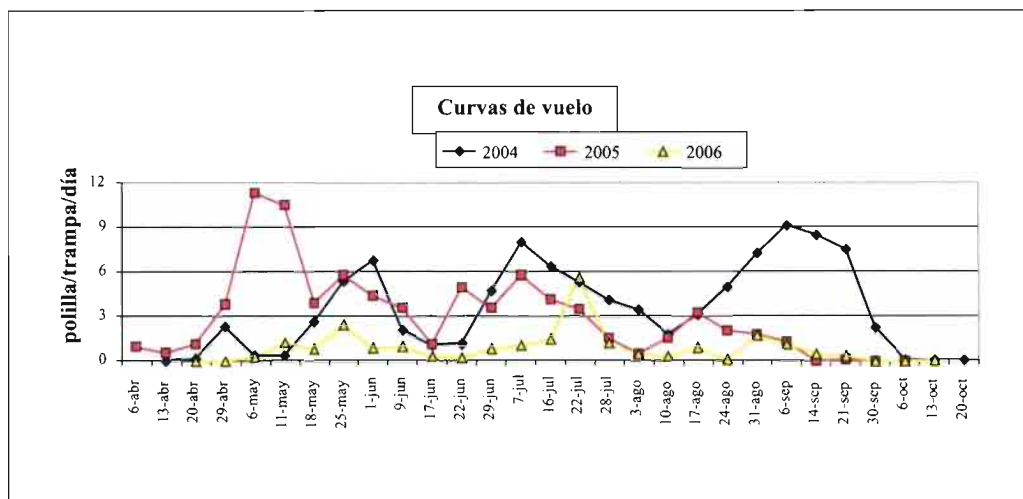


Figura 1. Curvas de vuelo de *L. botrana* en las parcelas de Arribes para los años 2004 a 2006.

alta. Los años de plantación varían entre 1924 y 2004. En total existen unas 2000 has dedicadas a la viña en los Arribes.

Hay dos estaciones meteorológicas en la zona, situadas en las parcelas P1 y P2 que registran los datos cada 10 minutos.

CURVAS DE VUELO

En la Figura 1 aparecen las curvas generales de vuelo registradas en la zona para los años 2004 a 2006. Se constata la aparición de tres vuelos distintos a lo largo de los años.

Durante 2004 los vuelos tuvieron un número de capturas similar. Hay que destacar la importancia del tercer vuelo con capturas algo mayores. En 2005 únicamente el primer vuelo presenta valores elevados, con un máximo que supera las 11 polillas/trampa/día. El resto de vuelos desciende notablemente en su valor debido posiblemente a las altas temperaturas y bajas humedades registradas en ese año. En 2006 el número de capturas fue menor en toda la campaña, destacando el segundo vuelo. Comparando los tres años se ve cómo 2004 se atrasa en el primer y tercer vuelo respecto a 2005 y 2006.

FACTORES CLIMATOLÓGICOS

INTEGRAL TÉRMICA

El potencial biótico de la polilla del racimo se ve influenciado, entre otros factores, por las condiciones climatológicas, principalmente temperatura y humedad relativa (GARCÍA MARÍ *et al.*, 1994). Ello ocasiona que tanto el ciclo biológico como la densidad de población varíen según las condiciones climatológicas de cada año.

La polilla presenta unos límites de condiciones variables según la fase del ciclo en que esté. Así los huevos presentan un umbral de desarrollo de 8,8°C (GABEL, 1981) y se ven influidos negativamente por la insolación fuerte y por humedades bajas si las temperaturas son extremas. Las larvas presentan una temperatura umbral menor (7,3°C y 9,4°C para machos y hembras), aunque su desarrollo se ve fuertemente modulado por la temperatura. Los adultos están activos a partir de 10-13°C, necesitando una humedad relativa superior al 50%. Las altas temperaturas y bajas humedades en verano provocan la mortalidad de los adultos (GARCÍA MARÍ *et al.*, 1994). El acoplamiento se ve también condicionado por la temperatura crepuscular

Cuadro 2. Parámetros poblacionales y térmicos del 1^{er}, 2^o y 3^{er} vuelo de *L. botrana* en la parcela P1, años 2004 a 2006.

2004	fechas	% población	máximo	grados-día	grados-día 50%	1 ^{er} adulto	Grados-día 31 diciembre
1 ^{er} vuelo	mayo y junio	26,12	6,50	296,45	195,25	29-abril	1641,15
2 ^o vuelo	julio	37,23	8,36	683,25	750,05	68,05	
3 ^{er} vuelo	agosto y septiembre	36,65	10,50	1330,75	1321,85		
2005	fechas	% población	máximo	grados-día	grados-día 50%	1 ^{er} adulto	grados 31 diciembre
1 ^{er} vuelo	mayo y junio	57,23	16,8	282,45	239,4	12-abril	1792,6
2 ^o vuelo	julio	31,95	12,8	880,7	834,4	67,55	
3 ^{er} vuelo	agosto y septiembre	10,8	2,8	1430,95	1238		
2006	fechas	% población	máximo	grados-día	grados-día 50%	1 ^{er} adulto	grados 31 diciembre
1 ^{er} vuelo	mayo y junio	55,45	3,25	217,95	209	02-mayo	1874,6
2 ^o vuelo	julio	34,91	2,92	746,9	679,9	104,85	
3 ^{er} vuelo	agosto y septiembre	9,64	0,67	1356,5	1343		

ya la luminosidad, al igual que la fecundidad, la oviposición y la longevidad (COSCOLLA, 1997).

El Cuadro 2 resume los parámetros poblacionales y térmicos en los años 2004 a 2006. Para el cálculo de las integrales térmicas, los grados-día se calculan tomando como umbral 10°C a partir del 1° de enero.

La Figura 2 muestra los datos de 2004 para la parcela P1. Se ha indicado en la misma la curva de vuelo, con sus tres vuelos, la acumulación de grados-día y el porcentaje acumulado de aparición de adultos. Es de destacar la gran correlación existente entre la acumulación de grados-día y el porcentaje de adultos encontrados.

En esta campaña se capturaron en las trampas de feromona 1240 adultos. El primero aparece el 29 de abril con 68,05 grados-día. El primer vuelo se desarrolla entre mediados de mayo y la segunda decena de junio, con una meseta entre la última decena de mayo y la primera de junio que alcanza el 8 de junio las 6,50 polillas/trampa/día y 296,45 grados-día acumulados. Es el vuelo

menos abundante ya que engloba un 26,12% de la población anual. La mitad de los individuos de este vuelo aparecen para el 30 de mayo, con 195,25 grados-día.

El segundo vuelo se desarrolla durante el mes de julio y primera semana de agosto, con un máximo el 13 de julio de 8,36 polillas/trampa/día y 683,25 grados-día. Es el vuelo más abundante, comprendiendo el 37,23% de los adultos capturados este año y la mitad de los mismos aparecen para el 18 de julio con 750,05 grados-día.

El tercer y último vuelo se desarrolla durante la última decena de agosto y el mes de septiembre, con un máximo anual el 6 de septiembre de 10,50 polillas/trampa/día y 1330,75 grados-día. Agrupa el 36,65% de la población, apareciendo la mitad de ésta para el 8 de septiembre y 1321,85 grados-día. Los últimos ejemplares se capturan el 6 de octubre, con 1572,70 grados-día. Con fecha de 31 de diciembre se alcanzaron los 1641,15 grados-día. Los tres vuelos están equilibrados en cuanto a número de individuos.

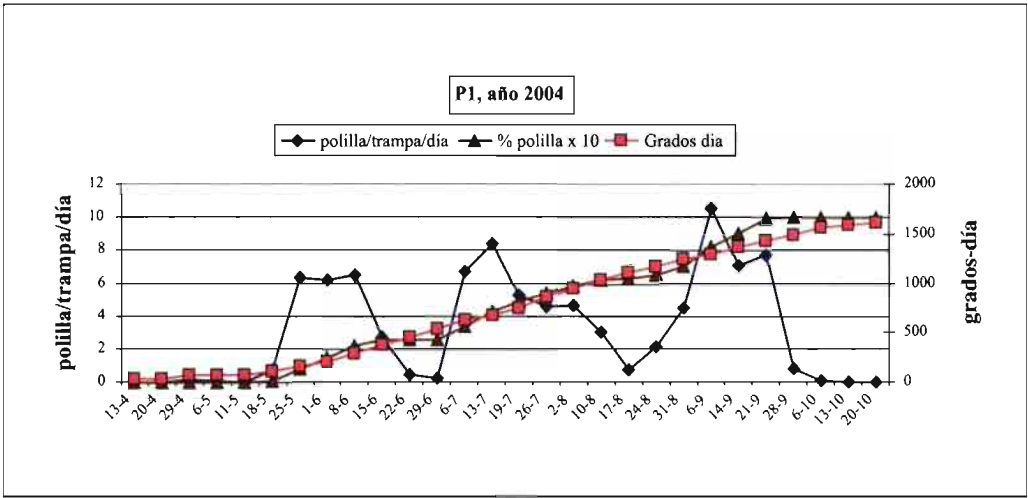


Figura 2. Curva de vuelo, grados-día y porcentaje de la población de *L. botrana* para la parcela P1 en 2004.

En la Figura 3 se representa el caso de P1 en 2005. En esta campaña se capturaron en las trampas de feromona 1344 adultos. El primero aparece el 12 de abril con 67,55 grados-día. El primer vuelo se desarrolla durante el mes de mayo y primera quincena de junio, con un máximo de 16,80 polillas/trampa/día el 31 de mayo y 282,45 grados-día acumula-

dos. Hay que indicar que a mediados de mayo presenta un descenso acusado para recuperarse a continuación. Es el vuelo más abundante ya que engloba un 57,23% de la población anual, en consonancia con el elevado tercer vuelo del año anterior. La mitad de este vuelo aparece el 26 de mayo, con 239,40 grados-día.

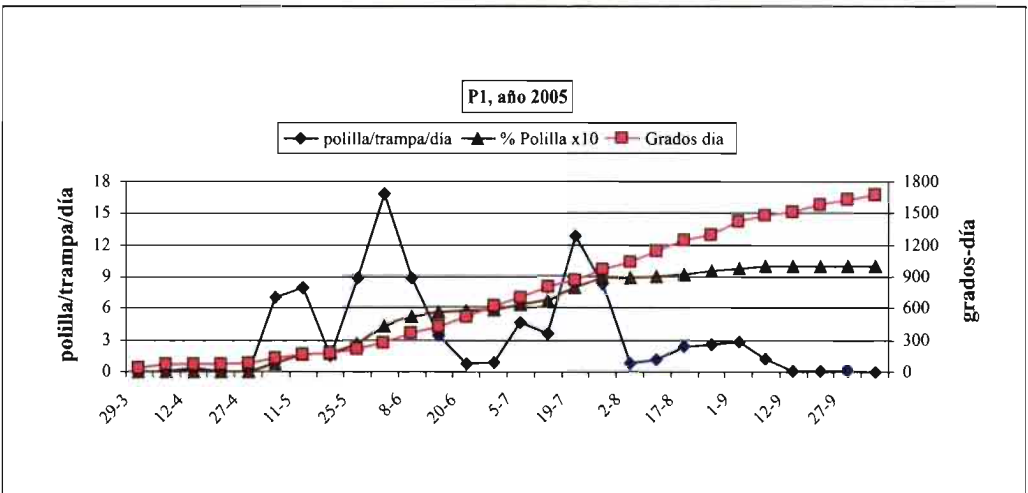


Figura 3. Curva de vuelo, grados-día y porcentaje de la población de *L. botrana* para la parcela P1 en 2005.

El segundo vuelo se desarrolla durante el mes de julio, con un máximo el día 19 de 12,8 polillas/trampa/día y 880,7 grados-día. Comprende el 31,95% de los adultos capturados este año y la mitad de los mismos aparecen para el 15 de julio con 834,4 grados-día.

El tercer y último vuelo se desarrolla de forma más discreta durante el mes de agosto y primera semana de septiembre, con un máximo el 1 de septiembre de 2,8 polillas/trampa/día y 1430,95 grados-día. Tan sólo agrupa el 10,80% de la población, apareciendo la mitad de ésta el 16 de agosto, con una acumulación de 1238,0 grados-día. Los últimos ejemplares se capturan el 27 de septiembre, con 1632,45 grados-día. Con fecha de 31 de diciembre se alcanzaron los 1792,65 grados-día. En este año las curvas de grados-día y al de población acumulada están menos solapadas.

En la Figura 4 se representa el caso de P1 en 2006. En esta campaña se capturaron en las trampas de feromona tan sólo 302 adultos. El primero no aparece hasta el 2 de mayo, con 104,85 grados-día. El primer vuelo se desarrolla durante el mes de mayo y las dos primeras decenas de junio, con un máximo de 3,25 polillas/trampa/día el 23 de mayo y 217,95 grados-día acumulados. Es la

captura más abundante ya que engloba un 55,45% de la población anual. Sin embargo el número total de polillas este año es muy pequeño y eso está en consonancia con las dimensiones reducidas del tercer vuelo del año anterior. La mitad de este vuelo aparece el 20 de mayo, con 209,00 grados-día.

El segundo vuelo se desarrolla durante el mes de julio, con un máximo el día 11 de julio de 2,92 polillas/trampa/día con 746,90 grados-día. Comprende el 34,91% de los adultos capturados este año y la mitad de los mismos aparecen para el 8 de julio con 679,9 grados-día.

El tercer y último vuelo se desarrolla con pocos efectivos a partir de la segunda quincena de agosto y primera quincena de septiembre, con un máximo relativo el 29 de agosto de 0,67 polillas/trampa/día y 1356,50 grados-día. Tan sólo agrupa el 9,64% de la población, apareciendo la mitad de ésta para el 28 de agosto, con una acumulación de 1343,00 grados-día. Los últimos ejemplares se capturan el 13 de septiembre, con 1565,85 grados-día. Con fecha de 31 de diciembre se alcanzaron los 1874,60 grados-día.

Comparando los tres años, 2005 y 2006 fueron más calurosos, como se deduce de los grados-día a 31 de diciembre (Cuadro 2).

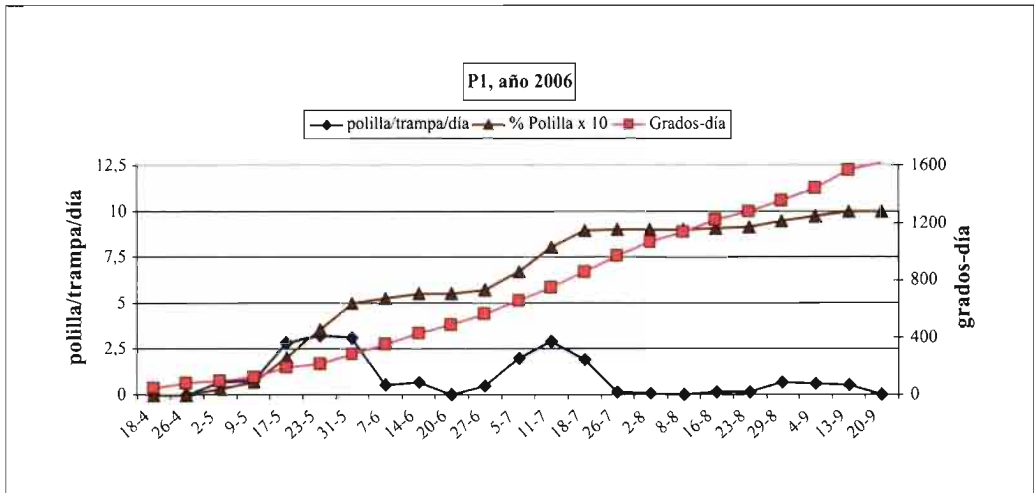


Figura 4. Curva de vuelo, grados-día y porcentaje de la población de *L. botrana* para la parcela P1 en 2006.

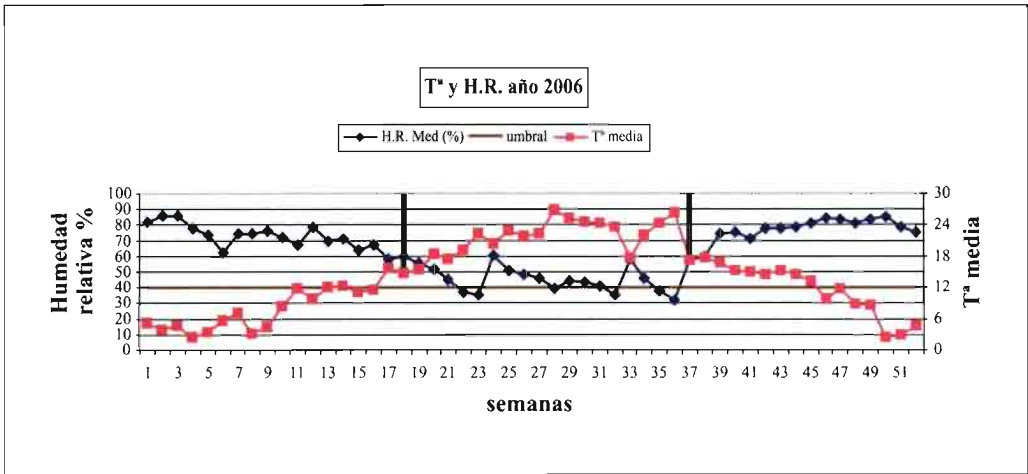


Figura 5. Temperatura media semanal y humedad relativa en la parcela P1 en 2006. Entre barras los períodos de actividad de *L. botrana* en este año.

HUMEDAD Y TEMPERATURA

El moderado carácter continental del clima en la zona de estudio y la influencia oceánica permite una humedad relativa moderada y temperaturas igualmente moderadas. Las Figuras 5 y 6 representan como ejemplo los valores de temperatura y humedad relativa para la parcela P1 en dos años. El factor más limitante es la humedad relativa, ya que esta desciende por debajo del 40% en el verano (Fig. 5).

Las humedades altas (>70%) se dan en momentos en que la temperatura es baja y en general fuera de los momentos de actividad de la plaga. La humedad relativa semanal nunca desciende por debajo del 30%, pero sí hay varios períodos durante el tiempo de actividad de la plaga en que baja del límite del 50%, lo cual debe producir mortalidad de huevos y de adultos.

Las temperaturas medias semanales máxima y mínima (Fig. 6) superan en general los umbrales de actividad de las distintas fases del insecto, que en la gráfica se han unificado en 10°C. Únicamente las primeras semanas del ciclo, correspondientes a la primavera, y las últimas del otoño muestran temperaturas medias inferiores a 15°C y pue-

den tener su efecto ralentizador en distintos aspectos fisiológicos.

Respecto a la precipitación (Fig.7) considerando los años meteorológicos (del 1º de octubre al 30 de septiembre), 2004 se puede considerar como normal (399 l/m²), 2005 fue más seco (303,8 l/ m²) y 2006 más lluvioso (446,1 l/ m²). El mes más lluvioso es octubre, presentándose una notable ausencia de precipitaciones durante el período estival (junio a septiembre) salvo tormentas aisladas.

VIENTO E INSOLACIÓN

Episodios de viento fuerte dificultan el vuelo de los adultos. Acompañados de temperaturas y radiaciones altas favorecen la desecación de huevos. En general el viento tiene una tendencia ascendente en intensidad y variabilidad hasta el mes de marzo (Fig. 8) cuando alcanza su máximo. A partir de este mes desciende hasta septiembre, exceptuando una subida en julio, ascendiendo de nuevo a partir de septiembre. No existe un patrón diario de viento, ya que éste se modifica notablemente de día a día.

La radiación afecta negativamente la supervivencia de los huevos. Va a variar a lo largo del año en intensidad y en duración.

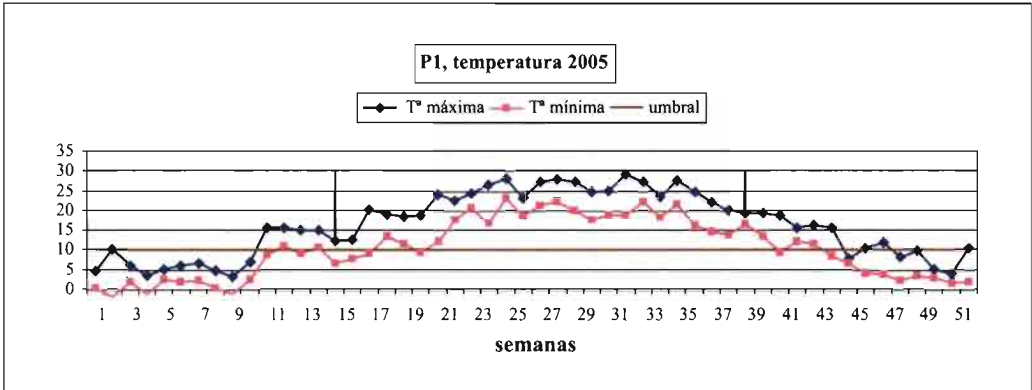


Figura 6. Temperatura máxima y mínima semanal y umbral de actividad de *L. botrana* en la parcela P1 en 2005. Entre barras los períodos de actividad en este año.

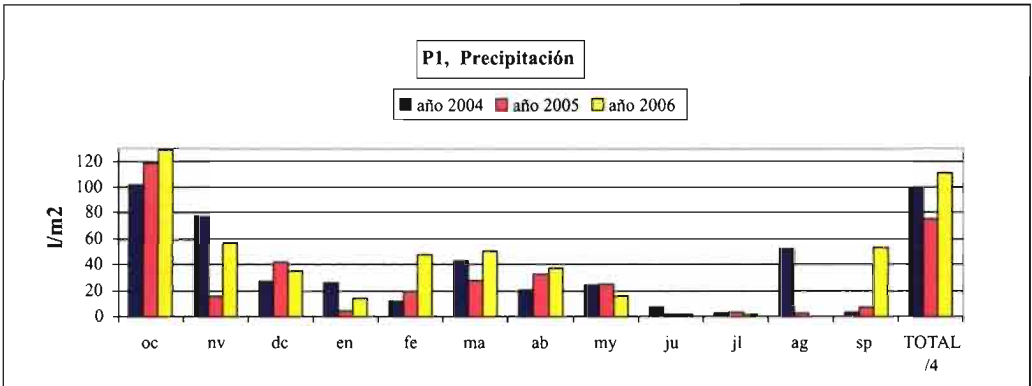


Figura 7. Precipitación en la parcela P1 para los años meteorológicos 2004 a 2006.

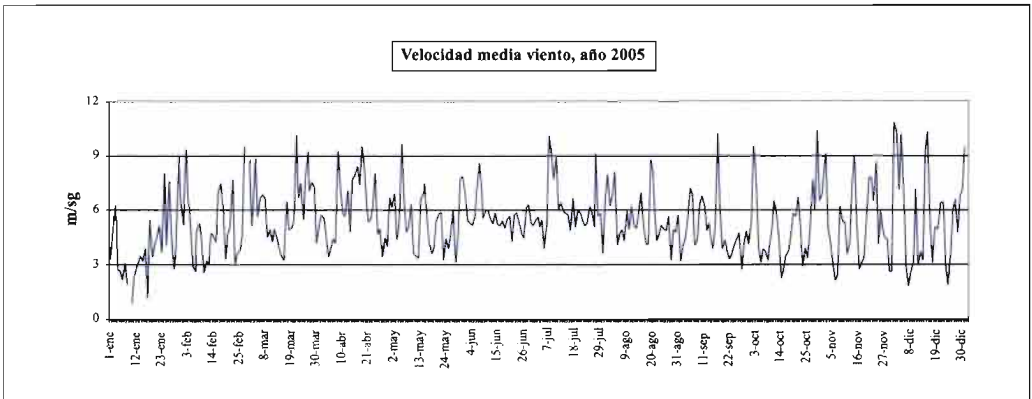


Figura 8. Velocidad media del viento en la parcela P1, año 2005.

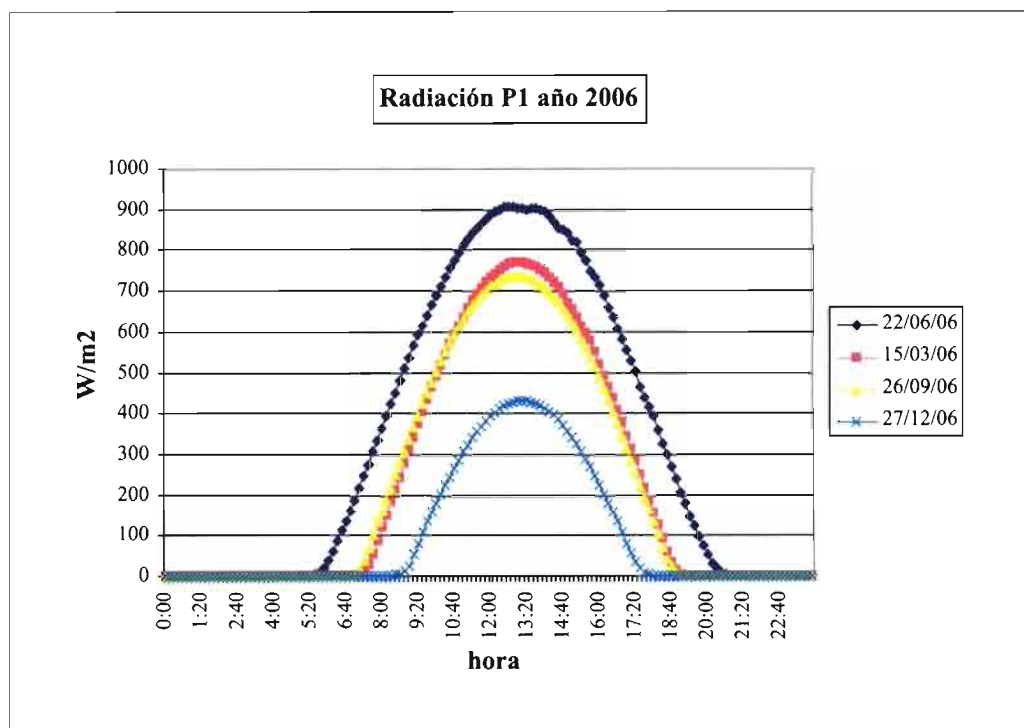


Figura 9. Radiación total diaria en cuatro días sin nubosidad en la parcela P1, año 2006.

La Fig. 9 muestra la radiación en cuatro días de 2006 en P1 sin nubosidad, correspondientes a las cuatro estaciones. Se ve que alcanza el máximo absoluto entre las 12:50-13:10 horas (UTC), por lo que es el instante en el que hay una mayor radiación, variando en duración e intensidad con máximos veraniegos, valores intermedios y similares en primavera y otoño y mínimos invernales.

MODELIZACIÓN

Son varios los autores que aportan datos sobre la biología de *L. botrana* en distintas regiones vitivinícolas en el intento de modelarla. Las mayores concordancias aparecen con el trabajo de CAFARELLI y VITA (1988) para la localidad italiana de Roma, el trabajo de SCHMID en Suiza en 1978 y los trabajos de Coscollá en Valencia. Hay que destacar que en los tres casos los datos difieren en al

menos 18 años, lapso de tiempo a tener en cuenta en un escenario de cambio climático.

En el Cuadro 3 se puede ver la comparación de datos con los de CAFARELLI y VITA (1988). La divergencia mayor (en rojo a partir de ahora se indican los datos que difieren en más de un 15%) aparece en la primera captura del primer vuelo, que presenta una acumulación de grados-día de 150 en Roma y de menos de la mitad en P1 en los años 2004 y 2005. Igualmente ocurre en la 1ª captura de 2º y 3º vuelo, que en Roma se dan siempre con más calor. Por último la primera captura del tercer vuelo se da en 2004 y 2005 en P1 a menos grados-día que en Roma. 2006, que como se dijo fue más cálido, presenta mayores coincidencias con los datos de estos autores.

El Cuadro 4 refleja la comparación con el trabajo de SCHMID (1978) en Suiza en 1976 y 1977, que aporta datos de grados-día para el

Cuadro 3. Comparación de los grados-día en Roma (CAFARELLI y VITA, 1988) y la parcela P1 para la primera captura y máximo de los tres vuelos. En rojo datos que difieren más de un 15%.

	Roma 1981-85	P1 2004	P1 2005	P1 2006
1ª captura del 1º vuelo	150	68,05	67,55	104,85
Máximo de vuelo	236	296,45	268,1	217,95
1ª captura del 2º vuelo	699	542,25	510,2	489,7
Máximo de vuelo	782	675	870,55	746,90
1ª captura del 3º vuelo.	1309	1111,05	1031,05	1223,30
Máximo de vuelo	1462	1300,9	1419,45	1356,50

Cuadro 4. Comparación de los grados-día entre Suiza (SCHMID, 1978) y la parcela P1 para el 1º y el 2º vuelo. En rojo datos que difieren más de un 15%.

	Suiza, 1976-77	P1, 2004	P1, 2005	P1, 2006
1º vuelo				
inicio	30-75	68,05	67,55	104,85
mitad	125-190	195,25	239,04	209,00
fin	200-270	542,25	510,20	489,70
2º vuelo				
inicio	500-550	542,25	510,20	489,70
mitad	640-670	721,25	834,40	679,90
fin	700-850	1111,05	1031,05	1065,50

Cuadro 5. Diferencia entre el inicio de las generaciones en grados-día a partir del 1º de marzo tomando como umbral 6,45°C en la parcela P1 y los datos de MILONAS *et al.* (2001). En rojo datos que difieren más de un 15%.

	2004	2005	2006	Milonas, 1987-1990
1ª-2ª gen	661,80	731,60	558,60	275,60- 339,30
2ª-3ª gen	749,50	683,70	935,95	751,50-833,80
3ª-1ª gen	1010,55	1234,30	1317,35	899,50-1197,00

primer y segundo vuelo. De nuevo se marcan en rojo los datos que difieren más de un 15%. Esta vez se aproximan más los datos de inicio de los dos vuelos, siendo los datos de final de vuelo más elevados en P1 que en Suiza y en 2005 también los de mitad de vuelo.

Para el cálculo de la integral térmica y como umbral térmico MILONAS *et al.* (2001) usan el de 6,45°C a partir del 1 de marzo en Grecia, calculando así las diferencias en grados día entre el comienzo de las tres generaciones. El Cuadro 5 nos indica estos valores para la P1 de Arribes en los años 2004 a 2006 y las dos parcelas griegas entre los años

1987 y 1990. Las mayores coincidencias se dan en el caso de las diferencias entre inicio de 2ª y 3ª generación y 3ª y 1ª, mientras que los grados-día transcurridos entre la 1ª y la 2ª son muy superiores en Arribes.

DEL TÍO *et al.* (2001) utilizan en Sevilla el umbral de 7°C y calculan los grados día de las generaciones a partir del 50% de aparición de adultos de la anterior. Con ello obtienen una buena correlación entre captura de adultos con feromonas y grados-día, excepto para la primera generación. Ello se explicaría por el hecho de que el 1º de enero es una fecha arbitraria, sin un significado biológico claro para *L. botrana*, y porque el 1º vuelo

Cuadro 6. Comparación de los trabajos de Coscollá en Valencia (años 1977-79) y la parcela P1. En rojo datos que difieren más de un 15%.

	Valencia, 1977-79	P1 2004	P1 2005	P1 2006
1º enero- máximo 1º vuelo	252 +- 55,6	229,25	282,45	217,95
máximo 1º y 2º vuelo	487 +- 74,3	400,8	598,25	528,95
máximo 2º y 3º vuelo	796 +- 11,9	626,25	550,25	609,6
1ª captura	170 +- 25,11	68,05	67,55	104,85

procede de la 3ª y de una 4ª generación que no se contemplan en su estudio.

El Cuadro 6 compara los datos obtenidos por Coscollá en Valencia en los años 77-79 (COSCOLLÁ, 1997) con los de Arribes. Aparecen coincidencias en el máximo del primer vuelo y la diferencia entre máximo de 1º y 2º vuelo. Los datos de máximo de 2º y 3º vuelo y la primera captura presentan más grados-día en Valencia, como por otra parte es lógico suponer teniendo en cuenta las diferencias climatológicas.

DISCUSIÓN

El uso de trampas de feromonas para predecir el riesgo de ataque en racimos es de muy relativa utilidad. Su interés reside en conocer en qué momentos tienen lugar los vuelos y poder determinar los momentos oportunos de realización de los tratamientos (COSCOLLÁ, 1997), racionalizando así el seguimiento o monitoreo de esta plaga (PELÁEZ *et al.*, 2004, SANTIAGO *et al.*, 2007). El uso de las trampas junto con los datos proporcionados por las estaciones meteorológicas nos permite relacionar ambos factores, vuelos y condiciones climatológicas.

La polilla de vid en los Arribes presenta unos valores semejantes a lo largo de los años de estudio en cuanto a momentos de aparición, intensidad de máximos e integrales térmicas. Se observa sin embargo una disminución importante en la misma en el año 2006. Se constata la existencia de tres vuelos diferentes que se corresponden a las tres generaciones, apareciendo las mismas separadas en el tiempo. Igualmente se cons-

tata una relación entre la importancia numérica del tercer vuelo y la del 1º del año siguiente.

Viendo la intensidad de los máximos de vuelos de la polilla del racimo en Arribes se puede considerar su presencia como moderada, especialmente en 2006, sobre todo si lo comparamos con otras zonas de Castilla y León, siendo su incidencia aún menor en la zona portuguesa de los Arribes (SANTIAGO *et al.*, 2007). De hecho los tratamientos contra la polilla son en la práctica inexistentes en la zona y ésta no es considerada como un problema fitosanitario. En todo caso la aplicación de otros productos puede afectar a la plaga como impedimento de la puesta y disminución en la viabilidad de huevos.

El factor climatológico más limitante parece ser la humedad relativa, ya que ésta desciende por debajo del 40% en varios lapsos de tiempo durante el período activo de la plaga. Este hecho debe matizarse por la existencia de un microclima próximo a la vegetación y en concreto al racimo, que en ausencia de viento y por transpiración puede aumentar la humedad relativa (COSCOLLÁ, 1997).

En general las condiciones climatológicas son propicias al desarrollo de la especie, sin extremos nocivos para al desarrollo de la plaga en temperatura, humedad, viento e radiación y con una pluviosidad adecuada. Ello está en contraste con la escasa presencia de la polilla y la consecuente ausencia de tratamientos, la cual puede explicarse por la presencia de un control natural adecuado. La existencia de otros tipos de cultivos intercalados o próximos tales como olivos y almendros, la relativa baja acumulación de viñedos

así como de vegetación natural ayuda sin duda al mantenimiento de hábitats adecuados para las especies de insectos predadores y parásitos de *L. botrana* así como otros organismos patógenos (COSCOLLÁ, 1997).

AGRADECIMIENTOS

A los viticultores por habernos cedido desinteresadamente sus parcelas y por sus comentarios siempre útiles. A la Denominación de Origen de Arribes por su apoyo técnico.

Al Ayuntamiento de Fermoselle por su colaboración en el Proyecto. A Yolanda Santiago, Carlos Alberte, Horacio Peláez y Laura de la Iglesia por su colaboración en el diseño del Proyecto y la toma de datos. A los alumnos de prácticas que han participado en este trabajo; Almudena Díez, Juan Mayor, Ana Codesal, Sara González, Miguel Miranda, Iván Sanz, Saray Engelman, Javier Rodríguez e Ignacio Sánchez. A Jesús Fernández por su apoyo en el manejo de los datos.

ABSTRACT

ARMENDÁRIZ I., G. CAMPILLO, A. PÉREZ-SANZ, C. CAPILLA, J. S. JUÁREZ, L. MIRANDA. 2007. The grapevine moth (*Lobesia botrana*) in the D.O. of Arribes: 2004 to 2006. *Bol. San. Veg. Plagas*, **33**: 477-489.

During years 2004 to 2006 within the Project INTERREG III-A "MOABAPE" studies have been made in vineyards of the D.O. Arribes (Castilla y León). The objective was to know the biological cycle of one of the main plagues of the grapevine moth (*Lobesia botrana*). The presence of adults was verified weekly between the months of April and October by means of the use of delta traps with pheromones. The flight curves are showed and they are related to climate conditions; humidity, temperature, precipitation, wind and radiation. The presence of at least three annual generations of grapevine moth is verified. There is a strong correlation between the degree-day calculated from 1° of January with a threshold of 10°C and the accumulated population of grapevine moth. The climatic factor more restricting is the relative humidity, which lowering below 40% at some moments.

It is concluded that the presence of grapevine is reduced in this zone of culture, existing a well-known incidence diminution in the last year (2006). The propitious climatic conditions for the development of the plague, with relative humidity, temperatures, winds and radiation moderates and the absence of specific treatments suggest the existence of an effective natural control of the plague in this zone.

Key words: Castilla y León, damages, plagues, meteorology, thermal integral.

REFERENCIAS

- CAFARELLI, V., VITA, G. 1988. Heat accumulation for timing grapevine moth control measures. *Bull. OILB/SROP*, **11**(2): 24-26.
- COSCOLLÁ, R. 1997. La polilla del racimo de la vid (*Lobesia botrana* Den. y Schiff.). Generalitat Valenciana. Conselleria de Agricultura, Pesca y Alimentación. 613 pp.
- DEL TÍO, R., MARTÍNEZ, J. L., OCETE, R., OCETE M. E. 2001. Study of the relationship between sex pheromone trap catches of *Lobesia botrana* (Den. & Schiff.) (Lep., Tortricidae) and the accumulation of degree-days in Sherry vineyards (SW of Spain). *J. Appl. Ent.*, **125**: 9-14.
- GABEL, B. 1981. Über den Einfluss der Temperatur auf die Entwicklung und Vermehrung des Brekreuzten Traubenwicklers, *Lobesia botrana* Den. et Schiff. *Anzeiger für Schädlingskunde Pflanzenschutz. Umweltschutz*, **54** (6) : 83-87.
- GARCÍA MARÍ, F., COSTA COMELLES, L., FERRAGUT PÉREZ, F. 1994. Las plagas agrícolas. 2ª edición. Ed. Phytoma-España. Valencia. 376 pp.
- MILONAS, P. G., SAVOPOULOU-SOULTANI M., STAVRIDIS, D. G. 2001. Day-degree models for predicting the generation time and flight activity of local populations of *Lobesia botrana* (Den. & Schiff.) (Lep., Tortricidae) in Greece. *Journal of Applied Entomology*, **125** (9-10), 515-518.
- PELÁEZ, H., SANTIAGO, Y., GARCÍA-SINOVAS, D., MARTÍN, M. C., MORO, S., ARMENDÁRIZ, I., ÚTSET, A., BARRIGÓN, J., PÉREZ, A., MANZANO, A., SINOVAS, M.,

- MORENO, C. M. 2004. Distribución espacial y su aplicación en la monitorización de la polilla del racimo *Lobesia botrana* Denis & Schiffermüller (Lepidoptera: Tortricidae). *Phytoma* España, nº 164: 149-150.
- SANTIAGO, Y., PELÁEZ, H., PÉREZ-SANZ, A., DE LA IGLESIA, L., CAMPILLO, G., MORENO, C., ALBERTE, C., MIRANDA, L., JUÁREZ, J. S., MARTÍN, M. C., MARAÑA, R., MORO, S., SINOVAS, M., TÉCNICOS DE LOS CONSEJOS REGULADORES Y ASOCIACIONES DE VINOS DE CALIDAD DE CASTILLA Y LEÓN, ARMENDÁRIZ, I. 2007. La polilla del racimo de la vid (*Lobesia botrana* Den. y Schiff.) en Castilla y León: años 2000 a 2006. Publicaciones del ITACYL, 130 pp.
- SCHMID, A. 1978. Vers de la grappe 1977 en Suisse Romande. Rapport pour la reunion OILB "Lutte intégrée en Viticulture" Zaragoza, febrero 1978.

(Recepción: 28 agosto 2007)

(Aceptación: 22 octubre 2008)

Distribución y abundancia de *Lymantria dispar* (Linnaeus, 1758) (*Lepidoptera: Lymantriidae*) en las principales masas de carrasca *Quercus ilex* (L.) subsp. *rotundifolia* (Lam.) y alcornoque *Quercus suber* (L.) de la Comunitat Valenciana.

IBÁÑEZ-JUSTICIA, A. SOTO, M. MARTÍNEZ GONZALVO, E. PÉREZ-LAORGA ARIAS

Lymantria dispar (L.) es uno de los defoliadores más polípagos de especies de árboles forestales en el mundo, constituyendo un importante problema fitosanitario cuando aparecen altas densidades poblacionales de este insecto. Los muestreos para evaluar sus poblaciones se realizan frecuentemente usando trampas con feromonas, mediante las cuales se capturan los machos adultos. En el presente trabajo se evalúa, por una parte, la superficie e intensidad de la defoliación de las masas de quercíneas en la zona del Carrascal Castellonense durante el periodo epidémico 2000-2002 y, por otra, se exponen los resultados de las capturas de machos adultos, obtenidos durante el periodo 2002-2006, mediante muestreos periódicos con trampas con feromona sexual. Estos muestreos se realizan con la finalidad de estudiar las densidades de población y las curvas de vuelo en las zonas de *Quercus* más importantes de la Comunidad Valenciana: los Parques Naturales de la Sierra de Espadán y el del Carrascal de La Font Roja y el Carrascal Castellonense. En el año 2000 en el Carrascal de Castellón aparecieron 34.180 ha afectadas por defoliaciones, aumentando esta superficie hasta 92.000 ha en el año 2002. Dicho aumento se correspondió con una mayor intensidad de defoliación. Durante el año siguiente (2003) no se detectaron defoliaciones en esas zonas, obteniendo al mismo tiempo capturas muy bajas de machos. Los resultados de las capturas en trampas de feromona muestran que las poblaciones capturadas en el P.N. de Espadán han sido más numerosas que en el resto de las zonas muestreadas, alcanzándose de media hasta 2.234 mariposas por trampa durante el año 2003. Las curvas de vuelo de los machos adultos tienen una forma semejante en las tres zonas de estudio, prolongándose el periodo de vuelo aproximadamente 3 meses, desde principios de julio hasta finales de septiembre. Los máximos de capturas, en general, se obtienen durante los primeros días de agosto.

A. IBÁÑEZ-JUSTICIA. Laboratorio Sanidad Forestal. Centro para la Investigación y Experimentación Forestal C.I.E.F.. Avda. Comarques del País Valencià, nº 114 46930 Quart de Poblet (Valencia). lab_plagas.ctv@gva.es

E. PÉREZ-LAORGA ARIAS. Servicio de Prevención de Incendios y Sanidad Forestal. Generalitat Valenciana.

A. SOTO, M. MARTÍNEZ GONZALVO. Instituto Agroforestal Mediterráneo, E.T.S.I. Agrónomos. Universidad Politécnica de Valencia, Camino de Vera s/n 46022 Valencia. asoto@eaf.upv.es

Palabras clave: *Quercus*, lagarta peluda, trampas feromonas, defoliación, muestreo.

INTRODUCCIÓN

Entre los factores que pueden llegar a disminuir o anular por completo la vitalidad

y rendimiento de la encina *Quercus ilex* (L.), cabe destacar la presencia en forma de plaga epidémica de la lagarta peluda (*Lymantria dispar* L., 1758) (*Lepidoptera*,

Lymantriidae), cuya oruga es uno de los más voraces defoliadores de numerosas especies de árboles y arbustos forestales y frutales en todo el mundo (ROSA y MARTÍNEZ, 1995). Su área de distribución incluye el norte de África, Europa, China meridional, Oriente Medio, Japón, gran parte de EE.UU. y Sureste de Canadá (MUÑOZ *et al.*, 2003) habiendo sido observada sobre más de cien plantas en Eurasia y unas cuatrocientas cincuenta en América (ROMANYK y CADAHIA, 1992). En el área mediterránea, en Francia ataca sobre todo al alcornoque, produce daños espectaculares en España, y han sido señaladas proliferaciones rápidas en Córcega, Marruecos, Argelia y en Túnez (DAJOZ, 2001). El ciclo de desarrollo de *L. dispar* se completa en un año (ROMANYK y CADAHIA, 1992), emergiendo los adultos en

julio, apareándose e iniciando las hembras la puesta de inmediato. Los huevos invernan, naciendo las larvas en el mes de marzo o abril del siguiente año. La crisalidación se inicia entre finales de junio y julio, dependiendo de la temperatura; la fase de pupa dura unas tres semanas, pasadas las cuales emergen los adultos (DE LIÑÁN, 1998). Las larvas de este lepidóptero (Fig. 1) producen cíclicamente fuertes defoliaciones al alimentarse primero de las yemas, y más tarde de las hojas (MUÑOZ *et al.*, 2003). Las consecuencias de dicha defoliación para el árbol son, principalmente la pérdida de superficie foliar que genera una menor tasa fotosintética, disminuyendo las reservas de carbohidratos y la capacidad de formación de nuevos brotes que produzcan y reconstruyan a su vez un nuevo follaje (MUÑOZ *et*



Figura 1. A) Larva de *Lymantria dispar*. B) Macho adulto capturado en las cajas trampa. C) Hembras adultas realizando la colocación de plastones de huevos en la corteza de *Quercus* sp. D) Detalle de macho adulto.

al., 2004). Este problema es grave cuando las masas se encuentran sometidas a estrés hídrico a causa de las continuas sequías que padece el litoral mediterráneo, ya que, obliga al arbolado a gastar recursos para la producción de un nuevo sistema foliar en la época seca del año (julio-agosto). Si la defoliación se repite en años sucesivos, puede ocasionar la muerte de las plantas por falta de reservas o por debilitar sus defensas naturales (MUÑOZ *et al.*, 2004).

Las poblaciones de *L. dispar* se muestrean de formas diversas: contando los plastones de huevos que depositan las hembras en los troncos de los árboles, rocas, y otros lugares (ERELLI y ELKINTON, 2000; WORK y MCCULLOUGH, 2000; SHAROV *et al.*, 2002), o mediante conteos de los machos adultos capturados con trampas cebadas con feromonas (CARTER *et al.*, 1992; SHAROV *et al.*, 1997, 2002; ÜNAL *et al.*, 1998). Este último tipo de muestreo es más frecuentemente usado para detectar nuevas poblaciones aisladas y predecir la expansión de la población.

En la Comunidad Valenciana existen tres grandes zonas con abundante presencia de masas de *Quercus*, dos de las cuales debido a su singularidad, han sido declaradas Parques Naturales: el Parque Natural del Carrascal de La Font Roja (Alcoy-Alicante), el Parque Natural de la Sierra de Espadán (*Quercus suber* (L.) (Castellón) y el Carrascal Castellonense (*Quercus ilex* (L.) subsp. *rotundifolia* (Lam.) Schwarz ex T. Morais).

A partir del año 2000, debido al aumento de las poblaciones de *L. dispar*, comenzaron a observarse defoliaciones aisladas en varios puntos de las masas de carrascal de la provincia de Castellón. Esto derivó en fuertes defoliaciones en estas zonas, en los siguientes años. La ausencia de curvas de vuelo de adultos que sirviesen para conocer la evolución de las poblaciones a lo largo de los años en las masas de carrascal y alcornocal de la Comunidad Valenciana, junto con la necesidad de dejar constancia de la defoliación sufrida en la provincia de Castellón durante los años 2000-2002, condujeron a la realización de este estudio.

MATERIAL Y MÉTODOS

a) Evaluación de la intensidad de defoliación en la zona del Carrascal Castellonense.

Durante los años 2000, 2001 y 2002 se realizaron visitas a todos los montes de los términos municipales que poseen masas de *Quercus* en la provincia de Castellón justo después del ataque de las orugas de *L. dispar* (pero antes de la nueva brotación de las hojas). Se tomaron datos de las observaciones y en base a una escala de daños se elaboraron mapas de las diferentes intensidades de defoliación sufridas. La escala de intensidad de defoliación empleada es la siguiente:

Nivel 1. Pequeñas defoliaciones en algunos árboles dispersos.

Nivel 2. Defoliaciones totales, focos dispersos, no continuos en la masa.

Nivel 3. Defoliaciones totales, focos continuos en la masa.

Sobre cartografía 1:25.000 se marcaron las superficies afectadas, posteriormente se digitalizaron las superficies marcadas, y con ayuda de un GIS se calcularon las superficies afectadas.

b) Muestreo de adultos de *L. dispar*.

El muestreo de las poblaciones de *L. dispar* se realizó con trampas tipo G (Fig. 2) cebadas con feromona sexual de la polilla hembra de *L. dispar* denominada "disparlure" (cis-7,8 epoxi-2metiloctadecano). Este dispositivo atrae a los machos del lepidóptero al interior de la caja, y una vez dentro caen en una bolsa de plástico con el fondo negro, evitando que puedan escapar de ella y la depredación por aves. Estas trampas se colgaron de las ramas de los árboles de *Quercus* siendo numeradas y situadas mediante las coordenadas UTM proporcionadas por un GPS. Las trampas se colocaron antes del inicio de su periodo de vuelo y permanecieron colocadas hasta el final de dicho periodo. Los datos de ubicación de todas las trampas se presentan en el cuadro 1. La colocación inicial y recogida final de trampas se realizó bajo la supervisión del personal de la Asistencia Técnica de la Conselleria de Territorio



Figura 2. A) Caja trampa tipo "G" montada con bolsa para el muestreo de *L. dispar*. B) Difusor de feromona "disparlure" y tapón. C) Detalle del difusor colocado dentro de la trampa. D) Caja trampa colgada en un *Quercus* sp.

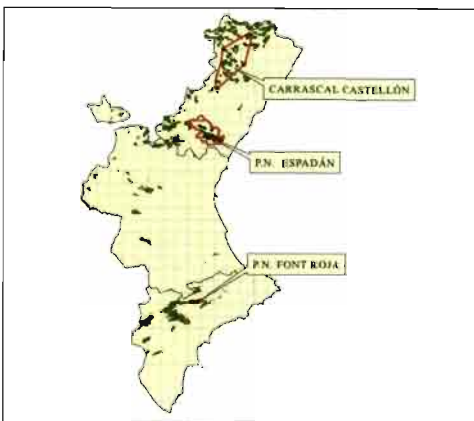


Figura 3. Mapa de la Comunitat Valenciana con la ubicación de las masas de *Quercus* sp. (en verde) y la localización de las 3 zonas en las que se han realizado los muestreos (de norte a sur: Carrascales de Castellón, Parque Natural de la Sierra de Espadán, y Parque Natural del Carrascal de la Font Roja).

y Vivienda de la Generalitat Valenciana, encargada de la Prospección Fitosanitaria de los montes de la Comunidad Valenciana. Los conteos se realizaron semanalmente vaciando el contenido de la bolsa mediante un corte practicado en un lado de la bolsa que posteriormente se cerraba de nuevo mediante una pinza. Esto se transportaba al laboratorio en otra bolsa numerada procediendo allí al conteo de los individuos adultos.

Los muestreos se realizaron en las siguientes zonas de *Quercus* (Fig. 3):

Carrascal Castellonense: El periodo de muestreo en esta zona se ha desarrollado durante los veranos de los años 2004, 2005 y 2006. El área de estudio (62.000 ha) comprende la superficie que sufrió intensos ataques de *L. dispar* durante los años 2000-2002 en la Provincia de Castellón. Las masas

Cuadro 1. Localización de las trampas colocadas para los muestreos de *L. dispar*.

TRAMPA	ZONA	COMARCA	PROVINCIA	TÉRMINO MUNICIPAL	UTM E	UTM N
1	C	Els Ports	Castellón	Morella	754094	4493886
2	C	Els Ports	Castellón	Morella	752683	4494799
3	C	Els Ports	Castellón	Vallibona	757281	4502534
4	C	Els Ports	Castellón	Morella	754138	4501475
5	C	L'Alt Maestrat	Castellón	Catí	751735	4477802
6	C	L'Alt Maestrat	Castellón	Ares del Maestre	747035	4476565
7	C	L'Alt Maestrat	Castellón	Ares del Maestre	745699	4480579
8	C	L'Alt Maestrat	Castellón	Villafranca del Cid	735200	4479242
9	C	Els Ports	Castellón	Castellfort	739589	4484342
10	C	Els Ports	Castellón	Castellfort	736129	4490339
11	C	L'Alcalatén	Castellón	Vistabella del Maestrazgo	731320	4463756
12	C	L'Alcalatén	Castellón	Chodos	731753	4458081
1	E	Alto Millares	Castellón	Villamalur	719132	4426784
2	E	Alto Millares	Castellón	Villamalur	719292	4426503
3	E	Alto Millares	Castellón	Villamalur	721495	4425965
4	E	Alto Millares	Castellón	Villamalur	722561	4425265
5	E	Plana Baixa	Castellón	Alcudia de Veo	727792	4424269
6	E	Plana Baixa	Castellón	Alcudia de Veo	727620	4423882
7	E	Alto Palancia	Castellón	Algimia de Almoacid	723646	4420135
8	E	Alto Palancia	Castellón	Algimia de Almoacid	723285	4420056
9	E	Plana Baixa	Castellón	Aín	726807	4419804
10	E	Plana Baixa	Castellón	Aín	726576	4419389
11	E	Plana Baixa	Castellón	Aín	727519	4418864
12	E	Plana Baixa	Castellón	Aín	726408	4418048
13	E	Plana Baixa	Castellón	Eslida	728587	4418523
14	E	Plana Baixa	Castellón	Eslida	728896	4418377
15	E	Alto Palancia	Castellón	Almedijar	724961	4418275
16	E	Alto Palancia	Castellón	Almedijar	724001	4417465
17	E	Alto Palancia	Castellón	Almedijar	724592	4417284
18	E	Plana Baixa	Castellón	Eslida	731220	4418119
19	E	Plana Baixa	Castellón	Eslida	731581	4417399
20	E	Alto Palancia	Castellón	Chóvar	730203	4416037
21	E	Alto Palancia	Castellón	Chóvar	729355	4415215
22	E	Alto Palancia	Castellón	Chóvar	731212	4415488
23	E	Alto Palancia	Castellón	Chóvar	730588	4415090
24	E	Plana Baixa	Castellón	Alfondeguilla	735102	4415176
25	E	Plana Baixa	Castellón	Alfondeguilla	734779	4415135
1	F	L'Alcoià	Alicante	Alcoi	718773	4283349
2	F	L'Alcoià	Alicante	Alcoi	717181	4282557
3	F	L'Alcoià	Alicante	Alcoi	716433	4282377
6	F	L'Alcoià	Alicante	Alcoi	715936	4282393
4	F	L'Alcoià	Alicante	Alcoi	715807	4282392
5	F	L'Alcoià	Alicante	Alcoi	715259	4282492
7	F	L'Alcoià	Alicante	Alcoi	713966	4282536
8	F	L'Alcoià	Alicante	Alcoi	712904	4282175
9	F	L'Alcoià	Alicante	Alcoi	712571	4281768
10	F	L'Alcoià	Alicante	Ibi	713557	4281971
11	F	L'Alcoià	Alicante	Alcoi	714092	4282116
12	F	L'Alcoià	Alicante	Alcoi	713060	4283010
13	F	L'Alcoià	Alicante	Alcoi	712652	4282534
14	F	L'Alcoià	Alicante	Alcoi	711934	4282433
15	F	L'Alcoià	Alicante	Alcoi	711277	4282201

C: Carrascal de Castellón, E: Parque Natural Sierra de Espadán, F: Parque Natural del Carrascal de la Font Roja.

de *Q. ilex* en esa superficie suponen el 8,13% de los *Quercus* de la Comunidad Valenciana. Esta red de muestreo comprende 12 puntos de colocación de trampas de feromonas, colocándose 2 trampas en cada uno de ellos. Los puntos se eligieron en base a zonas que presentaron masas continuas de carrascal (*Q. ilex*) y que hubiesen tenido defoliaciones severas.

Parque Natural del Carrascal de la Font Roja: El periodo de muestreo en esta zona se ha desarrollado durante los veranos de los años 2002, 2003, 2004, 2005 y 2006. La superficie declarada como Parque Natural comprende 2.450 ha, siendo la carrasca la especie de arbolado dominante en el 34,8% de dicha superficie. La red de muestreo comprende 15 puntos de colocación de trampas de feromonas, colocando en este caso una trampa por punto.

Parque Natural de la Sierra de Espadán: El periodo de muestreo en esta zona se ha desarrollado durante los veranos de los años 2003, 2004, 2005 y 2006. La superficie declarada como Parque Natural ocupa unas 31.000 ha. El 18,6% de esta superficie está ocupada por masas puras de *Q. suber*. La red de muestreo comprende 25 puntos de colocación de trampas de feromonas, con una trampa en cada punto.

RESULTADOS

1. Evolución de la intensidad de defoliación durante el periodo epidémico 2000-2002 en la provincia de Castellón.

Durante la primavera del año 1999 se detectaron frecuentemente larvas de *L. dispar* en varias masas de carrascal del centro de la provincia de Castellón que causaron

daños en los brotes, pero en ningún caso defoliaciones extensas. Es a partir del año 2000 cuando aparecen amplias superficies ocupadas por *Q. ilex* que, durante este año y los dos siguientes, muestran importantes defoliaciones. En las otras zonas con abundante presencia de *Quercus* sp. (P.N. Sierra de Espadán y P.N. Carrascal de la Font Roja) no se detectaron daños en el arbolado. La cartografía realizada indica que la superficie afectada durante el año 2000 (cuadro 2) aparece, casi en su totalidad (86%), con afectación muy baja (nivel 1), careciendo en ese momento de masas de carrasca con defoliaciones totales (nivel 3). Los focos con mayor densidad de población de *L. dispar* (nivel 2) se localizaron en las masas de carrascal más occidentales de todas las afectadas, en la confluencia de los términos municipales de Villafranca del Cid, Ares del Maestre, Benasal y Castellfort (Fig. 4). Es en el año 2.001 cuando se producen las defoliaciones en prácticamente todas las masas de *Quercus* de Castellón, extendiéndose de norte a sur durante un recorrido de aproximadamente 100 Km. La superficie con presencia de defoliaciones se duplica con respecto al año anterior, siendo el nivel 1 el dominante con más de la mitad del territorio (cuadro 2). Es de destacar que en zonas en las que, durante el año 2000 no se habían observado defoliaciones, en el año 2002 aparecen áreas de nivel 2 (Vallibona y Morella), e incluso pequeñas zonas de nivel 3. El 10% de la superficie presenta defoliaciones totales y continuas o de nivel 3 durante este año 2001, correspondiendo parte de esta zona a áreas que en el año 2000 presentaban nivel 2 y mayoritariamente han pasado a nivel 3. En el año 2002 la superficie con defoliaciones

Cuadro 2. Superficie afectada por los 3 diferentes niveles de defoliación, causada por *L. dispar* en la provincia de Castellón durante el periodo 2000, 2001 y 2002.

AÑO	Superficie afectada (ha)	Nivel 1		Nivel 2		Nivel 3	
		Sup (ha)	%	Sup (ha)	%	Sup (ha)	%
2000	34.180	29.460	86	4.720	14	0	0
2001	78.080	49.088	63	20.482	27	8.150	10
2002	92.000	46.800	51	23.000	25	22.200	24

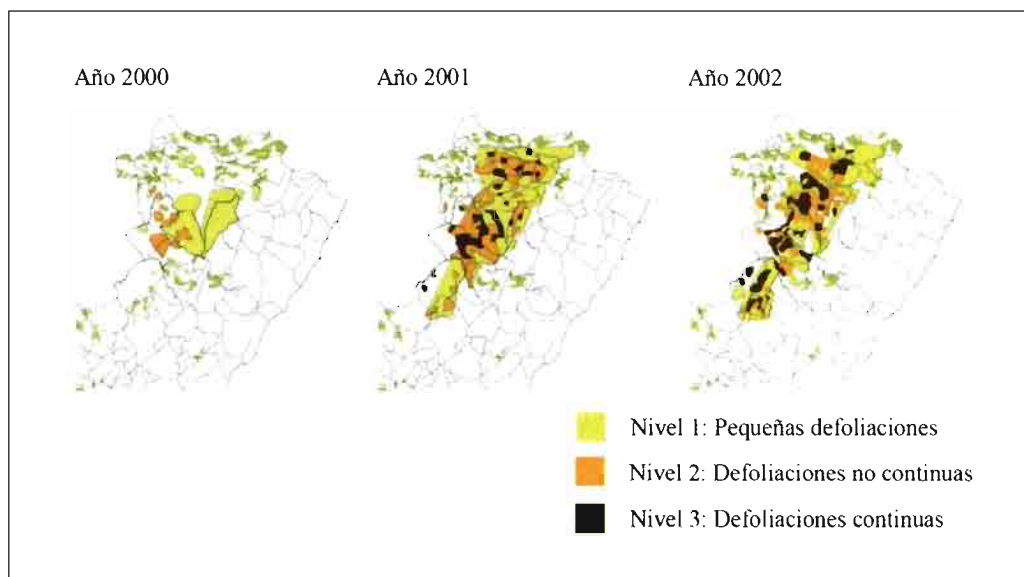


Figura 4. Evolución de los niveles de defoliación en los Carrascales de Castellón durante los años 2000, 2001 y 2002.

prácticamente se mantiene, no produciéndose un aumento significativo de la superficie de defoliación en la provincia. Sin embargo si que aumenta el grado de defoliación a nivel 2 y 3 en detrimento del nivel 1. La superficie con nivel 3, defoliaciones totales y continuas aumenta a más del doble con respecto al año 2001 (Cuadro 2). A diferencia de lo observado durante estos años 2000-2002, a partir de las prospecciones realizadas en el año 2003 no se vuelven a detectar defoliaciones en la masa forestal no se observan árboles con ninguno de los tres niveles de defoliación descritos anteriormente. Esto permite pensar que el periodo epidémico de *Lymantria dispar* sufrido durante los años 2000-2002, parece concluido.

2. Distribución y abundancia de las poblaciones de *Lymantria dispar* en las zonas de muestreo.

Las zonas elegidas para la colocación de las trampas “tipo G” cebadas con feromona “disparlure” en la Comunidad Valenciana fueron El Parque Natural del Carrascal de la Font Roja, El Parque Natural de la Sierra de

Espadán y los Carrascales de la Provincia de Castellón (Fig. 3). La elección de las zonas se basó principalmente en la detección de masas naturales y extensas de *Quercus* y constatar la presencia de *L. dispar*. En el caso de los carrascales de Castellón, se tuvo en cuenta la zona en la que se había producido recientemente el periodo epidémico de población de *L. dispar* descrito en el apartado anterior. Los conteos de machos de adultos de *L. dispar* se iniciaron en el año 2002 en el P.N. Font Roja, en el año 2003 en el P.N. Espadán, y en el año 2004 en los Carrascales de Castellón.

Las capturas en el P.N. de la Font Roja no han sobrepasado en ningún caso los 1000 individuos de media por trampa y periodo de vuelo a lo largo de los cinco años de muestreos (Fig. 5). Las capturas son bastante semejantes a lo largo de los años, entre 500 y 1000 adultos, salvo en el año 2004 en el que el número de capturas se reduce por debajo de la mitad de las obtenidas en otros años. En general, los adultos capturados en el P.N. de Espadán han sido más numerosos que en el P.N. de la Font Roja capturándose

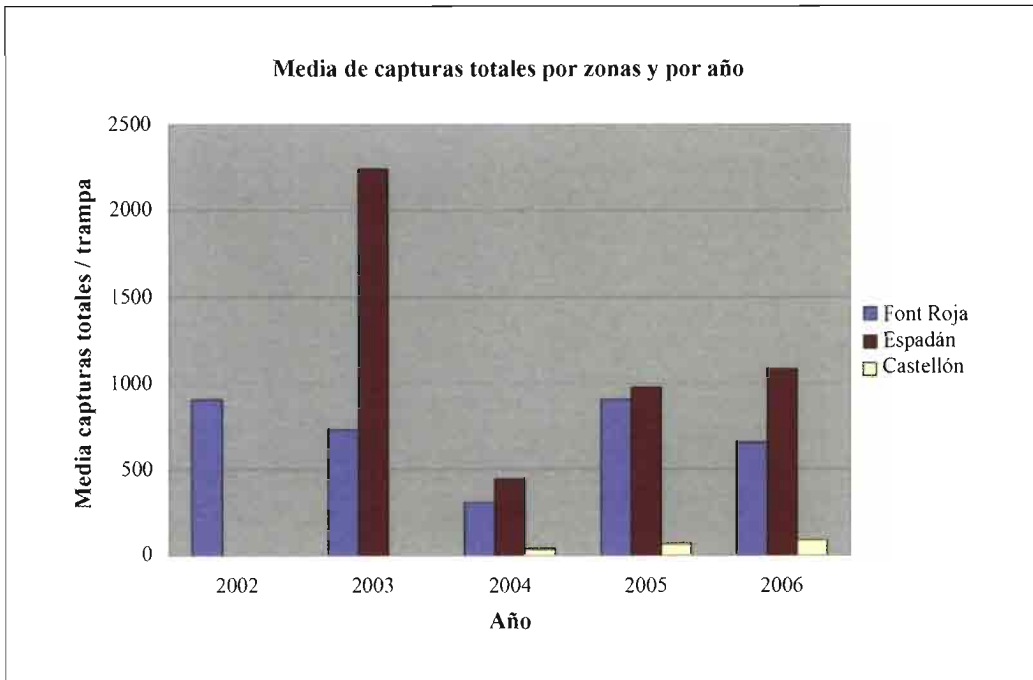


Figura 5. Capturas medias de adultos de *L. dispar* por año y trampa en cada una de las zonas de muestreo.

2234 mariposas de media en el año 2003, valor más alto alcanzado durante toda la experiencia y en todas las zonas. Las capturas descendieron drásticamente durante el año siguiente a una quinta parte de las anteriores, manteniéndose en valores constantes y cercanos a los 1000 individuos por trampa en los años 2005 y 2006. Las poblaciones observadas en estos dos Parques Naturales son bastante semejantes, aumentando lentamente el número de capturas medias a partir del año 2004. A diferencia de estas zonas, los muestreos realizados en los Carrascales de Castellón en años posteriores al periodo epidémico, nos indican una baja presencia de las poblaciones de *L. dispar* (por debajo de 5 adultos por trampa y día).

Las curvas de vuelo de *L. dispar* en las tres zonas estudiadas (Fig. 6) se disponen de forma similar, comprendiendo un periodo de capturas de aproximadamente 3 meses. Los periodos de vuelo de los machos se inician, en las tres zonas estudiadas, a principios de

julio y se terminan generalmente a finales de septiembre y ocasionalmente, como es el caso del P.N. de Espadán, se alarga hasta la primera semana de octubre. Los máximos poblacionales se obtienen durante los primeros días de agosto, iniciándose dicho aumento en los últimos días de julio salvo en el P.N. de la Font Roja (situado más al sur) donde únicamente se han obtenido máximos poblacionales a finales del mes de julio. A pesar de que la curva de vuelo en los Carrascales de Castellón se ha situado siempre muy por debajo de las curvas del P.N. de la Font Roja y P.N. de Espadán, los máximos aparecen en el mismo momento que en estas dos últimas zonas.

El máximo registro de capturas (119 machos adultos/trampa/día) a lo largo de todo el periodo de muestreo se dio en el año 2003 en el P.N. de Espadán. Es de destacar en el año 2006, tanto en el P.N. de la Font Roja como en el P.N. de Espadán, la aparición de dos periodos de máximas capturas

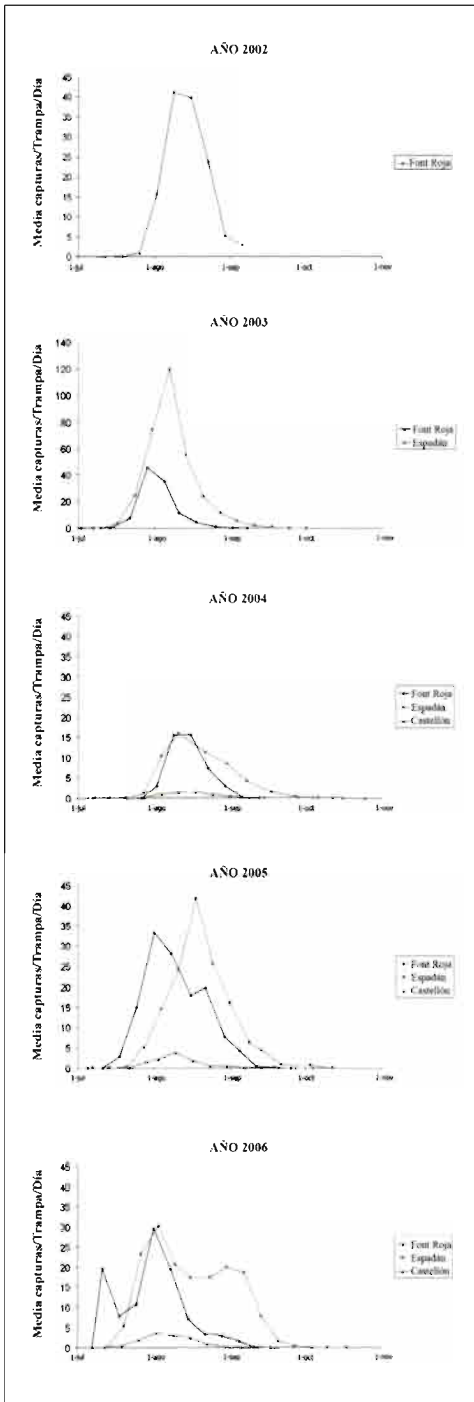


Figura 6. Curvas de vuelo de machos adultos de *L. dispar* en las tres zonas estudiadas.

durante todo el periodo de vuelo de los machos adultos.

DISCUSIÓN

Las defoliaciones causadas en el periodo comprendido entre los años 2000 y 2002, afectaron a prácticamente todas las zonas de *Quercus ilex* que existen en la provincia exceptuando su tercio más meridional. Según nuestras observaciones, el periodo epidémico en los Carrascales de Castellón ha durado 3 años, desapareciendo posteriormente. Además, el comportamiento poblacional en la provincia sugiere que, las poblaciones de *L. dispar* son bimodales tal como describe LIEBHOLD (1992). Esto implica que al principio aparecen síntomas no demasiado intensos, de forma semejante a lo que ocurre durante el primer año de nuestro estudio, donde las defoliaciones no fueron extensas ni continuas en la masa. Es posteriormente, durante el segundo y tercer año (en nuestra experiencia), cuando se dieron niveles elevados de defoliaciones (nivel 3), presentándose en muchas zonas en las que durante el primer año no habían tenido presencia de orugas o defoliaciones. Algunas de las zonas, a pesar de ser masas puras de carrasca, no sobrepasaron en ningún caso el nivel 1, y al contrario, en masas mezcladas con pinar aparecieron durante el segundo año, graves defoliaciones que dejaron a los pinos como única vegetación arbolada con hojas (nivel 3).

El último proceso importante de defoliación por *L. dispar* en los Carrascales de la provincia de Castellón del que se tenía constancia, se produjo en los años 1988 y 1989 (FALCÓ *et al.*, 1990), correspondiendo por tanto el periodo entre estas dos grandes defoliaciones al intervalo de entre 10 y 15 años que describen algunos autores entre procesos de aumento de poblaciones en España (VILLEMANT y FRAVAL, 1999).

Debe destacarse que durante los meses de abril-mayo del año 2003 (año que sucede al periodo epidémico) se observaron numerosas orugas de los primeros estadios larvarios en la mayor parte de las zonas de *Q. ilex* de

la provincia, no volviéndose a encontrar en muestreos posteriores, ni observándose defoliaciones en ninguna de esas zonas. En los muestreos realizados para evaluar la densidad de población en la zona del carrascal de Castellón, inmediatamente después del periodo epidémico, se obtuvo un número de capturas muy bajo de machos de *L. dispar* en comparación con las otras dos zonas muestreadas. Esto puede ser debido a la brusca bajada de población que se suele producir después de un periodo epidémico, ocurriendo, en nuestro caso, después de los años 2000-2002. Algunos autores citan en sus estudios la importancia, en ese momento, del control que ejercen sobre *L. dispar* tanto predadores como parasitoides (ELKINTON y LIEBHOLD, 1990). En el presente trabajo, durante este mismo año, observamos abundante presencia, tanto en los árboles como en el suelo, del carábido depredador *Calosoma sycophanta*, y de parásitos de larvas y pupas. También se considera que pudo contribuir al descenso de la población el retraso que se produjo ese mismo año en la brotación primaveral de las encinas, lo que dificultó la alimentación de las larvas en sus primeros estadios. Los muestreos durante los tres años siguientes (2004, 2005 y 2006) parece que muestran un ligero aumento de las poblaciones.

El análisis de la distribución espacial de los machos adultos es importante para entender la dinámica y expansión de las poblaciones de baja densidad que no pueden ser detectadas usando los conteos de los plastrones de huevos (SHAROV *et al.*, 1996). Las trampas "tipo G", cebadas con feromona "disparlure" para la captura de mariposas macho de *L. dispar*, se han mostrado efectivas para conocer sus poblaciones en las zonas estudiadas ya que, en ninguna de las zonas se localizaron plastrones de huevos que permitiesen la realización de sus conteos. Según los trabajos realizados por LIEBHOLD (1992), es común que las poblaciones de *L. dispar* se encuentren durante muchos años en densidades tan bajas que sea difícil detectar individuos de cualquier estadio de

vida excepto los machos adultos. También SHAROV *et al.*, (2002) comprueban que en densidades de población extremadamente bajas, el único método de muestreo que es útil es el uso de los conteos de polillas macho con trampas de feromonas ya que es el más sensible a variaciones dentro de estos niveles tan bajos de población. Por lo tanto, en áreas recién infestadas, las trampas de feromonas pueden ser muy útiles en la predicción de las posibles defoliaciones. Por otro lado, algunos autores señalan que las densidades poblacionales obtenidas mediante feromonas se correlacionan, hasta cierto punto, con el muestreo tradicional de conteo de plastrones de huevos durante el periodo de latencia de la plaga y en el inicio del periodo epidémico (TURCANI, 1998). A pesar de que en el P.N. Espadán, durante el año 2003, se dio el mayor máximo de capturas de toda la experiencia, no se observaron en este año defoliaciones, siendo muy bajo el número de plastrones de huevos detectados en todas las zonas de dicho parque natural. Por contrapartida, las trampas con atractivos feromonales se suelen saturar con elevadas densidades poblacionales, por lo que no son demasiado efectivas a estos niveles de población.

En el P.N. de la Font Roja se han obtenido máximos de capturas a finales del mes de julio a diferencia del resto de las zonas estudiadas en las que dichos máximos aparecieron a principios del mes de agosto. Este adelanto del ciclo puede ser debido a la localización geográfica de esta zona, ya que es la que se encuentra situada más al sur. Algunos autores discuten la posibilidad de que la posición geográfica, junto con la defoliación causada por la alimentación de las larvas de *L. dispar*, y otros factores ecológicos (ej. altitud, velocidad del viento y dirección, densidad poblacional, densidad de los estratos arbolados, y mosaico de vegetación) puedan influir en el desarrollo del ciclo del insecto (CARTER *et al.*, 1992) dando lugar a pequeñas diferencias en el momento de obtención de máximos poblacionales de polillas macho mediante las trampas de feromonas.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a D. José Luis Montero, D. Juan Raimundo García de la Cruz, D. Andrés Martínez, D. Fernando Alguacil, D^a Gema Sanchís y D. Luís Marco la gran ayuda prestada en la realización del

trabajo, y a los Agentes Medioambientales de la Generalitat Valenciana y a los monitores del Parque Natural de la Sierra de Espadán, y del Parque Natural del Carrascal de la Font Roja, por la ayuda prestada para realizar los conteos y mostrar las zonas para este estudio.

ABSTRACT

IBÁÑEZ-JUSTICIA A., A. SOTO, M. MARTÍNEZ GONZALVO, E. PÉREZ-LAORGA ARIAS. 2007. Distribution and abundance of *Lymantria dispar* (Linnaeus, 1758) (*Lepidoptera: Lymantriidae*) in the principal forest of Holm Oak *Quercus ilex* (L.) subsp. *rotundifolia* (Lam.) and Cork Oak *Quercus suber* (L.) in the Comunitat Valenciana. *Bol. San. Veg. Plagas*, 33: 491-502.

Lymantria dispar (L.) is one of the most polyphagous defoliators of forest trees in the world, causing an important phytosanitary problem when high population densities appear. Sampling to evaluate populations of this species are done frequently using pheromone traps which catch adult males. In this paper we evaluate the area and the intensity of the defoliation in the Holm Oak forests during the outbreak period 2000- 2002 in Castellón, and we report the results of the number of adult males caught during the period 2002-2006, using pheromone traps sampling. These samples are used for the purpose of studying the population density and the flight curves in the most important *Quercus* areas in the Comunitat Valenciana: The Natural Parks of Sierra de Espadán and Carrascal de La Font Roja, and the Holm Oak area of Castellón. In the year 2000, in the Holm Oak area of Castellón, 34.180 ha were affected by defoliations, increasing to 92.000 ha in 2002. The increase of the infected area correlates with the increase of the intensity of defoliation. The following year (2003), no defoliations were detected in these areas, and in 2004 a low number of males was caught. The results of the pheromone trap catches show that the population caught in the P.N. Espadán, was higher than in the rest of the sampling areas, reaching 2.234 moths/trap (average) during 2003. The adult male flight curves have a similar form in the 3 areas of study, having a flight period of approximately 3 months (first days of July – final days of September). Generally, the maximum number of catches is obtained during the first days of August.

Key words: *Quercus*, *Lymantria dispar*, pheromone traps, defoliation, sampling.

REFERENCIAS

- CARTER, M. R., RAVLIN, F. W., MCMANUS, M. L. 1992. Effect of defoliation on Gypsy Moth phenology and capture of male moths in pheromone-baited traps. *Environ. Entomol.*, 21 (6): 1308-1318.
- DAJOZ, R. 2001. Entomología forestal: los insectos y el bosque. *Mundi-Prensa*. 548 pp.
- DE LIÑAN, C. 1998. Entomología Agroforestal. Insectos y Ácaros que dañan montes, cultivos y jardines. *Ed. Agrotécnicas, S.L.* Madrid, 1309 pp.
- ELKINTON, J. S., LIEBHOLD, A. M. 1990. Population dynamics of Gypsy Moth in North America. *Annu. Rev. Entomol.*, 35: 571-596.
- ERELLI, M. C., ELKINTON, J. S. 2000. Factors Influencing Dispersal in Neonate Gypsy Moths (*Lepidoptera: Lymantriidae*). *Environ. Entomol.*, 29 (3): 509-515.
- FALCÓ, J. V., LUNA, F., JIMÉNEZ, R. 1990. Complejo parasitario de *Lymantria dispar* L. en Sierra Espadán, Castellón (*Lepidoptera: Lymantriidae*). *Boletín de la asociación española de entomología*, 14: 261-267.
- LIEBHOLD, A. M. 1992. Are North American Populations of Gypsy Moth (*Lepidoptera: Lymantriidae*) Bimodal?. *Environ. Entomol.*, 22 (2): 221-229.
- MUÑOZ, C., PÉREZ, V., COBOS, P., HERNÁNDEZ, R., SANCHEZ, G. 2003. Sanidad forestal. Guía en imágenes de plagas, enfermedades y otros agentes presentes en los bosques. *Ed. Mundi-Prensa*, 576 pp.
- MUÑOZ, M^a C., COBOS, P., AMPUDIA, M. 2004. Otras plagas y enfermedades presente en los *Quercus* mediterráneos, 231-295 pp. En: Tuset, J. J., Sánchez, G. (Ed.), La Seca: El decaimiento de encinas, alcorno-

- ques y otros *Quercus* en España. *Ministerio de Medio Ambiente. Organismo Autónomo Parques Nacionales*. Madrid, 419 pp.
- ROMANYK, N., CADAHIA, D. 1992. Plagas de insectos en las masas forestales españolas. Colección Técnica ICONA. M.A.P.A.. Madrid, 272 pp.
- ROSA CUBO, E., MARTÍNEZ ZURIMENDI, P. 1995. La persistencia selectiva de diflubenzurón en el follaje de la encina y su influencia sobre las poblaciones de lagarta peluda, *Lymantria dispar* (L. 1785) (*Lep. Lymantriidae*). *Boletín de sanidad vegetal. Plagas*, **21** (1): 75-86.
- SHAROV, A. A., LIEBHOLD, A. M., ROBERTS, E. A. 1996. Spatial variation among counts of Gypsy Moths (*Lepidoptera: Lymantriidae*) in pheromone-baited traps at expanding population fronts. *Environ. Entomol.*, **25**: 1312-1320.
- SHAROV, A. A., LIEBHOLD, A. M., ROBERTS, E. A. 1997. Methods for monitoring the spread of Gypsy Moth (*Lepidoptera: Lymantriidae*) populations in the Appalachian Mountains. *J. Econ. Entomol.*, **90**: 1259-1266.
- SHAROV, A. A., LEONARD, D., LIEBHOLD, A. M., CLEMENS, N. S. 2002. Evaluation of preventive treatments in low-density Gypsy Moth populations using pheromone traps. *J. Econ. Entomol.*, **95**(6): 1205-1215.
- TURCANI, M. 1998. Monitoring Gypsy Moth (*Lymantria dispar* L.) Populations (*Lep., Lymantriidae*) in Slovakia using Pheromone Traps, 70-82 pp. *En MCMANUS, M.C., LIEBHOLD, A. M. Proceedings: Population Dynamics, Impacts, and Integrated Management of Forest Defoliating Insects*. USDA Forest Service General Technical Report NE-247.
- ÜNAL, I., SEREZ, M., EROGLU, M., BILGILI, E. 1998. Evaluation of Wing Traps Baited with Disparlure for Monitoring Gypsy Moth (*Lymantria dispar* (L.)) Populations. *Tr. J. of Agriculture and Forestry*, **22** (4): 329-331.
- VILLEMANT, C., FRAVAL, A. 1999. Les gradations de *Lymantria dispar* en Europe et en Afrique du Nord. Integrated Protection in Oak Forests. *IOBC/ WPRS Bull.*, Vol. **2** (3): 71-79.
- WORK, T. T., MCCULLOUGH, D. G. 2000. Lepidopteran communities in two forest ecosystems during the first Gypsy Moth outbreaks in Northern Michigan. *Environ. Entomol.*, **29** (5): 884-900.

(Recepción: 11 septiembre 2007)

(Aceptación: 24 septiembre 2007)

El género *Mycosphaerella* en plantaciones de *Eucalyptus* en Galicia

L. OTERO, O. AGUÍN, M. J. SAINZ, J. P. MANSILLA

El género *Mycosphaerella* incluye más de 30 especies patógenas en eucalipto, causando la enfermedad conocida como *Mycosphaerella* leaf blotch (MLB) o *Mycosphaerella* leaf disease (MLD). El síntoma más característico de MLB consiste en la aparición de manchas necróticas en las hojas que reducen la capacidad fotosintética, con la consiguiente disminución del crecimiento y de la producción de madera. Durante los años 2005-2007, se realizaron muestreos en plantaciones de eucalipto situadas en las provincias de Pontevedra, A Coruña y Lugo, con el objetivo de conocer la distribución de la enfermedad e identificar las especies de *Mycosphaerella* responsables. El 90% de los eucaliptales gallegos inspeccionados mostraron árboles con síntomas de MLB, siendo las plantaciones con árboles jóvenes las que presentaron un mayor nivel de severidad. Mediante técnicas moleculares de diagnóstico de material foliar sintomático, se han identificado nueve especies de *Mycosphaerella* y el anamorfo *Pseudocercospora pseudoeucalyptorum*. Dos de las especies, *M. madeirae* y *M. aurantia*, se citan por primera vez en España. *Mycosphaerella nubilosa* puede considerarse el principal causante de MLB en Galicia, ya que se detectó en el 60% de los eucaliptos afectados.

L. OTERO, O. AGUÍN, J. P. MANSILLA. Diputación Provincial de Pontevedra. Estación Fitopatológica do Areeiro. Subida a la Robleada, s/n. 36153 Pontevedra. E-mail: efa@efa-dip.org

M. J. SAINZ, J. P. MANSILLA. Dep. Producción Vegetal, Universidad de Santiago de Compostela, Campus Universitario, s/n. Lugo. 27002.

Palabras clave: eucalipto, mancha foliar necrótica, MLB, *Mycosphaerella nubilosa*.

INTRODUCCIÓN

La superficie de masas puras del género *Eucalyptus* en Galicia se sitúa en torno a 178.000 hectáreas. Más del 95% corresponden a *E. globulus* Labill (SILVA-PANDO y RIGUEIRO, 1992), que producen 36.333.830 m³ de madera con corteza (MINISTERIO DE MEDIO AMBIENTE, 2001). Otras especies cultivadas en menor proporción son *E. nitens* (Deane & Maiden) Maiden, *E. viminalis* Labill y *E. obliqua* L'Herit.

En los últimos cinco años, en numerosas plantaciones de *E. globulus*, se ha detectado una enfermedad que afecta principalmente a las hojas juveniles, que muestran manchas y

necrosis (Figuras 1 y 2), y causa una defoliación prematura, cancros en pequeñas ramas, y detención del crecimiento del árbol (LUNDQUIST y PURNELL, 1987; CROUS, 1998; PARK *et al.*, 2000). La enfermedad se conoce como *Mycosphaerella* leaf blotch (MLB) o *Mycosphaerella* leaf disease (MLD), y puede estar ocasionada por diversas especies del género *Mycosphaerella* Johanson. Estas especies están consideradas como los patógenos foliares que causan mayores daños en especies de *Eucalyptus* en regiones templadas de todo el mundo (CROUS, 1998). También se ha observado que algunas especies de *Mycosphaerella* pueden infectar hojas adultas de eucalipto (GANAPATHI, 1979; PARK y KEANE, 1982b).



Figura 1. Síntomas foliares de *Mycosphaerella* sobre *Eucalyptus globulus*.



Figura 2. Detalle de las hojas con presencia de lesiones características de *Mycosphaerella*.

La taxonomía del género *Mycosphaerella* se ha basado tradicionalmente en la caracterización de las lesiones foliares y sobre todo en la observación del tamaño y morfología del ascocarpo, ascas y ascosporas (Figura 3), patrones de germinación de las ascosporas, tasas de crecimiento de los aislados en cultivo, y características y morfología de los anamorfos (CROUS, 1998). Estos métodos son insuficientes en muchos casos para la identificación de especies, debido a la gran variabilidad que presentan, a que frecuentemente coinciden entre distintas especies, y a la dificultad para conseguir aislar el hongo a partir de las lesiones.

El desarrollo de técnicas moleculares ha contribuido enormemente a la detección e identificación de las especies de *Mycosphaerella* (CARNEGIE *et al.*, 2001; CROUS *et al.*, 2001; KULARATNE *et al.*, 2004), que se basan

actualmente en la comparación de secuencias de las regiones ITS1 e ITS2 del ADN ribosomal (CROUS *et al.*, 2001; MAXWELL *et al.*, 2003; CROUS *et al.*, 2004).

Se han descrito más de 80 especies de *Mycosphaerella* y sus anamorfos sobre *Eucalyptus*, de las cuales 30 son consideradas patógenas (CROUS *et al.*, 2006), aunque apenas existe información sobre su incidencia y distribución, rango de hospedadores y patogenicidad. Hasta hace pocos años, dada la dificultad de identificación con técnicas tradicionales, la MLB se atribuía generalmente a *M. molleriana*. Sin embargo, CROUS *et al.* (2004), aplicando técnicas moleculares para el análisis del primer material sintomático de hojas de *E. globulus* recogidas en Galicia, demostraron que la enfermedad estaba causada principalmente por *M. nubilosa* y detectaron dos nuevas especies y sus anamorfos: *M. readeriellophora* Crous & J. P. Mansilla (anamorfo *Readeriella readeriellophora* Crous & J. P. Mansilla) y *M. communis* Crous & J. P. Mansilla (anamorfo *Dissoconium commune* Crous & J. P. Mansilla). Esta fue la primera cita de *M. nubilosa* sobre *E. globulus* no sólo en España sino en Europa.

El objetivo de este trabajo fue obtener un mapa de distribución de la MLB y estudiar la diversidad de especies del género *Mycosphaerella* en plantaciones de *Eucalyptus* en Galicia.

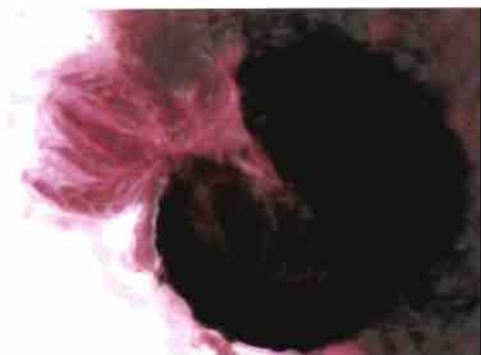


Figura 3. Ascas con ascosporas de *Mycosphaerella* emergiendo del cuerpo de fructificación.

MATERIAL Y MÉTODOS

Muestreo

Se inspeccionaron plantaciones de eucalipto en las provincias de Pontevedra, A Coruña y Lugo, siguiendo los mapas provinciales a escala 1:250.000 y el mapa de distribución de masas de eucalipto en Galicia recogido en el MINISTERIO DE MEDIO AMBIENTE (2001). En las zonas con presencia de eucalipto, se trazó una retícula de puntos de muestreo de 10 x 10 km. En Pontevedra el muestreo se realizó entre los meses de marzo y agosto de 2005, en A Coruña entre noviembre de 2005 y marzo de 2006, y en Lugo desde septiembre de 2006 hasta febrero de 2007. En total se inspeccionaron 209 puntos, de los que 61 correspondieron a la provincia de Pontevedra (59 de *E. globulus* y 2 de *E. nitens*), 96 a la de A Coruña (91 de *E. globulus*, 3 de *E. viminalis*, 1 de *E. obliqua*, y 1 de *E. nitens*), y 52 a la de Lugo (51 de *E. globulus* y 1 de *E. nitens*) (Figura 4). En la mayoría de los puntos, se tomaron muestras de hojas juveniles sintomáticas de MLB en árboles de 2-3 años; en 12 plantaciones de *E. globulus* en Pontevedra, 4 en A Coruña y 17 en Lugo, se tomaron también muestras de hojas adultas con síntomas de la enfermedad en árboles de más de 5 años.

Dentro de cada plantación, se registró la presencia o ausencia de árboles con síntomas de MLB; en el caso de presencia de la enfermedad, se seleccionaron cinco árboles sintomáticos, para determinar el porcentaje de hojas con síntomas (en las plantaciones de A Coruña y Lugo) y la severidad (en las tres provincias).

Para estimar el porcentaje de hojas con síntomas, se seleccionaron cinco ramas por árbol, en las que se contaron el número total de hojas y las que tenían manchas características de *Mycosphaerella*. Hay que señalar que, en un árbol afectado por MLB, las hojas sintomáticas aparecen prácticamente en todas las ramas.

La severidad de la enfermedad se determinó en cada uno de los cinco árboles sintomáticos seleccionados mediante el examen

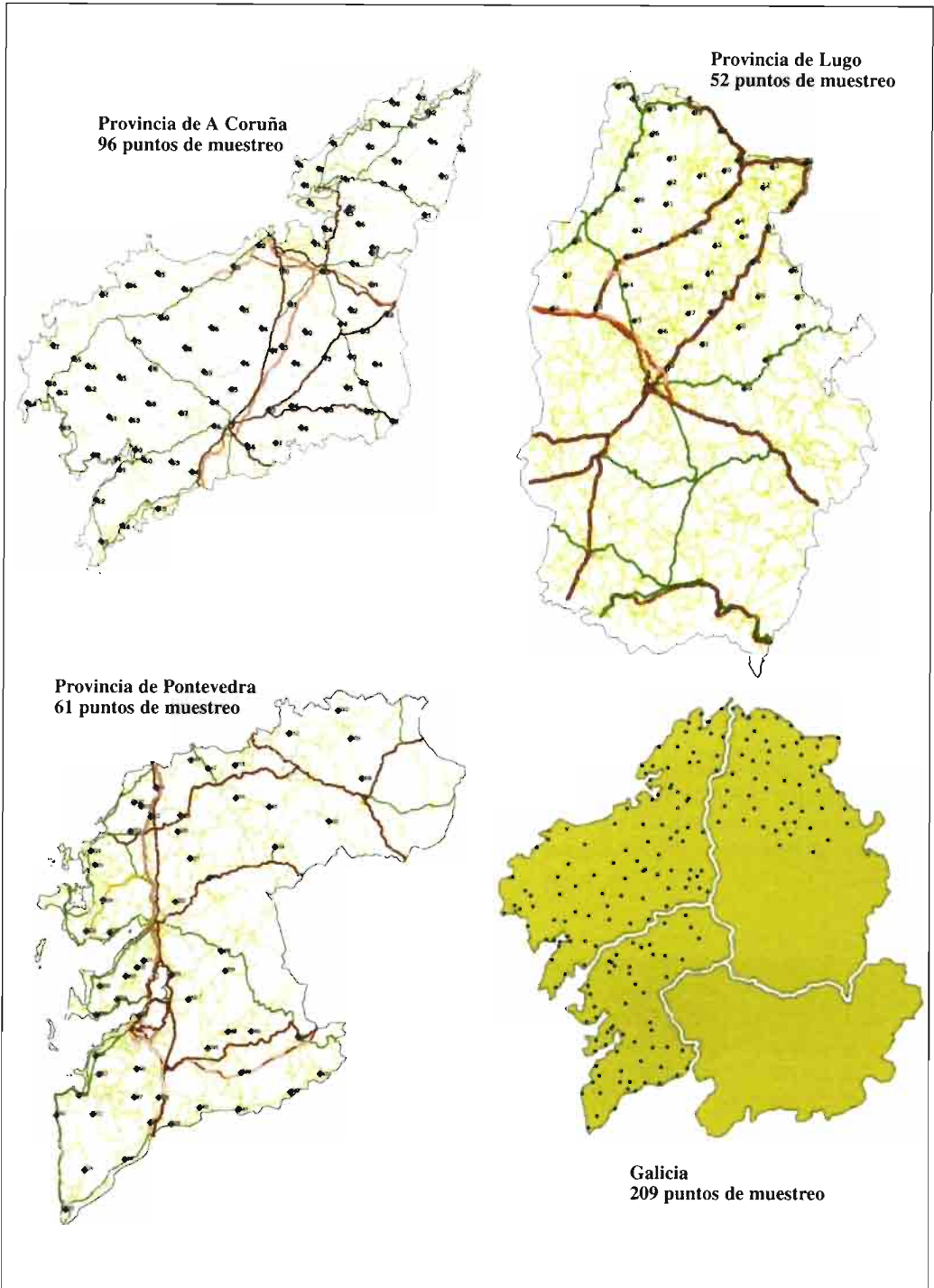


Figura 4. Localización de los puntos de muestreo de eucalipto en las provincias de A Coruña, Lugo y Pontevedra.



Figura 5. Lesión de MLB con los cuerpos de fructificación en la hoja.

in situ de ocho hojas situadas en la parte central de una rama externa (se eligió una rama externa para evitar el sombreado de estratos superiores), mediante una escala adaptada a partir de la propuesta por MAXWELL (2004), que establece una escala de severidad con seis niveles según el porcentaje de área foliar afectada por MLB: nivel 1, >0-6%; nivel 2, >6-12%; nivel 3, >12-25%; nivel 4, >25-50%; nivel 5, 50-75%; nivel 6, >75%.

Identificación de especies

En cada punto de muestreo, se recogieron de 15 a 20 hojas de eucalipto con síntomas de MLB, que se conservaron a 4 °C.

En el laboratorio, se observaron todas las hojas bajo microscopio estereoscópico para detectar la presencia de cuerpos de fructificación en las lesiones. En aquellas hojas que mostraron pseudotecios (Figura 5), se cortaron pequeños fragmentos de la lesión que se mantuvieron en agua estéril durante 24 h. Después se secaron y se pegaron a la tapa de una placa Petri de 5 cm, de forma que las ascosporas pudieran caer desde el cuerpo de fructificación a la base de la placa que con-

tenía como medio de cultivo agar-malta (AM) al 2%. Las placas se incubaron a 20 °C en oscuridad durante 24 horas. Con el objetivo de obtener cultivos monospóricos, se recogió en cada placa una sola ascospora germinada, que se transfirió a una nueva placa Petri donde se cultivó a 25 °C en oscuridad (CROUS, 1998).

La identificación molecular de especies de *Mycosphaerella* se realizó mediante amplificación, secuenciación y análisis de las regiones ITS del ADN ribosómico.

La extracción del ADN fúngico se llevó a cabo directamente a partir de las lesiones necróticas de las hojas, y de los cultivos monospóricos obtenidos. En ambos casos, para la extracción se utilizó el kit comercial EZNA™ Fungal DNA Miniprep Kit (Omega Bio-tek), siguiendo el protocolo corto pero sin añadir mercaptoetanol ni RNAsa y haciendo una homogenización previa con un pistón estéril. Después de pasar la muestra por los diferentes reactivos del kit, se obtuvo una solución de ADN genómico que se conservó a - 20° C.

El ADN molde se amplificó mediante los primers ITS1F e ITS4 (GARDES y BRUNS 1993, WHITE *et al.*, 1990), que amplifican las regiones ITS1 e ITS2 del ADN ribosomal. La mezcla de amplificación consistió en 0,5 pmol de cada primer, 0,75 unidades de Bio-taq, 1x de tampón de PCR, 1,5 mM de MgCl₂, 0,2 μM de cada dNTP, 1 μl de la extracción de ADN y agua estéril hasta un volumen final de 25 μl. Las condiciones de la reacción fueron las propuestas por CROUS *et al.* (2004) para *Mycosphaerella*: desnaturalización inicial a 96 °C durante 5 minutos, seguidos de 30 ciclos a 96 °C 30 segundos, 57 °C 30 segundos y 72 °C 90 segundos, finalmente una extensión a 72 °C durante 7 minutos. En todos los ensayos se incluyeron controles negativos de extracción y de amplificación (sin ADN), para detectar cualquier posible contaminación, y controles positivos que consistieron en ADN procedente de las cepas de referencia *M. communis* (CBS 114238), *M. nubilosa* (CBS 113064 y CBS 111445) y *M. readeriello-*

hora (CBS 114240) suministradas por el Dr. Pedro W. Crous (Centraalbureau voor Schimmelcultures, Holanda).

Los productos de PCR se separaron y visualizaron mediante electroforesis en gel de agarosa. Cinco microlitros de cada producto de la amplificación se mezclaron con 2 mL de tampón de carga para llevar a cabo una electroforesis en gel de agarosa al 2% (p/v) en TBE 0,5 X a 120 V. En cada gel también se incluyó un marcador de 100 en 100 pb (marcador XIV, Roche Diagnostics). Los geles se tiñeron con bromuro de etidio (0,5 mg/mL), y se examinaron en un transiluminador de luz ultravioleta.

Para secuenciación, los amplímeros se purificaron con el High Pure PCR Product Purification Kit (Roche Applied Science). Las reacciones de secuenciación se llevaron a cabo con el BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems) bajo las siguientes condiciones: 96 °C 1 min, 25 ciclos a 96 °C 10 sec, 50 °C 5 s, y 60 °C 4 min. Los productos de secuenciación se precipitaron en etanol (95% vol), se desnaturalizaron a 94 °C durante 3 minutos, y se cargaron en un secuenciador ABIPrism™ 310 Genetic Analyzer (Applied Biosystems). Las secuencias se analizaron con el programa Sequencing Analysis 5.1, y se compararon con las secuencias disponibles en la base de datos GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>), usando el programa de alineamiento BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) (ALTSCHUL *et al.*, 1997).

RESULTADOS

Incidencia y severidad de MLB

De las 209 plantaciones de eucalipto muestreadas, 193 presentaron árboles con síntomas de MLB, demostrando una amplia distribución de la enfermedad en Galicia. Todas las plantaciones de eucalipto inspeccionadas en Pontevedra mostraron hojas con lesiones y manchas causadas por *Mycosphaerella*. Tanto en A Coruña como en Lugo, hubo 8 plantaciones libres de MLB. La enfermedad afectaba principalmente a árboles con hojas juveniles, aunque también se observaron síntomas de MLB en hojas adultas.

El porcentaje de hojas con lesiones de MLB por árbol fue estimado en las plantaciones de A Coruña y Lugo, y mostró una mayor incidencia de la enfermedad en A Coruña (Cuadro 1). De las 88 plantaciones con MLB en A Coruña, 49 presentaron

Cuadro 1. Número de plantaciones según la incidencia (porcentaje de hojas afectadas)

% hojas síntomas	A Coruña	Lugo
0	8	8
>0-10%	7	12
>10-20%	2	9
>20-33%	10	5
>33-50%	20	6
>50-66%	25	3
>66-75%	21	5
>75-100%	3	4
TOTAL	96	52

Cuadro 2. Número de plantaciones según el nivel de severidad.

Nivel de severidad	Pontevedra	A Coruña	Lugo	TOTAL
Sin daños	0	8	8	16
1 (>0-6%)	11	13	20	44
2 (>6-12%)	29	44	14	87
3 (>12-25%)	14	29	6	49
4 (>25-50%)	7	2	3	12
5 (>50-75%)	0	0	1	1
6 (>75%)	0	0	0	0
TOTAL	61	96	52	209

árboles con más del 50% de sus hojas mostrando lesiones; sin embargo, en Lugo sólo 12 de las 44 plantaciones sintomáticas mostraron árboles con más del 50% de hojas infectadas.

La severidad de MLB se estimó en las tres provincias (Cuadro 2). En Pontevedra, el nivel de severidad más abundante fue el 2 (>6-12% del área foliar afectada) (Figura 6). En A Coruña, el nivel de severidad fue en su mayoría también el 2, si bien se encontraron 29 plantaciones con nivel 3, y 2 con nivel 4 (>25-50% del área foliar afectada), que fue el máximo registrado en esta provincia (Figura 7). En Lugo se constató una menor severidad de la enfermedad, ya que el nivel más frecuente fue el 1 (>0-6% del área foliar afectada) (Figura 8).

En ninguna de las plantaciones muestreadas se observó el nivel 6 (>75% del área foliar afectada), y sólo en un punto de la provincia de Lugo se estimó el nivel 5 (>50-75% del área foliar afectada).

Identificación de especies

La identificación molecular se basó principalmente en el ADN obtenido directamente de las lesiones foliares, debido a la dificultad de obtener cultivos monospóricos de las especies de *Mycosphaerella*. Los principales problemas surgieron sobre todo del lento crecimiento de estos hongos en cultivo (en la mayor parte de los casos, 1 cm de diámetro mensual), que llevaron a que las extracciones de ADN no pudieran llevarse a cabo hasta unos dos meses después de la llegada del material vegetal al laboratorio. Además, esa lentitud de crecimiento aumentó el porcentaje de contaminación. A pesar de esto, se consiguieron cultivos monospóricos de la mayoría de las muestras (Figura 9). Cuando el ADN se extrajo a partir de lesiones foliares, los resultados de identificación se obtuvieron en menos de 72 horas.

Los primers ITS1F e ITS4 amplificaron un fragmento de ADN ribosómico de aproximadamente 550 pares de bases en todas las muestras (tanto de lesiones como de cultivos monospóricos), y también en los controles

positivos (Figura 10). En los controles negativos no se obtuvo amplificación.

Las secuencias obtenidas mostraron una homología superior al 95% con las disponibles en el GeneBank para nueve especies de *Mycosphaerella* y uno de sus anamorfos: *M. aurantia* A. Maxwell, *M. communis* Crous & J. P. Mansilla, *M. lateralis* Crous & M. J. Wingfield, *M. madeirae* Crous & Denman, *M. marskii* Carnegie & Keane, *M. molleriana* (Thüm.) Lindau, *M. nubilosa* (Cooke) Hansford, *M. parva* R. F. Park & Keane, *M. readeriellophora* Crous & J. P. Mansilla, y *Pseudocercospora pseudoecalyptorum* Crous (anamorfo).

La identificación del anamorfo se realizó sólo a partir de material obtenido directamente de las lesiones foliares, mientras que la de *M. aurantia* lo fue exclusivamente a partir de cultivos monospóricos. Las restantes 8 especies de *Mycosphaerella* se identificaron a partir tanto de lesiones como de cultivos monospóricos.

En el Cuadro 3, se muestra el número de identificaciones de cada una de estas 10 especies en las plantaciones de eucalipto gallegas. Los resultados demostraron que, en Galicia, la MLB es debida principalmente a *M. nubilosa*, si bien en muchos eucaliptales la enfermedad está causada por *M. parva* y *M. molleriana*. Las restantes 7 especies mostraron una baja incidencia. *Mycosphaerella madeirae*, *M. marskii* y *M. readeriellophora* se detectaron en las tres provincias, mientras que *Ps. pseudoecalyptorum* se detectó en Pontevedra y Lugo, *M. communis* y *M. lateralis* sólo en A Coruña, y *M. aurantia* sólo en Pontevedra.

En relación a la especie de eucalipto, las diez especies identificadas en este trabajo se han encontrado en plantaciones de *E. globulus*. Además *M. nubilosa* y *M. parva* se detectaron sobre *E. nitens* y *E. viminalis*, *M. madeirae* y *M. molleriana* se identificaron en hojas de *E. obliqua*, y *Ps. pseudoecalyptorum* en *E. nitens*.

La diversidad de especies de *Mycosphaerella* varió según el tipo de hoja. En hojas juveniles (que constituyeron el 92% del

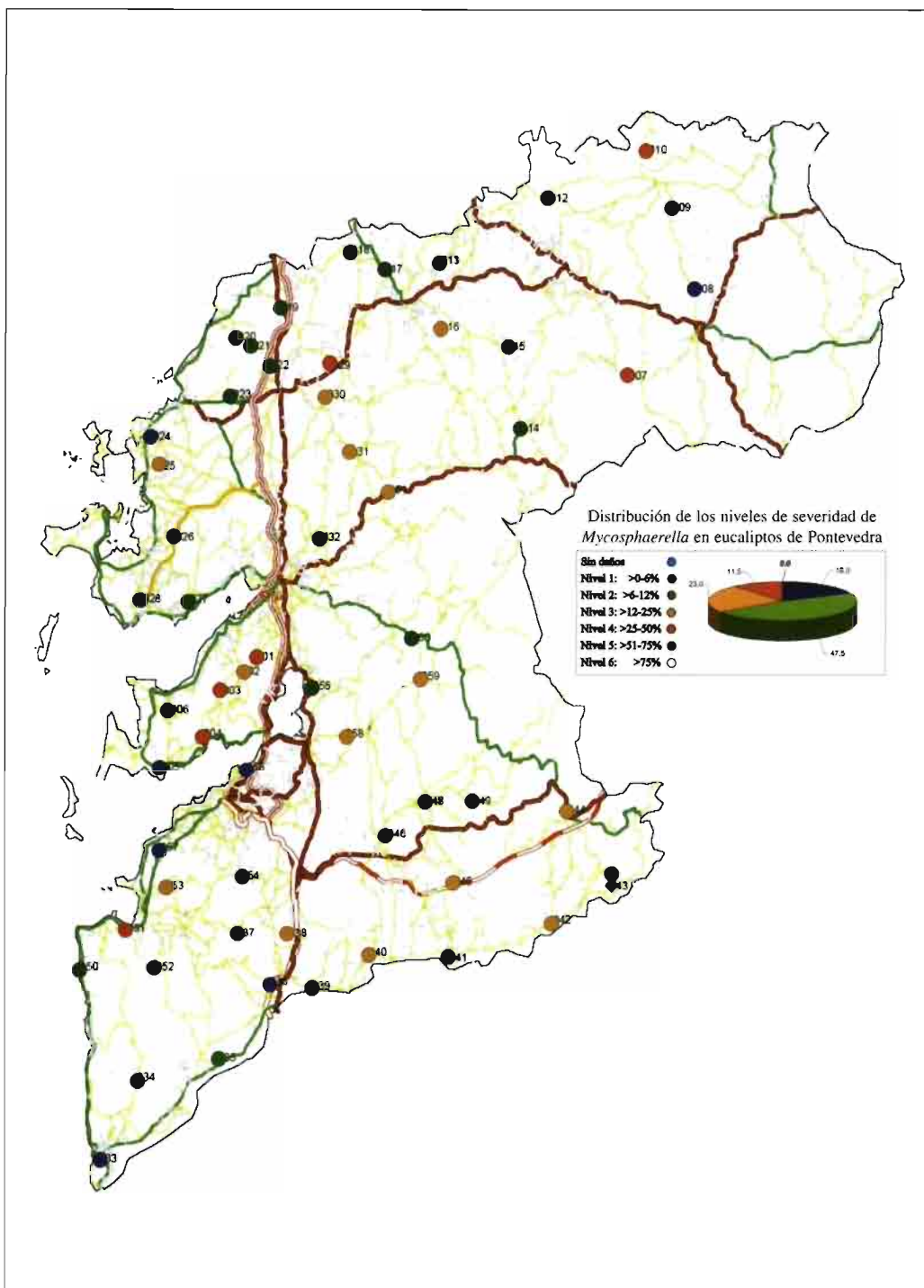


Figura 6. Distribución de los niveles de severidad de *Mycosphaerella* en eucaliptos de la provincia de Pontevedra

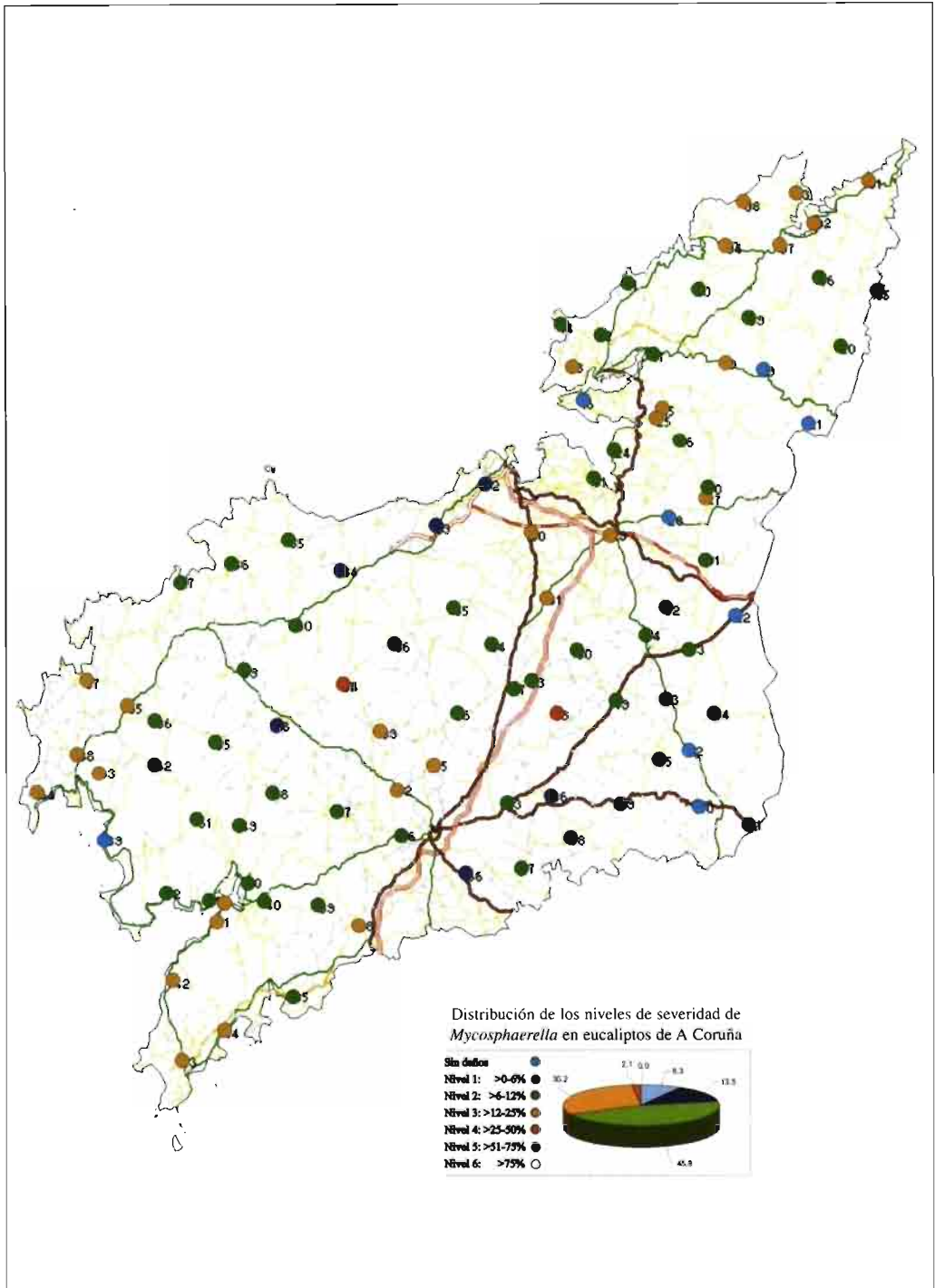


Figura 7. Distribución de los niveles de severidad de *Mycosphaerella* en eucaliptos de la provincia de A Coruña.

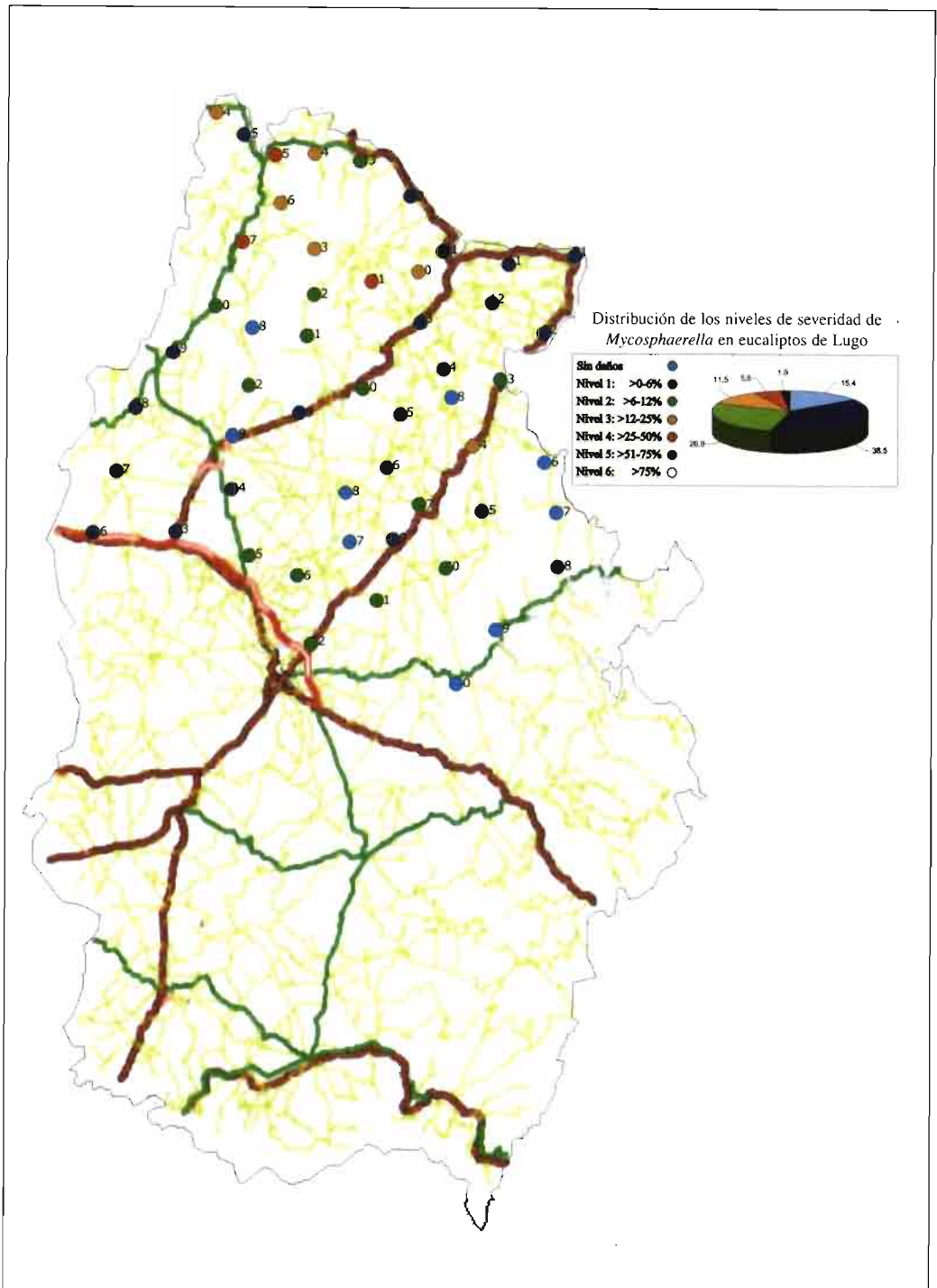


Figura 8. Distribución de los niveles de severidad de *Mycosphaerella* en eucaliptos de la provincia de Lugo.

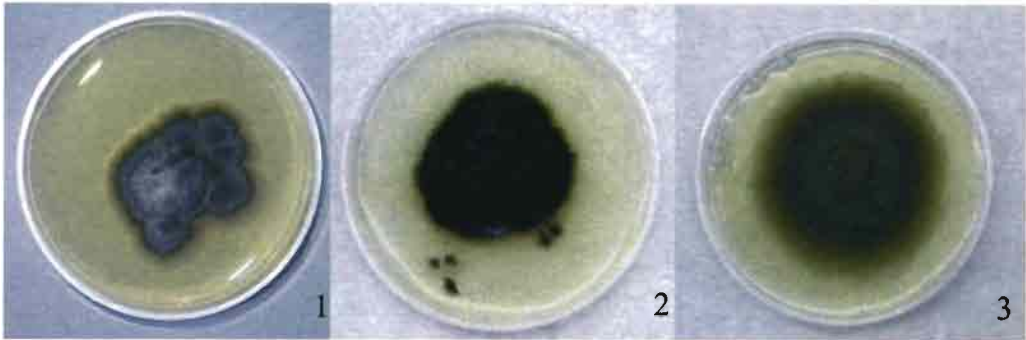


Figura 9. Cultivos monospóricos de *M. nubilosa* (1), *M. parva* (2) y *M. molleriana* (3).

total), se detectaron las diez especies, mientras que en hoja adulta sólo se identificaron cuatro: *M. nubilosa*, *M. communis*, *M. readeriellophora* y *Ps. pseudoeucalyptorum*. En hojas juveniles, la especie más abundante fue *M. nubilosa*, y *Ps. pseudoeucalyptorum* lo fue en hojas adultas.

DISCUSIÓN

Los resultados demuestran que la enfermedad foliar causada por el género *Mycosphaerella* está ampliamente extendida en la gran mayoría de las plantaciones de eucalipto de Galicia, afectando principalmente a árboles de menos de 3 años, que tienen hojas juveniles. Es conocido que las especies de *Mycosphaerella* se desarrollan mejor en climas de temperaturas templadas y precipitaciones frecuentes (PARK, 1988a), características que suelen encontrarse en las zonas donde se cultiva el eucalipto en Galicia: franjas costeras de Pontevedra, A Coruña y Lugo. Las hojas de los árboles de la provincia de Lugo mostraron en general menor superficie foliar con lesiones de MLB que los de Pontevedra y A Coruña, provincias con costas más cálidas que la lucense.

La aplicación de técnicas moleculares permitió la identificación de nueve especies de *Mycosphaerella* y uno de sus anamorfos implicados en la MLB presente en Galicia. Con los primers utilizados (ambos universales para hongos), se obtuvo en todos los

casos (a partir de material de las lesiones foliares y/o de cultivos monospóricos) un fragmento de ADN ribosómico de aproximadamente 550 pares de bases, lo que coincide



Figura 10. Gel de agarosa al 2% mostrando el producto de amplificación obtenido con los primers ITS1F-ITS4 en tres muestras de *Mycosphaerella* (calles 1-3), control negativo de extracción (CE), control positivo (C+) y control negativo de amplificación (C-). M: marcador XIV de 100 a 2642 pb.

Cuadro 3. Número de identificaciones hechas para cada especie en cada una de las provincias

Especie	Pontevedra	A Coruña	Lugo	TOTAL
<i>M. nubilosa</i>	44	65	14	123
<i>M. parva</i>	3	14	13	30
<i>M. molleriana</i>	8	8	6	22
<i>M. madeirae</i>	3	4	2	9
<i>Ps. pseudoeucalyptorum</i>	5	0	4	9
<i>M. marksii</i>	4	3	1	8
<i>M. readeriellophora</i>	1	3	2	6
<i>M. communis</i>	0	3	0	3
<i>M. lateralis</i>	0	2	0	2
<i>M. aurantia</i>	1	0	0	1
TOTAL	69	102	42	213

con los resultados obtenidos por otros autores para el género *Mycosphaerella* (CROUS *et al.*, 2004, 2006). La identificación a nivel de especie se consiguió mediante la secuenciación del fragmento.

La especie más frecuente en hojas sintomáticas fue *M. nubilosa*, que puede considerarse la principal causante de la enfermedad en árboles jóvenes de los eucaliptales del noroeste de España, como también sucede en árboles jóvenes de *E. globulus* en Sudáfrica y Australia (PARK y KEANE 1982B; CARNEGIE *et al.* 1998; HUNTER, 2002). Los primeros trabajos sobre MLB hicieron pensar que *M. nubilosa* sólo era capaz de infectar hojas juveniles, penetrando por los estomas del envés (PARK, 1988b); sin embargo, en este trabajo se ha encontrado también en hojas adultas, lo que coincide con estudios recientes realizados por CROSS *et al.* (2004) y MAXWELL (2004).

Las otras nueve especies identificadas, salvo *M. molleriana* y *M. parva*, se detectaron en pocas plantaciones.

Mycosphaerella molleriana se encontró en el 10% de los eucaliptos sintomáticos gallegos. Curiosamente, en los primeros trabajos sobre *Mycosphaerella* en eucalipto, se consideraba a *M. molleriana* como la principal causante de MLB en muchos lugares del mundo (CROUS 1998, MAXWELL, 2004). Incluso en España, la primera referencia de *Mycosphaerella* en eucalipto cita a esta especie como responsable de la enfermedad

(RUPÉREZ y MUÑOZ, 1980). Sin embargo, la presencia de *M. molleriana* en estudios posteriores sólo pudo ser confirmada en Portugal (donde fue descrita originalmente) y en California (CROUS, 1998).

Mycosphaerella parva apareció en el 12% de las muestras foliares. En general, se considera como una especie saprófita asociada a lesiones viejas de *M. nubilosa* (PARK y KEANE, 1982a), aunque hay autores que sugieren que podría comportarse como patógena (CARNEGIE y KEANE, 1994).

De las 10 especies encontradas en el presente trabajo, ocho (*M. communis*, *M. lateralis*, *M. marksii*, *M. molleriana*, *M. nubilosa*, *M. parva*, *M. readeriellophora*, y *Ps. pseudoeucalyptorum*) ya habían sido identificadas por CROUS *et al.* (2004, 2006) sobre material vegetal de *E. globulus* recogido en Galicia. La detección adicional de dos nuevas especies, *M. madeirae* y *M. aurantia*, confirma la alta diversidad del género *Mycosphaerella* en eucaliptales de Galicia. La identificación de *M. madeirae* sobre *Eucalyptus globulus* y *E. obliqua* y de *M. aurantia* sobre *E. globulus* constituyen la primera referencia de estas especies como causantes de MLB en España.

Es necesario el estudio del ciclo biológico de las especies de *Mycosphaerella* encontradas en los eucaliptales gallegos, de las condiciones de clima que pueden favorecer su

persistencia, y de su patogenicidad. Todos ellos aspectos que permitirán un mejor conocimiento de la enfermedad y desarrollar métodos de control específicos, eficaces y económicamente viables.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado por el proyecto PGIDITO5RF060301PR (Xunta de Galicia).

ABSTRACT

OTERO, L., AGUÍN, O., SAINZ, M. J., MANSILLA, J. P. The genus *Mycosphaerella* on *Eucalyptus* stands of Galicia. *Bol. San. Veg. Plagas*, **33**: 503-516.

Mycosphaerella genus comprises more than 30 species which are reported pathogens of *Eucalyptus*, causing a disease known as *Mycosphaerella* leaf blotch (MLB) or *Mycosphaerella* leaf disease (MLD). The main symptoms of MLB are necrotic leaf spots, which significantly reduce photosynthetic activity in the plant and consequently its growth and timber production. Eucalypt stands were surveyed in Pontevedra, A Coruña and Lugo provinces (Galicia, NW Spain) in 2005-2007, with the aim of studying the distribution of MLB and identifying the *Mycosphaerella* species involved. Ninety percent of Galician eucalypt stands showed trees with MLB symptoms, young tree stands being more severely affected. By using molecular diagnostic techniques on symptomatic leaf material, nine *Mycosphaerella* species and the anamorph *Pseudocercospora pseudo-eucalyptorum* were identified. Two species, *M. madeirae* and *M. aurantia*, are first reported in Spain. *Mycosphaerella nubilosa* can be considered as the main agent of MLB in Galicia, since it was detected in 60% of the affected eucalypts.

Key words: eucalypt, necrotic leaf spots, MLB, *Mycosphaerella nubilosa*.

REFERENCIAS

- ALTSCHUL, S. F., MADDEN, T. L., SCHAFER, A. A., ZHANG, J., ZHANG, Z., MILLER, W., LIPMAN, D. J. 1997. Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. *Nucleic Acids Research*, **25**: 3389-3402.
- CARNEGIE, A. J., KEANE, P. J. 1994. Further *Mycosphaerella* species associated with leaf diseases of *Eucalyptus*. *Mycological Research*, **98**: 413-418.
- CARNEGIE, A. J., ADES, P. K., KEANE, P. J., SMITH, I. W. 1998. *Mycosphaerella* diseases of juvenile foliage in a eucalypt species and provenances trial in Victoria, Australia. *Australian Forestry*, **61**: 190-194.
- CARNEGIE, A. J., ADES, P. K., FORD, R. 2001. The use of RAPD-PCR analysis for the differentiation of *Mycosphaerella* species from *Eucalyptus* in Australia. *Mycological Research*, **105**: 1313-1320.
- CROUS, P. W. 1998. *Mycosphaerella* spp. and their anamorphs associated with leaf spot diseases of *Eucalyptus*. *Mycologia Memoir*, **21**. APS Press. 170 pp.
- CROUS, P. W., GROENEWALD, J. Z., MANSILLA, J. P., HUNTER, G., WINGFIELD, M. J. 2004. Phylogenetic reassessment of *Mycosphaerella* spp. and their anamorphs occurring on *Eucalyptus*. *Studies in Mycology*, **50**: 195-214.
- CROUS, P. W., HONG, L., WINGFIELD, B. D., WINGFIELD, M. J. 2001. ITS rDNA phylogeny of selected *Mycosphaerella* species and their anamorphs occurring on *Myrtaceae*. *Mycology Research*, **105**: 425-431.
- CROUS, P. W., WINGFIELD, M. J., MANSILLA, J. P., ALFENAS, A. C., GROENEWALD, J. Z. 2006. Phylogenetic reassessment of *Mycosphaerella* spp. and their anamorphs occurring on *Eucalyptus*. II. *Studies in Mycology*, **55**: 99-131.
- GANAPATHI, A. 1979. Studies on the etiology of the leaf spot disease of *Eucalyptus* spp. caused by *Mycosphaerella nubilosa* (Cke.). *Hansf. MSc. Thesis*. School of Forestry. University of Auckland. Nueva Zelanda.
- GARDES, M., BRUNS, T. D. 1993. ITS primers with enhanced specificity for Basidiomycetes- Application to the identification of mycorrhizae and rusts. *Molecular Ecology*, **2**: 113-118.
- HUNTER, G. C. 2002. *Mycosphaerella* causing leaf blotch on *Eucalyptus* species in South Africa. *MSc. Thesis*. Natural and Agricultural Science. University of Pretoria. República de Sudáfrica.
- KULARATNE, H. A. G. C., LAWRIE, A. C., BARBER, P. A., KEANE, P. J. 2004. A specific primer PCR and RFLP assay for the rapid detection and differentiation in planta of some *Mycosphaerella* species associated with foliar diseases of *Eucalyptus globulus*. *Mycological Research*, **108**: 1476-1493.
- LUNDQUIST, J. E., PURNELL, R. C. 1987. Effects of *Mycosphaerella* leaf spot on growth of *Eucalyptus nitens*. *Plant Disease*, **71**: 1025-1029.

- MAXWELL, A. 2004. The taxonomy, phylogeny and impact of *Mycosphaerella* species on eucalypts in South-Western Australia. Ph. Thesis. School of Biotechnology and Biological Science Murdoch University. Australia. 231 pp.
- MAXWELL, A., DELL, B., NEUMEISTER-KEMP, G.G., HARDY, G.E.S.J. 2003. *Mycosphaerella* species associated with *Eucalyptus* in south-western Australia: new species, new records and a key. *Mycological Research*, **107**: 351-359.
- MINISTERIO DE MEDIO AMBIENTE. 2001. Tercer Inventario Forestal Nacional. Galicia. Madrid. España. 354 pp.
- PARK, R. F., 1988a. Effect of certain host, inoculum, and environmental factors on infection of *Eucalyptus* species by two *Mycosphaerella* species. *Transactions of the British Mycological Society*, **90**: 221-228.
- PARK, R. F. 1988b. Epidemiology of *Mycosphaerella nubilosa* and *M. cryptica* on *Eucalyptus* spp. in South-Eastern Australia. *Transactions of the British Mycological Society*, **91**: 261-266.
- PARK, R. F., KEANE, P. J. 1982a. Three *Mycosphaerella* species from leaf diseases of *Eucalyptus*. *Transactions of the British Mycological Society*, **79**: 95-100.
- PARK, R. F., KEANE, P. J. 1982b. Leaf diseases of *Eucalyptus* associated with *Mycosphaerella* species. *Transactions of the British Mycological Society*, **79**: 101-115.
- PARK, R. F., KEANE, P. J., WINGFIELD, M. J., CROUS, P. W. 2000. Fungal diseases of eucalypt foliage. En: Diseases and pathogens of eucalypts. Eds. P.J. Keane, G.A. Kile, F.D. Podger y B.N. Brown, pp. 153-239. CSIRO Publishers. Australia.
- RUPEREZ, A., MUÑOZ, C. 1980. Enfermedades de los eucaliptos en España. *Boletín del Servicio de Plagas*, **6**: 193-217.
- SILVA-PANDO, J., RIGUEIRO RODRÍGUEZ, A. 1992. Guía das árbores e bosques de Galicia. Editorial Galaxia. Vigo. España. 264 pp.
- WHITE, T. J., BRUNS, T. D., LEE, S. B., TAYLOR, J. W. 1990. Analysis of phylogenetic relationships by amplification and direct sequencing of ribosomal RNA genes. En: PCR protocols: a guide to methods and applications. Eds. M. D. Innis, D. H. Gelfrand, J. J. Sninsky y T. J. White, pp. 315-322. New York Academic Press. Nueva York.

(Recepción: 11 julio 2007)

(Aceptación: 29 septiembre 2007)

Caída de botón floral en kiwi causada por *Pseudomonas viridiflava* y *Pseudomonas syringae* en el Principado de Asturias

A. J. GONZÁLEZ, M. R. RODICIO

El cultivo del kiwi se introdujo en el Principado de Asturias en los años 70 y actualmente es un importante recurso frutal, junto con las manzanas de sidra y de mesa. Una de las enfermedades que mayores pérdidas ocasiona a este cultivo y que depende de las condiciones climatológicas, es la caída de botones florales, flor y frutos recién cuajados. En Asturias, se ha demostrado que la etiología de esta enfermedad es bacteriana, siendo originada por dos especies de *Pseudomonas* fluorescentes: *P. viridiflava*, descrita profusamente en la bibliografía como causante de esta patología en otras partes del mundo, y *Pseudomonas syringae*, que también ha sido asociada por algunos autores a esta enfermedad. Sin embargo, en nuestra región, los aislamientos de *P. viridiflava* pertenecen a una variante atípica, que se ha encontrado también en otros cultivos, y ambas bacterias presentan una elevada diversidad fenotípica.

A. J. GONZÁLEZ. Servicio Regional de Investigación y Desarrollo Agroalimentario (SERIDA), carretera de Oviedo s/n, 33300 Villaviciosa. Asturias. España.

M. R. RODICIO. Área de Microbiología, Dpto. de Biología Funcional e Instituto Universitario de Biotecnología de Asturias (IUBA), Universidad de Oviedo, c/Julián Clavería 6, 33006, Oviedo. Asturias.

Palabras clave: *Actinidia deliciosa*, bacteriosis, daños, *Pseudomonas* fluorescentes.

INTRODUCCIÓN

El kiwi (*Actinidia deliciosa*) es originario de China y se cultiva en diferentes zonas del mundo como Nueva Zelanda, California, Chile y Europa. En España, se introdujo inicialmente en Galicia a finales de la década de los 60. Al Principado de Asturias (PA) no llegó hasta 1973, observándose un aumento importante en la producción a partir de la década de los años 80 (COQUE *et al.*, 1987). En la actualidad, se trata del tercer cultivo frutal de la región con una producción anual de 1.500 t y 1.172.000 euros, tras la manzana de sidra (44.000 t, 8.462.300 euros) y la de mesa (6.000 t, 3.245.500 euros) (ANÓNIMO, 2003). La zona de producción de kiwi en el PA se sitúa en la franja costera.

Tradicionalmente se ha considerado al kiwi como un cultivo sin graves problemas patológicos. A pesar de ello se han descrito daños causados por factores bióticos, tales como hongos, bacterias o nemátodos, y por factores abióticos como viento, heladas, calor, etc. Entre las bacterias patógenas de kiwi destacan distintas especies de *Pseudomonas* fluorescentes, concretamente *P. viridiflava* (WILKIE *et al.*, 1973; YOUNG *et al.*, 1988; VARVARO *et al.*, 1990; MANSILLA y ABELLEIRA, 1999; GONZÁLEZ *et al.*, 2003), *P. syringae* patovar (pv.) *syringae* (BALESTRA y VARVARO, 1997; GONZÁLEZ y ÁVILA, 2001), (SCORTICHINI y MARGARITA, 1989), *P. syringae* pv. *actinidiae* (SERIZAWA *et al.*, 1989; SCORTICHINI, 1994) y *P. marginalis* (MANSILLA y ABELLEIRA, 1999). Estas bacterias ori-

ginan fundamentalmente podredumbre y caída de botón floral, flor y fruto recién cuajado, lo que acarrea importantes pérdidas económicas, pero se han asociado también a muerte de ramas y chancros.

En el Laboratorio de Fitopatología del PA (LPPA) se empezó a trabajar en esta enfermedad en el año 2000, con el objetivo de identificar los agentes etiológicos de la caída de botón floral, enfermedad que afecta esporádicamente a cultivos de nuestra comunidad, originando importantes pérdidas. De este trabajo damos cuenta a continuación.

MATERIAL Y MÉTODOS

Muestras analizadas

Se analizaron 28 muestras tanto sintomáticas como asintomáticas (en concreto, una rama, hojas y botones florales), recogidas durante los años 2000, 2001 y 2002 en distintas localidades del PA (Cuadro 1). La mayor parte fueron obtenidas el año 2000 en fincas situadas en las localidades de Villaviciosa y Llanes, que se habían visto seriamente afectadas por la enfermedad de la podredumbre y caída de botón floral durante el año anterior. El mismo año se recogieron también muestras de botones florales con los mismos síntomas en otras dos localidades: Grado y Pravia. En 2001 y 2002 se analizaron cuatro muestras sintomáticas que se recibieron en el LPPA, procedentes de Villaviciosa y Llanes.

Análisis bacteriológico

Pequeñas muestras del material de partida (hojas, rama o botones florales), se sometieron a una dislaceración de tejidos y posteriormente se sembraron en medio King B (KB, KING *et al.* 1954). Las placas se incubaron 48 h a 25°C, identificándose las colonias fluorescentes por exposición a luz UV. Los aislamientos fluorescentes se analizaron mediante tinción Gram, prueba de oxidación-fermentación aportando glucosa como sustrato (HUGH y LEIFSON, 1953), esquema determinativo LOPAT (LELLIOTT *et al.*, 1966), utilización de diferentes compuestos (manitol,

m-inositol, eritritol, homoserina, sorbitol, D-tartrato, sacarosa, L-lactato, trigonelina, quinato, betaina y adonitol) como única fuente de carbono en los medios de Hellmers y Ayers (JANSING y RUDOLPH, 1990; NOVAL, 1991, respectivamente), e hidrólisis de gelatina y esculina. Los aislamientos con las mismas características fenotípicas, procedentes de la misma muestra, fueron considerados como una única cepa. De esta manera se seleccionaron 29 cepas de *Pseudomonas* fluorescentes, designadas con las siglas LPPA seguidas de un número (Cuadro 1). Como control se incluyeron dos cepas de la Colección Española de Cultivos Tipo: *P. viridiflava* CECT 458 y *P. syringae* pv. *syringae* CECT 4429.

Amplificación del ADN 16S mediante PCR y secuenciación

Los genes que codifican los ARN 16S de aislamientos problemáticos fueron amplificados usando los iniciadores pA y pH¹, diseñados por EDWARDS *et al.* (1989) para eubacterias. Las amplificaciones se realizaron en un termociclador MJ Research PTC 100 (Waltham, Mass., USA), utilizando un volumen de 50 µl que contenía 1 µl de ADN extraído de acuerdo con el método de DEENER y BOYCHUCK (1991), concentraciones 0,3 mM de cada iniciador, una concentración 0,2 mM de cada deoxynucleosido trifosfato, 2 U de DyNAzyme II DNA polimerasa (Finnzymes, Oy, Espoo, Finland), y 5 µl del tampón de reacción suministrado por la casa comercial. El volumen se llevó hasta 50 µl con agua estéril bi-destilada. Después de un paso de desnaturalización de 3 min a 94°C, la mezcla de reacción se sometió a 30 ciclos de desnaturalización a 94°C 1 min, anillamiento a 61°C 1 min, y extensión a 72°C durante 90 s, seguido de un paso final a 72°C durante 10 min. El producto de amplificación, de aproximadamente 1.500 pb, fue purificado con el kit Ultraclean PCR clean up DNA purification (MO-BIO, Inc., USA), siguiendo las instrucciones del fabricante. Los fragmentos purificados fueron secuenciados por Secugen (Madrid, España), con los iniciadores pA y

Cuadro 1. Origen, identificación y patogenicidad de cepas de *Pseudomonas* fluorescentes procedentes de muestras de kiwi.

Año	Localidad	Tipo de muestra	Cepas LPPA	Identificación	Botones inoculados/caídos	Características del fruto (n)
2000	Villaviciosa	Hoja asintomática	102	<i>P. viridiflava</i>	5/5	na
		Hoja asintomática	103	<i>P. viridiflava</i>	ne	
		Hoja asintomática	109	<i>P. marginalis</i>	5/1	normales (4)
		Hoja asintomática	-			
		Hoja asintomática	116	<i>P. marginalis</i>	5/0	normales (5)
		Hoja asintomática	117	<i>P. syringae</i>	5/4	pequeño (1)
					5/3*	nd
		Hoja asintomática	118	<i>P. viridiflava</i>	5/5	na
		Hoja asintomática	125	<i>P. viridiflava</i>	ne	
		Hoja asintomática	126	<i>P. viridiflava</i>	5/2	deformes (3)
		Hoja asintomática	127	<i>P. viridiflava</i>	ne	
		Hoja asintomática	133	<i>P. fluorescens</i>	8/0	normales (8)
			134	<i>P. viridiflava</i>	5/2	pequeños y deformes (3)
		Rama con síntomas	136	<i>P. viridiflava</i>	8/2	nd
		Botón con síntomas	138	<i>P. viridiflava</i>	8/8	na
		Botón con síntomas	139	<i>P. viridiflava</i>	11/11	na
					6/5*	pequeño y deforme (1)
	Botón con síntomas	161	<i>P. viridiflava</i>	ne		
	Botón con síntomas	162	<i>P. viridiflava</i>	ne		
2000	Llanes	Hoja asintomática	152	<i>P. syringae</i>	6/2	nd
			153	<i>P. viridiflava</i>	7/1	nd
		Botón asintomático	-			
		Hoja asintomática	158	<i>P. syringae</i>	5/1	nd
		Botón asintomático	159	<i>P. syringae</i>	5/1	pequeños (4)
		Hoja asintomática	150	<i>P. viridiflava</i>	ne	
		Botón asintomático	145	<i>P. syringae</i>	6/2	nd
		147	<i>P. viridiflava</i>	ne		
2000	Grado	Botón con síntomas	143	<i>P. viridiflava</i>	11/11	na
				7/5*	pequeños y deformes (2)	
2000	Pravia	Botón con síntomas	144	<i>P. viridiflava</i>	10/10	na
				7/4*	deformes (3)	
2001	Villaviciosa	Hoja asintomática	164	<i>P. syringae</i>	ne	
		Botón con síntomas	165	<i>P. syringae</i>	4/3	pequeño (1)
				5/1*	nd	
2002	Llanes	Fruto con síntomas	166	<i>P. syringae</i>	5/5	na
		Fruto con síntomas	167	<i>P. syringae</i>	ne	
			Cepas CECT			
na	na	na	4429	<i>P. syringae</i>	6/6	na
na	na	na	458	<i>P. viridiflava</i>	7/7	na

LPPA, Laboratorio de Fitopatología del Principado de Asturias; CECT, Colección Española de Cultivos Tipo; ne, no ensayado; *, inoculaciones realizadas por duplicado; (n), número de frutos con la(s) característica(s) indicada(s); na, no aplicable; nd, no determinado.

pH'. Las secuencias fueron comparadas con las depositadas en bases de datos utilizando BLAST (www.ncbi.nlm.nih.gov; ALTSCHUL *et al.*, 1997).

Pruebas de patogenicidad

El poder patógeno de la mayoría de los aislamientos (20/29) se investigó mediante ino-

culación de botones florales de plantas de kiwi en producción, localizadas al aire libre en la plantación experimental del Servicio Regional de Investigación y Desarrollo Agroalimentario (SERIDA, Villaviciosa) del PA. El método empleado (GONZÁLEZ y ÁVILA, 2001) consistió en la realización de un corte en el botón floral con un bisturí impregnado en una suspen-

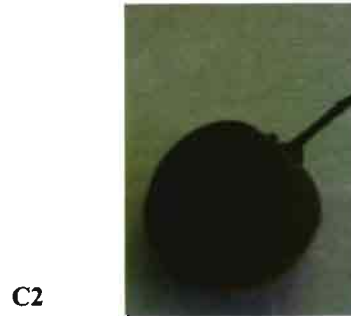


Figura 1. (A) Inoculación de botones florales mediante corte con bisturí impregnado con agua destilada estéril (A1) y con una suspensión bacteriana de LPPA 144 (A2). Nótese en el segundo caso el color marrón oscuro en la zona del corte, debido a la podredumbre de los botones. (B) Botones florales de kiwi afectados por la enfermedad. Inicialmente, ésta se manifiesta en la parte interna (B1), afectando posteriormente a toda la flor (B2). (C) Aspecto que presentan los frutos de kiwi producidos a partir de botones inoculados con la cepa LPPA 144 de *P. viridiflava* atípica (C1) y con la cepa LPPA 117 de *P. syringae*.

sión bacteriana de aproximadamente 10^8 ufc/ml, correspondiente al cultivo de una noche en caldo YPG (5 g de extracto de levadura, 5 g de proteasa peptona y 10 g de glucosa por litro). El número de botones inoculados varió entre 5 y 11, localizados en las partes terminales de las ramas (Figura 1A). Estas se cubrieron con bolsas de plástico transparentes durante 48 h, al cabo de las cuales se retiraron, observándose los síntomas a partir de entonces. Se utilizó como blanco agua destilada estéril, y como controles las dos cepas de colección. En estas últimas se tomaron precauciones para no contaminar la parcela, esterilizando en autoclave los botones inoculados, dentro de la misma bolsa con que se cubrieron. Las bacterias causantes de daño se reaislaron a partir del material afectado, y se identificaron como se describió anteriormente.

RESULTADOS

Aislamiento e identificación de *Pseudomonas* fluorescentes procedentes de kiwi

En el presente trabajo se aislaron *Pseudomonas* fluorescentes a partir de todas las muestras de kiwi analizadas, excepto dos. Las excepciones fueron una hoja y un botón floral, ambos asintomáticos, recogidos en el año 2000, en Villaviciosa y Llanes, respectivamente. A partir de las 26 muestras restantes (tanto sintomáticas como asintomáticas) se obtuvieron 29 cepas de *Pseudomonas* fluorescentes, que fueron tentativamente identificadas en base al perfil LOPAT, complementado con pruebas bioquímicas adicionales (Cuadro 2). En casos dudosos se recurrió a la secuenciación del ADN_r 16S. Los resultados obtenidos pueden resumirse de la siguiente manera:

Cuadro 2. Caracterización bioquímica de las cepas incluidas en el estudio.

Biotipo (N)	L	O	P	A	T	S	G	LL	Ad	Cepas
<i>P. syringae</i>										
BT-1 (3)	+	-	-	-	+	+	+	+	-	CECT 4429 (pv. <i>syringae</i>); 164; 165
BT-2 (2)	+	-	-	-	+	+	-	+	-	158; 159
BT-3 (3)	+	-	-	-	+	+	-	-	-	134; 117; 136
BT-4 (1)	+	-	-	-	+	+	+	-	+	152
BT-5 (3)	+	-	+	-	+	+	+	-	+	145; 166; 167
<i>P. viridiflava</i>										
BT-1 (1)	-	-	+	-	+	-	+	+	-	CECT 458
BT-2 (10)	+	-	+	-	+	-	+	+	-	103; 125; 127; 139; 143; 144; 147; 150; 161; 162
BT-3 (2)	+	-	+	-	+	-	-	+	-	126; 138
BT-4 (2)	+	-	-	-	+	-	+	+	-	102; 153
BT-5 (1)	+	-	-	-	+	-	-	+	-	118
<i>P. marginalis</i>										
BT-1 (2)	+	+	+	+	-	nd	nd	nd	nd	109; 116
<i>P. fluorescens</i>										
BT-1 (1)	+	+	-	+	-	nd	nd	nd	nd	125

N, número de cepas con el biotipo indicado (incluyendo las cepas control); BT, biotipo; CECT, Colección Española de Cultivos Tipo; nd, no determinado; L, producción de exopolisacárido en medio rico en sacarosa; O, oxidasa; P, actividad pectinolítica; A, arginina dihidrolasa; T, hipersensibilidad en tabaco; S, utilización de la sacarosa; G, hidrólisis de gelatina; LL, utilización de L-lactato; Ad, utilización de adonitol. Las cepas asignadas a *P. syringae* y *P. viridiflava* sólo se diferenciaron en la capacidad de utilizar sacarosa como única fuente de carbono y energía, coincidiendo en los resultados de las pruebas bioquímicas que no se muestran en el Cuadro.

i) Ocho cepas mostraron el perfil [+---+], característico de *P. syringae*, al igual que *P. syringae* pv. *syringae* CECT 4429, incluida como control. Estas cepas se caracterizaron por su elevada diversidad fenotípica (4 biotipos), encontrándose diferencias en cuanto a la capacidad de hidrólisis de la gelatina y en la utilización de L-lactato y adonitol. Sólo dos de estas cepas (LPPA 164 y LPPA 165) coincidieron con CECT 4429 en todas las propiedades analizadas.

ii) De acuerdo con lo esperado, la cepa control *P. viridiflava* CECT 458 presentó el perfil LOPAT [--++], que no fue compartido por ninguno de los aislamientos de kiwi.

iii) Dieciocho cepas presentaron el perfil [+±±+], previamente asignado por nuestro grupo a una variante atípica de *P. viridiflava*, caracterizada por la producción de exopolisacárido amarillo en medio rico en sacarosa y por una actividad pectinolítica variable (GONZÁLEZ *et al.*, 2003). La secuenciación del ADNr 16S de estas cepas confirmó su asignación a *P. viridiflava*, encontrándose variación intraespecífica (4 biotipos) no sólo en la actividad pectinolítica sino también en la capacidad de hidrolizar gelatina.

iv) Sorprendentemente, el análisis del ADNr 16S de tres cepas con perfil LOPAT [++++] reveló una mayor identidad con *P. syringae* que con *P. viridiflava*. Estas tres cepas (LPPA 145, LPPA 166 y LPPA 167) compartieron el mismo biotipo.

v) Tres cepas dieron positiva la prueba de la oxidasa y negativa la reacción de hipersensibilidad en plantas de tabaco. Dos de ellas (LPPA 109 y LPPA 116), con perfil LOPAT [++++], fueron asignadas a *P. marginalis*, mientras que la otra (LPPA 133) presentó el perfil [++-+], propio de *P. fluorescens*.

En cuanto a su origen, los aislamientos de *P. syringae* y *P. viridiflava* atípica se obtuvieron tanto de muestras sintomáticas como asintomáticas, apareciendo ambas bacterias en dos de estas últimas (una hoja y un botón asintomáticos de Llanes, 2000). Destaca la presencia de *P. viridiflava* atípica en todas las muestras de botones florales con síntomas de

podredumbre, excepto una, donde se encontró *P. syringae*. Es interesante destacar que una de las tres cepas de *P. syringae* cuyo perfil LOPAT se confunde con el de *P. viridiflava* atípica (LPPA 145), se obtuvo en 2000 a partir de un botón asintomático procedente de una finca de Llanes, mientras que las dos restantes (LPPA 166 y LPPA 167) se encontraron, dos años después, en frutos sintomáticos de la misma finca. Por último, *P. marginalis* y *P. fluorescens* sólo aparecieron en un número reducido de muestras asintomáticas.

Pruebas de patogenicidad

El potencial patogénico de las distintas cepas se investigó mediante inoculación artificial de botones florales de kiwi, utilizando el método de corte (Figura 1-A1 y A2). Estos experimentos demostraron la patogenicidad de todas las cepas analizadas de *P. syringae* y de *P. viridiflava* atípica. En ambos casos, los síntomas de la enfermedad consistieron en oscurecimiento y podredumbre blanda de los tejidos, que afecta inicialmente a la zona interna, evolucionando posteriormente hacia la podredumbre de todo el botón (Figura 1-B1 y B2). Como consecuencia de ello, un porcentaje más o menos elevado de botones (20-100% en *P. syringae* y 14-100% en *P. viridiflava* atípica) termina cayendo (Cuadro 1). Por otro lado, los frutos que se mantuvieron en el árbol, producidos a partir de botones inoculados con *P. viridiflava* atípica, fueron deformes (Figura 1-C1), observándose que los pétalos de las flores no se caían aunque ya estuvieran secos. Por el contrario, en inoculaciones con *P. syringae*, los frutos obtenidos fueron de pequeño tamaño pero no deformes (Figura 1-C2).

Es importante señalar que los síntomas descritos para las inoculaciones artificiales coinciden con los observados en el campo y que, cumpliendo los postulados de Koch, en todos los casos fue posible recuperar la bacteria inoculada a partir de los botones afectados. Estos resultados confirman a *P. syringae* y *P. viridiflava* atípica como importantes patógenos de kiwi en el PA. *P. viridiflava* CECT 458 y *P. syringae* pv. *syringae* CECT

4429 provocaron también la podredumbre de los botones, cayendo todos los inoculados. Además, CECT 4429 causó daños en la rama. Cabe destacar, finalmente, que las cepas correspondientes a las bacterias negativas para la reacción de hipersensibilidad en plantas de tabaco, e identificadas como *P. marginalis* y *P. fluorescens* no provocaron daño. Aunque en el caso de LPPA 109 cayó uno de los botones inoculados, este hecho se debió probablemente a causas mecánicas, ya que no se observó daño en el mismo.

DISCUSIÓN

El presente trabajo identificó a *P. syringae* y *P. viridiflava* como agentes etiológicos de la caída de botón floral de kiwi en el PA. Este resultado coincide con otros recogidos en la bibliografía, que atribuyen la enfermedad a las mismas bacterias (ver Introducción), aunque, en el caso de *P. viridiflava* se trata de aislamientos con características bioquímicas típicas, diferentes por tanto de la variante descrita exclusivamente en nuestros cultivos. Por otro lado, en la vecina comunidad de Galicia, se ha asociado la caída de flor y botón floral de kiwi a la presencia de *P. marginalis* (MANSILLA y ABELLEIRA, 1999). Sin embargo, las cepas de la serie en estudio, negativas para la reacción de hipersensibilidad en tabaco (*P. marginalis* y *P. fluorescens*), no se comportaron como patógenas en inoculaciones artificiales. Por ello, a pesar de la proximidad geográfica y de las similitudes climáticas, la epidemiología del cultivo de kiwi parece diferir en ambas Comunidades.

Las bacterias patógenas de kiwi caracterizadas en el presente trabajo, destacan por su elevada variabilidad fenotípica, lo que representa un problema para su identificación. La mayor parte de las asignadas a *P. viridiflava* (12/15) presentaron el perfil LOPAT [+--+], que no coincide con el descrito para esta especie [--++]. Por el contrario, la mayoría de las cepas de *P. syringae* (8/11) mostraron el perfil [+--+], característico de la especie. Ambos perfiles, sin embargo, fueron compartidos por aislamientos de los dos patógenos, cuya iden-

idad sólo pudo establecerse mediante secuenciación de los ADNr 16S. En cuanto a su origen, es posible que bacterias fitopatógenas con amplio rango de hospedador, ya presentes en el PA, pasaran a infectar el nuevo cultivo, a raíz de su introducción en 1973. De hecho, *P. viridiflava* atípica y *P. syringae* han sido identificadas como patógenos de otras muchas plantas cultivadas en nuestra región (por ejemplo, judía, lechuga, hebe, manzano y vid; GONZÁLEZ *et al.*, 2003; GONZÁLEZ y RODICIO, 2006). Hay que considerar, además, que ambas bacterias fueron recuperadas no sólo de muestras de kiwi con síntomas de enfermedad, sino también a partir de muestras aparentemente sanas. De acuerdo con ello, la supervivencia epífita en kiwi, y probablemente también en otras plantas, representa un peligro para el cultivo, que se agrava bajo determinadas condiciones climáticas, como son temperaturas cálidas y alta humedad relativa.

CONCLUSIONES

1ª En Asturias se ha establecido que la caída de botones florales de kiwi es de etiología bacteriana. Las bacterias implicadas en esta patología se han identificado como *P. viridiflava* atípica y *P. syringae*.

2ª Los síntomas producidos por ambas bacterias son indistinguibles, aunque se ha observado que cuando las cepas inoculadas eran de *P. viridiflava*, los escasos frutos que sobreviven muestran asimetría y deformidades en su totalidad y que cuando las cepas inoculadas correspondieron a *P. syringae* suelen ser de pequeño tamaño.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado por la Dirección General de Agroalimentación del Principado de Asturias y por el Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (proyecto RTA2005-000-76-00-00). Agradecemos al Laboratorio de Sanidad Vegetal del Principado de Asturias la cesión de dos de las cepas incluidas en este estudio.

ABSTRACT

GONZÁLEZ, A. J., M. R. RODICIO. 2007. Disease of floral buds of kiwifruit caused by *Pseudomonas viridiflava* and *Pseudomonas syringae*. *Bol. San. Veg. Plagas*, **33**: 517-525.

The culture of kiwifruit was introduced in the 70s in the Principality of Asturias. Nowadays it has become a relevant fruit resource, preceded only by table and cider apple. The fall of floral buds, flowers and fruits is a disease that causes important losses to this culture, depending on the climatologic conditions. In Asturias, it has been established that the etiology of this disease is bacterial, being originated by two species of fluorescent *Pseudomonas*: *P. viridiflava*, widely described in the bibliography as cause of this pathology in other parts of the world, and *P. syringae*, that has been also associated to this disease by some authors. Nevertheless, in our region, the isolates of *P. viridiflava* belong to an atypical variant, which has also been in other cultures, and both bacteria display a high phenotypic diversity.

Key words: *Actinidia deliciosa*, bacteriosis, damages, fluorescent *Pseudomonas*

REFERENCIAS

- ALTSCHUL, S. F., MADDEN, T. L., SCHAFER, A. A., ZHANG, J., ZHANG, Z., MILLER, W., LIPMAN, D. J. 1997. Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. *Nucleic Acids Res.*, **25**: 3389-3402.
- ANÓNIMO. 2003. Producto neto de la agricultura asturiana 2001. Ed. Consejería de Medio Rural y Pesca. Servicio de Publicaciones del Principado de Asturias, 225 pp.
- BALESTRA, G. M., VARVARO, L. 1997. *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* causal agent of disease on floral buds of *Actinidia deliciosa* (A. Chev) Liang et Ferguson in Italy. *J. Phytopathology*, **145**: 375-378.
- COQUE, M., FUEYO, M. A., AMENÁBAR, R. 1987. La Actinidia en Asturias. Pags: 73-85. Jornadas Internacionales sobre Actinidia y pequeños frutos. Villaviciosa. ISBN: 84-606-0044-0. Ed. Consejería de Agricultura y Pesca del Principado de Asturias.
- DEENER, H. H., BOYCHUCK, J. 1991. Species-specific detection of *Listeria monocytogenes* by DNA amplification. *Appl. Environ. Microbiol.*, **57**: 606-609.
- EDWARDS, U., ROGALL, T., BLÖCKER, H., EMDE, M., BÖTTGER, E. C. 1989. Isolation and direct complete nucleotide determination of entire genes. Characterization of a gene coding for 16S ribosomal RNA. *Nucleic Acids Res.*, **17**: 7843-7853.
- GONZÁLEZ, A. J., ÁVILA, M. 2001. Disease of floral buds of kiwifruit in Spain caused by *Pseudomonas syringae*. *Plant Dis.*, **85**: 1287.
- GONZÁLEZ, A. J., RODICIO, M. R., MENDOZA, M. C. 2003. Identification of an emergent and atypical *Pseudomonas viridiflava* lineage causing bacteriosis in plants of agronomic importance in a Spanish region. *Appl. Environ. Microbiol.*, **69**: 2936-2941.
- GONZÁLEZ, A. J., RODICIO, M. R., 2006. *Pseudomonas viridiflava* Causing Necrotic Leaf Spots and Defoliation on *Hebe* spp. in Northern Spain. *Plant Dis.*, **90**: 830.
- HUGH, R., LEIFSON, E. 1953. The taxonomic significance of fermentative versus oxidative metabolism of carbohydrates by various Gram-negative bacteria. *J. Bacteriol.*, **66**: 24-26.
- JANSING, H., RUDOLPH, K. 1990. A sensitive and quick test for determination of bean seed infestation by *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola*. *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz*, **97**: 42-55.
- KING, E. O., WARD, M. K., RANEY, D. E. 1954. Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescein. *J. Lab. Med.*, **44**: 301-307.
- LELLIOTT, R. A., BILLING, E., HAYWARD, A. C. 1966. A determinative scheme for fluorescent plant pathogenic bacteria. *J. of Appl. Bacteriol.*, **29**: 470-478.
- MANSILLA, J. P., VÁZQUEZ, R. A., ABELLEIRA, A., SALINERO, M. C. 1988. Problemática fitosanitaria de la Actinidia en Galicia. *Bol. San. Veg. Plagas*, **14**: 279-293.
- MANSILLA, J. P., ABELLEIRA, A. 1999. Presencia de *Pseudomonas marginalis* y *P. viridiflava* sobre kiwi en Galicia. *Bol. San. Veg. Plagas*, **25**: 175-180.
- NOVAL, C. 1991. Medios de cultivo y pruebas de diagnóstico. pags 379-410. En "Manual de Laboratorio. Diagnóstico de hongos, bacteria y nematodos fitopatógenos". Ed. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, Madrid.
- SERIZAWA, S., ICHIKAWA, T., TAKIKAWA, Y. 1989. Occurrence of bacterial canker of kiwifruit in Japan: description of symptoms, isolation of the pathogen and screening of bactericides. *Ann. Phytopath. Soc. Japan*, **55**: 427-436.
- SCORTICINI, M. 1994. Occurrence of *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* on kiwifruit in Italy. *Plant Path.*, **43**: 1035-1038.
- SCORTICINI, M., MARGARITA, L. 1989. *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* van Hall agente causale di secumi rameali su actinidia in Italia. *Informatore fitopatologico*, **10**: 49-52.
- VARVARO, L., MAGRO, P., MAINOLFI, P. 1990. Comparsa di *Pseudomonas viridiflava* su *Actinidia deliciosa* in Italia. *Informatore fitopatologico*, **6**: 49-53.

- WILKIE, J. P., DYE, D. W., WATSON, D. R. W. 1973. Further hosts of *Pseudomonas viridiflava*. *N.Z.J. Agr. Res.*, **16**: 315-323.
- YOUNG, J. M., CHEESMUR, G. J., WELHAM, F. V., HENS-HALL, W. R. 1988. Bacterial blight of kiwifruit. *Ann. Appl. Biol.*, **112**: 91-105.

(Recepción: 23 julio 2007)
(Aceptación: 24 septiembre 2007)

La podredumbre radical del pinsapo I: Identificación específica del agente causal

M. E. SÁNCHEZ, N. LUCHI, J. E. SÁNCHEZ, J. J. JIMÉNEZ, A. TRAPERO, P. CAPRETTI

La podredumbre radical causada por *Heterobasidion* es una grave enfermedad que afecta a las masas de *Abies pinsapo* en el sur de España. Para la identificación específica del patógeno que causa esta enfermedad, se recogieron muestras de árboles sintomáticos en siete localizaciones del Parque Natural de la Sierra de las Nieves (Málaga). Los aislados monobasidiospóricos obtenidos se identificaron mediante tests de apareamiento con aislados de referencia de grupo de interesterilidad conocido. Todos los aislados obtenidos de *A. pinsapo* pertenecen al grupo de interesterilidad F, también identificado como la especie *Heterobasidion abietinum*.

M. E. SÁNCHEZ, J. E. SÁNCHEZ, J. J. JIMÉNEZ, A. TRAPERO. Departamento de Agronomía, Patología Agroforestal, Universidad de Córdoba, España.
N. LUCHI, P. CAPRETTI. Dipartimento di Biotecnologie Agrarie, Sez. Patologia Vegetale, Università degli Studi di Firenze, Italia.

Palabras clave: *Abies pinsapo*, ecosistemas naturales, especie protegida, *Heterobasidion abietinum*, *Heterobasidion annosum*.

INTRODUCCIÓN

Abies pinsapo Boiss. es una especie autóctona protegida que crece únicamente en las provincias de Málaga y Cádiz. Esta especie de abeto constituye una singularidad botánica de elevado valor ecológico (ARISTA *et al.*, 1997). Por esta razón, las áreas de distribución natural de *A. pinsapo* están declaradas como Parques Naturales protegidos: Sierra de las Nieves, Sierra de Grazalema y Sierra Bermeja. *Abies pinsapo* suele crecer en masas puras, pero ocasionalmente comparte su hábitat con otras especies arbóreas, como *Quercus faginea*, *Q. rotundifolia*, *Pinus halepensis*, *P. pinaster* y *Juniperus oxycedrus* (ARISTA *et al.*, 1997).

Para conocer el estado fitosanitario de *A. pinsapo*, en 2001 se estableció una red de seguimiento de 1 x 1 Km, densificando la Red Europea de Seguimiento de Daños en

los Bosques (MONTAYA y LÓPEZ, 1997, NAVARRO y CALZADO, 2004). En las prospecciones de campo llevadas a cabo en estos ecosistemas en 2002, se localizaron un total de 81 focos de enfermedad, 72 de ellos situados en la Sierra de las Nieves (NAVARRO *et al.*, 2003). En estos focos los árboles mostraban una enfermedad radical que daba lugar a su muerte en pie o bien a su caída en verde como consecuencia de la podredumbre y destrucción de sus raíces de anclaje. En estos árboles caídos y también en tocones antiguos presentes en los focos, se localizaron cuerpos fructíferos identificados como *Heterobasidion annosum* Fr. Bref. *sensu lato* (SÁNCHEZ *et al.*, 2005). Dentro de la especie *Heterobasidion annosum* s l se han descrito en Europa tres grupos de interesterilidad que además muestran una especificidad de huésped más o menos marcada. El grupo de interesterilidad P causa podredumbre radical en

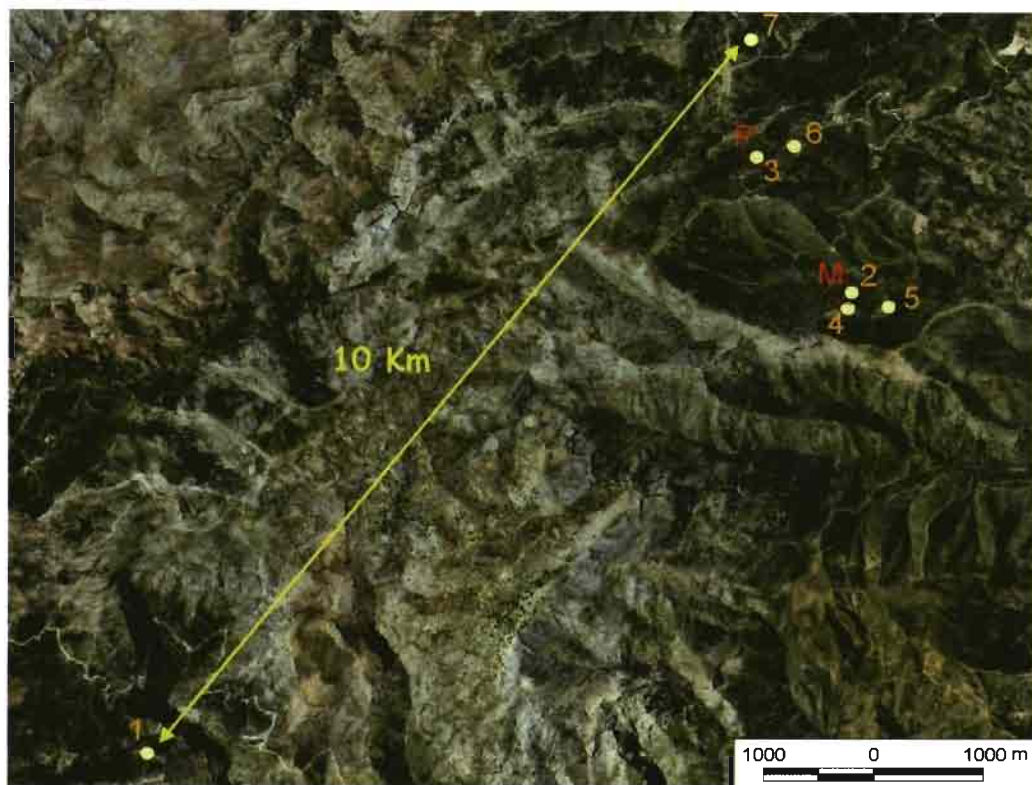


Figura 1. Área prospectada en el Parque Natural de la Sierra de las Nieves. Se encontraron basidiocarpos de *Heterobasidion abietinum* en La Nava (1), Merendero (2), Pozo de la Nieve (3), Gamones (4) y Alhucemal (5). En Puerto Saucillo (6) y La Chaparrera (7), no se localizaron basidiocarpos y el hongo fue aislado de muestras tomadas en árboles sintomáticos.

el género *Pinus*, mientras que el grupo S aparece infectando *Picea* (NIEMELÄ y KORHONEN, 1998). Posteriormente se describió un nuevo grupo de intersterilidad, el F, que en ensayos *in vitro* muestra un cierto grado de compatibilidad sexual con el grupo S y que infecta distintas especies del género *Abies* (CAPRETTI *et al.*, 1990). Estos grupos de intersterilidad han sido recientemente descritos como especies individuales (NIEMELÄ y KORHONEN, 1998).

A pesar de que *H. annosum* es un patógeno muy frecuente que causa podredumbre radical de coníferas en todo el hemisferio norte (KORHONEN *et al.*, 1998), raramente se ha citado en España, aunque recientemente aparece como un factor asociado al decaimiento de *Abies alba* en los Pirineos (CAMARERO, 2000).

Con estos antecedentes y debido a la gravedad creciente de la enfermedad en la Sierra de las Nieves, el objetivo de este trabajo ha sido identificar la especie de *Heterobasidion* que causa la podredumbre radical del pinsapo.

MATERIAL Y MÉTODOS

Obtención de aislados

En el otoño de 2004, el mayor pinsapar de Andalucía, situado en el Parque Natural de la Sierra de las Nieves (Málaga), fue prospectado para localizar la presencia de basidiocarpos de *Heterobasidion* asociados a la podredumbre radical del pinsapo.

Se recorrió un área de aproximadamente 700 ha de pinsapar. Las muestras de *Heterobasidion* se recolectaron en siete localizaciones distintas, separadas entre 1,2 y 10 Km unas de otras y situadas a una altitud de 1000 a 1200 m (Figura 1). Las muestras consistieron en basidiocarpos en cinco de las siete localizaciones, recogiendo en total nueve especímenes de raíces afectadas en árboles desarraigados. En las otras dos localizaciones no se encontraron basidiocarpos y por este motivo se tomaron muestras de madera podrida de la raíz de árboles afectados. La distancia mínima entre muestras individuales varió de 10 a 50 m en las diferentes localizaciones.

Los basidiocarpos fueron mantenidos en frío (5-10° C) en el interior de bolsas de plástico y protegidos de la luz hasta que se indu-

jo la descarga de basidiosporas en el laboratorio. Para ello, trozos limpios de basidiocarpo se colocaron en el extremo de placas de Petri conteniendo el medio de cultivo agar-malta (MA) al 1,5%, de forma que la tapa sujetara el trozo (Figura 2) y la esporada se depositara en la superficie del agar, lo que ocurrió al cabo de 20-30 min de incubación a temperatura ambiente.

Las basidiosporas germinadas se localizaron mediante observación microscópica y se transfirieron individualmente a placas de MA por medio de una aguja estéril. De cada basidiocarpo se obtuvieron entre dos y seis cultivos monobasidiospóricos.

Las muestras de madera podrida se tomaron de árboles en pie que mostraban síntomas de la enfermedad mediante una barrena de Pressler, introduciéndola a la



Figura 2. Obtención de aislados monobasidiospóricos mediante la recolección de la esporada de un trozo de basidiocarpo de *Heterobasidion* en el borde de una placa de Petri conteniendo el medio de cultivo MA al 1,5%.



Figura 3. Toma de muestras de madera podrida de árboles en pie que mostraban síntomas de la enfermedad mediante una barrena de Pressler. Nótase cómo la barrena se introduce a la altura de la línea del suelo en dirección a la raíz.

altura de la línea del suelo en dirección a la raíz (Figura 3). Los cilindros de madera obtenidos se guardaron en tubos de plástico estériles y se mantuvieron en frío y protegidos de la luz hasta su procesamiento en el laboratorio. Para el aislamiento del hongo, los cilindros se desinfectaron superficialmente con etanol, se cortaron en pequeños segmentos y se sembraron en placas de Petri conteniendo el medio BAPS (Bactopeptona-Agar con PCNB y Estreptomycin; KUHLMAN y HENDRIX, 1962), semiselectivo para *Heterobasidion*. Las colonias fúngicas obtenidas tras la incubación de las placas a 20° C se transfirieron a MA.

Todos los aislados obtenidos se observaron al microscopio (x100) por el reverso de las placas para la eventual observación de uniones en fíbula, características del estado heterocariótico (Figura 4).

Tests de apareamiento

Todos los aislados obtenidos se cruzaron con aislados de referencia homocarióticos de grupo de interesterilidad conocido, representando a las tres especies *H. abietinum* (Niemelä & Korhonen) (grupo F), *H. parviporum* (Niemelä & Korhonen) (grupo S) y *H. annosum* Fr. Bref. *sensu stricto* (grupo P) (NIE-MELÄ y KORHONEN, 1998). Cada aislado pro-

cedente de pinsapo se confrontó individualmente con dos aislados de referencia de cada especie. Para ello se cortaron discos de agar de 5 mm de diámetro del margen de colonias creciendo activamente y se sembraron en el centro de placas de Petri con el medio MA a 1 cm de distancia del aislado de referencia (Figura 5). Las placas se incubaron durante 4 semanas a temperatura ambiente y al cabo de este tiempo se buscó la presencia de fíbulas, indicativo de la presencia de micelio heterocariótico y por tanto de compatibilidad sexual, observando el reverso de las placas al microscopio (x 100). En el caso de aislados procedentes de madera, heterocarióticos en origen, la presencia de fíbulas se verificó en la colonia original del aislado de referencia. Además, en todos los casos se consignaron los cambios ocurridos en la morfología de las colonias tras su heterocariotización así como la formación de barreras miceliales entre colonias en los casos de incompatibilidad sexual.

Los aislados de referencia utilizados aparecen en el Cuadro I y proceden de la micoteca del Departamento de Biotecnología Agraria de la Universidad de Florencia (Italia).

RESULTADOS

La presencia de basidiocarpos de *Heterobasidion* no fue muy frecuente en la zona prospectada. Fueron localizados ocasional-

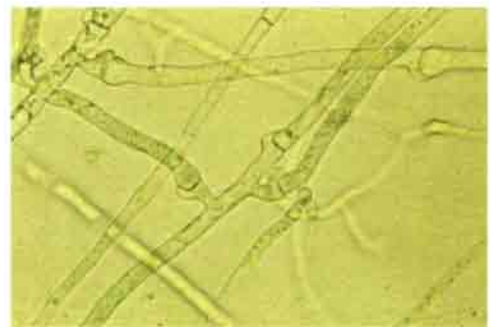


Figura 4. Uniones en fíbula características del estado heterocariótico presentes en el micelio de *Heterobasidion* (x100).



Figura 5. Test de apareamiento entre aislados de *Heterobasidion* obtenidos de pinsapo y aislados de referencia. a) Aislado AP58 x AP58, b) AP58 x *H. abietinum* FO3164/1, c) AP58 x *H. parviporum* S03245/1, d) AP58 x *H. annosum sensu stricto* P03018/1. Nótese la aparición de barreras de incompatibilidad en c) y d), mientras que en b) el micelio heterocariótico resultante del apareamiento forma una colonia homogénea.

mente en las raíces de árboles desarraigados (Figura 6) o en el interior de raíces o parte basal del tronco podrido de pinsapos enfermos en pie, generalmente cubiertos por residuos vegetales o suelo (Figura 7), por lo que su presencia no resultó evidente. El tamaño de dichos basidiocarpos varió de 1 a 30 cm de diámetro y se encontraron tanto aislados como grupos de 2-3 basidiocarpos.

Siguiendo la metodología descrita, se obtuvieron un total de 30 cultivos monobasidiospóricos (homocarióticos) procedentes de nueve basidiocarpos, y nueve aislados adicionales procedentes de madera podrida (heterocarióticos).

Tests de apareamiento

Cuando se enfrentaron los aislados homocarióticos obtenidos de *A. pinsapo* con los aislados de referencia de *H. abietinum* (grupo de intersterilidad F) se observó la reacción de compatibilidad en el 95% de los casos (Cuadro 1). A las 4 semanas de incubación se detectó la presencia de micelio heterocariótico mediante la observación de uniones en fíbula, que generalmente aparecieron en ambas colonias originales. En ocasiones se produjo la fusión de las dos colonias homocarióticas, ya indistinguibles, en una sola colonia heterocariótica (Figura 5b). A partir de las 6 semanas de incubación, la



Figura 6. Presencia de basidiocarpos de *Heterobasidion* en las raíces de un pinsapo desarraigado. Obsérvese también la podredumbre de las raíces leñosas.

morfología del micelio heterocariótico cambió, pasando del color blanco original a un color beige o marrón rojizo.

Por otra parte, los aislados homocarióticos aislados de *A. pinsapo* resultaron completamente incompatibles con los aislados de referencia de *H. annosum* s.s. (grupo de interesterilidad P), observándose barreras miceliales entre ambos aislados enfrentados (Figura 5d), pero resultaron parcialmente compatibles con los aislados de referencia de *H. parviporum* (grupo de interesterilidad S), aunque la frecuencia de aislados que mostraron reacciones compatibles fue bastante baja (6,7 %).

Sin embargo, estas reacciones de compatibilidad con *H. annosum* s.s. y *H. parviporum* fueron más frecuentes al confrontarlos con aislados heterocarióticos procedentes de *A. pinsapo*, como se observó tras la aparición de uniones en fíbula en los aislados de referencia (33 y 25 % respectivamente), si bien no se puede excluir la posibilidad de que el micelio heterocariótico del aislado de *A. pinsapo* hubiese invadido las colonias homocarióticas del aislado de referencia.

DISCUSIÓN

De los resultados obtenidos en los tests de apareamiento se concluye que todos los aislados de *Heterobasidion* obtenidos de *A. pin-*



Figura 7. Presencia de basidiocarpos de *Heterobasidion* en el interior de la parte basal del tronco podrido de un pinsapo enfermo, visibles cuando se han retirado residuos vegetales y suelo.

sapo pertenecen al grupo F de interesterilidad recientemente propuesto como la especie *H. abietinum* (NIEMELÄ y KORHONEN, 1998). Los aislados de referencia de *H. abietinum* pasaron al estado heterocariótico en el 95% de los apareamientos realizados con aislados homocarióticos procedentes de *A. pinsapo*, tal y como puso de manifiesto la observación de uniones en fíbula. En el 5% de este tipo de apareamientos la reacción resultó incompatible, probablemente debido a la presencia del mismo alelo de compatibilidad sexual en ambos homocariotes, aunque también pudo deberse a la dificultad de observar las uniones en fíbula.

Heterobasidion parviporum (grupo de interesterilidad S) es una especie estrechamente relacionada con *H. abietinum*. De hecho, las cepas de *H. parviporum* procedentes de áreas geográficas fuera del área de distribución de *H. abietinum*, por ejemplo del

Cuadro 1. Resultados de los tests de apareamiento para la identificación específica de los aislados homocarióticos de *Heterobasidion* procedentes de *Abies pinsapo*. La reacción compatible está basada en la aparición de uniones en fíbula en el aislado de referencia

Aislado de <i>A. pinsapo</i>	Aislados de referencia						
	<i>H. abietinum</i>		<i>H. parviporum</i>			<i>H. annosum s.s.</i>	
	F031 64/1	F03193/ 1	S03245/ 1	S98036/ 3	P98040/ 2	P03018/ 1	P04261 1/1
AP1	+	+	-	+	-	-	nt
AP2	+	+	-	-	-	-	nt
AP3	+	+	-	-	nt	-	-
AP58	+	+	-	-	-	-	nt
AP59	+	+	-	-	-	-	nt
AP60	+	+	-	-	-	-	nt
AP63	+	+	-	-	-	-	nt
AP70	-	+	-	-	-	-	nt
AP74	+	+	-	-	-	-	nt
AP76	-	+	-	-	-	-	nt
AP77	+	+	-	-	-	-	nt
AP78	+	+	-	-	-	-	nt
AP80	+	+	-	-	-	-	nt
AP81	+	+	-	-	-	-	nt
AP82	+	+	-	-	-	-	nt
AP83	+	+	-	-	-	-	nt
AP84	+	+	+	+	-	-	nt
AP85	+	+	-	-	-	-	nt
AP86	+	+	-	-	-	-	nt
AP88	+	+	-	-	-	-	nt
AP89	+	+	-	-	-	-	nt
AP90	+	+	-	-	-	-	nt
AP91	-	+	-	-	-	-	nt
AP93	+	+	-	-	-	-	nt
AP94	+	+	-	+	-	-	nt
AP96	-	+	-	-	-	-	nt
AP98	+	+	-	-	-	-	nt
AP108	+	+	-	+	-	-	nt
AP116	+	+	-	-	-	-	nt
AP117	+	+	-	-	-	-	nt
Nº de apareamientos	60		60			60	
Reacción compatible (%)	95.0		6,7			0,0	

Aislados de referencia: *H. abietinum* F03164/1 (Trentino, Italia). F03193/1 (Trentino, Italia); *H. parviporum* S03245/1 (Trentino, Italia) S98036/3 (Hämeenlinna, Finlandia); *H. annosum s.s.* P98040/2 (Voronezh, Rusia). P03018/1 (Loppi, Finlandia), P04261/1 (Toscana, Italia).

+ : presencia de uniones en fíbula, - : ausencia de uniones en fíbula, nt: no testado

norte de Europa o este de Asia, muestran una frecuencia de compatibilidad sexual muy alta con cepas de *H. abietinum* en experimentos de laboratorio (70-98%) (DAI *et al.*, 2003). Sin embargo, la frecuencia de compatibilidad sexual entre *H. abietinum* y cepas de *H. parviporum* procedentes de Europa central y los Alpes es más baja, aunque aún relativamente alta, de alrededor del 25% (CAPRETTI *et al.*, 1990). Comparando con estas cifras, el grado de compatibilidad sexual de las cepas homocarióticas de *H. abietinum* procedentes del sur de España aparecen significativamente más bajas, de sólo el 6,7% (Cuadro 1). También se había observado previamente un bajo nivel de compatibilidad sexual entre *H. abietinum* y *H. annosum* ss (CAPRETTI *et al.*, 1990). Sin embargo, nuestros aislados de referencia de *H. annosum* ss resultaron totalmente incompatibles con los aislados homocarióticos de *H. abietinum* de *A. pinsapo*. Sí se observaron algunas reacciones compatibles con los aislados heterocarióticos de *H. abietinum*, pero estas observaciones también pueden ser el resultado de la posibilidad, no descartable totalmente, de que las hifas del heterocarión hubieran crecido hacia la colonia del aislado de referencia, mezclándose con él.

La distribución de *H. abietinum* está determinada por la distribución de sus especies huéspedes del género *Abies* presentes en Europa central y meridional y en Asia Menor, aunque el hongo se ha encontrado ocasionalmente parasitando raíces de árboles pertenecientes a otros géneros (CAPRETTI, 1998, KORHONEN *et al.*, 1998). Entre las especies de *Abies* nativas de estas regiones, *H. abietinum* se describió en por primera vez parasitando a *A. alba* en diferentes zonas de su área de distribución. También se ha citado en *A. cephalonica* y *A. borisii-regis* en Gre-

cia, y en *A. nordmanniana* spp. *bornmülleriana*, *A. nordmanniana* ssp. *equi-trojani* y *A. cilicica* en Turquía (TSOPELAS y KORHONEN, 1996, KORHONEN y DAI, 2005, DOGMUS-LEHTIJARVI *et al.*, 2006).

Los bosques de *A. pinsapo* presentes en el sur de España son únicos en Europa. Ocupan un área muy reducida y excepcionalmente húmeda, habiéndose desarrollado durante milenios como una comunidad vegetal aislada, rodeada del bosque esclerófilo mediterráneo típico del sur de España. Es muy probable que también la población local de *H. abietinum* haya permanecido aislada de otras poblaciones del hongo. Consecuentemente las relaciones entre *A. pinsapo* y *H. abietinum* constituyen un caso de estudio fitopatológico muy interesante. Actualmente estamos abordando la caracterización de aislados de *Heterobasidion* procedentes de pinsapo mediante técnicas moleculares y su comparación con aislados procedentes de otras poblaciones europeas del hongo.

AGRADECIMIENTOS

Los autores quieren agradecer la ayuda prestada al personal del Parque Natural de la Sierra de las Nieves (Málaga), especialmente a J. L. Quintanilla. También queremos agradecer la colaboración de C. Calzado (Universidad de Córdoba). El trabajo de campo ha sido financiado por un convenio suscrito entre la Universidad de Córdoba y la Consejería de Medio Ambiente de la Junta de Andalucía. La estancia de M. E. Sánchez en Florencia, Italia, fue financiada por una beca de la Consejería de Innovación, Ciencia y Empresa de la Junta de Andalucía. Por último, agradecemos al Dr K. Korhonen la revisión crítica del manuscrito.

ABSTRACT

SÁNCHEZ M. E., N. LUCHI, J. E. SÁNCHEZ, J. J. JIMÉNEZ, A. TRAPERO, P. CAPRETTI. 2007. **Root rot of *Abies pinsapo*: Specific identification of the causal agent.** *Bol. San. Veg. Plagas*, 33: 527-535.

Abies pinsapo is an endemic fir species occurring only in a small area in southernmost Spain. Natural stands of this tree are frequently attacked by *Heterobasidion*

root rot. To identify the *Heterobasidion* species causing the disease, pure cultures of the fungus were isolated from symptomatic trees in seven localities in Sierra de las Nieves Natural Park and identified by pairing tests. All the *Heterobasidion* specimens collected proved to belong to the intersterility group F, also considered as the species *Heterobasidion abietinum*.

Key words: *Abies pinsapo*, *Heterobasidion abietinum*, *Heterobasidion annosum*, natural ecosystem, protected species.

REFERENCIAS

- ARISTA M., HERRERA F. J., TALAVERA S. 1997. Biología del pinsapo. Sevilla, Spain: Publicaciones de la Consejería de Medio Ambiente.
- CAMARERO J. J. 2000. El decaimiento del abeto en los Pirineos. *Medio Ambiente Aragón*, 4: 18-20.
- CAPRETTI P. 1998. Impact, control and management of *Heterobasidion annosum*. Italy. In: Woodward S, Stenlid J, Karjalainen R, Hüttermann A eds. *Heterobasidion annosum: Biology, Ecology, Impact and Control*. Wallingford, Oxon, UK: CAB International, pp. 377-385.
- CAPRETTI P., KORHONEN K., MUGNAI L., ROMAGNOLI C. 1990. An intersterility group of *Heterobasidion annosum* specialized to *Abies alba*. *Eur. J. For. Path.*, 20: 231-240.
- DAI Y.C., VAINIO E. J., HANTULA J., NIEMELA T., KORHONEN K. 2003. Investigations on *Heterobasidion annosum* s.lat. in central and eastern Asia with the aid of mating tests and DNA fingerprinting. *For. Path.*, 33: 269-286.
- DOGMUS-LEHTIJARVI H. T., LEHTIJARVI A., KORHONEN K. 2006. *Heterobasidion abietinum* on *Abies* species in western Turkey. *For. Path.*, 36: 280-286.
- KORHONEN K., DAI Y. C. 2005. Genetically identified taxa of *Heterobasidion* and their distribution in Eurasia. In: Proc. 11th Int. Conf. Root and Butt Rots, Poznan, Poland, 16-22 August 2004, IUFRO. Ed. Manka M, Lakomy P. The August Ciezuowski, Agricultural University, Poznan, pp. 57-63.
- KORHONEN K., CAPRETTI P., KARJALAINEN R., STENLID J. 1998. Distribution of *Heterobasidion annosum* Intersterility Groups in Europe. In: Woodward S, Stenlid J, Karjalainen R, Hüttermann A eds. *Heterobasidion annosum: Biology, Ecology, Impact and Control*. Wallingford, Oxon, UK: CAB International, pp. 93-104.
- KUHLMAN E. G., HENDRIX F. F. 1962. A selective medium for the isolation of *Fomes annosus*. *Phytopathology*, 52: 1310-1312.
- MONTOYA R., LÓPEZ M. 1997. La Red Europea de Seguimiento de Daños en los Bosques (Nivel I). España, 1986-1997. Madrid, Spain: Publicaciones del Organismo Autónomo Parques Nacionales, Ministerio de Medio Ambiente.
- NAVARRO R. M., CALZADO C. 2004. Establecimiento de una red de equilibrios biológicos en ecosistemas con presencia de pinsapo (*Abies pinsapo* Boiss.) en Andalucía. *Pirineos*, 158-159: 107-125.
- NAVARRO R. M., CALZADO C., SÁNCHEZ M. E., LÓPEZ J., TRAPERO A. 2003. Censo de focos de *Heterobasidion annosum* (Fr.) Bref. en ecosistemas de pinsapo. *Bol. San. Veg. Plagas*, 29: 581-592.
- NIEMELÄ T., KORHONEN K. 1998. Taxonomy of the Genus *Heterobasidion*. In: Woodward S, Stenlid J, Karjalainen R, Hüttermann A eds. *Heterobasidion annosum: Biology, Ecology, Impact and Control*. Wallingford, Oxon, UK: CAB International, pp. 27-33.
- SÁNCHEZ M. E., CAPRETTI P., CALZADO C., NAVARRO R., TRAPERO A. 2005. Root rot disease on *Abies pinsapo* in southern Spain. In: Proc. 11th Int. Conf. Root and Butt Rots, Poznan, Poland, 16-22 August 2004, IUFRO. Ed. Manka M, Lakomy P. The August Ciezuowski, Agricultural University, Poznan, pp. 220-223.
- TSOPELAS P., KORHONEN K. 1996. Host and distribution of the intersterility groups of *Heterobasidion annosum* in the highlands of Greece. *Eur. J. For. Path.*, 26: 4-11.

(Recepción: 18 octubre 2007)

(Aceptación: 19 noviembre 2007)

La podredumbre radical del pinsapo II: Diseminación de *H. abietinum* en bosques de *Abies pinsapo*

P. DE VITA, J. J. JIMÉNEZ, A. TRAPERO, P. CAPRETTI, M. E. SÁNCHEZ

Se ha determinado el número de genotipos fúngicos (genets) presentes en dos parcelas de pinsapar afectadas por la podredumbre radical causada por *Heterobasidion abietinum* en el Parque Natural de la Sierra de las Nieves. El mayor genet identificado se encontró colonizando 10 árboles a lo largo de una distancia de 57 m. El gran tamaño de los principales genets implica que *H. abietinum* se está diseminando preferentemente mediante contactos o injertos radicales a partir de viejos focos de infección establecidos antes de la creación del Parque Natural en 1989. Los veranos excepcionalmente largos y secos que se registran en la zona desde hace dos décadas pueden haber debilitado al pinsapar y favorecido la diseminación de la enfermedad.

P. DE VITA, P. CAPRETTI. Dipartimento di Biotecnologie Agrarie, Sez. Patologia Vegetale, Università degli Studi di Firenze, Italia;

J. J. JIMÉNEZ, A. TRAPERO, M. E. SÁNCHEZ. Departamento de Agronomía, Patología Agroforestal, Universidad de Córdoba, España. Dirección de correo electrónico: aglsahem@uco.es.

Palabras clave: ecosistemas naturales, especie protegida, *Heterobasidion annosum*.

INTRODUCCIÓN

Abies pinsapo Boiss. constituye una singularidad botánica de elevado valor ecológico (ARISTA *et al.*, 1997) que crece únicamente en los Parques Naturales protegidos de la Sierra de Grazalema en Cádiz y en la Sierra de las Nieves y Sierra Bermeja en Málaga. En 2002 se detectó una enfermedad radical del pinsapo que da lugar a la muerte en pie o bien a su caída en verde como consecuencia de la podredumbre y destrucción de las raíces de anclaje. La podredumbre radical, causada por el grupo de interesterilidad F de *Heterobasidion annosum* (*H. abietinum*) (SÁNCHEZ *et al.*, 2005), se distribuye en forma de focos, con un número variable de árboles muertos en el centro, rodeados de árboles infectados con distinto grado de severidad de síntomas aéreos. En 2002 se

localizaron 72 de estos focos en la Sierra de las Nieves (NAVARRO *et al.*, 2003) y desde entonces la incidencia de la enfermedad ha ido aumentando progresivamente a lo largo del tiempo.

Heterobasidion annosum sensu lato se disemina fundamentalmente a través de basidiosporas que son transportadas por el aire desde los carpóforos en los que se originan. Cuando estas basidiosporas germinan en la superficie de tocones recién cortados inician el proceso de infección y el micelio resultante coloniza las raíces del tocón. La posterior infección de los árboles colindantes tiene lugar a través de contactos o injertos radicales entre las raíces infectadas del tocón y las raíces sanas (STENLID y REDFERN, 1998). En los tocones infectados, *H. annosum* *sl* puede permanecer activo durante más de 62 años (GREIG y PRATT, 1976). Otras vías de infec-

ción, como la colonización de heridas en el tronco o raíces de árboles vivos o la transmisión del hongo mediante insectos vectores, aparecen como de mucha menor importancia (STENLID y REDFERN, 1998).

Debido a la creciente incidencia de la podredumbre radical causada por *H. abietinum* en los pinsapares de la Sierra de las Nieves, el objetivo del presente trabajo ha sido conocer la principal vía de diseminación de las infecciones. Como se trata de un Parque Natural protegido no sometido a cortas, la hipótesis de trabajo ha sido considerar que las infecciones de tocones vía basidiosporas debe tener una importancia limitada en la dispersión de la enfermedad en comparación con el crecimiento de viejos focos de enfermedad mediante la transmisión directa del patógeno de árboles enfermos a sanos a través contactos o injertos radicales, muy frecuentes en esta especie (ARISTA *et al.*, 1997).

MATERIAL Y MÉTODOS

El parque Natural de la Sierra de las Nieves tiene una extensión de unas 3000 ha y registra unas precipitaciones anuales de hasta 1800 mm, con un período de sequía estival en los meses de julio y agosto en el que las precipitaciones descienden hasta 15 mm. Las precipitaciones en forma de nieve son frecuentes de enero a marzo. El pinsapar de la Sierra de las Nieves no está sometido a cortas desde su establecimiento como Parque Natural en 1989. Sólo se cortan selectivamente los pinsapos muy atacados por *Cryphalus numidicus*, plaga que causa severos daños en los pinsapares andaluces (HERRERA *et al.*, 2002). Antes de 1989, el único aprovechamiento económico de los pinsapares era la producción de árboles de Navidad, para lo cual se cortaban pies jóvenes, de aproximadamente 15 cm de diámetro normal.

Se eligieron dos parcelas en la Sierra de las Nieves en masas puras de pinsapo, en las zonas conocidas como Merendero (parcela M) y Pozo de la Nieve (parcela P) (Figura 1). La parcela M medía 50 x 50 m y contenía 60

árboles adultos. La P, con una densidad doble, incluía 120 pies adultos en una superficie de 55 x 60 m. Ambas parcelas incluían al menos un foco de enfermedad, según se estimó visualmente (Figura 1). Según los registros del Parque Natural, los pies dominantes en ambas parcelas tenían una edad de 30-50 años y la última corta selectiva de árboles muy afectados por *C. numidicus* se realizó en 1995. En esta corta los tocones generados se trataron con urea al 25% para impedir infecciones fúngicas. Sin embargo, antes del establecimiento del Parque Natural en 1989, las cortas, tanto sanitarias como para la obtención de árboles de Navidad, se realizaban sin ningún tratamiento posterior para proteger los tocones. De hecho, en las parcelas experimentales se localizaron también tocones antiguos con síntomas de podredumbre (Figura 2). Nueve de ellos se registraron en la parcela M y 19 en la P.

En ambas parcelas se numeraron y georeferenciaron todos los árboles mediante un dispositivo GPS (Garmin) y se mapearon utilizando el programa ArcView GIS 3.2 ESRI. Se tomaron muestras de madera de todos los árboles mediante una barrena de Pressler. De cada árbol se extrajeron dos cilindros de madera, en posición perpendicular uno con respecto al otro, aplicando la barrena a la base del tronco a nivel del suelo. Los cilindros, de 8-10 cm de longitud, se colocaron individualmente en tubos de plástico estériles y los agujeros practicados en el árbol se sellaron inmediatamente con Sellapro (Probelte SA), un producto cicatrizante que además incorpora fungicidas.

Una vez en el laboratorio, los cilindros se limpiaron y desinfectaron superficialmente con un trozo de algodón empapado en alcohol. Posteriormente se cortaron en pequeñas secciones transversales con un escalpelo estéril y se sembraron en el medio semiselectivo BAPS (Bactopeptona-Agar con PCNB y estreptomina; Kuhlman y Hendrix 1962), incubando las placas a 20° C. Las colonias fúngicas obtenidas se transfirieron a otras placas conteniendo medio MA (Agar-Malta) al 1,5%. Como no en todos los casos se obtuvo aislamiento de



Figura 1 (a). Vista general de las dos parcelas experimentales establecidas en masas puras de pinsapo de la Sierra de las Nieves, parcela M (Merendero).



Figura 1 (b). Vista general de las dos parcelas experimentales establecidas en masas puras de pinsapo de la Sierra de las Nieves, parcela P (Pozo de la Nieve).



Figura 2 (a). Tocones antiguos de pinsapo con síntomas de podredumbre localizados en la parcela M.



Figura 2 (b). Tocones antiguos de pinsapo con síntomas de podredumbre localizados en la parcela P.

Heterobasidion a partir de muestras tomadas de árboles sintomáticos, se realizó una segunda toma de muestras en estos árboles, extrayéndose otros dos cilindros de madera de la base del tronco mediante el mismo procedimiento. En este segundo lote de muestras, cada cilindro se desinfectó superficialmente y luego se cortó en dos piezas longitudinales. Ambas piezas se colocaron en placas de Petri de 9 cm que contenían un disco de papel filtro estéril empapado en agua también estéril, actuando así como cámara húmeda. Cuando fue necesario se eliminó el extremo más superficial del cilindro para ajustar su longitud a 9 cm. Las cámaras húmedas se incubaron a 18-20° C durante 10-15 días, momento en el que en la superficie de la madera aparecían masas blanquecinas constituidas por conidióforos de

Heterobasidion, tal y como se comprobó por observación directa al microscopio estereoscópico. Por medio de una aguja estéril se transfirieron conidios a placas con medio MA al 1,5% y se incubaron durante otros 10-15 días a la misma temperatura.

Cada uno de los aislados obtenidos se observó al microscopio (x100) por el reverso de las placas para la observación de uniones en fibrilla, características del estado heterocariótico.

Los aislados heterocarióticos obtenidos de las parcelas M y P se confrontaron entre sí de dos en dos en todas las combinaciones posibles. Para ello se cortaron discos de agar de 5 mm de diámetro del margen de colonias creciendo activamente y se sembraron en el centro de placas de Petri con el medio MA a 1 cm de distancia (Figura 3). Estas placas se

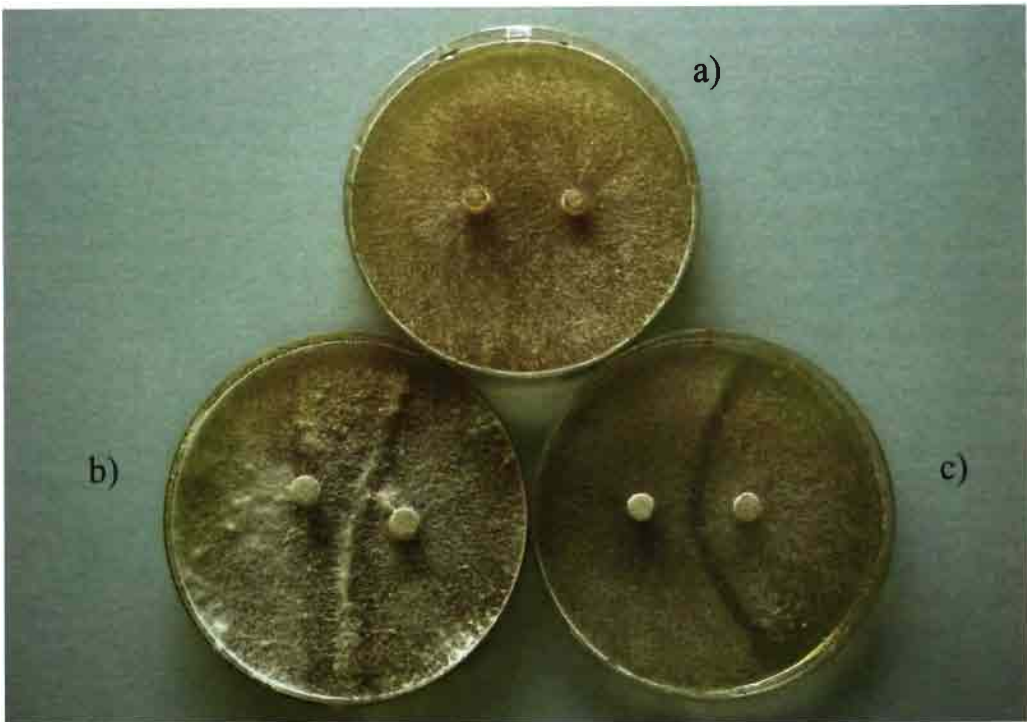


Figura 3. Reacciones de compatibilidad somática entre aislados heterocarióticos de *H. abietinum* aislados de pinsapo. a) Reacción compatible entre aislados pertenecientes al mismo genotipo fúngico (genet), b) reacción de incompatibilidad somática entre aislados pertenecientes a distinto genet caracterizada por la aparición de una barrera de micelio entre ambas colonias, c) reacción de incompatibilidad somática entre aislados pertenecientes a distinto genet caracterizada por la aparición de una zona de inhibición del crecimiento micelial entre ambas colonias.

incubaron a 18-20° C durante 6-8 semanas, examinándolas periódicamente para detectar la presencia de reacciones de incompatibilidad somática (STENLID, 1985). Cada combinación de dos de aislados se repitió tres veces, preparando tres placas distintas en distinto momento.

RESULTADOS

En todos los casos sólo se aisló un genotipo único de *H. abietinum* a partir de las muestras procedentes de un único árbol. Todos los aislados obtenidos resultaron ser heterocarióticos, tal y como se comprobó por la presencia de uniones en fíbula. La reacción de incompatibilidad somática entre distintos genotipos fúngicos (genets) consistió mayoritariamente en la aparición de una barrera de micelio blanco entre las dos colonias enfrentadas (Figura 3b), aunque ocasionalmente también se observaron zonas de inhibición del crecimiento micelial (Figura 3c).

En la parcela M se aisló *H. abietinum* en seis de los 60 árboles muestreados (10,0%). Los seis pies mostraban los síntomas secundarios de la enfermedad radical: amarillez y marchitez de acículas en árboles en pie. Uno de estos árboles estaba caído, mostrando podredumbre radical pero con las acículas aún verdes. Se identificaron tres genets distintos en los seis aislados de *H. abietinum*. Uno de ellos se encontraba colonizando cuatro árboles, con una distancia máxima entre ellos de 21,5 m. Los otros dos genets colonizaban un único árbol cada uno de ellos (Figura 4).

En la parcela P *H. abietinum* se aisló en 14 de los 120 pies muestreados (11,7 %). Doce de estos aislados se obtuvieron de árboles sintomáticos y los dos restantes de árboles aparentemente asintomáticos, con acículas verdes. Sin embargo se pudo observar la presencia de una podredumbre incipiente en los cilindros de madera extraídos de la base del tronco. En este caso se detectaron cuatro genets entre los distintos aislados. Uno de ellos había infectado 10 árboles, otro colonizaba dos árboles y los dos genets restantes fueron localizados en árboles indi-

viduales. La distancia máxima entre árboles infectados por el mismo genet fue de 57 m (Figura 5).

DISCUSIÓN

El tamaño del mayor genotipo fúngico localizado en este estudio, 57 m, ha resultado considerablemente mayor que las publicadas previamente para genets de *Heterobasidion* que colonizan diversas especies de abetos. CAPRETTI y GOGGIOLI (1992), establecieron un diámetro máximo de 14 m para un genet de *H. abietinum* que se encontraba infectando 10 pies de *A. alba*. El mayor genet de *Heterobasidion* (tipo S norteamericano) encontrado por GARBELOTTO *et al.* (1994) en *Abies concolor* en el oeste de los Estados Unidos medía 12-15 m. El gran tamaño de algunos genets encontrados en la Sierra de las Nieves sugiere que las infecciones iniciales tuvieron lugar hace bastante tiempo, probablemente antes de 1989, cuando se estableció el Parque Natural. Hasta ese momento se cortaban pies de pinsapo para uso comercial (producción de árboles de Navidad) sin aplicar tratamientos protectores a los tocones que se generaban contra la infección aérea mediante esporas de *Heterobasidion*. No parece probable que en años más recientes se hayan producido este tipo de infecciones, ya que sólo se efectúan cortas sanitarias y además los tocones generados se protegen con urea. En las circunstancias actuales de los pinsapares de Sierra de las Nieves, la vía más probable para la diseminación del patógeno es el crecimiento de su micelio a través de contactos o injertos radicales entre árboles sanos y enfermos. La expansión de los distintos genets de *Heterobasidion* en los pinsapares se ve además favorecida por lo frecuentes que son estos contactos e injertos radicales en esta especie de abeto (ARISTA *et al.*, 1997).

No se han detectado infecciones múltiples de *Heterobasidion* en pinsapo. Este hecho puede ser también indicativo de lo poco frecuentes que son las infecciones por esporas en el Parque Natural. En formaciones de *A.*

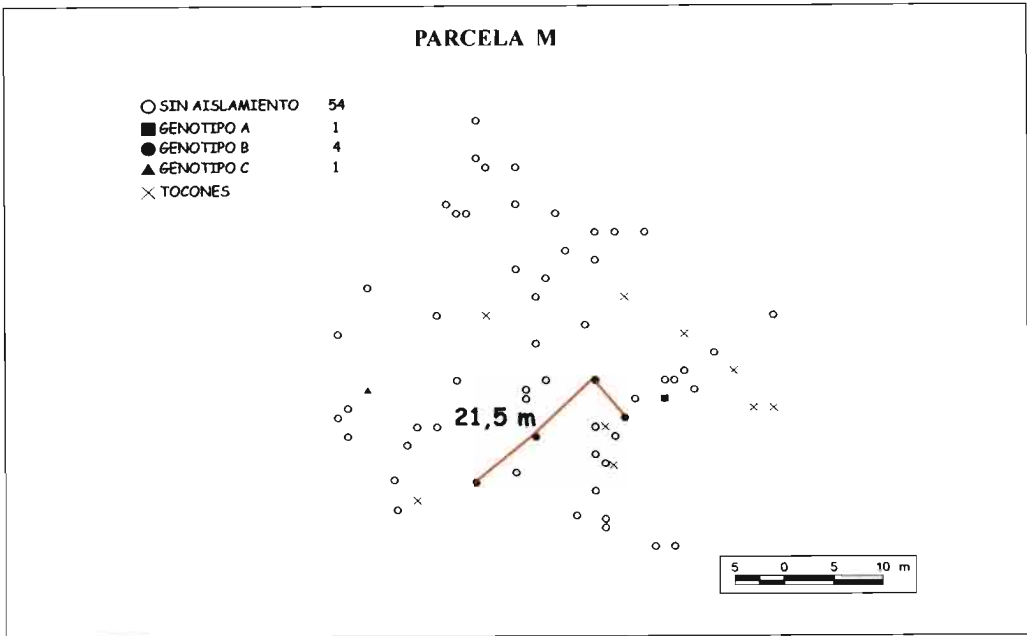


Figura 4. Plano de la parcela M donde se especifica la localización de los distintos genets de *H. abietinum* que colonizan *A. pinsapo*. Los distintos símbolos corresponden a árboles o tocones individuales.

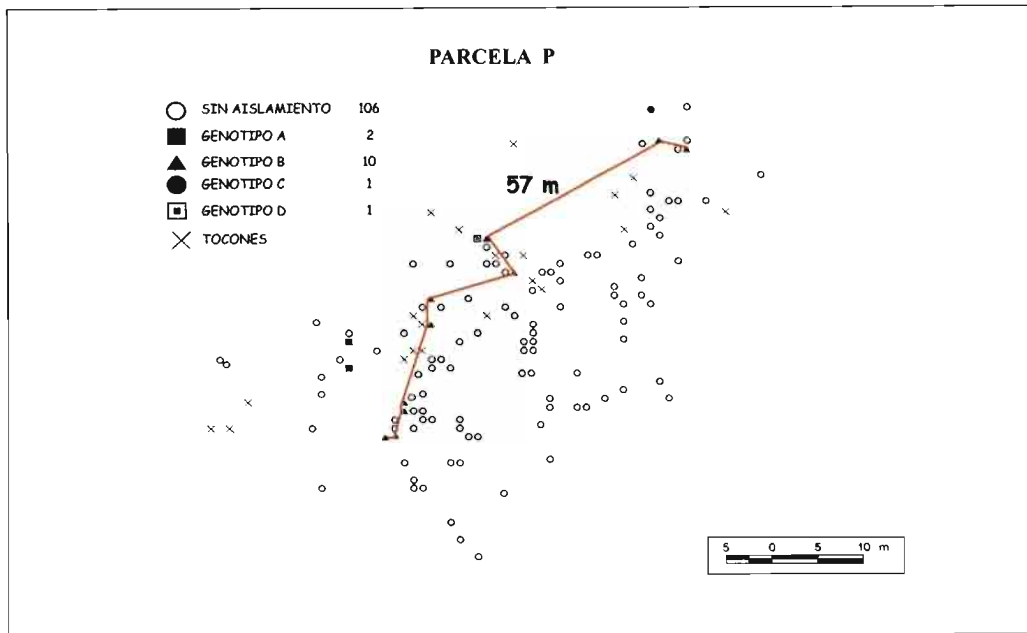


Figura 5. Plano de la parcela P donde se especifica la localización de los distintos genets de *H. abietinum* que colonizan *A. pinsapo*. Los distintos símbolos corresponden a árboles o tocones individuales.

concolor en los Estados Unidos es muy común encontrar múltiples genets de *H. annosum* colonizando el mismo árbol (GARBELOTTO *et al.*, 1994). Por otra parte, otros estudios sugieren la existencia de mecanismos que previenen las infecciones múltiples de *Heterobasidion* en *Picea abies* (STENLID 1985, SWEDJEMARK y STENLID, 1993). Cabe la posibilidad que este fenómeno también ocurra en *A. pinsapo*.

La podredumbre radical causada por *Heterobasidion* es mucho más frecuente en bosques sometidos a manejo que en bosques naturales, donde el hongo raramente causa pérdidas significativas en sus huéspedes (KORHONEN *et al.*, 1998, REDFERN y STENLID, 1998). En base a nuestros trabajos (SÁNCHEZ *et al.*, 2005) y a la información proporcionada por los responsables del Parque Natural de la Sierra de las Nieves, podemos afirmar que *H. abietinum* es un patógeno relativamente virulento en los pinsapares, causando podredumbre radical y muerte de los pies infectados, que está dando lugar a la formación de claros en el pinsapar (SÁNCHEZ *et al.*, 2005). Estos claros originados por la muerte de pinsapos adultos a causa de la enfermedad radical son rápidamente colonizados por nuevos brinzales de pinsapo, pero también son muy frecuentes los brinzales de encina y quejigo, favoreciendo la sustitución de masas puras de pinsapo por bosques mixtos. Esta alta agresividad de *H. abietinum* también ocurre en Italia central y en el sureste europeo, donde el hongo está considerado como un patógeno virulento de distintas especies de abeto (CAPRETTI, 1998, LA PORTA *et al.*, 1998, 2005, DOGMUS-LEHTUAR-

VI *et al.*, 2006). La patogenicidad de *H. abietinum* aparece estrechamente relacionada con la larga duración de veranos secos que debilitan al árbol e incrementan su susceptibilidad a la infección por un patógeno que generalmente no resulta tan virulento (KORHONEN *et al.*, 1998, PUDDU *et al.*, 2003). La disminución de precipitaciones anuales que se está registrando en el sur de España desde hace ya dos décadas (FERNÁNDEZ *et al.*, 2003) ha dado lugar a una prolongación significativa del periodo seco estival en la Sierra de las Nieves (FERNÁNDEZ *et al.*, 2002). Este hecho puede resultar decisivo para entender el incremento creciente de la incidencia de la enfermedad radical en los pinsapares de Sierra de las Nieves, estimada en 2005 en un 10% de los pinsapos que crecen entre 1000 y 1200 m de altitud. Por encima de los 1200 m la incidencia de la podredumbre radical causada por *Heterobasidion* es casi inexistente (Informes Internos del Convenio suscrito con la Consejería de Medio Ambiente, Junta de Andalucía), coincidiendo con un microclima más frío y húmedo (FERNÁNDEZ *et al.*, 2002).

AGRADECIMIENTOS

Los autores quieren agradecer la ayuda prestada al personal del Parque Natural de la Sierra de las Nieves (Málaga), especialmente a JL Quintanilla. El trabajo ha sido financiado por un convenio suscrito entre la Universidad de Córdoba y la Consejería de Medio Ambiente de la Junta de Andalucía. Por último, agradecemos al Dr K Korhonen la revisión crítica del manuscrito.

ABSTRACT

DE VITA P., J. J. JIMÉNEZ, A. TRAPERO, P. CAPRETTI, M. E. SÁNCHEZ. 2007. Root rot of *Abies pinsapo* II: Spread of *H. abietinum* in *Abies pinsapo* forests. *Bol. San. Veg. Plagas*, **33**: 537-545.

Genets of the fungus were identified in two pure stands of *A. pinsapo* affected by *Heterobasidion abietinum* root rot in Sierra de las Nieves Natural Park. The largest genet found was 57 m long, and it had colonized 10 trees. The large size of the main genets implies that *H. abietinum* might have spread via root contacts or grafts from old infections generated before the establishment of the Natural Park in 1989. Exceptionally long

and dry summers during the last two decades may have weakened *A. pinsapo* and favoured the spreading of the disease.

Key words: *Heterobasidion annosum*, natural ecosystems, protected species.

REFERENCIAS

- ARISTA M., HERRERA F. J., TALAVERA S. 1997. Biología del pinsapo. Sevilla, Spain: Publicaciones de la Consejería de Medio Ambiente.
- CAPRETTI P. 1998. Impact, control and management of *Heterobasidion annosum*. Italy. In: Woodward S, Stenlid J, Karjalainen R, Hüttermann A eds. *Heterobasidion annosum*: Biology, Ecology, Impact and Control. Wallingford, Oxon, UK: CAB International, pp. 377-385.
- CAPRETTI P., GOGGIOLI U. 1992. Observation on the longevity and the spread of *Heterobasidion annosum* in stumps of white fir and Norway spruce. *Mic. Ital.*, **XXI** (1): 15-20.
- DOG MUS-LEHTIJÄRVI H. T., LEHTIJÄRVI A., KORHONEN K. 2006. *Heterobasidion abietinum* on *Abies* species in western Turkey. *For. Path.*, **36**: 280-286.
- FERNÁNDEZ A., NAVARRO R. M., FERNÁNDEZ R., GIL P., CALZADO C. 2003. Actividades sobre la fitoclimatología de la Red Andaluza de Daños en los Montes: tendencias comparadas del episodio climático entre 1980-1999 en relación con el periodo 1900-1979. Sevilla, Spain: Servicio de Ordenación de los Recursos Forestales. Consejería de Medio Ambiente, Junta de Andalucía.
- FERNÁNDEZ A., NAVARRO R. M., FERNÁNDEZ R., GIL P., MANRIQUE E., CALZADO C. 2002. Fitoclimatología del pinsapo. Sevilla, Spain: Servicio de Ordenación de los Recursos Forestales. Consejería de Medio Ambiente, Junta de Andalucía.
- GARBELOTTO M. M., COBB F. W., BRUNS T. D., OTROSINA W., SLAUGHTER G., POPENUCK T. 1994. Preliminary results on the genetic structure of *Heterobasidion annosum* in white fir (*Abies concolor*) root decay centers. In: Proc. 8th Int. Conf. Root and Butt Rots, Wik, Sweden and Haikko, Finland, 9-16 August 1993, IUFRO. Ed. Johanson M, Stenlid J. Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala, pp. 227-232.
- GREIG B. J. W., PRATT J. E. 1976. Some observations on the longevity of *Fomes annosus* in conifer stumps. *Eur. J. For. Path.*, **6**: 250-253.
- HERRERA J., ARISTA M., TALAVERA S. 2002. Flora andaluza en peligro de extinción: *Abies pinsapo*. *Revista Andaluza de Medio Ambiente*, **41**: http://www.junta-deandalucia.es/medioambiente/contenidoExterno/Pub_revistama/revista_ma41/ma41_24.html.
- KORHONEN K., CAPRETTI P., KARJALAINEN R., STENLID J. 1998. Distribution of *Heterobasidion annosum* intersterility groups in Europe. In: Woodward S, Stenlid J, Karjalainen R, Hüttermann A eds. *Heterobasidion annosum*: Biology, Ecology, Impact and Control. Wallingford, Oxon, UK: CAB International, pp. 93-104.
- KUHLMAN E. G., HENDRIX JR. F. F. 1962. A selective medium for the isolation of *Fomes annosus*. *Phytopathology*, **52**: 1310-1312.
- LA PORTA N., APOSTOLOV K., KORHONEN K. 1998. Intersterility groups of *Heterobasidion annosum* and their host specificity in Bulgaria. *Eur. J. For. Path.*, **28**: 1-9.
- LA PORTA N., GRUDNICKI M., KORHONEN K. 2005. Distribution of *Heterobasidion* species in Romanian spruce-fir plantations and natural forests. In: Proc. 11th Int. Conf. Root and Butt Rots, Poznan, Poland, 16-22 August 2004, IUFRO. Ed. Manka M, Lakomy P. The August Cieszuowski, Agricultural University, Poznan, pp. 73-82.
- NAVARRO R. M., CALZADO C., SÁNCHEZ M. E., LÓPEZ J., TRAPERO A. 2003. Censo de focos de *Heterobasidion annosum* (Fr.) Bref. en ecosistemas de pinsapo. *Bol. San. Veg. Plagas*, **29**: 581-92.
- PUDDU A., LUISI N., CAPRETTI P., SANTINI A. 2003. Environmental factors related to damage by *Heterobasidion abietinum* in *Abies alba* forests in Southern Italy. *For. Ecol. Man.*, **180**: 37-44.
- REDFERN D. B., STENLID J. 1998. Spore dispersal and infection. In: Woodward S, Stenlid J, Karjalainen R, Hüttermann A eds. *Heterobasidion annosum*: Biology, Ecology, Impact and Control. Wallingford, Oxon, UK: CAB International, pp. 105-124.
- SÁNCHEZ M. E., CAPRETTI P., CALZADO C., NAVARRO R., TRAPERO A. 2005. Root rot disease on *Abies pinsapo* in southern Spain. In: Proc. 11th Int. Conf. Root and Butt Rots, Poznan, Poland, 16-22 August 2004, IUFRO. Ed. Manka M, Lakomy P. The August Cieszuowski, Agricultural University, Poznan, pp. 220-223.
- STENLID J. 1985. Population structure of *Heterobasidion annosum* as determined by somatic incompatibility, sexual incompatibility and isoenzyme patterns. *Can. J. Bot.*, **63**: 2268-2273.
- STENLID J., REDFERN D. B. 1998. Spread within the tree and stand. In: Woodward S, Stenlid J, Karjalainen R, Hüttermann A eds. *Heterobasidion annosum*: Biology, Ecology, Impact and Control. Wallingford, Oxon, UK: CAB International, pp. 125-141.
- SWEDJEMARK G., STENLID J. 1993. Population dynamics of the root rot fungus *Heterobasidion annosum* following thinning of *Picea abies*. *Oikos*, **66**: 247-54.

(Recepción: 18 octubre 2007)

(Aceptación: 19 noviembre 2007)

Dispersión de *Verticillium dahliae* en el agua utilizada para el riego de olivares en Andalucía

D. RODRÍGUEZ-JURADO, J. BEJARANO-ALCÁZAR

El incremento en severidad de las epidemias de Verticilosis del olivo (VO) ha ocurrido de manera paralela a la implantación del riego en nuevas plantaciones y en plantaciones de olivar tradicional en Andalucía. El agua de riego puede influir sobre la VO por actuar como vehículo de dispersión de los propágulos de *Verticillium dahliae*. Por todo ello, los objetivos planteados en esta investigación han consistido en determinar y cuantificar la presencia de *V. dahliae* en el agua utilizada para el riego de olivares en Andalucía, y estudiar la evolución temporal de los niveles de dichos propágulos durante la temporada de riego. Se han prospectado un total de 33 campos de olivo afectados por la Verticilosis en las provincias de Jaén y Sevilla en los años 2004 (5 y 18, respectivamente) y 2005 (7 y 14, respectivamente), siendo 11 de los campos comunes en ambos años de muestreo. En cada campo, se analizaron 2-8 muestras de 0,5 L de agua de riego obtenidas desde Marzo hasta Julio del año 2004, y 3-4 muestras de 1000 L de agua recolectadas desde Febrero hasta Abril del año 2005. *V. dahliae* se aisló sólo de las muestras de agua analizadas en el año 2005. El patógeno se recuperó del agua de riego del 85,7% de los campos prospectados en cada provincia, que representaron el 87,5 y 80% del total de campos regados con agua de pozo y agua superficial embalsada de origen en el río Guadalquivir, respectivamente. Independientemente de su origen, el agua de riego de ambas provincias estuvo infestada por propágulos de *V. dahliae* que, según su tamaño, se diferenciaron en esclerocios ($\geq 20 \mu\text{m}$) y micropropágulos (< 20 y $\geq 1,2 \mu\text{m}$). Los micropropágulos se recuperaron del agua de riego de un porcentaje mayor de campos que utilizaron agua infestada (78%) y en mayores cantidades promedio (3158,9 micropropágulos/1000 L) que los esclerocios (44% y 1,5 esclerocios/1000 L, respectivamente). Entre los campos que emplearon para regar agua infestada por *V. dahliae*, la incidencia de campos con agua contaminada por esclerocios varió de 0 a 33% durante la temporada de riego y no siguió un patrón temporal reconocible, mientras que el porcentaje de campos con agua infestada por micropropágulos alcanzó un máximo de 33% en Jaén y 75% en Sevilla en la segunda y primera quincena de Marzo, respectivamente, y disminuyó progresivamente durante los muestreos de primavera.

D. RODRÍGUEZ-JURADO, J. BEJARANO-ALCÁZAR. Área de Protección de Cultivos, IFAPA Centro "Alameda del Obispo" (CICE, Junta de Andalucía). Avda. Menéndez Pidal s/n. 14080 Córdoba (España). E-mail: dolores.rodriguez.jurado.ext@juntadeandalucia.es

Palabras clave: Verticilosis, olivo, fuente de inóculo, epidemiología, control.

INTRODUCCIÓN

La Verticilosis, inducida por el hongo de suelo *Verticillium dahliae* Kleb., está considerada la enfermedad más importante del olivo en la mayoría de los países donde este cultivo reviste importancia económica (JIMÉ-

NEZ-DÍAZ *et al.*, 1998). En España, la Verticilosis del olivo (VO) fue diagnosticada por vez primera en 1975 en parcelas experimentales establecidas en Córdoba (CABALLERO *et al.*, 1980). Prospecciones sistemáticas realizadas en 1980-1983 indicaron que el 25% de 100 olivares supervisados al azar en Andalu-

cía estaban afectados por la VO, siendo la enfermedad más predominante en las provincias de Córdoba y Jaén que en Granada y Sevilla (BLANCO-LÓPEZ *et al.*, 1984). Inspecciones fitopatológicas posteriores han puesto de manifiesto que la VO se ha extendido y agravado considerablemente en Andalucía en los últimos 20 años, y que en ello ha influido de manera considerable la existencia previa de la Verticilosis del algodónero en esta Comunidad Autónoma (BEJARANO-ALCÁZAR y PÉREZ-ARTÉS, 2002). Prospecciones efectuadas durante el periodo 1994-1996 en plantaciones jóvenes de olivar afectadas por el síndrome conocido como "seca", señalaron la presencia de Verticilosis en el 36,0% de 139 campos muestreados (SÁNCHEZ-HERNÁNDEZ *et al.*, 1998). En estudios llevados a cabo recientemente en las provincias de Granada (RODRÍGUEZ *et al.*, 2004) y Jaén (BEJARANO ALCÁZAR, 2005a) se ha estimado la incidencia actual de plantaciones enfermas en estas provincias en el 14 y 30%, respectivamente. No se han realizado evaluaciones de las pérdidas de rendimiento ocasionadas por la VO en España, pero en Grecia éstas han sido cifradas en el 1% de la producción (THANASSOULOPOULOS *et al.*, 1979), en tanto que en olivares de regadío en Israel se han indicado reducciones del 75-89% en la producción de fruto de árboles afectados del cv. Picual (LEVIN *et al.*, 2003).

El aumento señalado en la importancia de la VO en Andalucía podría ser consecuencia, entre otros factores, de la dispersión de variantes patogénicas de *V. dahliae* muy virulentas. Los aislados del hongo existentes en Andalucía se diferencian en dos patotipos principales denominados Defoliante (D) y No Defoliante (ND), que son alta y moderadamente virulentos, respectivamente, en algodónero y olivo (BEJARANO-ALCÁZAR *et al.*, 1996; RODRÍGUEZ JURADO, 1993; SCHNATHORST y SIBBET, 1971). El patotipo ND está presente a lo largo del Valle del Guadalquivir al menos desde 1983, en tanto que el patotipo D permaneció restringido a campos de algodónero en la zona baja del Valle (Marismas del Guadalquivir, Sevilla) hasta

1985, desde donde se ha extendido progresivamente hasta las áreas de dicho cultivo en las zonas central y alta del Valle (provincias de Córdoba y Jaén) (BEJARANO-ALCÁZAR y PÉREZ-ARTÉS, 2002), habiendo sido detectado recientemente en plantaciones de olivar (BEJARANO-ALCÁZAR, 2005b; MERCADO-BLANCO *et al.*, 2003). Actualmente, el patotipo D está presente también en olivares en Andalucía fuera del Valle del Guadalquivir (provincia de Granada) (MERCADO-BLANCO *et al.*, 2003; RODRÍGUEZ *et al.*, 2004) y en zonas de cultivo de alcachofa en la Comunidad Valenciana (JIMÉNEZ-DÍAZ *et al.*, 2006). La dispersión del patotipo D hasta áreas en las que tradicionalmente se cultiva olivo es de gran importancia porque las infecciones por este patotipo pueden ser letales para las variedades de olivo de mayor difusión en España (RODRÍGUEZ-JURADO *et al.*, 1993; LÓPEZ-ESCUADERO *et al.*, 2004).

En el incremento observado en la gravedad de los ataques de la VO en Andalucía ha influido también en gran medida la aplicación de prácticas de cultivo intensivas, entre las que destaca especialmente el riego. La superficie de olivar en regadío ha experimentado un aumento significativo en Andalucía, debido al establecimiento de nuevas plantaciones con sistemas intensivos de cultivo y a la reconversión de olivares de secano a riego. En la actualidad, el olivar es el cultivo con mayor superficie de regadío en Andalucía, estimada en 317.634 ha en 2004 (ANÓNIMO, 2006), de las que alrededor del 70,5% se riega con aguas superficiales y el 24% emplea aguas subterráneas (PASTOR MUÑOZ-COBO, 2005). El olivar en regadío es especialmente importante en las provincias de Jaén (179.955 ha) y Sevilla (54.383 ha), donde se concentra el 73,8% de la superficie de olivar en regadío de Andalucía (ANÓNIMO, 2006). Se ha indicado que el riego es una práctica de cultivo que incrementa la incidencia y severidad de las Verticilosis que afectan a diversas plantas hortícolas como coliflor (XIAO y SUBBARAO, 2000), patata (ARBOGAST *et al.*, 1999) y tomate (HARRINGTON y DOBINSON, 2000), así como a algodo-

nero (HUISMAN y GRIMES, 1989) y olivo. La influencia del riego sobre el desarrollo de la VO fue destacada por primera vez en Italia (CIRULLI, 1981; RUGGIERI, 1948). Estudios posteriores en España (BLANCO-LÓPEZ *et al.*, 1984), Marruecos (SERRHINI y ZEROUAL, 1995) y Siria (AL-AHMAD y MOSLI, 1993), pusieron de manifiesto que la incidencia de la VO es mayor en regadío que en secano, estimándose porcentajes medios de árboles enfermos de 40, 21 y 13% en regadío, y de 17, 9 y 4,5% en secano en los respectivos países citados. Asimismo, en prospecciones aleatorias realizadas en Andalucía, se observó una incidencia de campos de olivar afectados por la VO del 71% en regadío frente al 13% en olivares de secano (BLANCO-LÓPEZ *et al.*, 1984).

El agua de riego puede influir sobre la VO de diferentes maneras, entre las cuales destaca su papel como vehículo de dispersión de los propágulos de *V. dahliae* desde balsas, pozos y campos infestados a acuíferos, ríos y/u otros campos, o dentro del mismo campo (EASTON *et al.*, 1969). Se ha demostrado que el agua de riego procedente de campos con cultivos hortícolas susceptibles infectados por *V. dahliae* puede transportar propágulos del hongo con potencial infectivo suficiente para causar síntomas de Verticilosis en olivos sanos localizados en campos libres del patógeno (THANASSOULOPOULOS *et al.*, 1980). En el mismo sentido, se ha informado de la infestación de suelos vírgenes sometidos a inundaciones periódicas durante varios años con el agua procedente de un campo adyacente infestado con *V. dahliae* y cultivado con algodón (ASHWORTH y ZIMMERMAN, 1976). En ninguno de los estudios mencionados se determinó el tipo de propágulos del hongo que intervino en la dispersión, aunque se considera que los esclerocios son la principal estructura de supervivencia de *V. dahliae*, puesto que las conidias y el micelio vegetativo tienen una persistencia relativamente breve en suelos naturales en ausencia de plantas huésped (GALANOPOULOS y TRIBE, 1974; GREEN, 1960; SCHREIBER y GREEN, 1962). La presencia y dispersión de *V. dah-*

liae en el agua utilizada para el riego de olivares en Andalucía, podría explicar en gran medida la repentina aparición de árboles enfermos que se observa frecuentemente tras la implantación del riego en plantaciones de olivar tradicionales sin antecedentes previos de Verticilosis, y la rápida propagación de la enfermedad en plantaciones de olivar en regadío. El efecto devastador de la Verticilosis en olivares de regadío mantiene en alerta y preocupación continua al Sector Olivarero andaluz, y en concreto a las Comunidades de Regantes, por la amenaza creciente que representa esta enfermedad para el cultivo del olivo. Esta situación y la presencia de *V. dahliae* en una muestra de agua de riego recolectada en el año 2003 en una finca de olivar afectada por la Verticilosis en la provincia de Sevilla (Bejarano-Alcázar, datos no publicados), nos motivaron a abordar el presente trabajo cuyos objetivos consistieron en determinar y cuantificar los propágulos de *V. dahliae* de diferente tamaño presentes en el agua utilizada para el riego de olivares en las provincias andaluzas de Jaén y Sevilla, y estudiar la evolución temporal de los niveles de dichos propágulos durante la temporada de riego.

MATERIAL Y MÉTODOS

1. Selección de campos experimentales

Los campos de olivar utilizados en este estudio estuvieron distribuidos por las principales áreas de cultivo del olivo en las provincias de Jaén y Sevilla y comprendieron una diversidad de cultivares que incluyó Picual en Jaén y Sevilla, y Gordal, Hojiblanca y Manzanilla en Sevilla. Estos campos se seleccionaron por ser regados con agua subterránea o con agua superficial embalsada procedente del río Guadalquivir, y estar presuntamente afectados por la Verticilosis. La Verticilosis se diagnosticó en los campos mediante el aislamiento de *V. dahliae* a partir de olivos supuestamente afectados por la enfermedad. Para ello, en Enero y Febrero de 2004 y 2005 se recogieron 3-5 ramas de 0,5-1,0 cm de diámetro de

cada uno de 5 olivos sintomáticos en cada campo, y se llevaron al laboratorio para su procesamiento inmediato o después de 24 h de conservación a 4°C. El extremo proximal de cada rama (20 cm) fue desprovisto de la corteza externa, lavado bajo agua de grifo durante 0,5 h y descortezado completamente con la ayuda de un bisturí estéril. De cada rama descortezada se cortaron cuatro trozos de 0,3-0,5 cm según su grosor, que fueron desinfectados superficialmente en una solución de lejía comercial con 50 g de cloro activo por litro al 10% en agua durante 1,5 min, lavados dos veces en agua destilada estéril y secados entre papel de filtro estéril. Los trozos se dispusieron en placas Petri conteniendo Agar Agua enmendado con clorotetraciclina HCl (AAC, 1L de agua destilada, 20 g de agar, 30 mg de clorotetraciclina HCl), y se incubaron a 24°C en oscuridad durante 14 días. Las colonias fúngicas se observaron microscópicamente a los 9 y 14 días para la identificación de *V. dahliae* en base a la formación de conidióforos verticilados y microesclerocios característicos de la especie (HAWKSWORTH y TALBOYS, 1970). Cuando la identificación lo requirió, se obtuvieron cultivos puros sobre AAC.

2. Prospecciones de agua en el año 2004

2.1. Muestras de agua de riego

Se muestreó el agua empleada para el riego en un total de 23 campos de olivar en los que la Verticilosis fue diagnosticada en este estudio, 5 de ellos situados próximos a la localidad de Begíjar en la provincia de Jaén, y los otros 18 distribuidos en las localidades de Estepa (6), La Roda de Andalucía (2), Marchena (3), Morón de la Frontera (3) y Osuna (4) pertenecientes a la provincia de Sevilla (Cuadro 1). Todos los campos de Jaén utilizaron para regar agua superficial almacenada en balsa procedente del río Guadalquivir, mientras que todos los campos localizados en Sevilla emplearon agua subterránea obtenida de un pozo situado en cada campo. El sistema de riego utilizado fue siempre por goteo.

En cada uno de los campos con pozo seleccionados en la provincia de Sevilla se tomaron 2-8 muestras de 1 L de agua de riego durante el periodo comprendido entre el 17 de Marzo y el 1 de Julio. En los campos localizados en Jaén, regados con agua superficial embalsada, se recogieron 4 muestras de 1 L de agua de riego, 3 de ellas entre el 19 de Marzo y el 24 de Abril y una última muestra el 3 de Julio. Las muestras de agua se obtuvieron combinando cuatro submuestras de 250 ml de agua tomadas de goteros que suministraban el riego a diferentes olivos afectados por la enfermedad, exceptuando parte de las muestras de agua de los campos de Sevilla, que se tomaron directamente del pozo al no estar funcionando en ese momento el sistema de riego a causa de las lluvias ocurridas ese año. Las muestras se tomaron tras dejar transcurrir un tiempo de bombeo suficiente para asegurar que no se recogía agua estancada. En total se recolectaron 120 muestras de agua, de las que 100 procedieron de los campos regados con agua de pozo y 20 de los campos regados con agua superficial. Las muestras de agua se recogieron en envases de plástico estériles cerrados herméticamente, y se trasladaron inmediatamente al laboratorio donde se conservaron a 4°C en oscuridad durante un periodo máximo de 48 h hasta su análisis.

2.2. Análisis de las muestras de agua

Las muestras de agua de riego fueron analizadas para detectar y cuantificar los propágulos viables de *V. dahliae* de diferente tamaño presentes en ellas. Para ello, 0,5 L de cada muestra de agua fueron filtrados a través de un filtro de malla de nailon de 20 μ m de tamaño de poro y 47 mm de diámetro (Millipore Iberica, S.A., España) utilizando una bomba de vacío. Este filtro es adecuado para retener en su superficie los esclerocios de *V. dahliae*, cuyo tamaño en suelos infestados naturalmente se ha estimado que es mayoritariamente superior a 37-38 μ m (ASWORTH *et al.*, 1972; SMITH y ROWE, 1984), y dejar pasar propágulos del patógeno de pequeño tamaño denominados en adelan-

Cuadro 1. Campos de olivo regados por goteo y afectados de Verticilosis seleccionados para muestrear el agua de riego en el año 2004, ordenados según el origen geográfico y la procedencia del agua de riego.

Campo ^a	Origen geográfico		Procedencia del agua de riego ^b
	Localidad	Provincia	
C1-04	Estepa	Sevilla	Pozo
C2-04	Estepa	Sevilla	Pozo
C3-04	Estepa	Sevilla	Pozo
C5-04	Estepa	Sevilla	Pozo
C6-04	Estepa	Sevilla	Pozo
C7-04	Estepa	Sevilla	Pozo
C4-04	La Roda de Andalucía	Sevilla	Pozo
C33-04	La Roda de Andalucía	Sevilla	Pozo
C25-04	Marchena	Sevilla	Pozo
C34-04	Marchena	Sevilla	Pozo
C35-04	Marchena	Sevilla	Pozo
C24-04	Morón de la Frontera	Sevilla	Pozo
C26-04	Morón de la Frontera	Sevilla	Pozo
C27-04	Morón de la Frontera	Sevilla	Pozo
C10-04	Osuna	Sevilla	Pozo
C11-04	Osuna	Sevilla	Pozo
C12-04	Osuna	Sevilla	Pozo
C14-04	Osuna	Sevilla	Pozo
C28-04	Begíjar	Jaén	Río Guadalquivir
C29-04	Begíjar	Jaén	Río Guadalquivir
C30-04	Begíjar	Jaén	Río Guadalquivir
C31-04	Begíjar	Jaén	Río Guadalquivir
C32-04	Begíjar	Jaén	Río Guadalquivir

^a Los campos que se indican en negrita se seleccionaron también para los muestreos del agua de riego en el año 2005.

^b Se utilizó para el riego agua subterránea obtenida de un pozo situado en cada campo o agua superficial embalsada procedente del río Guadalquivir en cada una de las localidades indicadas.

te “micropropágulos”, consistentes probablemente en su mayor parte en conidias, las cuales presentan un tamaño comprendido entre 1,4-3,2 x 2,5-8,0 μm (HAWKSWORTH y TALBOYS, 1970; SMITH, 1965), aunque también podrían incluir fragmentos de micelio vegetativo o de esclerocios. Las partículas retenidas en el filtro fueron resuspendidas en 5 ml de agua estéril mediante sonicado durante 10 min y, tras agitar la suspensión obtenida, alícuotas de 1 ml de la misma fueron distribuidas uniformemente sobre la superficie de cada una de 5 placas Petri conteniendo medio de cultivo semiselectivo para *V. dahliae* Agar Polipeptato Sódico modifi-

cado (APSM) (BUTTERFIELD y DEVAY, 1977). Para la detección cuantitativa de los micropropágulos de *V. dahliae* de tamaño inferior a 20 μm , alícuotas de 1 ml del agua que había pasado a través del filtro de nailon de 20 μm se distribuyeron sobre cada una de 20 placas Petri conteniendo APSM. Las placas se incubaron a 24°C en oscuridad durante 14 días, y se observaron en un microscopio estereoscópico (x15) para determinar el número de colonias de *V. dahliae* desarrolladas. Los resultados se expresaron como el número de esclerocios o de micropropágulos viables de *V. dahliae* por 1000 L de agua.

Cuadro 2. Campos de olivo regados por goteo y afectados de Verticilosis seleccionados para muestrear el agua de riego en el año 2005, ordenados según el origen geográfico y la procedencia del agua de riego.

Campo ^a	Origen geográfico		Procedencia del agua de riego ^b
	Localidad	Provincia	
C20-05	Begíjar	Jaén	Pozo
C23-05	Marmolejo	Jaén	Pozo
C1-05	Estepa	Sevilla	Pozo
C2-05	Estepa	Sevilla	Pozo
C5-05	Estepa	Sevilla	Pozo
C6-05	Estepa	Sevilla	Pozo
C7-05	Estepa	Sevilla	Pozo
C4-05	La Roda de Andalucía	Sevilla	Pozo
C25-05	Marchena	Sevilla	Pozo
C24-05	Morón de la Frontera	Sevilla	Pozo
C8-05	Osuna	Sevilla	Pozo
C9-05	Osuna	Sevilla	Pozo
C11-05	Osuna	Sevilla	Pozo
C12-05	Osuna	Sevilla	Pozo
C13-05	Osuna	Sevilla	Pozo
C14-05	Osuna	Sevilla	Pozo
C17-05	Andújar	Jaén	Río Guadalquivir
C22-05	Andújar	Jaén	Río Guadalquivir
C15-05	Arjona	Jaén	Río Guadalquivir
C18-05	Arjonilla	Jaén	Río Guadalquivir
C16-05	Higuera	Jaén	Río Guadalquivir

^a Los campos que se indican en negrita se seleccionaron también para los muestreos del agua de riego en el año 2004.

^b Se utilizó para el riego agua subterránea obtenida de un pozo situado en cada campo o agua superficial embalsada procedente del río Guadalquivir en cada una de las localidades indicadas.

3. Prospecciones de agua en el año 2005

3.1. Muestras de agua de riego

Se prospectó el agua utilizada para el riego de 21 campos de olivar en los que se confirmó la infección por *V. dahliae* de los árboles afectados. Siete campos estuvieron distribuidos en las localidades de Andújar (2), Arjona (1), Arjonilla (1), Begíjar (1), La Higuera (1) y Marmolejo (1) de la provincia de Jaén, y los otros 14 estuvieron situados en las localidades de Estepa (5), La Roda de Andalucía (1), Marchena (1), Morón de la Frontera (1) y Osuna (6) de la provincia de Sevilla (Cuadro 2). Once de los campos experimentales indicados en Sevilla habían sido incluidos en las prospecciones de agua

del año 2004 (Cuadros 1 y 2). Todos los campos de Sevilla y dos campos de Jaén (C20-05 y C23-05) se abastecieron para el riego con agua subterránea de un pozo situado en cada uno de los campos, en tanto que el resto de los campos en Jaén utilizaron agua superficial embalsada tomada del río Guadalquivir (Cuadro 2). El sistema de riego empleado fue por goteo en todos los campos.

Las muestras de agua se recolectaron de los campos de la provincia de Jaén con una periodicidad de 12 a 19 días entre el 9 de Marzo y el 28 de Abril, y de los pozos de Sevilla cada 15 a 25 días desde el 16 de Febrero al 26 de Abril. De cada campo se recogieron 4 muestras de agua, exceptuando de los campos C15-05 de Jaén y C6-05, C7-

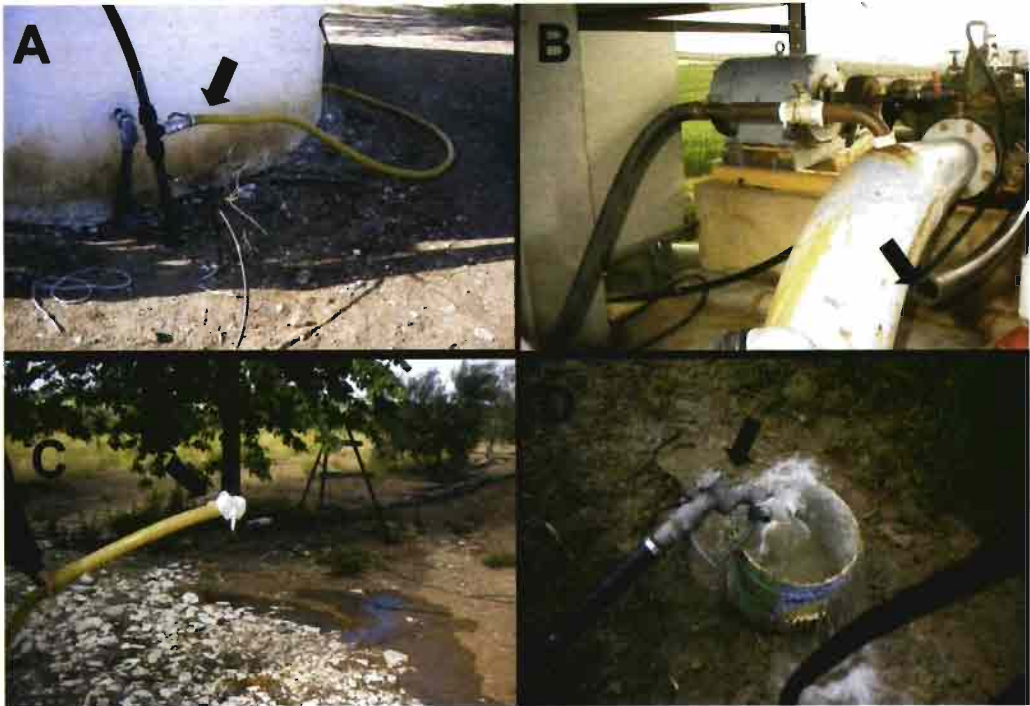


Figura 1. Localización de la toma de muestras de agua en el sistema de riego y filtrado del agua en los campos prospectados. A, B. Cabecera del sistema de riego en olivares que se abastecieron con agua de pozo o con agua superficial embalsada de origen en el río Guadalquivir, respectivamente. C, D. Filtrado del agua de riego en olivares que se abastecieron con agua de pozo o con agua superficial embalsada de origen en el río Guadalquivir, respectivamente.

05 y C12-05 de Sevilla, donde se tomaron 3 muestras. Por lo tanto, se recolectaron un total de 80 muestras de agua, de las que 61 fueron de campos regados con agua de pozo y las otras 19 de campos abastecidos con agua superficial. En cada muestreo, un total de 1000 L de agua se hicieron pasar por un filtro Sefar Nitex de malla de nailon de 20 μm de tamaño de poro (Sefar Headquarter, Suiza) colocado en el extremo de una tubería situada próxima al pozo o a la balsa (Figura 1), antes de que el agua entrara en el entramado de tuberías del sistema de riego del campo. El filtro de nailon y su contenido se introdujeron inmersos en aproximadamente 400 ml de agua estéril en un recipiente de plástico estéril herméticamente cerrado que fue trasladado inmediatamente al laborato-

rio. Un filtro fue usado para cada campo y fecha de muestreo. El filtro dejó pasar el agua y todas las partículas en suspensión menores de 20 μm , por lo que los residuos sobre el filtro sirvieron para detectar y cuantificar la presencia de esclerocios del patógeno, en tanto el agua que pasó a través del filtro se empleó para detectar y cuantificar los micropropágulos de *V. dahliae* presentes en el agua de riego. Para la determinación de micropropágulos, 1 y 10 L del agua filtrada se recolectaron de cada campo en los dos primeros y dos últimos muestreos respectivamente, excepto de 4 campos en Estepa, Marchena, Morón de la Frontera y Osuna, referidos como C2-05, C25-05, C24-05 y C8-05 respectivamente, en los que se recogió 1 L en lugar de 10 L en el tercer muestreo realizado

en razón al elevado número de propágulos cuantificados en aquellos campos en muestreos anteriores. El agua se almacenó en contenedores de plástico estériles herméticamente cerrados para su transporte al laboratorio, donde se conservaron a 4°C en oscuridad durante un máximo de 48 h hasta ser procesadas.

3.2. Análisis de las muestras de agua

Los esclerocios y demás residuos retenidos sobre el filtro Sefar Nitex de 20 μm fueron incorporados al agua estéril en el contenedor de plástico, y concentrados en un filtro de malla de nailon Millipore® de 20 μm de tamaño de poro y 47 mm de diámetro con la ayuda de una bomba de vacío. El contenido sobre el filtro se resuspendió en 10 ml de agua estéril mediante sonicado durante 10 min. La suspensión resultante se utilizó para determinar y cuantificar el número de esclerocios de *V. dahliae* en la muestra de agua.

Para la cuantificación de los micropropágulos de *V. dahliae*, las partículas suspendidas en 1 ó 10 L de agua que habían traspasado el filtro Sefar Nitex de 20 μm , se concentraron en un filtro de membrana Millipore® de 1,2 μm de tamaño de poro y 47 mm de diámetro, y se resuspendieron en 10 ml de agua estéril como se describió anteriormente.

Las dos suspensiones de 10 ml obtenidas fueron agitadas después de retirar el filtro respectivo, y alícuotas de 0,5 ml de cada una de ellas se distribuyeron homogéneamente sobre la superficie de 20 placas Petri conteniendo medio semiselectivo APSM. Las placas se incubaron y observaron para identificar y cuantificar el número de colonias de *V. dahliae* originadas como se ha descrito para el análisis de muestras de agua recolectadas en el año 2004.

RESULTADOS

V. dahliae fue recuperado del 20-80% de los olivos muestreados en cada campo experimental finalmente seleccionado para las prospecciones del agua de riego en los años

2004 y 2005, con una frecuencia media de infección que varió entre el 5-100% de los trozos de las ramas analizadas. Se confirmó así la presencia de la Verticilosis en dichos campos.

No se detectaron propágulos viables de *V. dahliae* en ninguna de las 120 muestras de agua de riego tomadas en los 23 campos de olivar prospectados en las provincias de Jaén y Sevilla en el periodo comprendido entre el 17 de Marzo y el 1 de Julio de 2004. En el año 2005, por el contrario, el patógeno se aisló del agua de riego del 85,7% de los campos inspeccionados en cada una de las provincias de Jaén (6 de 7 campos) y Sevilla (12 de 14 campos) (Figura 2), incluyendo 9 de los 11 campos que también se muestrearon en 2004, siendo los valores medios estimados en los campos regados con agua infestada de cada provincia de 213,1 (intervalo 0,5-1000,0) y 3579,9 (intervalo 0,7-27006,3) propágulos viables por 1000 L de agua, respectivamente (Cuadros 3 y 4). *V. dahliae* fue recuperado del agua de riego del 87,5% (14 campos) de los 16 campos regados con agua de pozo, 2 de los cuales estuvieron localizados en Jaén y los 12 restantes en Sevilla (Figura 2), con un valor medio de 3070,4 (intervalo 0,7-27006,3) propágulos viables por 1000 L de agua (Cuadros 3 y 4). El patógeno se aisló del 80% (4 campos) de los 5 campos regados con agua superficial embalsada de origen en el río Guadalquivir, todos ellos situados en Jaén, con una media de 312,9 (intervalo 0,5-1000,0) propágulos viables por 1000 L de agua (Cuadro 3). En conjunto, *V. dahliae* fue detectado en el 32,5% (26 muestras) de las 80 muestras analizadas en total en el año 2005, de las cuales 76,9% (20 muestras; 2 en Jaén y 18 en Sevilla) fueron de agua de pozo y el 23,1% restante (6 muestras en Jaén) de agua superficial.

A partir de las muestras de agua de riego infestadas en ambas provincias andaluzas, y con independencia de su origen, se recuperaron propágulos de *V. dahliae* de dos tamaños diferentes, esclerocios $\geq 20 \mu\text{m}$ y micropropágulos ($< 20 \mu\text{m}$ y $\geq 1,2 \mu\text{m}$). Los esclerocios se aislaron del 44% de los 18 campos

que utilizaron agua infestada con un valor medio de 1,5 esclerocios/1000 L de agua, mientras que los micropropágulos fueron recuperados del 78% de los campos regados con agua infestada con un promedio de 3158,9 micropropágulos/1000 L de agua. El tipo de propágulo aislado del agua tendió a variar principalmente con el periodo de prospección, y la cantidad de micropropágulos lo hizo con aquél y con el campo, en tanto que la cantidad de esclerocios sólo varió con el campo.

En la provincia de Jaén, el patógeno fue recuperado del agua de riego en todos los periodos de muestreo considerados, pero la detección en un campo determinado no fue continua en el tiempo. Así, *V. dahliae* se aisló del 25 al 50% de las muestras de agua obtenidas de los 6 campos que utilizaron agua de riego infestada, y fue detectado en 2 de dichos campos en el muestreo de invierno llevado a cabo la primera quincena de

Marzo, y en 2, 3 y 1 campo en los muestreos de primavera, realizados en la segunda quincena de Marzo y en la primera y segunda quincena de Abril, con un promedio en cada periodo respectivo de 2, 2500, 36,3 y 1 propágulos viables por 1000 L de agua (Cuadro 3). Las cantidades de micropropágulos estimadas en el agua de riego fueron mucho más elevadas que las de esclerocios (Cuadros 3 y 4). Los esclerocios se aislaron del agua de riego del 33% (2 campos) y 17% (1 campo) de los 6 campos regados con agua infestada en los muestreos efectuados en las primeras quincenas de Marzo y de Abril y en la segunda quincena de Abril, respectivamente, en cantidades de 1-7 esclerocios por 1000 L de agua de riego según el campo, y no fueron detectados en el muestreo realizado en la segunda quincena de Marzo. Por el contrario, los valores máximos de micropropágulos se obtuvieron en la segunda quincena de Marzo, en la que fueron detectados en el

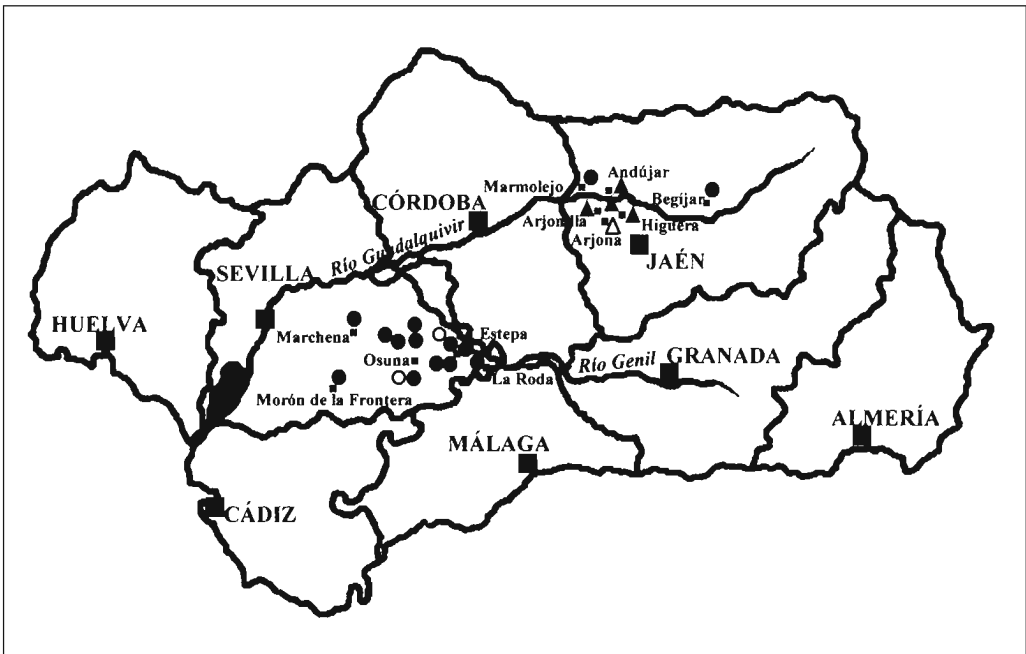


Figura 2. Distribución geográfica de los campos de olivo que utilizaron para regar agua de pozo infestada (círculo relleno) o no infestada (círculo vacío) por *Verticillium dahliae*, o agua embalsada de origen en el río Guadalquivir infestada (triángulo relleno) o no infestada (triángulo vacío) por el patógeno.

Cuadro 3. Número de propágulos de *Verticillium dahliae* por 1000 L de agua utilizada para el riego de campos de olivar localizados en la provincia de Jaén en distintos periodos de muestreo en el año 2005^a.

Campo	Localidad	1 ^a quincena de Marzo		2 ^a quincena de Marzo		1 ^a quincena de Abril		2 ^a quincena de Abril	
		Esclerocios	Micropropágulos	Esclerocios	Micropropágulos	Esclerocios	Micropropágulos	Esclerocios	Micropropágulos
C17-05	Andújar	0	0	0	1000	0	0	1	0
C22-05	Andújar	2	0	0	0	2	0	0	0
C15-05	Arjona	- ^b	-	0	0	0	0	0	0
C18-05	Arjonilla	2	0	0	0	0	0	0	0
C20-05	Begújar	0	0	0	0	0	100	0	0
C16-05	Higuera	0	0	0	4000	0	0	0	0
C23-05	Marmolejo	0	0	0	0	7	0	0	0

^a El agua procedente de un pozo en los campos C20-05 y C23-05 y el agua embalsada de origen en el río Guadalquivir en el resto de los campos, fueron muestreadas en cada periodo indicado para detectar y cuantificar los propágulos de *V. dahliae* de diferente tamaño presentes en ellas: esclerocios ($\geq 20 \mu\text{m}$) y micropropágulos ($< 20 \mu\text{m}$ y $\geq 1,2 \mu\text{m}$). Se analizaron 1000 L de agua de cada campo para la cuantificación de esclerocios en cada muestreo, mientras que para cuantificar los micropropágulos del hongo se analizaron 1 y 10 L de agua en los dos primeros y los dos últimos muestreos respectivamente.

^b No realizado.

33% de los 6 campos que emplearon agua de riego infestada por *V. dahliae*, en cantidades estimadas de 1000-4000 micropropágulos por 1000 L de agua según el campo; disminuyeron en la primera quincena de Abril a 100 micropropágulos por 1000 L de agua en el 17% de los 6 campos indicados anteriormente; y no se detectaron en el último muestreo realizado (Cuadro 3). De este modo, el agua de riego infestada de los campos en Jaén estuvo contaminada sólo con esclerocios en la primera quincena de Marzo (primer muestreo) y segunda de Abril (cuarto muestreo), únicamente con micropropágulos en la segunda quincena de Marzo (segundo muestreo), y con ambos tipos de propágulos en la primera quincena de Abril (tercer muestreo). No se aislaron esclerocios y micropropágulos a la vez en una misma muestra de agua, aunque los dos tipos de propágulos se detectaron en el agua de riego del mismo campo en diferentes muestras.

Similarmente, en la provincia de Sevilla, *V. dahliae* también fue aislado del agua utilizada para el riego en todos los periodos de muestreo establecidos y su presencia en un campo dado fue discontinua en el tiempo. De este modo, el patógeno se aisló del 25 al

75% de las muestras de agua de riego analizadas de un total de 12 campos que regaron con agua infestada, y fue recuperado de 3 y 9 de dichos campos en los dos muestreos de invierno realizados en la segunda quincena de Febrero y primera quincena de Marzo, respectivamente, y de 4 y 2 campos en los dos muestreos de primavera efectuados en la primera y segunda quincena de Abril, respectivamente, con promedios respectivos en cada periodo de muestreo de 1335,0, 18558,4, 100,5 y 200,0 propágulos viables por 1000 L de agua (Cuadro 4). Los esclerocios estuvieron presentes en el agua de riego del 17% (2 campos) y 8% (1 campo) de los 12 que utilizaron agua contaminada con propágulos del patógeno, en los dos muestreos de invierno y en la primera quincena de Abril, respectivamente, en cantidades que variaron de 1-25 esclerocios por 1000 L de agua según el campo, pero no se detectaron en el último muestreo realizado la segunda quincena de Abril (Cuadro 4). Los micropropágulos se aislaron en todos los periodos de muestreo, pero en un porcentaje de campos y en cantidades que alcanzaron un máximo en el último muestreo de invierno y disminuyeron durante los muestreos de primavera. Así,

Cuadro 4. Número de propágulos de *Verticillium dahliae* por 1000 L de agua utilizada para el riego de campos de olivar en la provincia de Sevilla en distintos periodos de muestreo durante el año 2005^a.

Campo	Localidad	2ª quincena de Febrero		1ª quincena de Marzo		1ª quincena de Abril		2ª quincena de Abril	
		Esclerocios	Micropropágulos	Esclerocios	Micropropágulos	Esclerocios	Micropropágulos	Esclerocios	Micropropágulos
C1-05	Estepa	0	0	0	0	0	0	0	200
C2-05	Estepa	0	0	0	7000	0	0	0	0
C5-05	Estepa	1	0	0	3000	0	0	0	0
C6-05	Estepa	0	0	- ^b	-	0	0	0	0
C7-05	Estepa	0	0	-	-	2	0	0	0
C4-05	La Roda de Andalucía	0	0	0	2000	0	100	0	0
C25-05	Marchena	0	0	25	108000	0	0	0	0
C24-05	Morón de la Frontera	0	0	0	34000	0	0	0	0
C8-05	Osuna	0	0	0	5000	0	0	0	0
C9-05	Osuna	4	0	1	2000	0	0	0	200
C11-05	Osuna	0	0	0	0	0	100	0	0
C12-05	Osuna	0	0	-	-	0	0	0	0
C13-05	Osuna	0	0	0	2000	0	200	0	0
C14-05	Osuna	0	4000	0	4000	0	0	0	0

^a El agua procedente de un pozo localizado en cada campo se muestreó en cada periodo indicado para detectar y cuantificar los propágulos de *V. dahliae* de diferente tamaño presentes en ella: esclerocios ($\geq 20 \mu\text{m}$) y micropropágulos ($< 20 \mu\text{m}$ y $\geq 1,2 \mu\text{m}$). Se analizaron 1000 L de agua de cada campo para la cuantificación de esclerocios en cada muestreo, mientras que para cuantificar los micropropágulos del hongo se analizaron 1 L de agua en los dos primeros muestreos de cada campo y el tercer muestreo de los campos C2-05, C8-05, C24-05 y C25-05; y 10 L de agua en el resto de los muestreos.

^b No realizado.

el agua de riego del 8, 75, 25 y 17% (1, 9, 3 y 2 campos, respectivamente) de los 12 campos que se abastecieron para el riego con agua infestada, contuvo 4000, 2000-108000, 100-200 y 200 micropropágulos por 1000 L de agua en la segunda quincena de Febrero, primera quincena de Marzo, y primera y segunda quincenas de Abril, respectivamente (Cuadro 4). Consecuentemente, un mayor número de campos utilizaron para regar agua infestada por micropropágulos que por esclerocios en todos los muestreos, excepto en la segunda quincena de Febrero (primer muestreo) en la que el número de campos que se abastecieron para el riego con agua infestada por esclerocios duplicó al número de ellos que utilizaron agua infestada con micropropágulos. Ambos tipos de propágulos de *V. dahliae*, esclerocios y micropropágulos, fueron recuperados a la vez de dos

muestras de agua en la primera quincena de Marzo (segundo muestreo).

DISCUSIÓN

El conocimiento de los medios de dispersión del inóculo de *V. dahliae* en campos de olivar es de gran importancia a efectos epidemiológicos, y para el manejo y control eficientes de la VO. Los resultados de nuestras investigaciones demuestran que el agua utilizada para el riego de olivares en las provincias de Jaén y Sevilla contiene niveles cuantificables de propágulos de *V. dahliae*, tanto si proviene de una fuente subterránea (pozo) como si es agua superficial embalsada de origen en el río Guadalquivir. Propágulos de *V. dahliae* de diferentes tamaños, esclerocios iguales o superiores a $20 \mu\text{m}$ y micropropágulos inferiores a $20 \mu\text{m}$ e iguales o superio-

res a 1,2 μm , fueron aislados de la misma o de distintas muestras de agua infestada. En general, se cuantificaron niveles mucho más elevados de micropropágulos que de esclerocios y la detección promedio de los primeros fue mayor en las muestras de agua recolectadas a finales de invierno que en las de primavera.

Los estudios desarrollados se han realizado en Andalucía, que es la Comunidad Autónoma española donde se concentra el 60% de la superficie nacional de olivar y el 80% de la producción (ANÓNIMO, 2004). Así mismo, se han elegido para efectuar las prospecciones del agua de riego las dos provincias de Andalucía con mayor extensión de olivar en regadío y que se encuentran entre las tres provincias de esta región con mayor superficie dedicada al olivar. El 31,4% de 572.674 ha y el 27,1% de 200.483 ha de olivar en las provincias de Jaén y Sevilla, respectivamente, están cultivadas en regadío, con un total de 234.338 ha que representan el 73,8% de la superficie andaluza de olivar en regadío en el año 2004 (ANÓNIMO, 2006). Adicionalmente, se han elegido zonas de cultivo que nos han permitido explorar los dos tipos de agua comúnmente utilizados para el riego de olivar, esto es, agua subterránea procedente de pozos (24% del agua de riego) y agua superficial (70,5% del agua de riego) procedente del río Guadalquivir que abastece la Cuenca Hidrográfica más importante de Andalucía (PASTOR MUÑOZ-COBO, 2005).

En estas investigaciones se han detectado y cuantificado por separado propágulos de *V. dahliae* de diferente tamaño presentes en el agua de riego: los esclerocios, que son las principales estructuras de supervivencia del hongo en el suelo (WILHELM, 1955); y propágulos de pequeño tamaño, compuestos posiblemente en su mayoría por conidias de corta longevidad en condiciones desfavorables (GALANOPUOLOS y TRIBE, 1974; SCHREIBER y GREEN, 1962; GREEN, 1969), pero que también podrían comprender fragmentos de micelio o de esclerocios. El tamaño de poro (20 μm) del filtro de malla de nailon utiliza-

do nos debe haber permitido concentrar y cuantificar una proporción extremadamente elevada de los esclerocios de *V. dahliae* presentes en las muestras de agua analizadas, superior incluso a la proporción de las poblaciones del patógeno en el suelo que se estima por el método del tamizado húmedo (HUISMAN y ASHWORTH, 1974), que cuantifica los esclerocios comprendidos entre 125 y 37 μm . De acuerdo con HAWKE y LAZAROVITS (1994), el filtro de 20 μm nos habría permitido además cuantificar la fracción de esclerocios con mayor capacidad germinativa y de supervivencia y, por lo tanto, con mayor potencial para causar infecciones. Análogamente, para retener y cuantificar los micropropágulos de *V. dahliae* de tamaño inferior a 20 μm hemos utilizado un filtro de 1,2 μm de tamaño de poro considerando, de acuerdo con la información disponible, que las dimensiones de las conidias no son inferiores a 1,4 μm (HAWKSWORTH y TALBOYS, 1970; SMITH, 1965).

La aparente falta de consistencia observada en la detección de *V. dahliae* en el agua de riego entre las prospecciones realizadas en 2004 y 2005, y especialmente en los resultados obtenidos en los 11 campos incluidos en ambos años de estudio, podrían justificarse en gran parte por las diferencias en la cantidad de agua analizada por muestra en cada año, que fue de 0,5 y 0,02 L en 2004 y de 1000 y 1-10 L en 2005, para la recuperación de esclerocios y micropropágulos, respectivamente. Ello, unido a los niveles relativamente bajos de las poblaciones de *V. dahliae* presentes en el agua de riego, puestos de manifiesto en el año 2005, debió reducir extremadamente la posibilidad de aislar al patógeno en 2004. Se debe considerar también que, aunque las muestras de agua procedieran del mismo pozo o balsa, el agua fue renovada no solo entre los dos años de prospecciones, sino también entre muestreos realizados en el mismo año, en particular cuando el agua estaba embalsada y, por consiguiente, el agua muestreada pudo encontrarse en estados de infestación diferentes, como se confirma por los resultados obtenidos en

el curso de estas investigaciones.

Las cantidades de esclerocios estimadas en las muestras de agua de riego analizadas en el año 2005 estuvieron en todos los casos, excepto en uno de los muestreos del campo C25-05 (Marchena, Sevilla), próximas al umbral de detección del método analítico utilizado lo que, muy posiblemente, limitó la detección de esclerocios en muchas de las muestras analizadas. En cualquier caso, nuestros resultados parecen indicar que en el primer muestreo de invierno realizado en cada una de las dos provincias prospectadas, el agua de riego infestada contenía predominantemente esclerocios en la mayoría de los campos, mientras que en el siguiente muestreo llevado a cabo a finales de invierno (Sevilla) o principios de primavera (Jaén) hubo un incremento moderado (Jaén) o muy elevado (Sevilla) en el porcentaje de campos con micropropágulos, al que siguió una reducción en dicho porcentaje en los restantes muestreos de primavera. Por el contrario, la presencia y cantidad de esclerocios en el agua de riego no pareció seguir ningún patrón temporal identificable. Los esclerocios podrían haber llegado al agua de riego libres o inmersos en restos de plantas infectadas, arrastrados por el agua de escorrentía o sobrante de riego (EASTON *et al.*, 1969) hasta el río o, a través de los intersticios del suelo, hasta las capas subterráneas de agua, y/o podrían haber sido transportados por el viento junto con las partículas de suelo (EASTON *et al.*, 1969) o adheridos a útiles de riego (gomas, cubos y botas entre otros) hasta el río, los pozos y las balsas. En condiciones nutricionales adecuadas o de temperaturas favorables en el agua, los esclerocios podrían germinar originando micropropágulos (principalmente conidias) de escasa persistencia comparada con la de los esclerocios (GALANOPOULOS y TRIBE, 1974; GREEN, 1969; SCHREIBER y GREEN, 1962).

La presencia de propágulos de *V. dahliae* en el agua utilizada para el riego del 85,7% de los campos de olivar prospectados en Jaén y Sevilla indica que el agua de riego es un vehículo eficiente de dispersión del inóculo

del hongo en estas provincias. Esta dispersión podría ocurrir a cortas y largas distancias, y podría servir para introducir al patógeno en áreas de cultivo o campos libres del mismo, así como para incrementar la densidad de inóculo de *V. dahliae* en suelos previamente infestados. Por consiguiente, el agua de riego infestada por *V. dahliae* probablemente está contribuyendo a aumentar la densidad de inóculo primario del patógeno en el suelo, que da lugar al desarrollo de las epidemias, y puede haber sido uno de los principales factores que han ayudado a incrementar los ataques de Verticilosis observados en los últimos años en Andalucía. La detección de este patógeno en el agua de riego, y especialmente en el agua superficial embalsada procedente del río Guadalquivir, podría tener importantes connotaciones epidemiológicas por la extensa utilización de este agua para el riego de diferentes cultivos en Andalucía y la amplia gama de plantas huéspedes de *V. dahliae* (PEGG y BRADY, 2002). Asimismo, la infestación del agua subterránea también es de gran significación para la sanidad de los cultivos considerando la interrelación entre las fuentes subterráneas y superficiales de aguas.

La relevancia de la presencia de *V. dahliae* en el agua de riego puesta de manifiesto en nuestras investigaciones está supeditada a la capacidad de sus poblaciones en el agua de causar enfermedad en olivo u otros huéspedes. Por ello, es necesario estudiar la patogenicidad y virulencia de dichas poblaciones, que es una línea de trabajo que estamos llevando a cabo en estos momentos, para adoptar decisiones en relación a: 1) aconsejar a los agricultores que se abstengan de utilizar aguas infestadas con *V. dahliae* para el riego no sólo de olivar sino también de otros cultivos susceptibles al patógeno; y, 2) dirigir nuestras investigaciones futuras a la búsqueda de medidas de control convenientes y eficientes para erradicar o reducir la cantidad de inóculo de *V. dahliae* presente en el agua de riego, en el caso de que fuese necesario utilizar este agua. En tanto no se conozcan las variantes patogénicas de *V. dahliae* pre-

senten en el agua de riego, se deben utilizar todas las medidas preventivas posibles para evitar la infestación del agua de riego, tales como: mantener los pozos y las balsas de almacenamiento tapados el máximo tiempo posible para evitar la llegada de partículas de polvo, en particular cuando estén situados en lugares transitados frecuentemente por vehículos o con movimiento de suelo; realizar una limpieza exhaustiva de la balsa con productos desinfectantes tras un periodo de desuso; mantener el agua limpia de restos vegetales; y evitar introducir en el agua todo tipo de utensilios (cubos, gomas, etc., incluidas las botas de los operarios) que contengan suelo o restos de plantas, o en su caso, desinfectarlos antes de usarlos.

AGRADECIMIENTOS

Esta investigación ha sido financiada por el proyecto CAOD.03-3. Los autores quieren agradecer a D. Francisco Vico Baena la asistencia técnica en el desarrollo de los trabajos, y a los propietarios de los campos experimentales utilizados en este estudio y a la Comunidad de Regantes Nuestra Señora de los Dolores (Arjona, Jaén), por la colaboración que han prestado desinteresadamente. Durante el desarrollo de dichas investigaciones, la Dra. Dolores Rodríguez Jurado disfrutaba de un contrato INIA-CCAA para realizar sus actividades de investigación en el IFAPA Centro "Alameda del Obispo" (Córdoba), CICE, Junta de Andalucía.

ABSTRACT

RODRÍGUEZ-JURADO D., J. BEJARANO-ALCÁZAR. 2007. Dispersion of *Verticillium dahliae* in irrigation water used in olive orchards in Andalucía, southern Spain. *Bol. San. Veg. Plagas*, **33**: 547-562.

The increment in severity of *Verticillium* wilt epidemics of olive trees has been associated with the establishment of irrigation in new and traditional olive orchards in Andalucía. Irrigation water can influence *Verticillium* wilt of olive (VO) by means of the dispersal of propagules of *Verticillium dahliae*. Therefore, the objectives of this research work were to determine and quantify the presence of *V. dahliae* in the irrigation water used in olive orchards in Andalucía, and to study the variation in the level of the pathogen populations over time during the irrigation season. Disease surveys were carried out in 33 olive orchards affected by *Verticillium* wilt at the Jaén and Sevilla provinces in 2004 (5 and 18 fields, respectively) and 2005 (7 and 14 fields, respectively), with 11 of the fields being prospected in both years. In each field, 2-8 irrigation water samples of 0.5 L obtained from March to July in 2004 and 3-4 samples of 1000 L of water collected from February to April in 2005 were analysed. *V. dahliae* was isolated only of the water samples analysed in 2005. The pathogen was recovered of irrigation water in 85.7% of the olive orchards surveyed in each province, representing 87.5 and 80% of total of fields irrigated with subterranean water from wells and dammed up superficial water from the Guadalquivir river, respectively. Subterranean and superficial irrigation water in both provinces were infested by propagules of *V. dahliae*, which were differentiated because of their size in sclerotia ($\geq 20 \mu\text{m}$) and micropropagules (< 20 y $\geq 1.2 \mu\text{m}$). The micropropagules were recovered from irrigation water in a higher percentage of fields that used infested water (78%) and in higher average levels (3158.9 micropropagules/1000 L) than sclerotia were (44% y 1.5 sclerotia/1000 L, respectively). Within the olive orchards irrigated with water infested by *V. dahliae*, the incidence of fields with water contaminated by sclerotia varied from 0 to 33% through the irrigation season and did not show any recognizable pattern over time, while the percentage of fields with water infested by micropropagules reached a maximum of 33% in Jaén and of 75% in Sevilla in the second and first fortnight of March, respectively, and decreased progressively through the spring samplings.

Key words: *Verticillium* wilt, olive, inoculum source, epidemiology, control.

REFERENCIAS

- AL-AHMAD, M. A., MOSLI, M. N. 1993. Verticillium wilt of olive in Syria. *Bull. OEPP/EPPPO Bull.*, **23**: 521-529.
- ANÓNIMO. 2004. Anuario de Estadística Agroalimentaria 2004. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación.
- ANÓNIMO. 2006. Anuario Estadístico de Andalucía 2006. Instituto de Estadística de Andalucía.
- ARBOGAST, M., POWELSON, M. L., CAPPAERT, M. R., WATRUD, L. S. 1999. Response of six potato cultivars to amount of applied water and *Verticillium dahliae*. *Phytopathology*, **89**: 782-788.
- ASHWORTH, L. J., JR., ZIMMERMAN, G. 1976. Verticillium wilt of the pistachio nut tree: occurrence in California and control by soil fumigation. *Phytopathology*, **66**: 1449-1451.
- ASHWORTH, L. J., JR., WATERS, J. E., GEORGE, A. G., MCCUTCHEON, O. D. 1972. Assessment of microsclerotia of *Verticillium albo-atrum* in field soils. *Phytopathology*, **62**: 715-719.
- BEJARANO-ALCÁZAR, J. 2005a. Control de la Verticilosis del olivo mediante la aplicación de enmiendas orgánicas. *Oleo*, **106**: 40-51.
- BEJARANO-ALCÁZAR, J. 2005b. Problemática fitosanitaria en la olivicultura de regadío. En: Cultivo del Olivo con Riego Localizado. Pastor Muñoz-Cobo, M (ed.). Junta de Andalucía y Mundi-Prensa (España). Pp. 663-710.
- BEJARANO-ALCÁZAR, J., BLANCO-LÓPEZ, M. A., MELERO-VARA, J., JIMÉNEZ-DÍAZ, R. M. 1996. Etiology, importance and distribution of Verticillium wilt of cotton in southern Spain. *Plant Dis.*, **80**: 1233-1238.
- BEJARANO-ALCÁZAR, J., PÉREZ-ARTÉS, E., 2002. Importancia de la Verticilosis del agodonero y distribución de patotipos de *Verticillium dahliae* en Andalucía. Resúmenes XI Congreso de la Sociedad Española de Fitopatología, Almería: 219.
- BLANCO-LÓPEZ, M. A., JIMÉNEZ-DÍAZ, R. M., CABALLERO, J. M. 1984. Symptomatology, incidence and distribution of Verticillium wilt of olive trees in Andalucía. *Phytopathol. Mediterr.*, **23**: 1-8.
- BUTTERFIELD, E. J., DEVAY, J. E. 1977. Reassessment of soil assays for *Verticillium dahliae*. *Phytopathology*, **67**: 1073-1078.
- CABALLERO, J. M., PÉREZ-HERNÁNDEZ, J., BLANCO-LÓPEZ, M. A., JIMÉNEZ-DÍAZ, R. M. 1980. Olive, a new host of *Verticillium dahliae* Kleb. in Spain. Proceeding 5th Congress of the Mediterranean Phytopathological Union: 50-52.
- CIRULLI, M. 1981. Attuali cognizioni sulla Verticilliosi dell'olivo. *Informatore Fitopatologico*, **31**: 101-105.
- EASTON, G. D., NAGLE, M. E., BAILEY, D. L. 1969. A method of estimating *Verticillium albo-atrum* propagules in field soil and irrigation waste water. *Phytopathology*, **59**: 1171-1172.
- GALANPOULOS, N., TRIBE, H. T. 1974. Conidial survival in *Verticillium dahliae*. *Transactions of the British Mycological Society*, **63**: 85-91.
- GREEN, R. J., JR. 1960. The survival of *Verticillium albo-atrum* in muck soils. *Phytopathology*, **50**: 637.
- GREEN, R. J., JR. 1969. Survival and inoculum potential of conidia and microsclerotia of *Verticillium albo-atrum* in soil. *Phytopathology*, **59**: 874-876.
- HARRINGTON, M. A., DOBINSON, K. F. 2000. Influences of cropping practices on *Verticillium dahliae* populations in commercial processing tomato fields in Ontario. *Phytopathology*, **90**: 1011-1017.
- HAWKE, M. A., LAZAROVITS, G. 1994. Production and manipulation of individual microsclerotia of *Verticillium dahliae* for use in studies of survival. *Phytopathology*, **84**: 883-890.
- HAWKSWORTH, D. L., TALBOYS, P. W. 1970. *Verticillium dahliae*. Commonwealth Mycological Institute. Description of Pathogenic Fungi and Bacteria No. 256.
- HUISMAN, O. C., ASHWORTH, L. J., JR. 1974. Quantitative assessment of *Verticillium albo-atrum* in field soils: procedural and substrate improvements. *Phytopathology*, **64**: 1043-1044.
- HUISMAN, O. C., GRIMES, W. D. 1989. Cultural practices: the effect of planting density and irrigation regimes on Verticillium wilt of cotton. En: Vascular Wilt Diseases of Plants. Basic Studies and Control. Tjamos, E.J., Beckman, C.H. (eds.). NATO ASI Series H: Cell Biology 28. Pp. 537-541.
- JIMÉNEZ-DÍAZ, R. M., MERCADO-BLANCO, J., OLIVARES-GARCÍA, C., COLLADO-ROMERO, M., BEJARANO-ALCÁZAR, J., RODRÍGUEZ-JURADO, D., GIMÉNEZ-JAIME, A., GARCÍA-JIMÉNEZ, J., ARMENGOL, J. 2006. Genetic and virulence diversity in *Verticillium dahliae* populations infecting artichoke in eastern-central Spain. *Phytopathology*, **96**: 288-298.
- JIMÉNEZ-DÍAZ, R. M., TJAMOS, E. C., CIRULLI, M. 1998. Olive. En: A Compendium of Verticillium wilts in tree species. Hiemstra, J.A., Harris, D.C. (eds.). Ponsen and Looijen, The Netherlands. Pp. 13-16.
- LEVIN, A. G., LAVÉE, S., TSBOR (LAHKIM), L. 2003. Epidemiology of *Verticillium dahliae* on olive (cv. Picual) and its effect on yield under saline conditions. *Plant Pathol.*, **52**: 212-218.
- LÓPEZ-ESCUADERO, F. J., DEL RÍO C., CABALLERO, J. M., BLANCO-LÓPEZ, M. A. 2004. Evaluation of olive cultivars for resistance to *Verticillium dahliae*. *Eur J. of Plant Pathol.*, **110**: 79-85.
- MERCADO-BLANCO, J., RODRÍGUEZ-JURADO, D., PARRILLA-ARAUJO, S., JIMÉNEZ-DÍAZ, R. M. 2003. Simultaneous detection of the defoliating and nondefoliating *Verticillium dahliae* patotypes in infected olive plants by duplex, nested polymerase chain reaction. *Plant Dis.*, **87**: 1487-1494.
- PASTOR MUÑOZ-COBO, M. 2005. Cultivo del Olivo con Riego Localizado. Junta de Andalucía y Mundi-Prensa. 783 pp.
- PEGG, G. F., BRADY, B. L. 2002. Verticillium wilts. CABI Publishing, Wallingford, UK. 552 pp.
- RODRÍGUEZ, E., GARCÍA-GARRIDO, J. M., OCAMPO, J. A., CAMPOS, M. 2004. Resultados preliminares sobre la Verticilosis del olivo en la provincia de Granada. Resúmenes XII Congreso de la Sociedad Española de Fitopatología, Lloret de Mar (Gerona): 209.
- RODRÍGUEZ-JURADO, D. 1993. Interacciones huésped parásito en la Verticilosis del olivo (*Olea europea*

- L.) inducida por *Verticillium dahliae* Kleb. Tesis Doctoral. Universidad de Córdoba.
- RODRÍGUEZ-JURADO, D., BLANCO LÓPEZ, M. A., RAPOP-PORT, H. F., JIMÉNEZ DÍAZ, R. M. 1993. Present status of *Verticillium* wilt of olive in Andalucía (southern Spain). *Bull. OEPP/EPPPO Bull.*, **23**: 513-516.
- RUGGIERI, G. 1948. Ricerche ed esperienze su una tracheovorticilliosi dell'olivo. *Olivicoltura*, **3**: 6-9.
- SÁNCHEZ-HERNÁNDEZ, M. E., RUIZ-DÁVILA, A., PÉREZ DE ALGABA, A., BLANCO-LÓPEZ, M. A., TRAPEROCASAS, A. 1998. Occurrence and etiology of death of young olive trees in southern Spain. *Eur. J. of Plant Pathol.*, **104**: 347-357.
- SCHNATHORST, W. C., SIBBETT, G. S. 1971. The relation of strains of *Verticillium albo-atrum* to severity of *Verticillium* wilt in *Gossypium hirsutum* and *Olea europea* in California. *Plant Dis. Repor.*, **55**: 780-782.
- SCHREIBER, L. R., GREEN, R. J., JR. 1962. Comparative survival of mycelium, conidia and microsclerotia of *Verticillium albo-atrum* in mineral soil. *Phytopathology*, **52**: 288-289.
- SERRHINI, M. N., ZEROUAL, A. 1995. La Verticilosis del olivo en Marruecos. *Olivae*, **58**: 58-61.
- SMITH, H. C. 1965. The morphology of *Verticillium albo-atrum*, *V. dahliae* and *V. tricorpus*. *N.Z.J. Agric. Res.*, **8**: 450-478.
- SMITH, V. L., ROWE, R. C. 1984. Characteristics and distribution of propagules of *Verticillium dahliae* in Ohio potato field soils and assessment of two assay methods. *Phytopathology*, **74**: 553-556.
- THANASSOULOPOULOS, C. C., BIRIS, D. A., TJAMOS, E. C. 1979. Survey of *Verticillium* wilt of olive trees in Greece. *Plant Dis. Repor.*, **63**: 936-940.
- THANASSOULOPOULOS, C. C., BIRIS, D. A., TJAMOS, E. C. 1980. Dissemination of *Verticillium* propagules in olive orchards by irrigation water. Proceedings 5th Congress of The Mediterranean Phytopathological Union, Patras (Grecia): 52-53.
- WILHELM, S. 1955. Longevity of the *Verticillium* wilt fungus in the laboratory and field. *Phytopathology*, **45**: 180-181.
- XIAO, C. L., SUBBARAO, K. V. 2000. Effects of irrigation and *Verticillium dahliae* on cauliflower root and shoot growth dynamics. *Phytopathology*, **90**: 995-1004.

(Recepción: 13 noviembre 2007)

(Aceptación: 24 noviembre 2007)

Avaliação de metil jasmonato na indução de resistência de plantas de *Eucalyptus* spp. ao psílideo-de-concha *Glycaspis brimblecombei* Moore (Hemiptera: Psyllidae)

E. B. COUTO, C. F. WILCKEN, F. B. SARRO, E. D. VELINI

O ataque de *Glycaspis brimblecombei* causa descoloração das folhas, redução da área fotossintética e secamento dos ponteiros, podendo levar as árvores à morte após ataques sucessivos. Devido a sua facilidade de dispersão e aos danos causados é considerada uma das principais pragas do eucalipto. A indução de resistência, pela ativação de indutores, como o metil jasmonato (MJ) vem sendo estudado intensamente nos últimos anos, principalmente através da seleção de genótipos com elevada capacidade de expressão de MJ. Este trabalho teve como objetivo estudar a indução de resistência através da aplicação exógena de metil jasmonato para o controle do *G. brimblecombei*. O trabalho foi realizado em condições de laboratório, utilizando mudas da espécie *Eucalyptus camaldulensis* e do clone híbrido de *E. grandis* x *E. camaldulensis* ("gracam" 3025). Foram realizados dois experimentos com aplicação de diferentes concentrações de MJ (5, 50 e 500 µM) nas mudas para avaliar o efeito na preferência e capacidade de oviposição dos adultos. No primeiro experimento verificou-se que as maiores concentrações afetaram alguns parâmetros da biologia do psílideo, sendo que a testemunha apresentou maior número de ovos e, conseqüentemente, maior número de adultos produzidos. Nos dois experimentos com livre chance de escolha, independentemente do material genético, observou-se a preferência do inseto pelas plantas não tratadas. Quanto maior a concentração de MJ, menor a quantidade de insetos nas plantas e menor número de ovos nas folhas.

E. B. COUTO. FAEF- Faculdade de Agronomia e Engenharia Florestal, Rua das Flores, 740. CEP 17400-000. Garça-SP. Brasil.

C. F. WILCKEN. Depto de Produção Vegetal – Defesa Fitossanitária, FCA-UNESP, Rua José Barbosa de Barros, 1780. CEP 18.610-307. Botucatu-SP. Brasil.

F. B. SARRO. Departamento de Agronomia - Campus Regional de Umuarama, UEM, Estrada da Paca s/ nº, Bairro São Cristóvão. CEP 87507-190. Umuarama-PR. Brasil.

E. D. VELINI. Depto de Recursos Naturais – Ciências do Solo, FCA-UNESP, Rua José Barbosa de Barros, 1780. CEP 18.610-307. Botucatu-SP. Brasil.

Palavras-chave: eucalipto, indutores de resistência, aplicação exógena, biologia.

INTRODUÇÃO

O psílideo-de-concha, *Glycaspis brimblecombei* (Hemiptera: Psyllidae), é uma praga originária da Austrália que, a partir de 2003, foi observado no Brasil em clones de *Eucalyptus grandis* x *E.urophylla* ("urograndis") no estado de São Paulo (WILCKEN *et al.*,

2003) e atualmente, encontra-se distribuído por vários estados brasileiros (SÁ e WILCKEN, 2004).

Plantas atacadas apresentam redução e deformação foliar, presença de fumagina, queda prematura de folhas maduras e secamento dos ponteiros (WILCKEN *et al.*, 2003). Esses danos podem provocar 15 % de morta-

lidade no primeiro ano podendo chegar a 40 % no segundo ano (GILL, 1998), sendo os danos causados tanto pelos adultos como pelas ninfas que sugam a seiva das folhas (DREISTADT e GILL, 1999).

Devido à recente descoberta da ocorrência do psilídeo-de-concha no Brasil existem poucos trabalhos sobre as formas de controle desta praga. Um dos métodos de controle é a resistência das plantas ao ataque de pragas pela seleção de genótipos resistentes ou pelo uso de produtos indutores de resistência que podem reduzir a aplicação de agrotóxicos (PEDIGO, 1996). Porém, uma das principais limitações do uso de genótipos resistentes é o longo tempo para sua obtenção (VENDRAMIM, 1990) principalmente quando se refere a árvores, devido a potencial vulnerabilidade destas à readaptação dos insetos antes que o hospedeiro seja avaliado (MARSCHALEK, 2000).

A defesa induzida pode ser causada por insetos, danos físicos extrínsecos e estímulos químicos que provocam modificações qualitativas ou quantitativas nas defesas da planta contra organismos invasores (PANDA e KHUSH, 1995). As plantas produzem uma grande variedade de metabólitos secundários importantes na sobrevivência da planta (LOURENÇO, 2003), sendo a maioria destes metabólitos controlada via rotas bioquímicas ativada por estimuladores que se encontram presentes em baixas concentrações nas plantas. Porém, estes compostos podem ser ativados numa determinada fase de desenvolvimento da planta, numa determinada estação do ano ou sob condição de estresse causado por fatores bióticos ou abióticos (VERPOORTE e MEMELINK, 2002).

A defesa induzida tem sido estudada para insetos desfolhadores de espécies florestais nos países temperados. Alguns terpenóides podem ser sintetizados em maior quantidade em coníferas dos gêneros *Pinus*, *Abies*, *Pseudotsuga*, *Larix* e *Picea* após ataque de insetos xilófagos (TRAPP e CROTEAU, 2001; MARTIN *et al.*, 2002). O aumento dos terpenóides também pode ser elevado via aplicação de estimuladores envolvidos no

sistema de defesa das plantas, como os jasmonatos, que são fitohormônios endógenos da planta (CREELMAN e MULLET, 1997; FRANCESCHI, *et al.*, 2002). O tratamento de espécies florestais com metil jasmonato (MJ) induz a formação de dutos resiníferos traumáticos, acúmulo de mono e diterpenos, indução de enzimas para síntese de terpenos ou formação adicional de células parenquimáticas polifenólicas na zona cambial (FRANCESCHI *et al.*, 2002; MARTIN *et al.*, 2003; MILLER *et al.*, 2005; HEJJARI *et al.*, 2005). Porém, para o eucalipto, a existência de defesa induzida ainda não foi demonstrada.

Desta forma, este trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos da aplicação exógena de metil jasmonato em mudas de eucalipto sobre o desenvolvimento e capacidade reprodutiva do psilídeo-de-concha.

MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Controle Biológico de Pragas Florestais (LCBPF), no Departamento de Produção Vegetal da Faculdade de Ciências Agrônomicas, UNESP/ Botucatu, SP, Brasil, sob temperatura de $25,5 \pm 1,1^\circ\text{C}$, UR $55,2 \pm 5,3\%$ e fotofase de 13 horas.

Foram utilizadas mudas de *Eucalyptus camaldulensis* e do clone híbrido “gracam” 3025, de *Eucalyptus grandis* x *E. camaldulensis*. Esses materiais foram escolhidos por serem altamente susceptíveis à praga. O clone foi utilizado para excluir a variabilidade genética, presente no material proveniente de semente (*E. camaldulensis*).

As mudas de eucalipto, após 120 dias da semeadura ou estaquia, foram transplantadas para tubetes de 290 cm^3 , contendo solo esterilizado composto por solo argiloso (latossolo vermelho escuro), esterco e areia grossa lavada, na proporção de 1:1:1. Para cada 10 litros da mistura foram acrescentados 8,5 g de superfosfato simples, 9,5 g de termofosfato e 1,9 g de KCl. Após 45 dias do transplante as mudas foram utilizadas nos experimentos.

Em todos os experimentos as mudas foram imersas por 30 segundos na calda preparada com diferentes concentrações de MJ com volume de dois litros de água e 15 mL de metanol, sendo que para reduzir a tensão superficial da água e favorecer a deposição da calda foram adicionados cinco mL de dois adjuvantes, Aterbane BR e Silwet. Após o tratamento as mudas foram colocadas em bandejas para que todo o excesso da calda escorresse e, posteriormente, foram acondicionadas na gaiola de criação.

Experimento 1. Efeito de diferentes concentrações do metil jasmonato aplicado em mudas de *Eucalyptus camaldulensis* na biologia de *Glycaspis brimblecombei*.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, composto por quatro tratamentos com quatro repetições, sendo 10 mudas por repetição. Foram avaliadas três concentrações de MJ: 5 μM ; 50 μM ; 500 μM e a testemunha, sem tratamento. Uma hora após o tratamento, 100 insetos adultos foram liberados por gaiola. Em cada gaiola foram oferecidas 10 mudas, das quais apenas cinco foram avaliadas para a quantificação do número de ovos.

Após a liberação dos insetos nas gaiolas foi quantificado, diariamente, o número de insetos mortos até o 9º dia e o número de ovos presentes nas mudas. A partir da visualização dos primeiros adultos emergidos, estes foram retirados diariamente das gaiolas e quantificados.

Experimento 2. Efeito de diferentes concentrações de metil jasmonato aplicado em mudas de eucalipto na preferência e na oviposição de *Glycaspis brimblecombei*.

Foram conduzidos dois ensaios com materiais genéticos distintos, sendo um com *E. camaldulensis* proveniente de sementes e outro com o clone híbrido “gracam” 3025, com o objetivo de excluir a variabilidade genética contida no ensaio com as mudas produzidas de sementes.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com quatro tratamentos e

10 repetições. Cada repetição constou de quatro mudas de eucalipto tratadas com três concentrações de MJ (5 μM , 50 μM , 500 μM) e uma planta testemunha (sem tratamento). Após uma hora da aplicação do MJ foram liberados 40 insetos adultos por gaiola.

Após o período de 24 horas da instalação dos experimentos o número de adultos presentes em cada muda foi quantificado diariamente, por sete dias. Após o sétimo dia, o número de ovos foi quantificado para avaliar o comportamento de oviposição dos adultos sobre as mudas tratadas com diferentes concentrações de MJ.

Análise estatística

Em todos os experimentos, os dados foram submetidos à análise de regressão e ajustados a um modelo estatístico de regressão linear simples, com as estimativas dos parâmetros obtidas pelo método dos mínimos quadrados ($P < 0,05$). Para melhor visualização dos resultados, todos os dados foram modificados para logaritmo decimal.

RESULTADOS

Experimento 1. Efeito de diferentes concentrações do metil jasmonato aplicado em mudas de *Eucalyptus camaldulensis* na biologia de *Glycaspis brimblecombei*.

A mortalidade média dos adultos liberados, nove dias após o tratamento das mudas com diferentes concentrações de MJ variou de 33,8 % a 17,8 %. Os tratamentos testemunha e 500 μM de MJ apresentaram 23,0 % e 25,3 % dos adultos mortos, respectivamente (Tabela 1). De acordo com os dados, a mortalidade observada não apresentou correlação com as concentrações de MJ aplicadas nas mudas, pois o coeficiente de determinação (R^2) indica que somente 1,04 % da variação total observada no experimento foi explicada pelo modelo. A significância da regressão testada pela análise de variância ($P = 0,707$) não foi significativa a 5%.

O número de ovos colocados nas plantas de *E. camaldulensis* apresentou correlação com as concentrações de MJ aplicadas,

Tabela 1. Parâmetros (média ± DP) observados para avaliação do efeito de diferentes concentrações de metil jasmonato aplicado em mudas de eucalipto sobre o psilídeo-de-concha, *Glycaspis brimblecombei*.

Experimento	Parâmetro	Test.	5 µM	50 µM	500 µM	
1	<i>Eucalyptus</i>	Adultos mortos (%)	23,0	33,8	17,8	25,3
	<i>camaldulensis</i>	Nº de ovos/ planta ¹	318,4 ± 195,69	172,1 ± 99,62	129,5 ± 68,01	77,8 ± 36,79
		Adultos emergidos ²	741,0 ± 248,12	639,3 ± 65,34	623,3 ± 351,92	327,3 ± 131,48
2	<i>Eucalyptus</i>	Nº de adultos/ planta	3,9 ± 1,63	2,1 ± 0,92	2,0 ± 0,90	1,6 ± 1,42
	<i>camaldulensis</i>	Nº de ovos/ planta	436,6 ± 437,08	343,9 ± 102,01	90,0 ± 316,98	142,6 ± 573,54
	"Gracam"	Nº de adultos/ planta	3,5 ± 0,59	2,2 ± 0,34	3,0 ± 0,71	1,8 ± 0,66
	3025	Nº de ovos/planta	578,8 ± 183,74	476,3 ± 237,20	530,4 ± 159,91	345,9 ± 139,37

¹ média de cinco plantas ² média de 10 plantas.

diminuindo conforme a concentração aumentou, sendo que o número médio de ovos quantificados no tratamento testemunha foi de 318,4 ovos e de 77,8 ovos no tratamento com 500 µM. Nos tratamentos com 5 µM e 50 µM foram quantificados duas e duas e meia vezes menos posturas, respectivamente, que no tratamento testemunha (Tabela 1). O coeficiente de determinação (R^2) indica que 32,04 % da variação total observada no experimento foi significativa a 5 % (Figura 1).

Para todos os tratamentos a emergência dos adultos ocorreu entre o 25º dia e o 33º dia após a liberação dos adultos nas gaiolas, sendo o pico de emergência no 29º dia, demonstrando que as concentrações de MJ avaliadas não alteraram os estágios de desenvolvimento ninfal de *G. brimblecombei* em relação à testemunha.

O número médio de adultos emergidos no tratamento 500 µM foi de 327,3 adultos, valor inferior ao número de adultos emergi-

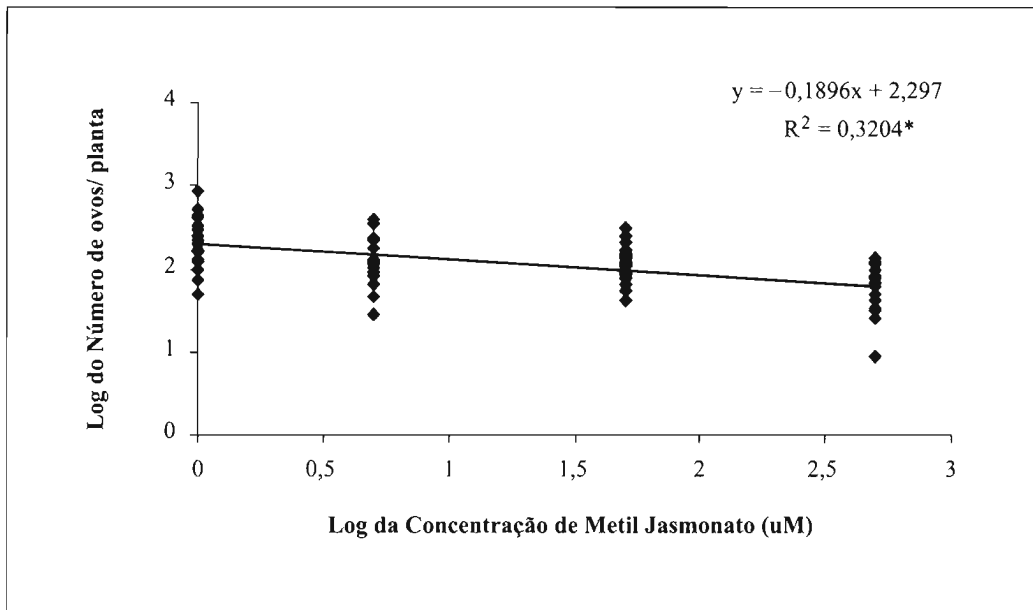


Figura 1. Número de ovos de *Glycaspis brimblecombei* depositados em mudas de *Eucalyptus camaldulensis* tratados com diferentes concentrações de metil jasmonato (Temperatura 25,5 ± 1,1 °C, UR. 55,2 ± 5,3 % e fotofase: 13 h.).

* significativo a 5 % de probabilidade.

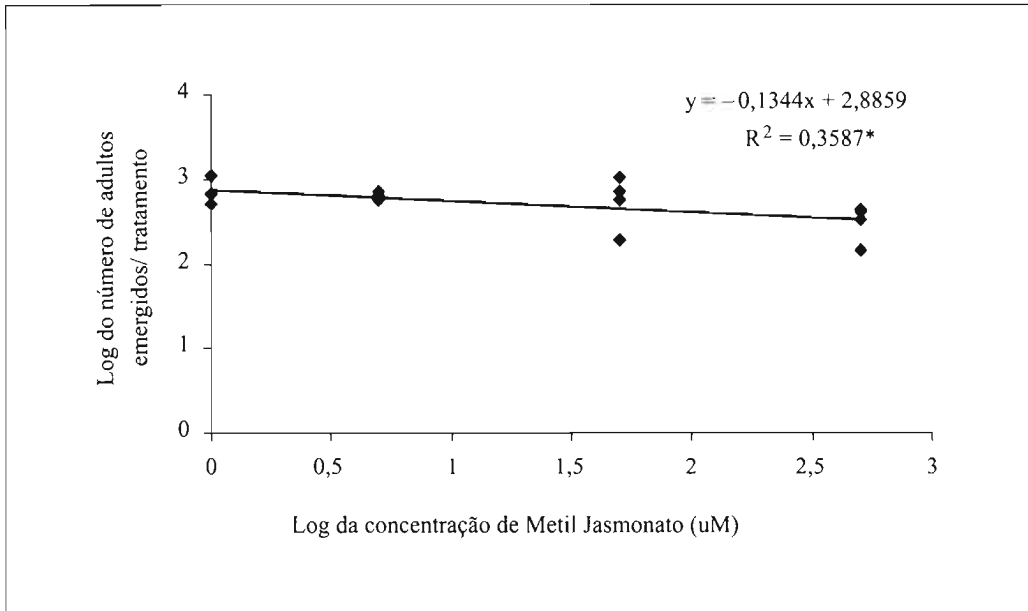


Figura 2. Número de adultos de *Glycaspis brimblecombei* emergidos por tratamento em mudas de *Eucalyptus camaldulensis* tratadas com diferentes concentrações de metil jasmonato (Temperatura: $25,5 \pm 1,1$ °C, UR: $55,2 \pm 5,3$ % e fotofase: 13 h.).*significativo a 5 % de probabilidade.

dos nos demais tratamentos, sendo que na testemunha quantificou-se, praticamente, o dobro de adultos emergidos que no tratamento 500 μM (Tabela 1). O modelo de regressão aplicado a este parâmetro demonstrou que houve correlação entre o número de adultos emergidos com os as concentrações de MJ aplicadas nas mudas, pois o coeficiente de determinação (R^2) indica que 35,87 % da variação total observada, no experimento, foi significativa a 5 % com $P = 0,014$ (Figura 2).

Experimento 2. Efeito de diferentes concentrações de metil jasmonato aplicado em mudas de eucalipto na preferência e na oviposição de *Glycaspis brimblecombei* *Eucalyptus camaldulensis*

O número médio de adultos observados no tratamento testemunha foi 144 % maior que o número de adultos presentes no tratamento 50 μM . Em relação aos tratamentos 5 μM e 500 μM o tratamento testemunha apre-

sentou 86 % e 95 % mais adultos, respectivamente (Tabela 1). O modelo de regressão demonstrou que houve correlação entre as concentrações de MJ utilizadas com a quantidade de adultos presentes nas mudas, sendo o coeficiente de determinação (R^2) significativo a 5 % de probabilidade (Figura 3).

O número médio de ovos quantificados na testemunha foi superior aos observados nos demais tratamentos, porém o modelo de regressão não correlacionou as concentrações de MJ utilizadas com o número de ovos depositados nas mudas (Figura 4), devido provavelmente à alta variabilidade dos valores obtidos. O tratamento com 5 μM apresentou 343,9 ovos e os tratamentos com 50 μM e 500 μM quantificou-se 90 ovos e 142,6 ovos, respectivamente (Tabela 1).

Clone híbrido “Gracam” 3025 de *E. grandis* x *E. camaldulensis*

O número de adultos presentes nas mudas da testemunha foi o dobro do número de

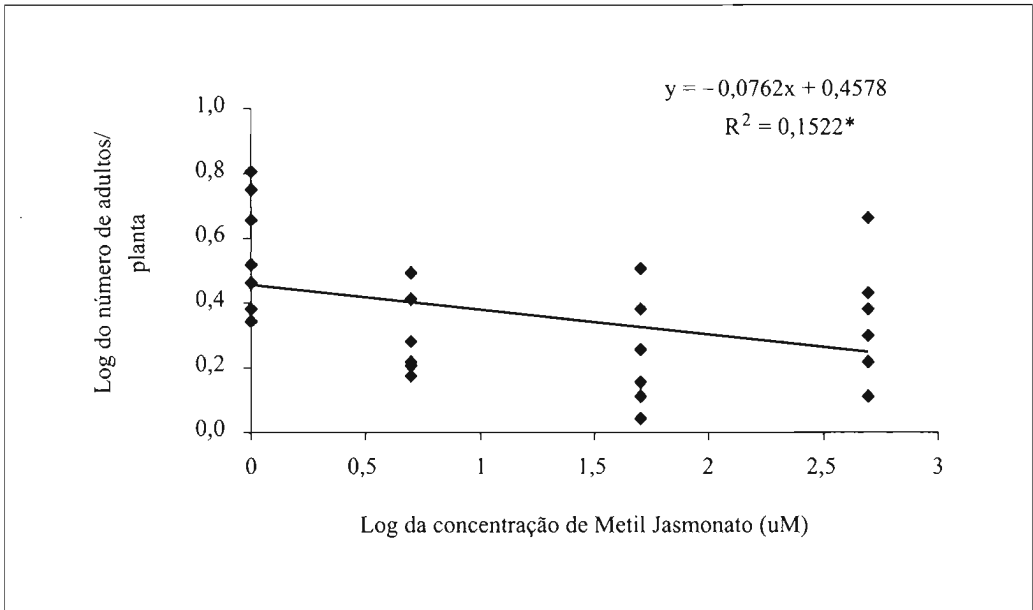


Figura 3. Número de adultos de *Glycaspis brimblecombei* presentes em mudas de *Eucalyptus camaldulensis* tratados com diferentes concentrações de metil jasmonato (Temperatura $25,5 \pm 1,1$ °C, UR: $55,2 \pm 5,3$ % e fotofase: 13 h.). *significativo a 5% de probabilidade.

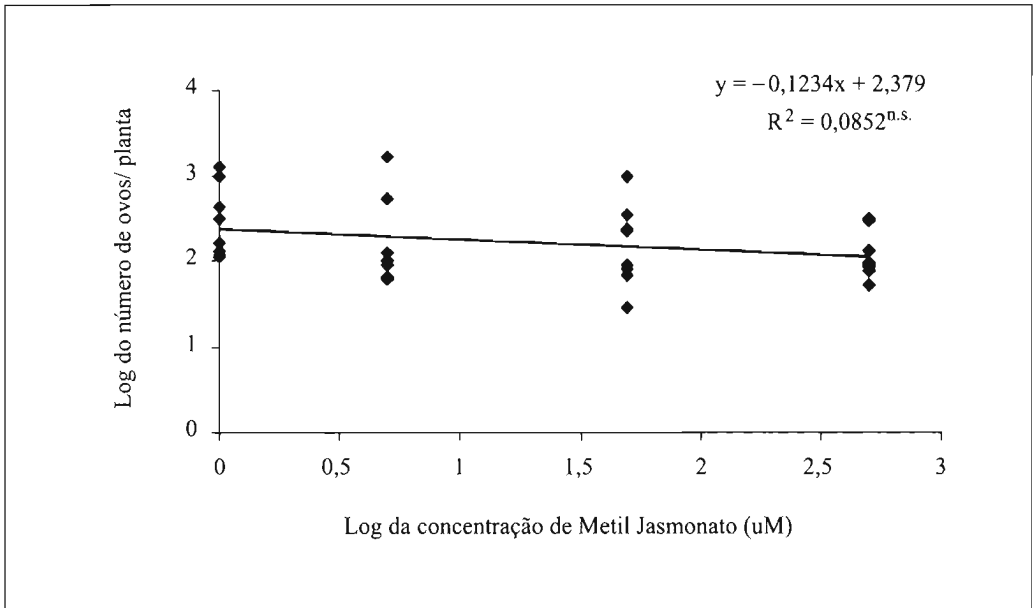


Figura 4. Número de ovos de *Glycaspis brimblecombei* colocados em mudas de *Eucalyptus camaldulensis* tratados com diferentes concentrações de metil jasmonato (Temperatura $25,5 \pm 1,1$ °C, UR: $55,2 \pm 5,3$ % e fotofase: 13 h.). ^{n.s.} não significativo a 5% de probabilidade.

adultos quantificados no tratamento 500 μM . O tratamento 50 μM não apresentou diferença expressiva quando comparado à testemunha, e o tratamento com a menor dosagem de MJ utilizada apresentou número intermediário de adultos (Tabela 1).

Embora neste experimento, o clone "gram" 3025 tenha sido utilizado para eliminar o efeito da variação genética presente em mudas provenientes de semente, e assim obter dados mais precisos, observou-se que, pelo fato deste clone ser mais suscetível ao psilídeo do que *E. camaldulensis*, as concentrações de 5 μM e 50 μM de MJ utilizadas não foram suficientes para induzir resistência nas mudas ou o período de sete dias após o tratamento não foi suficiente para que as mudas atingissem patamar no qual a planta apresentaria resistência, diminuindo o número de adultos presentes nas mudas. O tratamento 500 μM apresentou o menor número de adultos, sendo que o modelo de regressão proposto para este parâmetro apresentou correlação com as concentrações de MJ aplicadas nas mudas, onde o coeficiente de correlação (R^2) foi significativo a 5 % de probabilidade com $P = 0,004$ (Figura 5).

O número de ovos presente na testemunha foi superior ao número de ovos observados nos demais tratamentos, seguindo uma tendência, isto é, onde foi observada maior número de adultos, foi observada maior quantidade de ovos. A testemunha apresentou 578,8 ovos e no tratamento 500 μM foram observados 345,9 ovos, representando 40 % menos ovos do que na testemunha. Os tratamentos com 5 μM e 50 μM apresentaram número de ovos intermediários (Tabela 1).

O modelo de regressão utilizado apresenta correlação com as concentrações de MJ aplicadas nas mudas, onde a regressão linear simples do número de ovos colocados em função do tratamento foi significativa a 5 % de probabilidade com $P = 0,022$ (Figura 6).

DISCUSSÃO

O MJ é relatado na literatura como um indutor de resistência por estimular a pro-

dução de compostos, como terpenóides, peroxidases, polifenil oxidases, inibidores de proteinases, entre outros, que podem atuar contra muitos herbívoros em culturas agrícolas como tomate (THALER, 1999), algodão, batata (RIVARD *et al.*, 2004), aipo (BLACK *et al.*, 2003) e Pinos (HEJARI *et al.*, 2005). Contudo, nenhum trabalho foi encontrado relatando os efeitos do ácido jasmônico e de seus derivados sobre eucalipto.

Na maioria dos trabalhos as concentrações utilizadas são determinadas empiricamente, pois as quantidades requeridas por uma planta para que ela seja estimulada depende das características edafoclimáticas e da idade da planta, sendo que é necessário aplicar concentrações em microgramas por planta para que ocorram mudanças no nível dos jasmonatos endógenos em nanogramas (BALDWIN, 1998). Em trabalho realizado por CREELMAN e MULLET (1995), foi observado que concentrações acima de 500 μM de MJ aplicadas em plantas de soja reduziram a respiração em 22 % e consequentemente, afetaram o desenvolvimento da planta. Assim, como trabalho inicial de avaliação dos efeitos de MJ sobre mudas de eucalipto adotou-se 500 μM de MJ como concentração máxima e duas concentrações menores (5 e 50 μM).

De acordo com THALER *et al.* (2001), a aplicação direta de ácido jasmônico sobre afídeos, lepidópteros, tripses e crisomelídeos não afeta a sobrevivência e a fecundidade destes insetos. Desta forma, a mortalidade avaliada no experimento I foi decorrente da própria longevidade que o adulto apresenta ao se alimentar de *E. camaldulensis*, pois, de acordo com FIRMINO (2004), *G. brimblecombei* apresenta longevidade média de 8,4 dias quando criado em plantas de *E. camaldulensis*.

Nos dados obtidos nos experimentos para avaliação da preferência do psilídeo, por mudas de eucalipto tratadas com diferentes concentrações de MJ, observou-se que no tratamento com 5 μM de MJ o número de adultos presentes nas plantas foi próximo ao número observado no tratamento testemunha-

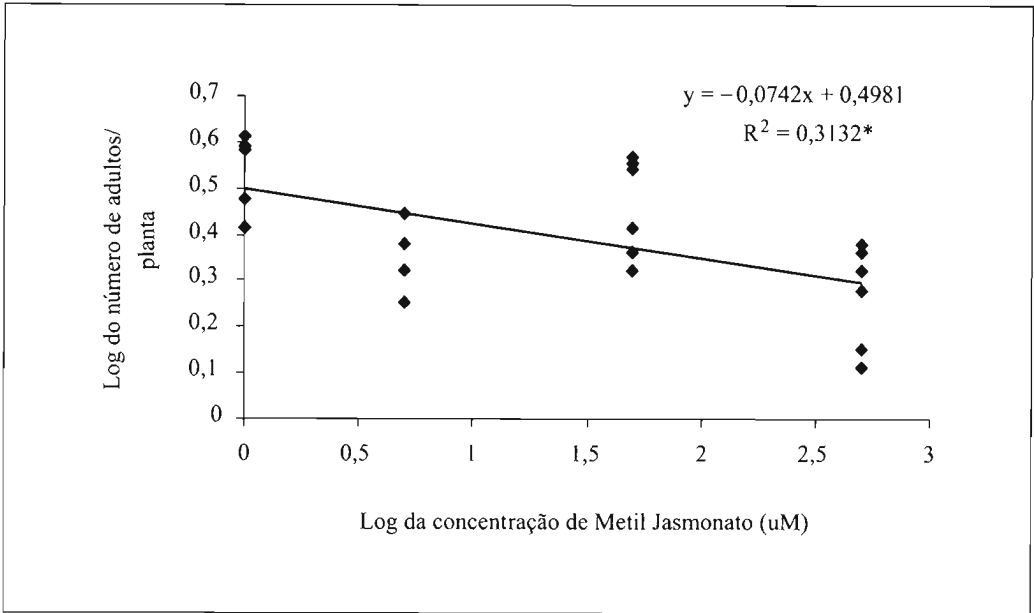


Figura 5. Número de adultos de *Glycaspis brimblecombei* presentes em mudas de clone híbrido "gracam" 3025 de *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus camaldulensis* tratados com diferentes concentrações de metil jasmonato (Temperatura $25,5 \pm 1,1$ °C, UR: $55,2 \pm 5,3$ % e fotofase: 13 h.). *significativo a 5% de probabilidade.

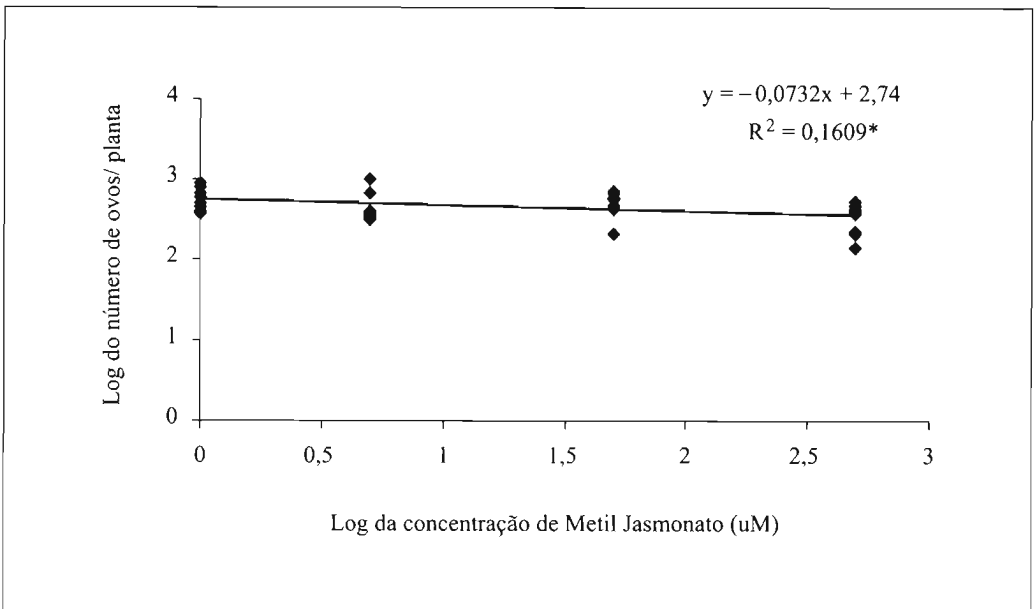


Figura 6. Número de ovos de *Glycaspis brimblecombei* colocados em mudas de clone híbrido "gracam" 3025 de *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus camaldulensis* tratados com diferentes concentrações de metil jasmonato (Temperatura $25,5 \pm 1,1$ °C, UR: $55,2 \pm 5,3$ % e fotofase: 13 h.). *significante a 5% de probabilidade.

ha. Segundo BOLTER (1993) concentrações baixas de MJ estimulam mais lentamente a produção de alguns inibidores, como os inibidores de proteinases em plantas de tomate, ou então, a baixa concentração utilizada estimula menor quantidade de compostos de resistência não sendo suficiente para repelir o inseto.

A maior concentração de MJ (500 μM) apresentou 1,7 adultos, em média, nos experimentos de preferência, sendo sempre duas vezes menor do que o número de adultos observados no tratamento testemunha. Esta concentração promove efeito repelente sobre os adultos do psílido-de-concha. Na concentração com 50 μM , o número de adultos presentes nas mudas não seguiu um padrão, provavelmente pelo fato desta concentração ser mais dependente do material no qual é aplicado ou do tempo que esta concentração necessita para começar a estimular a planta a produzir alguns compostos de resistência.

Com relação ao número de ovos observou-se que no experimento 1, onde os tratamentos ficaram separados entre si, a quantidade de ovos colocados foi dependente da concentração testada. Já para o experimento 2, onde plantas de todos os tratamentos foram colocadas agrupadas dentro de uma mesma gaiola, foi observado que os tratamentos com 50 μM e 500 μM de MJ não seguiram um padrão, sendo apenas os tratamentos testemunha e 5 μM de MJ semelhantes.

Desta forma, mais estudos devem ser realizados com outras concentrações, entre 50 μM e 500 μM e acima de 500 μM , a fim de avaliar o comportamento do psílido em relação às plantas tratadas com MJ. Entretanto, esses resultados preliminares indicam que o MJ é de fato, uma substância indutora de resistência em plantas de eucalipto ao psílido-de-concha, podendo reduzir infestações no campo e auxiliar o controle biológico.

RESUMEN

COUTO E. B., C. F. WILCKEN, F. B. SARRO, E. D. VELINI. 2007. Evaluacion de metil jasmonato en la induccion de resistencia de plantas de *Eucalyptus* spp. al psílido de los eucaliptos rojos *Glycaspis brimblecombei* Moore (Hemiptera: Psyllidae). *Bol. San. Veg. Plagas*, **33**: 563-573.

Como síntomas del ataque de *Glycaspis brimblecombei* se observan la decoloración de las hojas, reducción del área fotosintética y secado de los terminales, pudiendo causar la muerte de los árboles después de ataques sucesivos. Debido a la facilidad de dispersión y a los daños causados es considerado como una de las principales plagas del eucalipto. La inducción de resistencia, por la activación de inductores como el metil jasmonato (MJ), viene siendo estudiada intensamente en los últimos años, principalmente a través de la selección de genotipos con elevada capacidad de expresión de MJ. El presente trabajo tuvo como objetivo estudiar la inducción de resistencia a través de la aplicación exógena de metil jasmonato como forma alternativa para el control del psílido de los eucaliptos rojos. El trabajo fue realizado en condiciones de laboratorio, utilizando plántulas de la especie *Eucalyptus camaldulensis* y del clon híbrido de *E. grandis* x *E. camaldulensis* ("gracam" 3025). Se realizaron dos experimentos con aplicación de diferentes concentraciones de MJ (5, 50 e 500 μM) en plantas de eucalipto para evaluar el efecto en la preferencia y capacidad de oviposición de los adultos del psílido de los eucaliptos rojos. En el primer experimento se verificó que las mayores concentraciones afectaron algunos parámetros de la biología del psílido, siendo que el testigo presentó mayor número de huevos y, consecuentemente, un mayor número de adultos. En los dos experimentos de libre elección, independientemente del material genético, se observó la preferencia del insecto por las plantas no tratadas. Cuanto mayor la concentración de MJ, menor la cantidad de insectos en las plantas y un menor número de huevos en las hojas.

Palabras clave: eucalipto, inductores de resistencia, aplicación exógena, biología.

ABSTRACT

COUTO E. B., C. F. WILCKEN, F. B. SARRO, E. D. VELINI. 2007. Effect of methyl jasmonate applied on *Eucalyptus* plants to resistance induction to red gum lerp psyllid *Glycaspis brimblecombei* Moore (Hemiptera: Psyllidae). *Bol. San. Veg. Plagas*, **33**: 563-573.

The *Glycaspis brimblecombei* pest causes leaf fall, reduction of photosynthetic area and consequent reduction in plant growth and dieback, could carry the trees death, after successive defoliations. Due to the dispersion rates of this insect and the damages caused in eucalypt plantations, it is considered one of the eucalyptus main pests. The resistance induction, by elicitors activation, as methyl jasmonate (MJ) has been studied intensely in last years, mostly through the genotypes selection with high expression capacity of MJ. The work was accomplished in laboratory conditions, using young plants of *Eucalyptus camaldulensis* and of *E. grandis* x *E. camaldulensis* ("gracam" 3025) hybrid clone, being these materials chosen due the high susceptibility to the pest. It was accomplished two experiments with application of different MJ concentrations (5, 50 and 500 μM) in eucalyptus plants to verify the effect in red gum lerp psyllid adults preference and oviposition capacity. In the first experiment it was verified that the highest concentration affected some psyllid biology parameters, and control treatment presented larger egg number and, consequently, larger number of adults produced. In the two experiments with free chance choice, independently of genetic material, it was observed the insect preference by control plants. As larger MJ concentration, less adults and eggs occurred in the leaves.

Key words: Eucalypt, exogenous application, resistance inductors, biology.

REFERÊNCIAS

- BALDWIN, I. T. 1998. Jasmonate-induced responses are costly but benefit plants under attack in native populations. *Proceedings National Academic Science USA*, **95**: 8113-8118.
- BLACK, C. A.; KARBAN, R.; GODFREY, L. D.; GRANETT, J.; CHANEY, W. E. 2003. Jasmonic acid: A vaccine against leafminers (Diptera: Agromyzidae) in *Celery*. *Environmental Entomology*, **32**(5): 1196-1202.
- BOLTER, C. J. 1993. Methyl jasmonate induces papain inhibitor(s) in tomato leaves. *Plant Physiology*, v. 103, p. 1347-1353.
- CREELMAN, R. A.; MULLET, J. E. 1995. Jasmonic acid distribution and action in plants: Regulation during development and response to biotic and abiotic stress. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **92**: 4114-4119.
- CREELMAN, R. A.; MULLET, J. E. 1997. Biosynthesis and action of jasmonates in plants. *Annu. Rev. Physiol. Plant Mol. Biol.*, **48**: 355-381.
- DREISTADT, S. H.; GILL, R. J. 1999. Pest notes: Eucalyptus redgum lerp psyllid. University of California Agricultural Natural Resources Publications, 1-8. (<http://www.ipm.ucdavis.edu> - 11/12/2003)
- FIRMINO, D. C. Biologia do psilídeo-de-concha *Glycaspis brimblecombei* Moore (Hemiptera: Psyllidae) em diferentes espécies de eucalipto e em diferentes temperaturas. Botucatu, 2004, 49p. Dissertação (Mestrado em Proteção de Plantas) - Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista, 2004.
- FRANCESCHI, V.R.; KREKLING, T.; CHRISTIANSEN, E. 2002. Application of methyl jasmonate on *Picea abies* (Pinaceae) stems induces defense-related responses in phloem and xylem. *American Journal of Botany*, **89**(4): 578-586.
- GILL, R. J. 1998. New state records: Redgum lerp psyllid. *Glycaspis brimblecombei*. California Pest and Disease, p.7-8.
- HEJARI, J.; NERG, A. M.; KAINULAINEN, P.; VIIRI, H.; VUORINEN, M.; HOLOPAINEN, J. K. 2005. Application of methyl jasmonate reduces growth but increases chemical defence and resistance against *Hylobius abietis* in Scots pine seedlings. *Entomologia et Experimentalis et Applicata*, **115**: 117-124.
- LOURENÇO, M. V. 2003. Biotecnologia de plantas medicinais: Produção de biomoléculas. *Biológico*, São Paulo, **65**(fi): 63-65.
- MARSCHALEK, R. 2000. Resistência genética a insetos em espécies florestais: Revisão sobre o gênero *Eucalyptus*. Blumenau, Ed. FURB, 192 p.
- MARTIN, D.; THOLL, D.; GERSHENZON, J.; BOHLMANN, J. 2002. Methyl jasmonate induces traumatic resin ducts, terpenoid resin biosynthesis and terpenoid accumulation in developing xylem of Norway spruce stems. *Plant Physiology*, **129**: 1003-1018.
- MARTIN, D.; THOLL, D.; GERSHENZON, J.; BOHLMANN, J. 2003. Induction of volatile terpene biosynthesis and diurnal emission by methyl jasmonate in foliage of Norway Spruce. *Plant Physiology*, **132**: 1586-1599.
- MILLER, B.; MADILAO, L. L.; RALPH, S.; BOHLMANN, J. 2005. Insect-induced conifer defense. White Pine Weevil and methyl jasmonate induce traumatic resinosis and volatile emissions, and accumulation of terpenoid synthase and putative octadecanoid pathway transcripts in Sitka Spruce. *Plant Physiology*, **137**: 369-382.
- PANDA, N.; KHUSH, G. S. 1995. Host plant resistance to insects. Wallingford: CAB International, 431 p.

- PEDIGO, L. P. Plant Resistance to Insects. cap. 12, 1996. In: PEDIGO, L.P. Entomology and Pest Management. 2nd. Ed. Upper Saddle River: Prentice-hall Inc. 421-453.
- RIVARD, D.; CLOUTIER, C.; MICHAULD, D. 2004. Colorado potato beetles show differential digestive compensatory responses to host plants expressing distinct sets of defense proteins. *Archives of Insects Biochemistry and Physiology*, **55**: 114-123.
- SÁ, L. A. N.; WILCKEN, C. F. 2004. Nova praga exótica no ecossistema florestal. Embrapa Meio Ambiente. Comunicado Técnico. *Embrapa Meio Ambiente*, **18**: 3.
- THALER, J. S.; FIDANTSEF, A. L.; DUFFEY, S. S.; BOSTOCK, R. M. 1999. Trade-off in plant defense against pathogens and herbivores: A field demonstration of chemical elicitors of induced resistance. *Journal of Chemical Ecology*, **25**(7): 1597-1609.
- THALER, J. S.; STOUT, M. J.; KARBAN, R.; DUFFEY, S. S. 2001. Jasmonate-mediated induced plant resistance affects a community of herbivores. *Ecological Entomology*, **26**: 312-324.
- TRAPP, S.; CROTEAU, R. 2001. Defensive resin biosynthesis in conifers. *Annual Rev. Plant Physiology - Plant Molecular Biology*, **52**: 689-724.
- VENDRAMIN, D. J. 1990. A resistência de plantas ao manejo de pragas. In: CROCOMO, W.B. Manejo Integrado de Pragas. Botucatu, SP: Editora Universidade Estadual Paulista; São Paulo: CETESB, 177-197.
- VERPOORTER, R.; MEMELINK, J. 2002. Engineering secondary metabolite in plants. *Current Opinion in Biotechnology*, **13**: 181-187.
- WILCKEN, C. F.; COUTO, E. B.; ORLATO, C.; FERREIRA FILHO, P. J.; FIRMINO, D. C. 2003. Ocorrência do psilídeo-de-concha (*Glycaspis brimblecombei*) em florestas de eucalipto no Brasil. Circular Técnica Ipef. 201:1-11. (<http://www.ipef.br/publicacoes/ctecnica-23/01/2004>)

(Recepción: 16 abril 2007)

(Aceptación: 29 octubre 2007)

Avaliação de inseticidas para o controle de *Frankliniella rodeos* (Moulton, 1933) (Thysanoptera: Thripidae) em uva de mesa no Brasil

M. BOTTON, A. NONDILLO, M. ZART, S. PINENT, W. GENTA

Os trips são considerados uma das principais pragas da videira, com destaque para as destinadas ao consumo in natura. Como o monitoramento da praga é de grande importância para a tomada de decisão na cultura, foram comparados dois métodos de amostragens para trips em videira: o método da batida da inflorescência em bandeja; e o ensacamento da inflorescência com posterior contagem sob estereomicroscópio. Devido a falta de informações sobre inseticidas eficazes para o controle do inseto na cultura, foi conduzido um experimento visando avaliar o efeito do cloridrato de formetanato (Dicarzol 500 SP a 75 e 100g/100L) com e sem adição de 1% de açúcar, fentiona (Lebaycid 500 CE, 100mL/100L), acefato (Orthene 750 BR, 100g/100L), bifentrina (Talstar 100 CE, 50g/100L) e spinosad (Tracer 480 SC, 20 g/100L). O trabalho foi realizado em vinhedo comercial da cultivar Itália (*Vitis vinifera*), situado em Marialva, PR. Para o monitoramento de trips em videira não houve diferença entre os métodos comparados. Dos insetos coletados na área experimental, 98% dos exemplares foram identificados como *Frankliniella rodeos* seguidos por *F. gardeniae* (2%). Na avaliação realizada 24 e 72 HAA, todos os inseticidas e doses avaliadas foram eficazes no controle do inseto resultando numa redução na infestação em níveis acima de 90%. A partir de 96 HAA, o inseticida cloridrato de formetanato em todas as doses e o acefato mantiveram o controle do inseto em níveis superiores a 90%, enquanto que o fentiona, spinosad e bifentrina proporcionaram um controle de 85,7, 81 e 81%, respectivamente, sem haver diferença significativa entre produtos e doses. Não foi observado efeito sinérgico no controle de *F. rodeos* com a adição de açúcar ao formetanato.

M. BOTTON. Embrapa Uva e Vinho, Rua Livramento 515, C.Postal 130, CEP: 95700-000, Bento Gonçalves, RS. E-mail: marcos@cnpuv.embrapa.br.

A. NONDILLO. Laboratório de Biologia e Ecologia de Insetos - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil.

M. ZART. Depto Fitossanidade - Universidade Estadual Paulista (FCAV/UNESP), Jaboticabal, São Paulo, Brasil.

S. PINENT. Laboratório de Biologia e Ecologia de Insetos - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil.

W. GENTA. Plantas Planejamento e Assistência Técnica Agropecuária, Marialva, PR, Brasil.

Palavras-chave: Manejo integrado de pragas, controle químico, piretróides, formetanato, naturalyte, fosforados.

INTRODUÇÃO

Os trips pertencem à ordem Thysanoptera, são insetos minúsculos, cujos adultos medem de 0,5 a 15 mm de comprimento

(MOUND & MARULLO, 1996). Quase todas as espécies são fitófagas, sugadoras de seiva, atuando também como predadoras, polinizadoras e/ou fungívoras (MOUND & MARULLO, 1995). Nas espécies fitófagas a reprodução é

geralmente sexuada com posturas realizadas endofiticamente. Dos ovos eclodem as larvas que passam por dois estágios, que alimentam-se intensamente e dois de relativa inatividade (pré-pupa e pupa), de onde emergem os adultos (LEWIS, 1973).

Os tripses são importantes pragas da videira cultivada em diferentes países (GONZALES, 1983; MCNALLY *et al.*, 1985; GUERRA-SOBREVILLA, 1989; MOLEAS & ADDANTE, 1995). No Brasil, embora faltem estudos sistemáticos nas diferentes regiões produtoras, as espécies associadas à cultura da videira são *Frankliniella occidentalis* (LOPES *et al.*, 2002), *Selenotrips rubrocintus* (HAJI & ALENCAR, 2000), *Heliethrips haemorrhoidalis* e *Retithrips syriacus* (BOTTON *et al.*, 2005).

O dano causado pelos tripses é mais importante em uvas de mesa, principalmente quando ocorrem altas infestações no período de floração (HAJI *et al.*, 2001; LOPES *et al.*, 2002; NALI *et al.*, 2004; BOTTON *et al.*, 2005). Na cultivar Niagara Rosada (*Vitis labrusca*), adultos e imaturos alimentam-se do pólen e bagas em formação, acarretando posteriormente cicatrizes escuras e suberizadas nas bagas, com rachaduras e prolapso das sementes, resultando na depreciação comercial dos cachos (LOPES *et al.*, 2002). Na uva Itália (*Vitis vinifera*) o dano decorre da oviposição nas bagas logo após a floração, provocando o sintoma conhecido como mancha areolada (BOTTON *et al.*, 2005).

Para o manejo do inseto, o método mais empregado pelos produtores tem sido o controle químico (HAJI & ALENCAR, 2000; LOPES *et al.*, 2002; NALI *et al.*, 2004, BOTTON *et al.*, 2005) aplicado com base no monitoramento realizado durante a floração da videira. Para tal, as inflorescências e/ou cachos são batidos sobre uma superfície branca (papel ou bandeja plástica) visando avaliar a população (HAJI *et al.*, 2001). Quando 20% dos cachos apresentarem em média dois ou mais tripses por inflorescência, o controle químico é recomendado (HAJI *et al.*, 2002).

Embora experimentos tenham sido conduzidos para avaliar inseticidas químicos e

naturais no controle dos tripses da videira no Brasil (LOPES *et al.*, 2002; NALI *et al.*, 2004), nenhum produto está atualmente registrado para o controle da praga na cultura (AGROFIT, 2007). A falta de inseticidas específicos deve-se a reduzida eficácia dos produtos avaliados (LOPES *et al.*, 2002; NALI *et al.*, 2004), a atividade biológica diferenciada dos compostos dependendo da espécie que ocorre no vinhedo e ao pequeno mercado que resulta em baixo volume de vendas, não justificando economicamente o desenvolvimento de novos inseticidas pelas empresas.

Neste trabalho foi avaliado o efeito de inseticidas para o controle de tripses na cultura da videira e comparado métodos de amostragem para estimar a população nas inflorescências.

MATERIAL E MÉTODOS

Área de estudo

O experimento foi conduzido em vinhedo comercial da cultivar Itália (*Vitis vinifera*) localizado em Marialva, PR (latitude: -23°29'06" S, longitude: -51°47'30" W e altitude 670 metros), em fevereiro de 2006. O parreiral foi implantado em 1994, no espaçamento de 6 x 5 m e conduzido no sistema de latada com todos os tratos culturais seguindo-se as recomendações para a cultura na região.

Métodos de amostragem

Para amostrar os tripses nas inflorescências foram avaliadas as técnicas de batida e do ensacamento, esta última conforme proposto por LEWIS (1973). A amostragem pela batida das inflorescências foi efetuada em bandeja plástica branca (20cm x 12cm x 5cm) com a contagem direta dos tripses. Para a avaliação do método do ensacamento, as inflorescências foram individualizadas em sacos plásticos transparentes, com posterior contagem total dos insetos utilizando estereomicroscópio biocular (10x). Foram avaliadas em cada repetição duas inflorescências com no mínimo 50% das flores abertas, para cada tipo de amostragem. Os trips coletados

foram acondicionados em álcool 60% para posterior montagem em lâmina, segundo MOUND & MARULLO (1996) e identificados conforme MONTEIRO (1999) pela especialista Sílvia Maria Jansen Pinent. Espécies testemunhas estão depositadas na Coleção de Referência do Laboratório de Biologia e Ecologia de Insetos da Faculdade de Agronomia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS, Porto Alegre, RS.

O número médio de tripes por inflorescência nos dois métodos de amostragem foram comparados pelo teste t ($P \leq 0,5$).

Experimento visando ao controle de tripes no campo

Os inseticidas e doses avaliadas foram: 1) Dicarzol 500 SP (cloridrato de formetanato), 75 g /100 L de água; 2) Dicarzol 500 SP (cloridrato de formetanato), 75 g + 1.000 g de açúcar/100 L de água; 3) Dicarzol 500 SP (cloridrato de formetanato), 100 g/100 L de água; 4) Dicarzol 500 SP (cloridrato de formetanato), 100g + 1.000 g de açúcar/100 L de água; 5) Lebaycid 500 (fentiona), 100 ml/100 L de água; 6) Orthene 750 PS (acefato) 100g/100L de água; 7) Tracer 480 SC (spinosad) 20 g/100L de água; 8) Talstar 100 CE (bifentrina) 50g/100L de água; e 9) testemunha (sem aplicação). O experimento foi conduzido utilizando-se cinco repetições por tratamento, sendo cada parcela experimental composta por uma planta numa área útil de 30 m². O delineamento experimental foi o de blocos ao acaso.

Previamente a aplicação dos inseticidas, a população de tripes por inflorescência foi avaliada em dois cachos por parcela com no mínimo 50% de flores abertas utilizando o método da batida.

Os inseticidas foram aplicados com auxílio de um pulverizador costal (Jacto Pjh) com capacidade para 20 litros empregando-se um volume de calda de 600 L/ha. Para avaliar o efeito dos inseticidas na população dos tripes foram realizadas três avaliações amostrando-se pelo método da batida duas inflorescências por parcela 24, 72 e 96 horas após a aplicação (HAA).

A análise estatística foi realizada transformando-se o número médio de tripes por inflorescência em raiz de $(x + 0,5)$, comparando-se as médias pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). A eficiência dos produtos foi calculada pela fórmula de ABBOTT (1925).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Métodos de coleta

Quando foi empregado o método da batida, o número médio de tripes por inflorescência foi maior (1,73) que o obtido no ensacamento (1,42) porém, sem apresentar diferenças significativas pelo teste t ($p < 0,05$). Desta forma, o método da batida pode ser usado no monitoramento do tripes na videira proporcionando uma avaliação absoluta da população nas inflorescências. Embora não tenha havido diferença significativa na comparação das médias populacionais entre as duas metodologias, o método da batida foi adotado no experimento pela maior praticidade o que também é recomendado por HAJI *et al.* (2001) para a mesma cultura. Do total de tripes coletados na área experimental durante a pré-amostragem (142), 98% dos exemplares foram identificados como sendo *Frankliniella rodeos*, seguido por *Frankliniella gardeniae* (2%), indicando ser a primeira a espécie predominante no vinhedo e a responsável por danos na cultura. *F. rodeos* também foi encontrada danificando cucurbitáceas (MONTEIRO, 1999) e descrita como praga em soja e arroz (AGROFIT, 2007), enquanto que *F. gardeniae* está frequentemente associada a flores de citrus em São Paulo (MONTEIRO, 1999).

Experimento de campo visando o controle de tripes

Na pré-amostragem, não foram observadas diferenças significativas na população de tripes nas inflorescências colhidas nas diferentes parcelas, indicando uma uniformidade de infestação da praga no parreiral (Tabela 1). Nesta avaliação foram observados somente indivíduos adultos de trips no moni-

toramento, o que pode indicar a provável migração destes insetos provenientes de plantas hospedeiras localizadas próxima e/ou interior do parreiral, para as flores da videira durante a floração.

Após a aplicação dos produtos, em todas as avaliações foram observadas diferenças significativas na população de tripes nas inflorescências que receberam o tratamento com inseticidas quando comparado com a testemunha (Tabela 1).

Na primeira e segunda avaliação realizadas 24 e 72 HAA, todos os inseticidas e doses avaliadas foram eficazes no controle de *F. rodeos*, o que resultou numa redução na população de tripes em níveis acima de 90% quando comparados ao tratamento testemunha (Tabela 1). À partir da terceira avaliação (96 HAA), o cloridrato de formetanato nas duas doses avaliadas (com e sem a adição de açúcar) e o acefato (100g/100L) mantiveram o controle do inseto em níveis superiores a 90% enquanto que o fentiona (100 ml/100 L), spinosad (20 g/100L) e bifentrina (50g/100L) proporcionaram um controle de 85,7, 80,95 e 80,95% respectivamente, sem haver diferença significativa entre produtos e doses (Tabela 1). A adição de açúcar à calda do cloridrato de formetanato, recomendado pelo fabricante, resultou num controle numericamente superior a aplicação isolada do produto, porém, não foram observadas diferenças significativas entre as doses e o atrativo (Tabela 1).

Neste trabalho foi utilizado o inseticida fentiona como padrão de comparação, já que não existem produtos registrados para o controle de tripes na cultura da videira. Entretanto, a constatação de que o cloridrato de formetanato, com registro no Brasil para o controle de *T. tabaci* em cebola e *T. palmi* em crisântemo e tomate, e o spinosad, com registro para o controle de *F. schultzei* em algodão e *F. occidentalis* em crisântemo, são eficazes no controle de *F. rodeos* na cultura da videira, permite ampliar as alternativas para o manejo da praga.

Visto que a fentiona é indicada para o controle de mosca-das-frutas *Ceratitis capi-*

Tabela 1. Número de adultos de *Frankliniella rodeos* por inflorescência (N ± EP) e controle (% C) obtido em diferentes dias após tratamento (DAT) de inseticidas na cultura da videira, Marialva, PR, 2006.

	Dose ²	Pré-Amostragem			1 DAT		3 DAT		4 DAT	
		i.a.	p.c.	N	N	%C ⁴	N	%C	N	%C
formetanato	37,5	75	4,4 ± 0,60 a A ³	0,0 ± 0,00 b A	100	0,2 ± 0,20 b A	95,45	0,4 ± 0,24 b A	90,84	
formetanato	50	100	4,2 ± 0,58 a A	0,0 ± 0,00 b A	100	0,0 ± 0,00 b A	100	0,2 ± 0,20 b A	95,24	
formetanato ¹	37,5	75	4,6 ± 0,75 a A	0,0 ± 0,00 b A	100	0,2 ± 0,20 b A	95,45	0,4 ± 0,40 b A	90,48	
formetanato ¹	50	100	4,2 ± 0,58 a A	0,0 ± 0,00 b A	100	0,2 ± 0,00 b A	100	0,2 ± 0,20 b A	95,24	
fentiona	50	100	4,0 ± 0,71 a A	0,4 ± 0,24 b A	91,67	0,4 ± 0,24 b A	90,91	0,6 ± 0,24 b A	85,71	
acefato	75	100	4,6 ± 0,75 a A	0,0 ± 0,00 b A	100	0,0 ± 0,00 b A	100	0,2 ± 0,20 b A	95,24	
spinosad	9,6	200	4,4 ± 0,60 a A	0,3 ± 0,20 b A	93,75	0,2 ± 0,20 b A	95,45	0,8 ± 0,37 b A	80,95	
bifentrina	5	50	4,2 ± 0,73 a A	0,1 ± 0,10 b A	97,92	0,4 ± 0,24 b A	90,91	0,8 ± 0,37 b A	80,95	
Testemunha	-	-	4,0 ± 0,32 a A	4,8 ± 0,86 a B	-	4,4 ± 0,40 a B	-	4,2 ± 0,97 a B	-	

¹ Associado a 1% de açúcar cristal;

² Gramas ou ml de ingrediente ativo (i.a.) ou produto comercial (p.c.) por 100L de água;

³ Médias seguidas pelas mesmas letras, minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas, não diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05);

⁴ Mortalidade corrigida por Abbott (ABBOTT, 1925).

tata no período de maturação dos frutos (AGROFIT, 2007) e a bifentrina para o ácaro-rajado *Tetranychus urticae* na cultura, seria interessante como estratégia no controle químico o uso de outros ingrediente ativos, o que permite a rotação de produtos.

Embora o inseticida acefato não possua registro para a cultura da videira no Brasil, o produto é indicado para o controle de *F. rodeos* em soja (AGROFIT, 2006), embora empregando-se doses superiores à usada no experimento.

CONCLUSÕES

O método da batida em bandeja é equivalente a contagem absoluta dos indivíduos para amostrar tripses em inflorescências de videira.

Os inseticidas Dicarzol 500 SP (cloridrato de formetanato), Lebaycid 500 (fentiona), Orthene 750 PS (acefato), Tracer 480 SC (spinosad) e Talstar 100 CE (bifentrina) são eficientes no controle de *Frankliniella rodeos* em videira da cultivar 'Itália'.

RESUMEN

BOTTON M., A. NONDILLO, M. ZART, S. PINENT, W. GENTA. 2007. Evaluación de los insecticidas químicos para controlar *Frankliniella rodeos* (Moulton, 1933) (Thysanoptera: Thripidae) en uvas de tabla en el Brasil. *Bol. San. Veg. Plagas*, 33: 575-580.

Los trips son considerados una de las principales plagas de la vid, en especial, de las uvas de mesa. Ya que el monitoreo de la plaga es muy importante se compararon dos métodos de muestres: el método del movimiento de la inflorescencia en bandeja y el ensacamento de la inflorescencia con evaluación debajo de estereomicroscopio. Debido a la falta de informaciones sobre insecticidas eficaces para el control del insecto en viñedos, se condujo un experimento con el objeto de evaluar el efecto del formetanato (Dicarzol 500 SP a 75 y 100g/100L) con y sin adición de 1% de azúcar, fentiona (Lebaycid 500 CE, 100mL/100L), acefato (Orthene 750 BR, 100g/100L), bifentrina (Talstar 100 CE, 50g/100L) e spinosad (Tracer 480 SC, 20g/100L). El trabajo fue realizado en viñedo comercial del cultivar Italia (*Vitis vinifera*), situado en Marialva, PR. Para el monitoreo de tripses en vid no había diferencia entre los métodos comparados. De entre los insectos colectados en la área comercial, 98% de los ejemplares fueron identificados como *Frankliniella rodeos* seguidos por *F. gardeniae* (2%). La evaluación realizada a las 24 y 72 hrs, indicó que todos los insecticidas y dosis evaluados fueron eficaces en el control del insecto, resultando en una reducción de la infestación en niveles arriba de 90%. A partir de las 96hrs, los insecticidas formetanato y el acefato mantuvieron niveles de control del insecto superiores a 90% en cuanto que el fenthion, spinosad y bifentrina proporcionarían un control, de 85,7, 81 y 81%, respectivamente, sin haber diferencia significativa entre productos y dosis. No se observó efecto sinérgico en el control de *F. rodeos* con la adición de azúcar al formetanato.

Palabras clave: Manejo integrado de plagas, control químico, piretróides, formetanato, naturalyte, fosforados.

ABSTRACT

BOTTON M., A. NONDILLO, M. ZART, S. PINENT, W. GENTA. 2007. Evaluation of chemical insecticides to control *Frankliniella rodeos* (Moulton, 1933) (Thysanoptera: Thripidae) in table grapes in Brazil. *Bol. San. Veg. Plagas*, 33: 575-580.

The thrips are one of the most important pests associated with vineyards in Brazil, mainly in table grapes. To the monitoring of the pest is of great importance for the taking of decision in the culture, two methods of samplings for trips in grapevine had been compared: the method of the stroke of the inflorescence in tray; and another the bagging of the inflorescence with after counting under stereomicroscope. Due the absence of information on insecticides to control the insect in the culture, an experiment was conducted with the objective of evaluate the effect of formetanato (Dicarzol 500 SP a 75 and 100g/100L) with and without addition of 1% of sugar, fentiona (Lebaycid 500 CE,

100mL/100L), acefato (Orthene 750 BR, 100g/100L), bifentrina (Talstar 100 CE, 50g/100L) and spinosad (Tracer 480 SC, 20 g/100L). The trial was conducted in a commercial vineyard of Italy table grape (*Vitis vinifera*) in Marialva, PR. To the monitoring of trips in grapevine it didn't have difference between the comparative methods. Of all insects collected in the experimental area, 98% was identified as *Frankliniella rodeos* and 2% as *Frankliniella gardeniae*, being the first one responsible for the damages in the culture. All insecticides were effective in reducing thrips infestation 72 hours after spraying, resulting in levels next to 90% of control. After 96 hours, formetanato and acefato controlled the insect in levels higher than 90% whereas fenitrothion, spinosad and bifentrina provided a control of 85,7, 81 and 81%, respectively. It was not observed synergic effect in the control of *F. rodeos* with the addition of sugar to the formetanato.

Key words: Integrated pest management, chemical control, piretróides, formetanato, naturalyte, fosforados.

REFERÊNCIAS

- ABBOTT, W. S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *J. Econ. Entomol.*, **18**: 265-267.
- AGROFIT. 2006. Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários. Brasília, DF: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Disponível em: <http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em: 30 jan. 2006.
- AGROFIT. 2007. Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários. Brasília, DF: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Disponível em: <http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em: 15 mar. 2007.
- BOTTON, M., HICKEL, E. R., SORIA, S. DE J. 2003. Pragas. In: FAJARDO, T. V. M. (Ed.). Uvas para processamento: fitossanidade. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 82-107.
- BOTTON, M., HAJI, N. P., HICKEL, E. R., SORIA, S. DE J. 2005. *Cachos Arruinados. Cultiv. HF*, **34**:1-6.
- GONZALEZ, R. H. 1983. Manejo de plagas de la vid. Santiago. Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias, Veterinarias y Forestales, (Publicaciones en Ciencias Agrícolas, n.13) 132.
- GUERRA-SOBREVILLA, L. 1989. Effectiveness of aldicarb in the control of the western flower thrips, *Frankliniella occidentalis* (Pergande), in table grapes in Northwestern Mexico. *Crop Prot.*, **8**: 277-279.
- HAJI, F. N. P., ALENCAR, J. A. 2000. Pragas da videira e alternativas de controle. In: LEÃO, P. C. de S., SOARES, J. M. (Ed.). A Viticultura no semi-árido brasileiro. Petrolina: Embrapa Semi-árido, 273-291.
- HAJI, F. N. P., MOREIRA, A. N., FERREIRA, R. C. F., LOPES, L. M. DA M., ALENCAR, J. A. DE, BARBOSA, F. R. 2001. Monitoramento e determinação do nível de ação para tripses na cultura da uva. Petrolina: Embrapa Semi Árido, 8.
- HAJI, F. N. P., ALENCAR, J. A. DE, BARBOSA, F. R. 2002. Pragas. In: LIMA, M. F., MOREIRA, W. A. (Ed.) Uva de Mesa: Fitossanidade. Brasília, 53-63.
- LEWIS, T. 1973. Thrips: their biology, ecology, and economic importance. London: Academic Press, 349.
- LOPES, R. B., TAMAI, M. A., ALVES, S. B., NETO, S. S., SALVO, S. DE. 2002. Occurrence of thrips on niagara table grape and its control with the insecticides thiacloprid and methiocarb associated with *Metharrizium anisopliae*. *Rev. Bras. Frutic.*, **24** (1):269-272.
- MCNALLY, P. S., FOGG, C., FLYNN, J., HORENSTEIN, J. 1985. Effects of thrips (Thysanoptera: Thripidae) on shoot growth and berry maturity of "Chenin Blanc" grapes. *J. Econ. Entomol.*, **78** (1):69-72.
- MOLEAS, T., ADDANTE, R. 1995. Western flower thrips on table grapes in Southern Italy. In: PARKER, B. L., SKINNER, M., LEWIS, T. Thrips biology and management, 575-578.
- MONTEIRO, R. C. 1999. Estudos taxonômicos de tripses (Thysanoptera) constatados no Brasil, com ênfase no gênero *Frankliniella*. Tese de Doutorado em Agronomia, Escola Superior de Agronomia Luis de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 144.
- MOUND, L. A., MARULLO, R. 1996. The thrips of Central and South America: an introduction (Insecta: Thysanoptera). Florida: Associated Publishers, 487.
- MOUND L. A., TEULON, D. A. J. 1995. Thysanoptera as phytophagous opportunists. In: PARKER, B. L., SKINNER, M., LEWIS, T. (Ed.) Thrips biology and management. New York: Plenum Publishing Corporation, 3-20.
- NALI, L. R., BARBOSA, F. R., CARVALHO, C. A. L., SANTOS, J. B. C. DOS. 2004. Eficiência de inseticidas naturais e thiamctoxam no controle de tripses em videira e seletividade para inimigos naturais. *Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente*, **14**: 103-108.

(Recepción: 18 mayo 2007)

(Aceptación: 21 septiembre 2007)

El establecimiento de una cartografía de algunas plagas de la remolacha azucarera de la región del Gharb en Marruecos

J. SNAIKI, A. NADIF, M. OUHSSINE

Marruecos es uno de los raros países en la cuenca mediterránea en el que deben cultivarse las dos plantas azucareras: remolacha y caña de azúcar. Estos cultivos se introdujeron para satisfacer la necesidad surgida del consumo de azúcar, valorado como el más elevado a escala internacional. El desarrollo de la remolacha azucarera en el perímetro del Gharb generó una proliferación de parásitos y agentes patógenos que afectaban a este cultivo a lo largo de su ciclo. En este trabajo se intenta establecer una cartografía de algunas plagas de este cultivo en las tres principales zonas productoras de remolacha (Sidi Allal Tazi, Mechraâ Bel Ksiri, y Sidi Slimane) de la región del Gharb en Marruecos.

J.SNAIKI, M. OUHSSINE. Université Ibn Tofail, Faculté des Sciences, Département de Biologie, Kenitra (Maroc). E-mail : snjaafar@yahoo.fr
A. NADIF. ORMVAG/CTCS, BP/79, Kenitra (Maroc)

Palabras clave: plantas azucareras, Cassida, parásitos.

INTRODUCCIÓN

Inmediatamente después de su independencia, Marruecos decidió desarrollar su industria azucarera mediante la implantación de los cultivos de remolacha azucarera a principios de los años sesenta y de caña de azúcar a principios de los años setenta. El objetivo era alcanzar la autosuficiencia en azúcar, producto ampliamente consumido por la población marroquí y cuya necesidad como materia de primera necesidad no deja de aumentar con el paso del tiempo.

El cultivo de la remolacha azucarera se localiza en los grandes perímetros irrigados del Ghrab, Lokkos, Doukkala, Tadla y Moulouya. La producción nacional de azúcar se sitúa en 460000 toneladas aproximadamente, 80% de las cuales a partir de la remolacha. Cubre el 47% de las necesidades interiores del consumo de este producto. El com-

plemento está garantizado por las importaciones, que ascienden actualmente a 550000 toneladas (M.A.D.R.E.F., 2006).

La región del Gharb comprende tres principales zonas productoras de remolacha, Sidi Slimane, Machraa Bel Kasiri y la zona de Sidi Allal Tazi. Produce un 25,5% de la totalidad de la producción nacional, es decir, 763712T, ocupando alrededor de un 30% de la superficie reservada a la remolacha. Sin embargo, la producción en esta región se caracterizó estos últimos años por una reducción del rendimiento, que pasó de 49,5T/Ha. en 1999 a 45,5T/Ha. en 2004, a pesar del aumento de la superficie cultivada, que pasó de 13679Ha. en 1999 a 17000 en 2005.

Entre los insectos, las orugas de distintas especies de noctuidos atacan las jóvenes plantas de remolacha de siembra precoces (siembra de septiembre y octubre) y son la causa de la reducción de asentamientos. De

Cuadro 1. CDA visitados en las prospecciones en la zona de acción de las Azucareras del grupo SUNABEL en la región del Gharb

Azucareras	Centros de Desarrollo Agrícola
M.B. Ksiri	241-242-247-224-226-223-222-221-DPA2202
S.A.Tazi	225-231-233-243-244-245-235-234-237-236
S.Slimane	211-212-213-214-216-217-218-246

vez en cuando, tómulas y gusanos blancos causan daños en los campos de remolachas. En invierno, en el caso de suelos pesados y húmedos de la zona costera del Gharb, las jóvenes plántulas de remolacha pueden ser dañadas tanto por las babosas que la resiembra es a menudo necesaria (AKALACH *et al.*, 1999). Se encuentran también galerías cavadas en la raíz por las larvas de *Cleonus mendicus* (*Conorrhynchus mendicus*). Mientras que la cassida (*Cassida vittata*) se convirtió en la plaga temible que debe combatirse. Hace su aparición regularmente al final del invierno, en el Gharb. Las pérdidas de rendimiento son considerables.

MATERIAL Y MÉTODOS

El seguimiento de la situación fitosanitaria de la remolacha azucarera

El seguimiento de la situación fitosanitaria de la remolacha azucarera en plena vegetación se realizó en colaboración con los responsables de las azucareras del Centro Téc-

nico de los Cultivos Azucareros del ORM-VAG (Office Régional de la Mise en Valeur Agricole du Gharb). Las observaciones se refirieron a 60 parcelas de agricultores.

Distribución de las parcelas prospectadas

Se observaron sesenta parcelas de agricultores durante el ciclo vegetativo de la remolacha. Estas parcelas se distribuían sobre toda la zona de acción del ORMVAG. Obviamente la prioridad se concedió a los CDA (*Centros de Desarrollo Agrícola*) donde las superficies remolacheras son más importantes.

La elección de las parcelas de seguimiento se hizo según el reparto administrativo realizado por el grupo de azucareras y que delimita la zona de acción de cada azucarera. En efecto, la programación de la superficie sembrada de remolacha azucarera está bajo la responsabilidad de tres azucareras. El SUNAG de Mechraâ Bel ksiri que administra el sector de Mechraâ Bel Ksiri, el

Cuadro 2. Problemas fitosanitarios causados por las plagas en las parcelas examinadas de las tres zonas de producción

Zonas	Período de prospecciones	Parcelas examinadas	Plagas	Parcelas atacadas	Incidencia Media (%)	Severidad (%) o N de individuos
Mechraâ Bel Ksiri	Du 4 Février Au 15 Mars	17	Cassida	15	69,52	De 0 à 4,9
		24	Cassida Pulgón	17 10	62,5 25,3	De 0 à > 14 Colonias
Sidi Allal Tazi	Du 25 Mars Au 22 Avril		negro	5	5	1
			Cleonus Caracoles	5	11	De 0,4 à 2
Sidi Slimane	Du 26 Avril Au 02 Mai	21	Cassida	21	62,5	De 0 à > 14
			Caracoles	38	10,62	De 1 à 3
			Pulgón negro	10	19	Colonias
			Cleonus	10	14,5	De 1 à 2

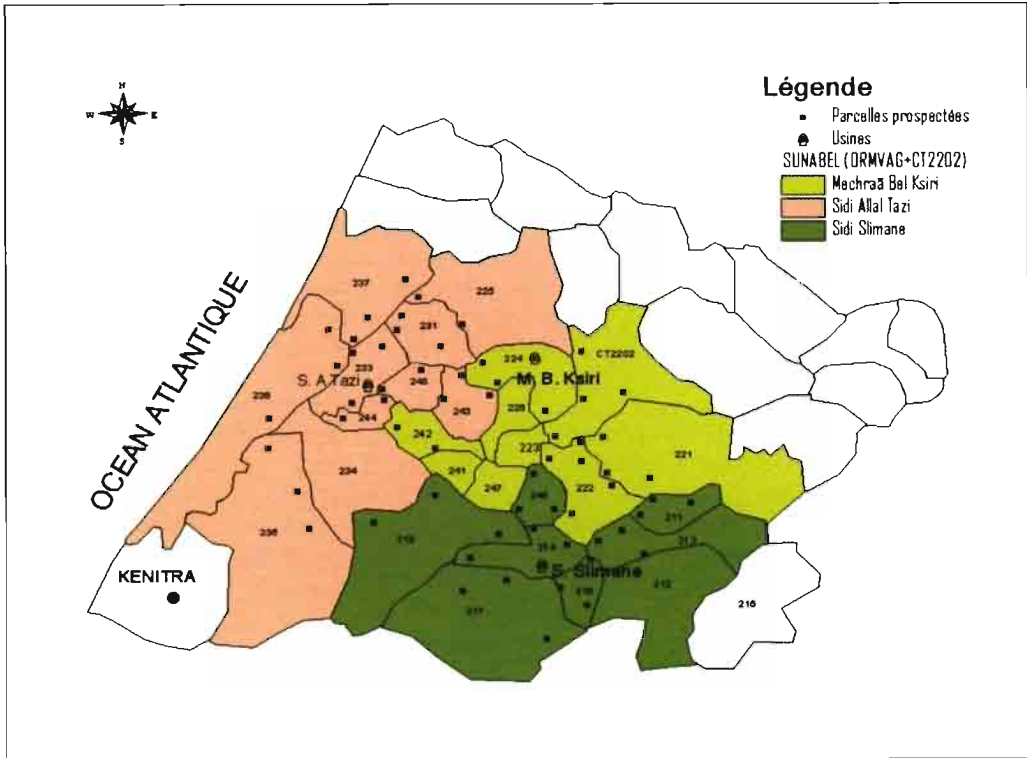


Figura 1. Distribución de las parcelas prospectadas en la región del Gharb.

SUNAG de Sidi Allal Tazi que encuadra la zona de Sidi Allal Tazi y la azucarera de Sidi Slimane que administra la zona de Sidi Slimane. El Cuadro 1 muestra los CDA visitados en la zona de acción de cada azucarera y la Figura 1 muestra las parcelas examinadas.

Recuento de las plagas y estimación de sus daños

El seguimiento de las plagas en las parcelas fue realizado por la observación visual de plantas de remolacha (50 plantas por parcela) tomadas aleatoriamente zigzagueando en la parcela prospectada. El objetivo es tener en cuenta la presencia o la ausencia de plagas. Se hizo un recuento de individuos de cada especie de plagas sobre diez plantas elegidas aleatoriamente, con el fin de cuantificar el nivel de población y compararlo con el límite máximo de intervención químico

posible informado por estudios previos contra la plaga en cuestión. Simultáneamente se realizó una estimación de los daños sobre una decena de hojas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En este se trabajo se intenta reunir el máximo de datos, con el fin de tener una idea más cercana sobre la situación fitosanitaria actual de la región del Gharb (Cuadro 2). La zona de Mechraâ Bel Ksiri parece estar menos infestada por las plagas en relación con las zonas de Sidi Allal Tazi y Sidi Slimane. Esto puede explicarse por el hecho de que las prospecciones en esta zona comenzaron pronto (4 de febrero). Durante este período las condiciones climáticas no eran favorables al desarrollo de las plagas. Por el contrario, a partir del 25 de marzo, se pudo

observar la presencia de una gama bastante diversificada de organismos nocivos, tanto en la zona de Sidi Allal Tazi como en la zona de Sidi Slimane. Esta observación lleva a la recomendación de la realización del seguimiento sanitario del cultivo de la remolacha azucarera a partir de finales de marzo con el fin de tener una imagen fiel de la situación fitosanitaria de este cultivo. Debido a la amplitud de la tarea, conviene formar equipos especializados para cada zona.

Cassida

La zona de Mechraä Bel Ksiri

Entre las plagas de la remolacha azucarera en la zona de Mechraä Bel Ksiri, *C. vittata* es la única que está presente y causa daño. En efecto, el porcentaje de plantas atacadas varió del 38% al 100%. Los daños son muy variables, y van desde la destrucción localizada de algunos cm² hasta la destrucción completa del follaje de toda la parcela. El estudio del impacto de distintos grados de ataque de *C. vittata* en los rendimientos de la remolacha realizada por HAMDAOUI en 1982, reveló que con una densidad inicial de 3 adultos por pie el límite máximo de tolerancia económico es ampliamente superado. Las prospecciones realizadas en la zona de Mechraä Bel Ksiri durante el período de plena vegetación revelaron que un 40% de las parcelas prospectadas superaban ampliamente el límite máximo de tolerancia económico, que es aproximadamente de 3 adultos por pie, tal como estableció HAMDAOUI (1982). La influencia de los daños de la cassida sobre el contenido en azúcar de la remolacha no se percibe más que a partir de fuertes densidades, aproximadamente de 14 adultos por pie (HAMDAOUI, 1982). En las prospecciones realizadas, la parcela más infestada durante el período que se extiende desde la primera década de febrero a la segunda década del mes de marzo, presenta un número medio de 4,9 adultos por pie. Esta observación lleva a recomendar un tratamiento precoz, para mantener esta plaga a un nivel bajo de población, a partir de fines del mes de marzo.

La zona de Sidi Allal Tazi

El concepto de importancia agronómica dista mucho de ser estático. En efecto, evoluciona en el tiempo y en el espacio, tanto tras las variaciones de las condiciones ecológicas como modificaciones de las prácticas culturales y métodos de lucha. Por ello, el problema de *C. mendicus* en el Gharb, que fue hace algunos años de una importancia principal, tiende hoy a desaparecer. Pero se asiste este año a un recrudescimiento de la cassida en todas las zonas productoras de remolacha azucarera. La incidencia de la cassida sobre las parcelas de remolacha azucarera en la zona de Sidi Allal Tazi fue muy variable de una parcela a otra. Se constató que algunas parcelas se infestaban débilmente, mientras que otras se infestaban mucho, en las que la incidencia es del orden de un 100% y el follaje se destruían completamente (Figuras 2 y 3). La calidad tecnológica deterioró 3 parcelas entre las 17 atacadas (sobrepasando 14 individuos por planta de remolacha).

La zona de Sidi Slimane

La cassida se reveló como la plaga más importante de la remolacha azucarera en la zona de Sidi Slimane. Está presente en la zona con una frecuencia del 100% y constituye el enemigo más temible del cultivo. El porcentaje de plantas atacadas por la cassida se elevó mucho en esta zona. El ataque fué de alrededor de un 50% de las parcelas entre las 21 atacadas. Sabiendo por una parte que la superficie remolachera en la zona de Sidi Slimen es de cerca de 3800 hectáreas, y por lo tanto que este insecto invade unas 1900 hectáreas completamente, y por otra parte que esta zona produce unas 157670 toneladas de remolacha azucarera, lo que equivale al 22% de la totalidad de la producción de la región, se deduce que alrededor de 80000 toneladas de remolacha azucarera son afectadas por esta plaga. El límite máximo de tolerancia económico en verano se superó en 15 parcelas, por lo que la calidad tecnológica afectó a 6 parcelas prospectadas (el número de individuos por



Figura 2. Una parcela de remolacha azucarera muy atacada por *Cassida vittata* en la región del Gharb.

planta sobrepasa 14 cassidas). Los daños de la cassida se extienden a toda la zona de producción, obligando a los agricultores a tratar intensamente sus cultivos con el fin de controlar sus infestaciones.

El pulgón negro

La zona de Sidi Allal Tazi

El pulgón negro, también estuvo presente sobre el cultivo de la remolacha azucarera en la zona de Sidi Allal Tazi. Constatamos la presencia de este pulgón negro en 10 parcelas, entre 24 examinadas. La incidencia del ataque varía entre el 7% y el 57%, con una media de 25,3% aproximadamente. En el perímetro del Gharb, los agricultores no tratan contra los pulgones sobre remolacha, pues consideran que los ataques se limitan mucho en el tiempo y los daños permanecen muy localizados. Por el contrario, las prospecciones revelaron la presencia del pulgón negro con una incidencia bastante elevada, lo que lleva a recomendar un tratamiento químico cuando la temperatura es favorable a la al desarrollo de este pulgón. El tratamiento debe realizarse al mismo tiempo contra la cassida y contra el cleonus, que pueden coexistir sobre la remolacha azucarera en este



Figura 3. Ataques de *Cassida vittata* sobre hojas de la remolacha azucarera en la región del Gharb.

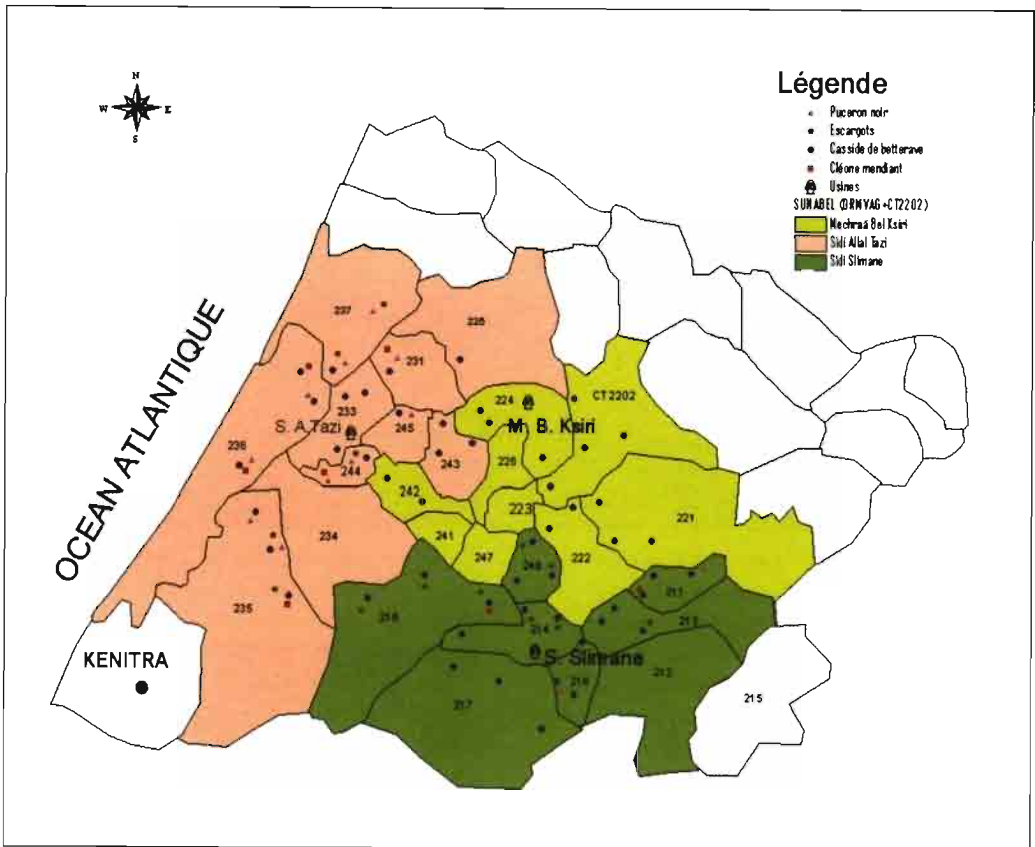


Figura 4. Distribución de las plagas de la remolacha azucarera en la región del Gharb.

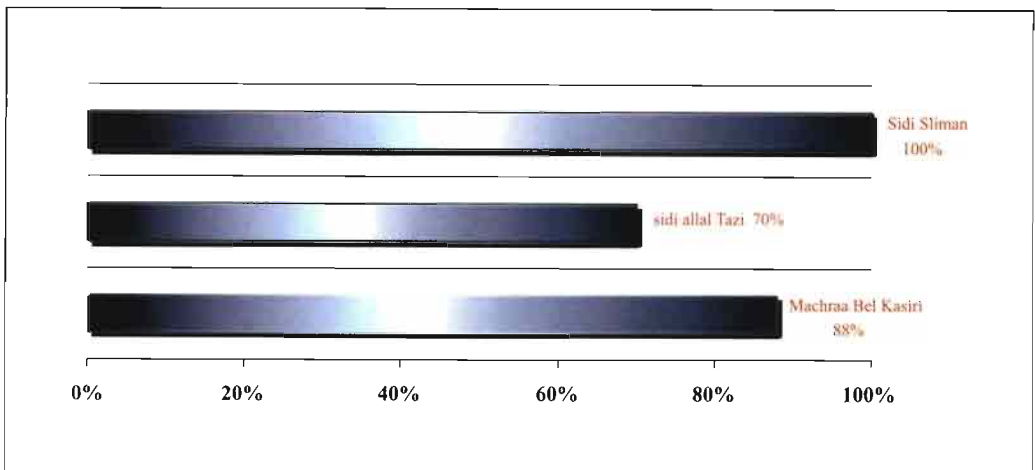


Figura 5. Porcentaje de las parcelas infestadas por la cassida en relación con las parcelas examinadas.

período. Por ello, la pulverización del producto químico debe realizarse de tal manera que el insecticida penetre en las hojas jóvenes donde el pulgón encuentra refugio.

La zona de Sidi Slimane

En la zona de Sidi Slimane, se observó el pulgón negro en dos parcelas, con una incidencia media del 19%. Puede ser que las condiciones climáticas no favorecieran el desarrollo de este pulgón. Los tratamientos químicos dirigidos contra la cassida podrían haber contribuido a controlar el pulgón negro.

Caracoles

La zona de Sidi Allal Tazi

Se observaron caracoles sobre la remolacha azucarera en 5 parcelas prospectadas, con una incidencia media del 11%. Se observaron sobre todo en parcelas rodeadas por las malas hierbas que constituyen refugios para estas plagas. Se recomienda arar para destruir estos refugios en los bordes de las parcelas.

La zona de Sidi Slimane

En la zona de Sidi Slimane, se observaron caracoles en 8 parcelas. La incidencia media de ataque fue del orden del 10,62% y el número medio de individuos por planta fue limitado (2,37 caracoles). A pesar de la frecuencia bastante elevada, el efecto de estas plagas sobre la remolacha azucarera no fue tan grave debido a que el nivel de población fue bajo.

Cleonus mendicus

La zona de Sidi Allal Tazi

Hace algunos años *C. mendicus* se extendía por todas las regiones del Gharb y el Loukkos. Se infestaban más o menos el 90% de las parcelas y se destruían completamente algunas superficies, lo que causaba una pérdida tanto para las azucareras como para los agricultores. Mientras que las prospecciones realizadas en la zona de Sidi Allal Tazi revelaron la presencia irregular de esta plaga, en

5 parcelas seguidas la incidencia media era muy escasa (5%). El número medio de individuos adultos por pie de remolacha fue del orden de 1 adulto. La ventaja del seguimiento fitosanitario del cultivo, es que permite minimizar el número de los tratamientos químicos necesarios para la protección de los cultivos. En 1999, AKALACH *et al.* recomendaron la lucha química en tres períodos para proteger el cultivo de remolacha contra el *C. mendicus* en el Gharb, un primer tratamiento dirigido contra los adultos en los meses de diciembre y enero, un segundo tratamiento dirigido también contra los adultos durante los meses de marzo y abril y un tercer tratamiento dirigido contra las larvas durante el período de mediados de marzo a mediados de abril. Y puesto que el nivel de población descendió, la lucha química contra esta plaga no fue necesaria.

La zona de Sidi Slimane

El *C. mendicus* en la zona de Sidi Slimane se observó en dos parcelas entre las 21 visitadas, con una incidencia media del orden de un 14,5%. El número medio de individuos no sobrepasó dos cleonus por planta de remolacha.

CONCLUSIONES

Las prospecciones realizadas permitieron por una parte recoger la información sobre las tres zonas de Mechraâ Bel Ksiri, Sidi Allal Tazi y Sidi Slimane productoras de la región del Gharb, con el fin de realizar una cartografía de las principales plagas (Figura 4) de la remolacha azucarera de la región del Gharb. Y por otra parte observar que la cassida es la principal plaga que se desarrolló sobre la remolacha azucarera, con incidencias que pueden alcanzar el 70% en la zona de Machraa Bel Kasiri y de las infestaciones más elevadas que pueden alcanzar el 100% de las parcelas en la zona Sidi Slimane (Figura 5). La cassida se considera el enemigo más temible en la remolacha de la región.

ABSTRACT

J. SNAIKI, A. NADIF, M. OUHSSINE. 2007. The establishment of a cartography of some plagues of the sugar beet of the region of the Gharb in Morocco. *Bol. San. Veg. Plagas*, **33**: 581-588.

Morocco are one of the rare countries in the Mediterranean river basin in which the two sugar plants must be cultivated: sugar beet and cane. These cultures were introduced to satisfy the necessity arisen from the consumption with sugar, valued like the most elevated on international scale. The development of the sugar beet of the region of the Gharb it generated a proliferation of parasites and pathogenic agents who affected to this culture throughout their cycle. In this work is tried to establish cartography of some parasites and pathogenic agents of this culture in the three main producing zones of beet (Sidi Allal Tazi, Mechraâ Bel Ksiri, and Sidi Slimane) of the region of the Gharb in Morocco.

Key words: sugar plants, Cassida, parasites.

REFERENCIAS

- LAHLOU I. & MADRANE O. 1991 : Développement des cultures sucrières au Maroc. Rencontre internationale en langue Française sur la canne à sucre organisée par l'AFCAS (Association Française de canne à sucre). 27-34.
- M.A.D.R.E.F, 2006. Ministère de l'Agriculture, du Développement Rural et des Eau et Forêts.
- AKALACH, M., NADIF, A., AABAD, M. et EL GHRASLI, D. 1999. Module de formation sur le thème « Protection des cultures de céréales, betterave à sucre et cultures maraichères ». Centre Technique des Cultures Sucrières (CTCS).
- HAMDAOUI F, 1982. Contribution à l'étude de la bio-écologie et des dégâts de la casside de la betterave. Mémoire de fin d'étude. ENA Meknes. PP: 17-27.

(Recepción: 24 abril 2007)

(Aceptación: 8 octubre 2007)

Uso de irradiación gamma como método de control cuarentenario de *Frankliniella australis* (Morgan) (Thysanoptera: Thripidae)

J. E. ARAYA, T. CURKOVIC, A. CAYO

El trips negro de las flores, *Frankliniella australis* (Morgan), una especie nativa chilena, causa daños por rechazos cuarentenarios de fruta fresca de exportación. Hoy, la fumigación con BrCH_3 es eficiente para evitar estos rechazos, pero está cuestionada por afectar la capa de ozono, por lo que la irradiación de alimentos es una alternativa. Se estudió en laboratorio el efecto de la irradiación gama en *F. australis* adultos, en dosis de 250, 500, 750 y 1000 Gy, seguidas por almacenamiento a 0-5°C para simular condiciones de embarque. La mortalidad inmediatamente después de irradiar fue baja (1,5 a 22,3% a 250 y 1000 Gy, respectivamente), pero aumentó una hora después (15,8; 33,4; 44,5 y 51,7% para 250, 500, 750 y 1000 Gy, respectivamente). En esta evaluación, la mortalidad con la dosis mayor fue significativamente superior a las obtenidas con 500 y 250 Gy, mientras que los resultados con las dosis de 750 y 500 Gy no fueron diferentes entre ellas, aunque sí con la dosis menor. A las 24 horas, la mortalidad con todas las dosis superó el 91%, aunque sólo la de 1000 Gy fue significativamente superior a la de 250 Gy. Al cuarto día (96 horas) hubo al menos 98,8% de mortalidad para los tratamientos de irradiación, con diferencias significativas con el testigo, el cual presentó entonces sólo 12,8% de mortalidad. Mediante regresión logit de los resultados de las evaluaciones hasta el día 4 se estimó un probit 9 (DL_{99,9968}) para adultos de 188 Gy. Esta dosis es ligeramente inferior a las indicadas en la literatura para el control de otros tisanópteros, lo que podría explicarse por la aplicación conjunta de frío, aunque es necesario hacer más estudios de esta tecnología bajo condiciones comerciales para verificar su aplicabilidad en el control cuarentenario de *F. australis*.

J. E. ARAYA, T. CURKOVIC. Departamento de Sanidad Vegetal, Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de Chile, Casilla 1004, Santiago, Chile.

A. CAYO. Instituto de Entomología, Universidad Metropolitana de Ciencias de la Educación, Santiago, Chile.

Palabras clave: Control cuarentenario, probit 9, trips negro de las flores.

INTRODUCCIÓN

La preocupación por el ambiente ha cuestionado tratamientos cuarentenarios como el bromuro de metilo, principal fumigante agrícola mundial, especialmente por dañar la capa de ozono (MEJÍA, 2005). En 2000 se consumieron en Chile 474 ton de BrCH_3 , 20% de ellas en tratamientos cuarentenarios (INIA, 2005). Pero las importaciones de BrCH_3 se deberán congelar, reducir y eliminar paulatinamente, debido al protocolo de

Montreal (MEJÍA, 2005). Las tecnologías de control cuarentenario de plagas en productos agrícolas de exportación, incluyendo la irradiación, han sido revisadas por ARAYA y CURKOVIC (2006). Aunque la irradiación es una alternativa cuarentenaria económicamente viable para la fruta de exportación (ICGFI, 1999), no se conoce su efecto en algunas plagas, y no hay dosis genéricas para grupos de insectos o ácaros. Entre ellos, los trips causan rechazos de embarques de frutas, por lo que se debe determinar la eficien-

cia cuarentenaria de este tratamiento sobre estos insectos, particularmente el trips negro de las flores, *Frankliniella australis* (Morgan). Esta especie nativa chilena se alimenta del polen de muchas plantas, en las que no se reproduce o lo hace escasamente, pero causa daños por rechazos cuarentenarios de fruta fresca de exportación, principalmente fresas, kiwis y nectarinas (ARTIGAS, 1994).

En 1991 se recopilaban antecedentes para desarrollar protocolos de aplicación de irradiación como método cuarentenario, incluyendo dosimetría, sistemas de operación y dosis mínimas para el control de diversas plagas, principalmente moscas de la fruta, gorgojos, escamas, áfidos, trips y ácaros (ICGFI, 1991). Estudios posteriores han ampliado la lista de plagas controladas con la irradiación, y el conocimiento sobre las dosis necesarias para su control cuarentenario (IDIDAS, 2005).

El USDA-APHIS está evaluando dosis mínimas de irradiación para eliminar o esterilizar plagas cuarentenarias específicas. Estos estudios serán fundamentales para determinar dosis adecuadas y para obtener la aprobación de instituciones como el USDA-APHIS-PPQ para establecer la irradiación como un método de control cuarentenario de diversos trips (HALLMAN, 2001).

En este trabajo se estimó la dosis de irradiación necesaria para lograr un control cuarentenario efectivo (probit 9, la dosis mínima para obtener 99,9968% de mortalidad de adultos) de esta plaga. Los objetivos específicos fueron determinar la mortalidad de adultos del insecto por efecto de la irradiación gamma en dosis de 250, 500 y 1000 Gy, con el uso conjunto de almacenamiento en frío a 0-5°C postirradiación.

MATERIAL Y MÉTODOS

En diciembre de 2005 se colectó *F. australis* con aspirador manual desde flores de *Picris echioides* L. (Asteraceae) en el campus sur de la Universidad de Chile, RM. Los trips se llevaron de inmediato en una nevera a $\pm 10^\circ\text{C}$ para irradiarlos a la Comisión Chi-

lena de Energía Nuclear, Comuna de La Reina, Santiago, en un irradiador Gamma-cell 220 R con Co-60 (Figura 1), bajo cuatro dosis (250, 500, 750 y 1000 Gy), además de un control sin irradiación. La unidad experimental consistió en 100 trips adultos en frascos plásticos de 100 mL, con cuatro repeticiones por dosis, en un diseño completamente al azar. Para la aplicación uniforme de las dosis se hizo una dosimetría previa sobre una unidad experimental. La energía absorbida se midió con dosímetros Fricke modificados, preparados según la norma ASTM D-2954, que consisten en una solución de Fe^{+2} que se oxida a Fe^{+3} por efecto de la radiación. Los tiempos de exposición para que cada unidad experimental recibiera una dosis promedio de 250, 500, 750, 1000 Gy fueron 4,31; 9,32; 14,33 y 19,34 minutos, respectivamente.

La mortalidad se evaluó inmediatamente (5-10 minutos después de la exposición = Inm), a la hora y varios días después de la irradiación (Cuadro 1). En cada frasco se agregó un brote floral de alfalfa como sustrato alimenticio de *F. australis*, el que se renovó cada 5 días para los trips supervivientes. El material irradiado se mantuvo en refrigerador a temperaturas entre 0 y 5°C, para simular las condiciones de embarque de fruta de exportación y la mortalidad se midió bajo lupa estereoscópica hasta llegar al 100% de los individuos irradiados. Se consideraron muertos los insectos con deshidratación evidente y que no reaccionaron al estímulo con un pincel. Los porcentajes de mortalidad se corrigieron mediante la fórmula de ABBOTT (1925) para descartar la mortalidad natural. Estos resultados corregidos se normalizaron mediante la transformación de Bliss (arcoseno $\sqrt{\% \text{ mortalidad}/100}$) y sometieron a un análisis de varianza. Para determinar diferencias significativas entre las dosis aplicadas en el tiempo se utilizaron pruebas de DUNCAN (1955).

El probit 9 ($\text{DL}_{99,9968}$) se estimó a través de una regresión logit de la mortalidades hasta el día 4 (96 horas desde la irradiación; posteriormente la mortalidad natural aumentó a niveles superiores a 20%) con las dosis aplicadas usando el programa Estadística v 7.0

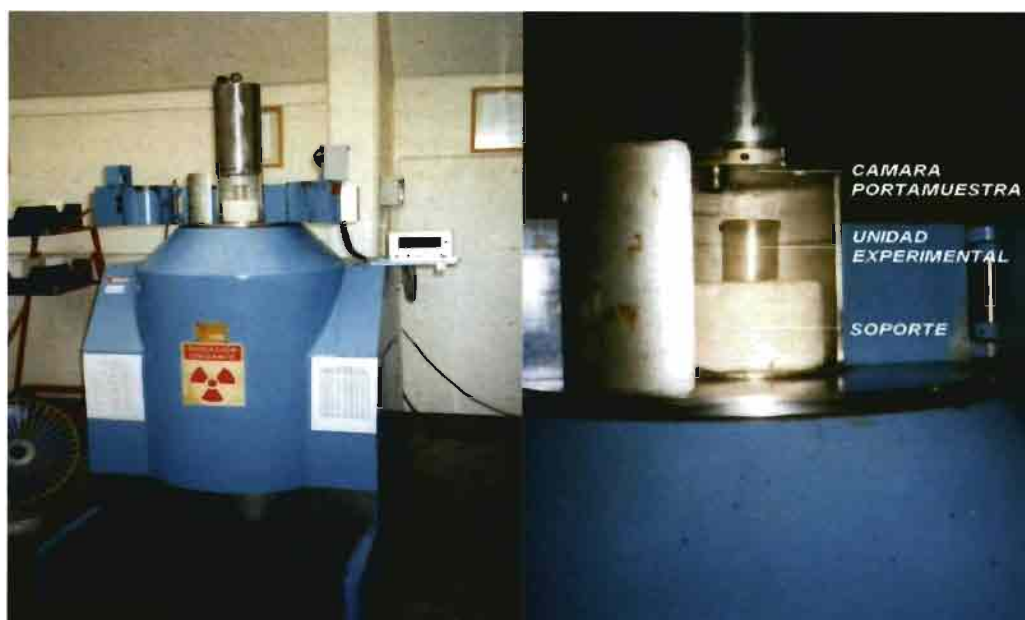


Figura 1. Irradiador Gammacell 220R de Cobalto 60.

[no se aplicó una regresión lineal por no cumplirse el supuesto de continuidad y de distribución normal de la variable dependiente (DOBSON, 1993; TAUCHER, 1999)].

RESULTADOS

Inmediatamente después de irradiar (Inm), las dosis de 1000 y 750 Gy presentaron mortalidades promedio corregidas de 22,3 y 10%, respectivamente, aunque sin diferencias significativas entre ambas. Las

dosis de 500 y 250 presentaron menores promedios de mortalidad corregida, 9 y 1,5%, respectivamente, aunque sin diferencia significativa entre ellas. El testigo, por el contrario, presentó una diferencia significativa con los tratamientos, con sólo 0,5% de mortalidad (Cuadro 1). Después de una hora, todos los niveles de mortalidad aumentaron. Las dosis de 500, 750 y 1000 Gy causaron mortalidades promedio de 33,4; 44,5 y 51,7%, respectivamente, sin diferencias significativas entre las dos mayores. En esta

Cuadro 1. Promedios acumulados de mortalidad de adultos de *F. australis* a varios intervalos (horas) desde la exposición a varias dosis de radiación ionizante y almacenamiento en frío (0-5°C) postirradiación.

Gy	Inm*	1 H	24 H	48 H	72 H	96 H	168 H	288 H
1000	22,3 e	51,7 d	98,9 c	99,7 b	100,0 c	100,0 c	100,0 b	100,0 b
750	10,0 de	44,5 cd	96,8 bc	99,7 b	100,0 c	100,0 c		
500	9,0 cd	33,4 c	95,6 bc	97,8 b	98,9 bc	99,6 bc	100,0 b	
250	1,5 bc	15,8 b	91,4 b	97,8 b	98,8 b	99,3 b	100,0 b	
0	0,5 a	0,5 a	4,0 a	8,3 a	12,8 a	25,2 a	52,7 a	96,5 a

Promedios con la misma letra en una columna no son diferentes (P<0,05) según pruebas de rango múltiple de Duncan (1955). Inm*: evaluación inmediatamente después de irradiar.

medición, la dosis de 250 Gy presentó una mortalidad de 15,8%, diferente significativamente de las demás dosis aplicadas, y significativamente superior al testigo. A las 24 horas de la irradiación, la supervivencia disminuyó y sólo hubo diferencias significativas entre las dosis mayor y menor. Las mortalidades promedio fueron 91,4; 95,6; 96,8 y 98,9% para las dosis de 250, 500, 750, 1000 Gy, respectivamente, todas significativamente superiores al testigo. Estos niveles de mortalidad siguieron aumentando posteriormente, hasta alcanzar promedios de prácticamente 100% a las 96 horas. Bajo las condiciones del experimento, los trips adultos del control sobrevivieron aproximadamente 15 días.

La regresión logit resultó en la ecuación

$$y = \exp(-0,69315 + (0,1) * x) / [1 + \exp(-0,69315 + (0,1) * x)]; R^2 = 0,76$$

donde (x) representa la dosis aplicada, e (y) la mortalidad obtenida. Así, para obtener el probit 9 se reemplazó la variable (y) a un 99,9968% de mortalidad en la ecuación. Con ello, la dosis necesaria para obtener el nivel probit 9 de seguridad cuarentenaria se estimó en 188 Gy para las condiciones de esta investigación.

DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en este trabajo una hora después de la exposición (33,4 a 51,7% de mortalidad con dosis de 250 a 1.000 Gy) son ligeramente inferiores a los de ARAYA *et al* (2007) para el trips de las flores *F. occidentalis* (Pergande) (44,7 a 67,5% para dosis de 500 y 1.000 Gy). Sin embargo, la mortalidad a los 14 días en ese estudio, fue mucho menor (79,6 versus 100% después de una semana en nuestro trabajo). Las diferencias entre ambos estudios pueden deberse, en parte, a los rangos de temperaturas distintos en cada estudio.

El probit 9 de 188 Gy estimado para mortalidad de adultos de *F. australis* en este trabajo es escasamente menor a los resultados recopilados por IDIDAS (2005) para otros

trips. Esto se debe probablemente al efecto de un factor sinérgico, como las condiciones de frío post irradiación en las que se mantuvieron los insectos en nuestro estudio. Estos resultados aumentan la información sobre el efecto de la irradiación en el género *Frankliniella* obtenida por ARAYA *et al.* (2007) con *F. occidentalis*, una especie cercanamente relacionada, muy común pero sin importancia cuarentenaria. Otros trips como *Microcephalothrips abdominalis* (Crawford) y *Retithrips syriacus* (Mayet) requieren dosis de 200 Gy para su control (IDIDAS, 2005).

El probit 9 de seguridad cuarentenaria aceptado por varios países equivale a no más de 32 sobrevivientes en un millón de individuos tratados (uno en 31.250) (IAEA, 1985). En la actualidad, sin embargo, este nivel ha sido cuestionado, debido principalmente a que la seguridad cuarentenaria total debería basarse en estudios de esterilidad post irradiación, como ocurre en moscas de la fruta, donde se estipula un probit 9 (99,9968% de prevención de emergencia de otra generación de estados adultos) que se logra con 150 Gy.

Las dosis mínimas para inhibir el desarrollo de estados juveniles y aquellas para esterilizar los adultos de diversas plagas se encuentran en IAEA (2002). En la base de datos IDIDAS (2005), para Thysanoptera, se conocen niveles de esterilidad en *Frankliniella schultzei* (Trybom) con dosis de 250 Gy (YALEMAR *et al*, 2001). En *F. pallida* (Uzel), la esterilidad se logra con 100 Gy; *Frankliniella intonsa* (Trybom) requeriría 200 Gy, aunque con dosis de 100 Gy se alcanzaría la esterilidad en varios estados preadultos; *Thrips palmi* (Karny) y *T. tabaci* (Lindeman) requieren 300 Gy para esterilizar adultos y 350 a 400 Gy para inhibir el desarrollo de los estados juveniles (IDIDAS, 2005). Este parámetro de esterilización deberá ser considerado en otros estudios con *F. australis*.

En la actualidad, sólo EE.UU. ha aceptado y aplicado protocolos de comercialización utilizando la irradiación como herramienta cuarentenaria. Japón, Nueva Zelanda y Australia han avanzado en esta materia y se espera que a medida que la tecnología se desarro-

lle, la percepción pública mejore y se incorporen países como Corea, China, Taiwán e India, países sudafricanos, de América Central y Sudamérica (HEATHER, 2002). Por el bajo número de investigaciones aún no se ha desarrollado un protocolo de irradiación como tratamiento cuarentenario para el control de trips y sólo se han hecho pequeñas experiencias sobre el efecto combinado con otros tratamientos cuarentenarios. En marzo de 2002 se hizo el primer ensayo de comercialización incluyendo la irradiación para el control cuarentenario de trips en la exportación de orquídeas desde Tailandia a Nueva Zelanda. Las flores expuestas al BrCH_3 para el control del trips de la orquídea *Thrips palmi* sufrían daño, y se optó por un tratamiento cuarentenario combinado consistente en inmersión en el insecticida imidacloprid 10% SL, irradiación a 350 Gy y almacenamiento en frío a 15°C. Este procedimiento fue eficaz y económico para el control de este trips en las orquídeas (BANSIDDHI *et al.*, 2002).

A pesar de los antecedentes anteriores, mientras no existan estudios que permitan estandarizar el reconocimiento de la esterilidad durante las inspecciones en los sitios de inspección cuarentenaria de productos agrícolas, el probit 9 se seguirá utilizando para determinar la seguridad cuarentenaria en términos de mortalidad.

CONCLUSIONES

La evaluación de mortalidad inmediatamente después de aplicar las dosis de irradiación indicó un efecto escaso, ya que las dosis de 250, 500, 750 y 1000 Gy presentaron mortalidades corregidas promedio de sólo 1,5; 9,0; 10,0 y 22,3%, respectivamente. A la hora de irradiar se logró un mayor control, ya que las dosis de 250, 500, 750 y 1000 Gy aumentaron la mortalidad a 15,8; 33,4; 44,5 y 51,7%, respectivamente. Para las dosis de 1000 y 750 Gy, el 100% de mortalidad se obtuvo al tercer día de la irradiación, momento en que el testigo presentó 12,8% de mortalidad. Las dosis de 250 y 500 Gy causaron mortalidad total a 7 días de la exposición. Una regresión logit con los resultados obtenidos hasta el día 4 estimó un Probit 9 de 188 Gy, dosis ligeramente menor a aquellas indicadas en la literatura para otros tisanópteros. Bajo condiciones de frío (0-5°C) y con brotes florales de alfalfa como alimento, algunos adultos sin irradiar sobrevivieron hasta 15 días. Ello demuestra que la irradiación es una alternativa al BrCH_3 en postcosecha para el control cuarentenario de *F. australis*, que el efecto de estos tratamientos depende de las dosis aplicadas, y que la mortalidad aumenta con el tiempo luego de la exposición.

ABSTRACT

ARAYA J. E., T. CURKOVIC, A. CAYO. 2007. Use of gamma irradiation as a quarantine control method for *Frankliniella australis* (Morgan) (Thysanoptera: Thripidae). *Bol. San. Veg. Plagas*, 33: 589-594.

The black flower thrips, *Frankliniella australis* (Morgan), a Chilean species, causes quarantine rejections of fresh fruits for export. Today, fumigation with CH_3Br is efficient to avoid these rejections, but is questioned because it affects the ozone layer, irradiation of foods being an alternative. The effect of gamma irradiation was studied in the laboratory on *F. australis* adults, at dosages of 250, 500, 750, and 1000 Gy, followed by storage at 0-5°C to simulate shipping conditions. Mortality immediately after irradiation was low (1.5 to 22.3% at 250 and 1000 Gy, respectively), but increased an hour later (15.8, 33.4, 44.5, and 51.7% with 250, 500, 750, and 1000 Gy, respectively). In this evaluation, mortality with the greatest dosage was significantly larger than with 500 and 250 Gy, while results with 750 and 500 Gy were not different between them but different with the smallest dosage. At 24 hours, mortality with all dosages surpassed 91%, although only that at 1000 Gy was significantly greater than at 250 Gy. At day 4th (96 hours) there was at least 98.8% mortality for the irradiation treatments, with significant differences with the control, which then presented only 12.8% mortality. Using logit regression with

results up to day 4, a probit 9 ($LD_{99.9968}$) for adults was estimated at 188 Gy. This dosage is slightly less to those indicated in the literature for control of other thrips, which may be explained because of the combined use of cold storage, although more studies are necessary of this technology under commercial conditions to verify its applicability for quarantine control of *F. australis*.

Key words: Black flower thrips, probit 9, quarantine control.

REFERENCIAS

- ABBOTT, W. S. 1925. A method for computing the effectiveness of an insecticide, *J. Econ. Entomol.*, **1118**: 265-267.
- ARAYA, J. E., CURKOVIC, T. 2006. La radiación gamma como tratamiento cuarentenario de plagas en productos hortofrutícolas de exportación, *Aconex*, **91**: 13-17.
- ARAYA, J. E., CURKOVIC, T., ZÁRATE, H. 2007. Mortality of *Frankliniella occidentalis* (Pergande) (Thysanoptera: Thripidae) by gamma irradiation, *Agricultura Técnica (Chile)*, **67** (en prensa).
- ARTIGAS, J. 1994. *Entomología económica. Insectos de interés agrícola, forestal, médico y veterinario*, Ediciones Universidad de Concepción, Concepción, Chile, Vol. I, 1126 p.
- BANSIDDHI, K.; SIRIPHONTANGMUN, S.; RUMCHIAPIKUL, S.; KIENMEESUKE, P.; PRASONGSAB, S.; JAIPETCH, U.; KASA, S.; ONBOON, P.; KAMNUNSAK, V. 2002. Combination treatments with irradiation for controlling orchid thrips, *Thrips palmi*. In: *Irradiation as a phytosanitary treatment of food and agricultural commodities*, IAEA-TECDOC-1427. Joint FAO/IAEA Div. of Nuclear Tech. in Food and Agriculture 2002, Edited Nov. 2004.
- DOBSON, A. J. 1993. *Introduction to statistical modeling*, Chapman & May, London.
- DUNCAN, D. B. 1955. Multiple F and multiple range test, *Biometrics*, **11**: 1-41.
- HALLMAN, G. J. 2001. Ionizing irradiation quarantine treatment against sweet potato weevil (Coleoptera: Curculionidae), *Florida Entomol.*, **84**, 3: 415-417.
- HEATHER, N. W. 2002. Generalized quarantine disinfestation research protocol. In: *Irradiation as a phytosanitary treatment of food and agricultural commodities*. IAEA-TECDOC-1427. Joint FAO/IAEA Div. of Nuclear Tech. in Food and Agriculture 2002. Edited November 2004.
- IAEA (International Atomic Energy Agency). 1985. *Summary report on the use of irradiation as a quarantine treatment of agricultural commodities*, IAEA, Vienna, Tech. Doc. **326**: 5-15.
- IAEA. 2002. Final FAO/IAEA Research Coordination Meeting (RCM) of the Coordinated Research Project on "Irradiation as a Technique for Food and Agricultural Commodities", Vienna 4-8 Nov. 2002, rev. 24 abril 2006 in: <http://www.iaea.org/programmes/nafa/d5/crp/phytosanitary-final-nov02.pdf>.
- ICGFI (International Consultative Group on Food Irradiation). 1991. *Irradiation as a quarantine treatment of fresh fruits and vegetables*, Report of a Task Force Convened by the International Consultative Group on Food Irradiation Bethesda, Maryland, 7 to 11 January 1991, Document 13, rev. 24 abril 2006 in: <http://www.iaea.or.at/icgfi/documents/13document.htm>.
- ICGFI. 1999. *Facts about food irradiation*, Vienna, Austria, 48 p.
- IDIDAS (International Database on Insect Disinfestation and Sterilization). 2005. (No title), Joint FAO/IAEA Div. of Nuclear Tech. in Food and Agriculture, rev. 24 abril 2006 in: <http://www-ididas.iaea.org/IDIDAS/default.htm>.
- INIA (Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias). 2005.6 en: www.alternativasbromurometilo.cl.
- MEJÍA, M. 2005. Bromuro de metilo, *Boletín NAPPO (North American Plant Protection Organization)*, marzo 2005.
- TAUCHER, E. 1999. *Bioestadística, segunda edición*, Editorial Universitaria, Santiago, Chile, 310 p.
- YALEMAR, J.; HARA, A.; SAUL, S.; JANG, E.; MOY, J. 2001. Effects of gamma irradiation on the life stages of yellow flower thrip, *Frankliniella schultzei* (Trybom) (Thysanoptera: Thripidae), *Ann. Appl. Biol.*, **138**: 263-268.

(Recepción: 21 junio 2007)

(Aceptación: 11 enero 2008)

RECENSIÓN DE PUBLICACIONES

INVERNADEROS DE PLÁSTICO. Tecnología y manejo.

N. Castilla

Ediciones Mundi-Prensa. Septiembre, 2007

ISBN 13: 978-84-8476-321-5

ISBN 10: 84-8476-321-8

Esta obra aborda en profundidad la tecnología actual y el manejo de los invernaderos de plástico, describiendo los principios en que se basan con un enfoque pragmático y cuantitativo, dentro de lo posible, abarcando, además, otros aspectos de interés en el enfoque integrado del cultivo protegido.

A fin de facilitar la lectura y comprensión del texto, el material gráfico es muy abundante (122 figuras y 80 fotografías) y se ha evitado la inclusión en el texto general de fórmulas complejas, aunque éstas son recogidas en un anejo para los lectores más avanzados.

El libro está dirigido tanto a agricultores profesionales y técnicos de campo como a estudiantes y estudiosos de la agronomía del cultivo protegido y pretende contribuir a mejorar los sistemas agrícolas de este tipo de producción en invernaderos de plástico en áreas muy diversas.

El autor es Doctor Ingeniero Agrónomo y Licenciado en Ciencias Empresariales, habiendo sido durante varios años Presidente del Comité Internacional de Plásticos en la Agricultura. Ha colaborado en varias revistas especializadas, dirigido diversas tesis doctorales y es autor de numerosas publicaciones a nivel nacional e internacional. En la actualidad, es Presidente de la Comisión de Cultivo Protegido en la Sociedad Internacional de Ciencias Hortícolas.

LOS TRANSGÉNICOS. Oportunidades y amenazas.

V. M. Villalobos A.

Prólogo del Dr. Norman Borlaug, Premio Nobel de la Paz 1970 y Padre de la Revolución Verde.

Ediciones Mundi-Prensa. Septiembre, 2007

ISBN: 978-968-7462-54-7

Los transgénicos son organismos (vegetales o animales) usados en la agricultura, medicina o industria, mejorados genéticamente para conferirles habilidades novedosas que no hubiesen podido adquirir en condiciones naturales, y han sido resultado de la investigación científica, principalmente en la Ingeniería Genética, la Biología Molecular y la Agronomía.

Una de las aplicaciones más avanzadas sobre este tema en la agricultura son los cultivos transgénicos, que han trascendido el ámbito del laboratorio científico y del campo experimental, para cultivarse comercialmente desde 1996 en campos agrícolas del mundo, como una forma novedosa de producción de granos y oleaginosas; más eficiente, con menor impacto negativo al ambiente, y con ahorros económicos directos para más de diez millones de agricultores que los cultivan en 22 países.

ENTOMOLOGÍA

I. ARMENDÁRIZ, L. DE LA IGLESIA, Y. SANTIAGO, G. CAMPILLO, C. ALBERTE, L. MIRANDA, S. JUÁREZ, A. PÉREZ-SANZ. Ciclo del prays del olivo (*Prays oleae* Bern.) en Arribes del Duero 443

M. V. MUJICA, I. B. SCATONI, J. FRANCO, S. NUÑEZ, C. M. BENTANCOURT. Fluctuación Poblacional de *Frankliniella occidentalis* (Pergande) (Thysanoptera: Thripidae) en *Vitis vinifera* L. cv. Italia en la Zona Sur de Uruguay 457

L. VALVERDE, E. VIRLA. Parasitismo natural de huevos de las principales especies de Noctuidae (Lepidoptera) plagas en el cultivo de soja en Tucumán, Argentina 469

I. ARMENDÁRIZ, G. CAMPILLO, A. PÉREZ-SANZ, C. CAPILLA, J. S. JUÁREZ, L. MIRANDA. La polilla del racimo (*Lobesia botrana*) en la D.O. Arribes, años 2004 a 2006 477

A. IBÁÑEZ-JUSTICIA, A. SOTO, M. MARTÍNEZ GONZALVO, E. PÉREZ-LAORGA ARIAS. Distribución y abundancia de *Lymantria dispar* (Linnaeus, 1758) (*Lepidoptera: Lymantriidae*) en las principales masas de carrasca *Quercus ilex* (L.) subsp. *rotundifolia* (Lam.) y alcornoque *Quercus suber* (L.) de la Comunitat Valenciana 491

PATOLOGÍA

L. OTERO, O. AGUÍN, M. J. SAINZ, J. P. MANSILLA. El género *Mycosphaerella* en plantaciones de *Eucalyptus* de Galicia 503

ANA J. GONZÁLEZ, M. ROSARIO RODICIO. Caída de botón floral en kiwi causada por *Pseudomonas viridiflava* y *Pseudomonas syringae* en el Principado de Asturias 517

M. E. SÁNCHEZ, N. LUCHI, J. E. SÁNCHEZ, J. J. JIMÉNEZ, A. TRAPERO, P. CAPRETTI. La podredumbre radical del pinsapo I: Identificación específica del agente causal 527

P. DE VITA, J. J. JIMÉNEZ, A. TRAPERO, P. CAPRETTI, M. E. SÁNCHEZ. La podredumbre radical del pinsapo II: Diseminación de *H. abietinum* en bosques de *Abies pinsapo* 537

D. RODRÍGUEZ-JURADO, J. BEJARANO-ALCÁZAR. Dispersión de *Verticillium dahliae* en el agua utilizada para el riego de olivares en Andalucía 547

TERAPÉUTICA

E. B. COUTO, C. F. WILCKEN, F. B. SARRO, E. D. VELINI. Avaliação de metil jasmonato na indução de resistência de plantas de *Eucalyptus* spp. ao psílideo-de-concha *Glycaspis brimblecombei* Moore (Hemiptera: Psyllidae) 563

M. BOTTON, A. NONDILLO, M. ZART, S. PINENT, W. GENTA. Avaliação de inseticidas para o controle de *Frankliniella rodeos* (Moulton, 1933) (Thysanoptera: Thripidae) em uva de mesa no Brasil 575

OTROS TEMAS

J. SNAIKI, A. NADIF, M. OUHSSINE. El establecimiento de una cartografía de algunas plagas de la remolacha azucarera de la región del Gharb en Marruecos 581

J. E. ARAYA, T. CURKOVIC, A. CAYO. Uso de irradiación gamma como método de control cuarentenario de *Frankliniella australis* (Morgan) (Thysanoptera: Thripidae) 588

RECENSIÓN DE PUBLICACIONES 595

