

BOLETÍN DE SANIDAD VEGETAL

VOLUMEN 37 - NÚMERO 2 - 2011

PLAGAS

SANIDAD VEGETAL PLAGAS - VOL. 37 N.º 2 - 2011



GOBIERNO
DE ESPAÑA

MINISTERIO
DE MEDIO AMBIENTE
Y MEDIO RURAL Y MARINO

BOLETÍN 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.

La revisión de los trabajos presentados para su posible publicación se llevará a cabo por un componente del Consejo de Redacción y un experto en el tema, que dicho Consejo elija.

SUSCRIPCIONES

La suscripción semestral deberá solicitarse a:

Centro de Publicaciones del MARM
Paseo Infanta Isabel, 1
28014 MADRID (España)
Fax: 91 347 57 22
e-mail: mcruzpf@marm.es

Precio de la suscripción anual IVA incluido:
España 30,00 €
Extranjero 45,00 €
Número suelto 17,00 €

Números sueltos y números anteriores se solicitarán en la misma dirección postal, fax o en las siguientes direcciones electrónicas:

centropublicaciones@marm.es
auranco@marm.es

El pago se efectuará mediante:

- talón nominativo cruzado a: SGT –Publicaciones– MARM.
- Transferencia o giro postal en c/c: 0182 2370 45 0201505722

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.



Vista dorsal de la hembra *Blastopsylla occidentalis*

NUESTRA PORTADA 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. 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 autores pueden presentar sus trabajos por correo postal en soporte magnético acompañado de una copia en papel o de forma electrónica al e-mail del editor. Los trabajos se procesarán vía electrónica (evaluación) y si procede su aceptación, una vez efectuadas las oportunas correcciones, se presentará el definitivo en soporte magnético o por correo electrónico. 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: 1.000 palabras, que pueden incluir figuras y cuadros.

Nota: 500 palabras que, excepcionalmente podrá incluir alguna figura.

Figuras y tablas: Los dibujos deben ser los originales y dispuestos para la impresión, con leyendas claras y títulos de no menos de 2 milímetros de altura para que admitan una posible reducción a ancho de caja o ancho de columna. Las tablas y gráficos se presentarán en formato editable.

Se recomienda la aportación de fotografías en color, se presentarán a tamaño de edición con una resolución mínima de 300 ppp (puntos por pulgada).

Los pies de las figuras deben presentarse en hoja aparte, numeradas, entendiéndose como tales gráficos, figuras y fotografías. Las tablas deberán numerarse y con su número se referirán en el texto, para independizarlos del mismo. Tanto las figuras como las tablas 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:

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

En las referencias de recursos electrónicos se pondrá la fecha de consulta.

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

Subdirección General de Cultivos Herbáceos e Industriales.

Redactor-Jefe de la Revista de Sanidad Vegetal-Plagas
Alfonso XII, 62
28014 MADRID (España)

Correo electrónico: publicacionesplagas@marm.es

COMUNICACIÓN

Primera cita en la Península Ibérica de *Blastopsylla occidentalis* Taylor (Homoptera: Psyllidae)

R. PÉREZ-OTERO, J. P. MANSILLA, P. BORRAJO, F. RUIZ

Se refiere la detección de un nuevo psílido del eucalipto en la Península Ibérica: *Blastopsylla occidentalis* Taylor, detectado en el suroeste de España y en el sur de Portugal. Se describe el insecto y se aportan datos acerca de su distribución en la zona.

R. PÉREZ-OTERO, J. P. MANSILLA. Estación Fitopatológica do Areiro. Deputación de Pontevedra. Subida a la Robleda, s/n, 36153 Pontevedra. Mail: efa@depo.es
P. BORRAJO, F. RUIZ. Centro de Investigación Forestal de ENCE. Ctra. A-5000, km 7,5, 21007 Huelva.

Palabras clave: *Eucalyptus*, Huelva, plaga, Portugal, psílido.

INTRODUCCIÓN

Eucalyptus camaldulensis es la segunda especie de eucalipto por superficie ocupada de España. Está introducido principalmente en la zona suroeste, y es muy utilizado en jardinería por su abundante floración, aunque también se ha empleado mucho como árbol aislado y en plantaciones lineales (MONTAYA, 1995). En la actualidad, vuelve a gozar de cierto interés como cultivo energético (producción de energía a partir de biomasa lignocelulósica) en clima árido o semiárido debido a su turno corto.

Entre las plagas de insectos que pueden comprometer su uso y aprovechamiento en la Península están el eulófido gallícola *Ophelimus eucalypti* Gahan (PUJADE-VILLAR y RIBA-FLINCH, 2004) o el psílido recientemente introducido *Glycaspis brimblecombei* Moore (HURTADO y REINA, 2008; PRIETO-LILLO *et al.*, 2009), cuyos ataques causan decoloración, pérdida de follaje y conse-

cientemente de función fotosintética y crecimiento, además de una disminución del vigor (BOUVET *et al.*, 2005). Desde este momento habrá que añadir una nueva especie de psílido que potencialmente podrá afectar negativamente a la productividad de la especie: *Blasopsylla occidentalis* Taylor.

Blasopsylla occidentalis es un homóptero de la tribu *Ctenarytainini*, subfamilia *Spondylaspininae* originario del oeste y sur de Australia. Fuera de su zona de origen ha sido detectado en Brasil, Paraguay o Chile (DE QUEIROZ y BURCKHARDT, 2007), Nueva Zelanda, México, USA (HALBERT *et al.*, 2003), Argentina (Bouvet *et al.*, 2005), Hong Kong (DE QUEIROZ y BURCKHARDT, 2007) y en Sudáfrica y Camerún (PPRI, 2007; TAMESSE *et al.*, 2010). En Europa se tiene conocimiento de su presencia en Italia desde 2006 (EPPO, 2006). Entre sus huéspedes, además de *Eucalyptus camaldulensis* están *Eucalyptus globulus*, *E. saligna*, *E. rudis*, *E. gomphocephala*, *E. oleosa*, *E. forestiana*, *E. nicholii* o *E. spathulata*.



Figura 1. Vista dorsal de la hembra de *Blastopsylla occidentalis*

Los adultos son insectos de entre 1,7 y 2,5 mm de longitud (normalmente las hembras son más grandes que los machos). Cuando nacen, son amarillentos pero después se van oscureciendo, apareciendo bandas oscuras en los terguitos; existe cierto dimorfismo sexual en el sentido de que las hembras suelen ser más oscuras, de tintes amarillentos. La cabeza, tan ancha como el tórax y de vértex cuadrangular dividido en dos partes por una línea negra, aparece fuertemente inclinada con relación al eje longitudinal del cuerpo. Frente a *Glycaspis brimblecombei*, los conos genales en *B. occidentalis* son cortos. Las antenas presentan 10 artejos, como las demás especies del género; son de color marrón con los dos últimos artejos más oscuros. Las alas, de color ceniciento, presentan los nervios marrón oscuro, y son redondeadas apicalmente. Las patas son cortas y robustas, y en las metacoxas no

presentan espinas largas, como ocurre en el género *Ctenarytaina*. Las tibias del último par de patas presentan 5 espinas, 3 ventrales y dos dorsales. El segmento basal del metatarso presenta una única espina de color negro. La genitalia externa del macho es de color amarillo y se curva hacia el dorso; la de la hembra es marrón oscuro con la placa subgenital amarilla.

Las ninfas son aplanadas dorsoventralmente. En el primer estadio son amarillas, presentan antenas de tres artejos y en ellas ya destacan los ojos compuestos de color rojo. Desde el segundo estadio aparecen los rudimentos alares y el número de artejos de las antenas se incrementa desde 5 hasta 9 segmentos en el quinto estadio. También se va evidenciando la segmentación abdominal, se desarrollan más los primordios alares y se hacen más patentes las placas oscuras que aparecen en la cara dorsal.



Figura 2. Ninfa de *Blastopsylla occidentalis*

Las hembras de *B. occidentalis* realizan la puesta en los brotes y hojas jóvenes, en las axilas de las hojas y en los ramillos. Los estados ninfales segregan gran cantidad de cera que se deposita sobre la superficie de su cuerpo así como filamentos cerosos que los recubren. También secretan melaza en abundancia, que a veces permanece adherida en forma de gotas al final del abdomen.

Es una especie de la que se conoce poco de su biología pero que siente preferencia por climas secos. No parece ser tan agresiva como otros psílidos del eucalipto, pero su presencia causa serios daños en planta joven debido a las secreciones cerosas y a la melaza. Si las poblaciones son abundantes, en arbolado adulto provocan deformación de filodios, caída prematura de hojas jóvenes y manchas en hojas y tallos. También se ha referido aborto floral como síntoma asociado a la presencia del insecto. Con estos daños se produce una pérdida de vigor de la planta, a lo que contribuye la instalación de fumagina sobre la melaza.

MATERIAL Y MÉTODOS

En noviembre de 2009 recibimos en la Estación Fitopatológica do Areiro, plantas de vivero de *Eucalyptus camaldulensis* procedentes de la provincia de Huelva con ninfas algodonosas en algunos ápices y hojas jóvenes. Las plantas fueron enviadas dentro

de un convenio establecido entre la Deputación de Pontevedra y el grupo empresarial ENCE para el estudio y control de diferentes plagas del eucalipto. Además de las ninfas, en las plantas detectamos adultos diferentes de los de otros psílidos del eucalipto ya detectados con anterioridad.

Después de haber encontrado estos insectos, se realizó una prospección visual en diferentes parcelas de *Eucalyptus camaldulensis* de ENCE en Huelva para conocer si se trataba de un hecho aislado o si se localizaba en más puntos. Además, aprovechando un viaje a Portugal, se comprobó si este psílido también estaba presente en la zona.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La observación a la lupa binocular de los individuos adultos recibidos nos llevó a determinar que se trataba de *Blastopsylla occidentalis* Taylor, y también la determinación efectuada en el Laboratorio de Referencia confirmó nuestra identificación. Se llegó a este resultado por la morfología externa, ya que se trata de un psílido que carece de las espinas largas de las metacoxas características del género *Ctenarytina* y que posee los conos genales cortos y las alas redondeadas apicalmente, lo que descarta a *Glycaspis brimblecombei*. Además, cumple otras características antes mencionadas y el examen de la genitalia del macho confirmó la identificación: los parámetros, lamelares y curvados, presentan un grupo de 15 setas esclerotizadas y cortas en la zona apical, 5-7 hacia la zona apical pero en el margen anterior y 2 a 6 formando una alineación hacia la zona basal del parámetro y en el margen posterior (esto lo diferencia de la especie tipo del género, *B. moorei*, que tiene estas setas en grupo). También el segmento apical del edeago es esférico, lo que caracteriza a esta especie.

Una vez confirmada la presencia del insecto, se comunicó a la C.A. de Andalucía su aparición. El muestreo de dispersión que se realizó en el sur de la Península, exami-



Figura 3. Genitalia del macho de *Blastopsylla occidentalis*

nando plantaciones de *E. camaldulensis* del área, determinó que el psílido se encuentra en el 90,5% de las fincas examinadas, y también en Portugal en la región del Algarve. Las poblaciones encontradas no han sido muy elevadas, y además es difícil de detectar por coexistir con las poblaciones de *Glycaspis brimblecombei*, cuya presencia es mucho más aparente. En cualquier caso, se piensa que su introducción debe de haber sido reciente, dado que en ningún caso apareció una densidad alta de insectos. Las mayores densidades poblaciones encontradas correspondieron a los meses de primavera, y ya en verano, al menos en las condiciones de la provincia de Huelva, parece casi desaparecer totalmente. Finalmente, hasta el mo-



Figura 4. Detalle de los parámetros de la genitalia masculina de *Blastopsylla occidentalis*

mento no se puede hablar de daños observados, pero debido a que pensamos que se trata de una introducción reciente, es pronto para comprobar qué trascendencia puede tener a medio o largo plazo.

AGRADECIMIENTOS

Los autores desean expresar su agradecimiento a Pedro del Estal, por sus colaboraciones.



Figura 5. Mapa de la prospección realizada en SO de la Península Ibérica

ABSTRACT

PÉREZ-OTERO, R., J. P. MANSILLA, P. BORRAJO, F. RUIZ. 2011. First report of *Blastopsylla occidentalis* Taylor (Homoptera: Psyllidae) in the Iberian Peninsula. *Bol. San. Veg. Plagas*, **37**: 139-144.

A new eucalyptus psyllid *Blastopsylla occidentalis* Taylor (Homoptera: Psyllidae) has been detected in southwestern Spain and southern Portugal. The insect description and data on its current distribution in the area are provided.

Key words: *Eucalyptus*, Huelva, pest, Portugal, psyllid.

Cuadro 1. Tabla de caracterización de los puntos de muestreo

Pto. muestreo	Lugar	Latitud N	Longitud W	Altitud (m)
1	Carretera de Bonares-Mazagón	37°09'46''	6°47'28''	54
2	La Vaqueriza	37°14'38''	6°39'54''	106
3	Coin	37°15'15''	6°49'32''	76
4	El Algarrobo	37°16'37''	6°26'54''	82
5	Mingallete	37°17'34''	6°38'32''	115
6	Ctra. de San Jual del Pto.-Lucena	37°18'20''	6°48'06''	2
7	Vivero Ence	37°18'38''	6°51'25''	9
8	Ctra. San Juan del Pto.- Niebla	37°20'09''	6°45'29''	14
9	Ctra. Monchique	37°15'54''	8°36'47''	222
10	Purchena	37°21'37''	6°26'11''	144
11	Valdeoscuro	37°20'47''	7°04'40''	91
12	Trigueros	37°21'50''	6°49'15''	51
13	Gibraleón	37°23'22''	6°59'18''	27
14	Huerta del Conde	37°26'49''	6°48'45''	132
15	La Giralda	37°28'55''	6°47'41''	170
16	El Rincón	37°29'46''	6°45'53''	174
17	Ctra Calañas	37°34'05''	6°48'20''	155
18	Cabezas Rubias	37°44'41''	7°05'31''	211
19	La Garnacha	37°48'52''	7°00'40''	300
20	Ctra. Almonte-Hinojos	37°15'59''	6°25'48''	79
21	San Isidro	37°23'34''	6°27'18''	179

REFERENCIAS

- BOUVET, J. P. R., HARRAND, L., BUCKHARDT, D. 2005. Primera cita de *Blastopsylla occidentalis* y *Glycaspis brimblecombei* (Hemiptera: Psyllidae) para la República Argentina. *Rev. Soc. Entomol. Argent.*, **64** (1-2): 99-102.
- DE QUEIROZ, D. L., BURCKHARDT, D. 2007. Introduced Eucalyptus psyllids in Brazil. *Journal of Forest Research*, **12** (5): 337-344.
- EPPO, 2006. *Blastopsylla occidentalis*: a new eucalyptus psyllid found in Italy. EPPO Reporting Service no 9. Pests & Diseases. 2006/187.
- HURTADO HERNÁNDEZ, A., REINA BELINCHÓN, I. 2008. Primera cita para Europa de "*Glycaspis brimblecombei*" Moore (Hemiptera: Psyllidae), una nueva plaga del Eucalipto. *Boletín de la Sociedad Entomológica Aragonesa*, **43**: 447-449.
- MONTOYA OLIVER, J. M. 1995. El Eucalipto. Ediciones Mundi-Prensa, 125 pp.
- PRIETO-LILLO, E., RUEDA, J., HERNÁNDEZ, R., SELFA, J. 2009. Primer registro del psílido rojo del eucalipto, *Glycaspis brimblecombei* (Homoptera: Psyllidae), en la Comunidad Valenciana. *Bol. San. Veg. Plagas*, **35**: 277-281.
- PUJADE-VILLAR, J., RIBA-FLINCH, J. M. 2004. Dos especies australianas de eulófidos, muy dañinas para *Eucalyptus* spp., introducidas en el nordeste ibérico (Hymenoptera: Eulophidae). *Boletín de la Sociedad Entomológica Aragonesa*, **35**: 299-301.
- TAMESSE, J. L., LAURENTINE, S., WENCESLAS, Y., JOLY, D.N. 2010. First record of *Blastopsylla occidentalis* Taylor, 1985 (Hemiptera: Psyllidae), a Eucalyptus psyllid in Cameroon, Central Africa. *Entomological Research*, **40**: 211-216.
- Referencias online:
- HALBERT, S., GILL, R., NISSON, J. N., 2003. Eucalyptus psyllid, *Blastopsylla occidentalis* Taylor and Red Gum lerp psyllid, *Glycaspis brimblecombei* Moore (Insecta: Hemiptera: Psyllidae). University of Florida. EENY-306. Disponible desde Internet en: <http://edis.ifas.ufl.edu> [con acceso el 19 de octubre de 2010]
- PPRI, Plant Protection Research Institute. *Blastopsylla occidentalis*: another new Eucalyptus pest in South Africa. Plant Protection News, April-June 2007, **72**: 2-3. Disponible desde Internet en: http://www.arc.agric.za/uploads/images/0_PPNews_no_72.pdf [con acceso el 19 de octubre de 2010]

(Recepción: 3 diciembre 2010)
(Aceptación: 1 julio 2011)

Defoliadores importantes del quejigo (*Quercus faginea* Lamck.) en Castilla y León (España)

P. MARTÍNEZ-ZURIMENDI, E. ROSA Y CUBO, M. DOMÍNGUEZ-DOMÍNGUEZ

Las especies de lepidópteros que causan defoliaciones al quejigo en las provincias de Palencia y Valladolid se identificaron mediante captura y crianza de larvas. Durante nueve años las defoliaciones acaecidas fueron causadas principalmente por nueve especies: *Tortrix viridana* Linnaeus (Lepidoptera, Tortricidae), *Lymantria dispar* Linnaeus (Lep., Lymantriidae) y *Euproctis chrysorrhoea* Linnaeus (Lep., Lymantriidae) ocasionaron defoliaciones que se repitieron años sucesivos; *Colotois pennaria* Linnaeus (Lep., Geometridae), *Malacosoma neustria* Linnaeus (Lep., Lasiocampidae), *Operophtera brumata* Linnaeus (Lep., Geometridae) ocasionaron defoliaciones totales, que no se repitieron durante años sucesivos; *Erannis defoliaria* Clerck (Lep., Geometridae), *Phycita torrenti* Agenjo (Lep., Phycitidae) y *Dryobotodes eremita* Fabricius (Lep., Noctuidae), ocasionaron defoliaciones importantes conjuntamente o tuvieron participación significativa en concurrencia con las plagas principales, pero sin repetir defoliaciones en años sucesivos. Las defoliaciones severas y repetidas ocasionan mortandades en el arbolado.

P. MARTÍNEZ-ZURIMENDI. Universidad de Valladolid. ETSIA. Instituto Universitario de Investigación Gestión Forestal Sostenible. Dpto. Prod. Veg. y Recursos Forestales. Avda. Madrid, 44, 34071 Palencia. España. mzurimen@pvs.uva.es.

E. ROSA Y CUBO. Estudios y Proyectos Línea, S.L. Calle Alonso Berruguete, 2 - 3º, 47003 Valladolid. España.

M. DOMÍNGUEZ-DOMÍNGUEZ. Colegio de Postgraduados, Campus Tabasco, México. C.P. 86500 A.P. 24, H. Cárdenas, Tabasco, México.

Palabras clave: *Tortrix viridana*, *Lymantria dispar*, *Euproctis chrysorrhoea*, *Colotois pennaria*, *Phycita torrenti*.

INTRODUCCIÓN

El quejigo (*Quercus faginea* Lamarck) es un roble de hoja marcescente, propio de terrenos básicos (TUTIN *et al.*, 1993; CEBALLOS y RUIZ DE LA TORRE, 1979). Sus masas, puras y mezcladas, ocupan 568.563,41 ha en España (WWF, 2009) por lo que es la tercera frondosa en importancia en España. La entomofauna asociada a este árbol, y los Lepidópteros que lo defolian, es muy abundante y variada (YELA, 1992). Ocurren importantes defoliaciones, que pueden provocar la muerte del arbolado cuando se repiten. Las características particulares de

esta especie climática, la devaluación de sus producciones directas (leña, carbón, bellota, agallas), y la importancia cada vez mayor de los beneficios indirectos (ocio, protección y paisaje, entre otras), demandan un conocimiento detallado de sus plagas.

Las referencias al quejigo en el campo de la entomología forestal española (SORIA y TOIMIL, 1983; VIEJO, 1984a, 1984b; PASCUAL *et al.*, 1994; EXTREMERA *et al.*, 2004) son escasas comparadas con los abundantes trabajos dedicados a la fauna lepidopterológica del rebollo (*Quercus pyrenaica* Willdenow), la encina (*Quercus ilex* Linnaeus, *sub. ilex*) y el alcornoque (*Quercus suber* Linna-

eus). VIEJO (1984a , 1984b) estudia las mariposas diurnas (Ropalóceros) de los quejigares de la región de Madrid, y VIEJO y TEMPLADO (1986) establecen que los quejigares tienen menor número de especies de Ropalóceros que los rebollares y más que los coscojares (*Quercus coccifera* Linnaeus). TEMPLADO (1990) estudia la fenología de los defoliadores del encinar, encontrando que el desarrollo larval siempre coincide con la brotación y describiendo los ciclos biológicos tipo para la mayoría de las especies. RODRÍGUEZ (1992) describe morfología, taxonomía, principales plagas y enfermedades del quejigo. SAN MIGUEL (1986) destaca la importancia, como plagas, del brugo (*Tortrix viridana* Linnaeus, Lep., Tortricidae), la lagarta peluda (*Lymantria dispar* Linnaeus, Lep., Lymantriidae), la lagarta rayada (*Malacosoma neustria* Linnaeus, Lep. Lasiocampidae) y la royega (*Euproctis chryorrhoea* Linnaeus, Lep., Lymantriidae). Considera menos importantes a: *Tischeria complanella* Hübner (Lep., Tischeriidae), *Coleophora spp* Hübner (Lep., Coleophoridae), *Lasiocampa quercus* Linnaeus (Lep., Lasiocampidae), *Cabera pusaria* Linnaeus (Lep., Geometridae), *Erannis defoliaria* Clerck (Lep., Geometridae), *Operophtera brumata* Linnaeus (Lep., Geometridae), *Orgyia antiqua* Linnaeus, (Lep., Lymantriidae) y *Thaumetopoea processionea* Linnaeus (Lep., Thaumetopoeidae), entre los Lepidópteros y *Orchestes quercus* Linnaeus (Coleoptera, Curculionidae) entre los Coleópteros.

Las comarcas naturales en que se han hecho los muestreos han sido los “Montes de Torozos” y “Valles de Cerrato”, en el sur de la provincia de Palencia y norte de Valladolid. Aquí el quejigo es el árbol más típico y genuino constituyente del paisaje. Se encuentra aprovechado en montes bajos, con o sin resalvos o en montes adhesionados, sólo o en mezcla con otras especies: la encina (*Q. ilex*) y la sabina (*Juniperus thurifera*, Linnaeus) principalmente. Cerrato y Torozos se caracterizan por un paisaje de valles y páramos separados por cuestras; páramos consti-

tuidos por mesas defendidas por losas calizas o “lastras”, donde ha permanecido el bosque de quejigo al amparo de la superficialidad de la roca y de la escasa potencia del horizonte cultivable. En las cuestras con afloramientos yesosos y margosos, el bosque persiste debido a la fuerte pendiente que dificulta el cultivo agrícola, el quejigo se adapta bien a la pesadez y compacidad de esos suelos, sobre todo en orientaciones de umbría. Las vegas están cultivadas y en ellas se encuentran algunos quejigos grandes, al pie de las cuestras o en la linde de los cultivos.

La zona recibe precipitaciones medias, entre 413 (Venta de Baños) y 500 mm anuales (Cevico Navero), con inviernos particularmente rigurosos y largos, y un período de actividad vegetal de siete meses. El fitoclima de la comarca es nemoromediterráneo genuino, tipo climático VI (IV)₁(ALLUÉ ANDRADE, 1966).

Debido a la importancia ecológica del quejigo, se planteó el objetivo de definir los Lepidópteros defoliadores que constituyen plaga de la especie, mediante recolección y cría en cautividad de las orugas encontradas, valorando la densidad en que se encuentran las más frecuentes e importantes que originan daños al quejigo, y la frecuencia con que constituyen plaga.

MATERIAL Y MÉTODOS

Inventario de defoliadores y capturas

Los Lepidópteros fueron capturados en fase larvaria y alimentados sobre hojas de quejigo. Las orugas fueron capturadas por tres métodos: vereo, recogida de ramillas seguida de inspección en laboratorio, y captura directa sobre el árbol. En cada punto de recogida se varearon tres árboles o matas (SORIA, 1987), buscando capturar orugas de todos los estratos. Bajo cada árbol vareado se extendió un plástico de 1,8 m x 0,9 m de dimensiones. Con un palo se dieron, a lo largo de treinta segundos, diez golpes fuer-

tes a las ramas situadas encima. Se recogieron las orugas y se introdujeron inmediatamente en tubos de cría individuales. En la primera quincena de julio los vareos arrojaron repetidamente resultados nulos, por lo que se suspendieron.

Para medir la densidad de población se eligieron cinco árboles por punto de muestreo, evitando los que estaban completamente defoliados o presentaban follaje anormal, y se cortaron tres ramillas de 20 cm en direcciones opuestas de la copa de cada árbol. Se envolvieron en bolsa de plástico antes de cortarlas para evitar que las orugas escapasen, y se etiquetaron con la localización y la fecha. Con este método se obtuvieron orugas reacias a desprenderse de las ramas. En laboratorio se observaron minuciosamente las orugas (PASCUAL *et al.*, 1994) se identificaron, anotando especie y estadio, o las menos frecuentes, se pasaron a frascos de cría etiquetándolos con localidad y fecha. Se recogieron, además, las orugas que se encontraron a simple vista en el follaje de los quejigos, en su mayoría especies que destacan por su colorido o su tamaño.

El estudio se realizó durante nueve años: los muestreos de ramillas se realizaron fundamentalmente en los meses de mayo, junio y julio de 1991; los vareos se realizaron del 13 de mayo al 3 de julio de 1992, y se reanudaron en el mes de mayo de 1997, para aprovechar una inusual abundancia y variedad de orugas. Se llevaron a cabo capturas a la vista esporádicamente en mayo y junio de los años 1991-1999.

Cría en laboratorio

Las orugas se criaron aisladas en tubos de vidrio transparente, de 6,5x1 cm con hojas frescas de quejigo, y tapones de algodón en los extremos. Para cada oruga se anotaron lugar, método y fecha de captura, mudas, crisalidación, emergencia y muerte de los imagos; descripción del insecto y clasificación provisional, así como cambios de color, forma de crisalidar, comportamiento,

parasitación, etc. Se criaron 402 orugas en el año 1991, 588 en el año 1992, 17 en el 1993 y 13 en el 1994, 203 en el año 1997 y 137 en el 1998. Los tubos recibían iluminación natural. Cada dos días se sustituían las hojas, se retiraban excrementos y se anotaban incidencias.

Las especies pequeñas completaron su desarrollo en tubos de vidrio. Las orugas grandes se cambiaron a botes de plástico con tapa perforada de 60x50 mm o de 70x90 mm. La mayoría de las crisálidas se colocaron en botes para facilitar la emergencia. Algunas orugas gregarias como *L. dispar* y *M. neustria* se criaron en grupos en cajas de plástico traslúcido de 14x25x5 cm. con ventanas de rejilla.

Identificación de ejemplares

Algunos imagos, así como algunas orugas de las que no se obtuvo imago, se identificaron con seguridad con ayuda de la bibliografía disponible (GÓMEZ DE AIZPURÚA, 1985, 1986, 1987a, 1987b, 1988a, 1988b, 1989b, 1990a, 1990b, 1990c; SORIA 1987). Para confirmar la identificación se analizó la genitalia de los adultos y de un adulto "fallato". La genitalia se preparó con el sistema abreviado descrito por VIVES MORENO (1977). La morfología y el ciclo biológico de las especies están adecuadamente descritos por BACHILLER *et al.* (1981), SORIA (1987), y GÓMEZ DE AIZPURÚA (2003, 2007) por lo que se omite su descripción.

Censos y evaluaciones de la población

Se realizaron vareos en 9 localidades de la comarca de Cerrato y Torozos: en Dueñas los días 4 y 19 de junio de 1991; 12 y 13 de mayo y 2, 3, 5, 8, 9 y 10 de junio de 1992; 10 y 13 de mayo de 1997; 21 de mayo y 2 de junio de 1998; en Valdeolmillos 25 de mayo y 29 de junio de 1992; en Villalba de los Alcores 13 de mayo y 29 de junio de 1992; en Villarmiro (Baltanás) 20

de mayo de 1992; en Tariego de Cerrato 30 de mayo de 1992; en Valoria del Alcor 2 de julio de 1992; en Soto de Cerrato 9 y 24 de mayo de 1992; en Valverde (Antigüedad) 29 de mayo y 4, 23 y 24 de junio de 1992; en Villaviudas 10, 11 y 13 de mayo de 1997.

RESULTADOS

En seis montes de quejigo de Cerrato y Torozos en Palencia se detectaron defoliaciones totales en los árboles entre los años

1990 y 1998, siendo *E. chrysorrhoea* la especie causante en el monte "Barbas de Oro" durante cinco años consecutivos, en Dehesa durante tres años y en Dehesilla un año. *L. dispar* causó defoliaciones durante tres años consecutivos en el monte de Dueñas, y *T. viridana* en la Dehesa de Valverde. *O. brumata*, *C. pennaria* y *M. neustria* causaron defoliaciones que no se repitieron al año siguiente o en las que cambió la especie causante, ya fuera sola o acompañada en proporción importante por otras especies (Cuadro 1). En 1995 no se recibió noticia de defoliaciones.

Cuadro 1. Especies de lepidópteros causando defoliación en quejigares de Cerrato y Torozos 1990-1998 (observaciones propias y Servicio Provincial de Medio Ambiente de Palencia, Junta de Castilla y León)

Montes	1990	1991	1992	1993	1994	1995	1996	1997	1998
Dueñas	<i>L. dispar</i>	<i>L. dispar</i>	<i>L. dispar</i>	-	-	-	Diversas especies	<i>C. pennaria</i>	<i>O. brumata</i> y otras
Barbas de Oro	<i>E. chrysorrhoea</i>	<i>E. chrysorrhoea</i>	<i>E. chrysorrhoea</i>	<i>E. chrysorrhoea</i>	<i>E. chrysorrhoea</i>	-	-	-	-
Dehesa	-	<i>E. chrysorrhoea</i>	-	<i>E. chrysorrhoea</i>	<i>E. chrysorrhoea</i>	-	-	-	-
Dehesilla	<i>E. chrysorrhoea</i>	-	-	-	-	-	-	-	-
Monte del Rey	-	-	<i>M. neustria</i> y otras	-	-	-	-	<i>M. neustria</i> y otras	<i>O. brumata</i> y otras
Dehesa de Valverde	<i>T. viridana</i>	<i>T. viridana</i>	<i>T. viridana</i>	-	-	-	-	-	-

El mayor número de orugas capturadas en Palencia ha sido de la especie *O. brumata* en Dueñas, Valverde y Villaviudas (Cuadro 2). En Valverde se encontró *T. viridana* en número extraordinariamente abundante, al igual que *L. dispar* en Dueñas, y no se procedió a su captura. En el Monte de Dueñas se realizó un esfuerzo especial de capturas, lo que permitió capturar todas las especies en número apreciable. En el resto de los montes se detectaron al menos dos de las especies seleccionadas como en Soto, tres en Villaviudas y Villalba), cuatro en Valoria y Valdeolmillos, cinco en los otros

montes con más intensidad de muestreo como Valverde y siete especies en Villarmiro. La abundancia de una especie no impidió la presencia de otras.

El Cuadro 3 informa las fechas más temprana y más tardía de captura, crisalidación y emergencia: las capturas empezaron la segunda semana de mayo para todas las especies excepto *E. defoliaria* que se capturó a partir de la tercera semana de mayo. *O. brumata* fue la especie cuyas orugas se rarificaron antes (26 de mayo), seguida de *T. viridana*, *E. defoliaria* y *D. eremita* en la primera semana de junio; *P. torrenti* y *C.*

Cuadro 2. Orugas (y crisálidas) capturadas el año 1991 criadas en laboratorio por localidades de captura

Localidad de captura	<i>Tortrix viridana</i>	<i>Malacosoma neustria</i>	<i>Phycita torrenti</i>	<i>Operophtera brumata</i>	<i>Colotois pennaria</i>	<i>Erannis defoliaria</i>	<i>Euproctis chryssorrhoea</i>	<i>Lymantria dispar</i>	<i>Dryobotodes eremita</i>
Dueñas	45(21)	21	43	87	50	6	*	24 *	12
Valdeolmillos	1(1)	9	3			1			
Villalba de los Alcores	(1)						*		1
Villarmiro (Baltanás)	12	1	9		4	1	*		4
Tariego de Cerrato	(9)					1			1
Valoria del Alcor	2						*	1	1
Soto de Cerrato	1 (1)							1	
Valverde (Antigüedad)	*	6		30				1	1
Villaviudas		3		5	4				

* Extraordinariamente abundante, no capturada.

Cuadro 3. Fechas más tempranas y más tardías de captura, crisalidación y emergencia; incidencia del parasitismo y éxito de la transformación en la fase siguiente

	Orugas capturadas	Fechas de captura de orugas	Parasitación orugas N° (%)	Fechas de crisalidación	Crisalidaciones N° (%)	Fechas de emergencia	Emergencias N° (%)
<i>Tortrix viridana</i>	61	13-may_ 03-jun	6 (9,8)	18-may_ 11-jun	23 (37,7)	26-may_ 24-jul	18 (78,3)
<i>Malacosoma neustria</i>	40	10-may_ 29-jun	10 (25,0)	05-jun_ 06-jul	8 (20,0)	29-jun_ 20-jul	8 (100)
<i>Phycita torrenti</i>	85	13-may_ 12-jun	3 (3,5)	28-may_ 06-jul	29 (34,1)	15-ago_ 24-ago	12 (41,4)
<i>Operophtera brumata</i>	92	13-may_ 26-may	0	23-may_ 06-jun	69 (75,0)	01-oct_ 30-nov	21 (30,4)
<i>Colotois pennaria</i>	48	10-may_ 11-jun	17 (35,4)	15-jun_ 30-jun	20 (41,7)	01-sep_ 30-oct	11 (55)
<i>Erannis defoliaria</i>	9	20-may_ 05-jun	2 (22,2)	09-jun_ 13-jun	3 (33,3)	15-dic	1 (33,3)
<i>Lymantria dispar</i>	27	13-may_ 24-jun	4 (14,8)	29-jun	1 (3,7)	15-jul	1 (100)
<i>Dryobotodes eremita</i>	21	12-may_ 05-jun	1 (4,8)	23-may_ 15-jun	10 (47,6)	29-jun_ 07-oct	5 (50)

pennaria en la segunda semana; hasta finales de junio aparecieron orugas de *L. dispar* (el 24) y *M. neustria* (el 29). Las crisalidaciones siguieron un orden similar empezando

de la tercera semana de mayo y ocurriendo hasta mediados de junio para *T. viridana*, *O. brumata* y *D. eremita*. Las crisalidaciones más concentradas se produjeron en la

tercera semana de junio en *E. defoliaria*, en la segunda quincena de junio en *C. pennaria*, y la última semana de junio en *L. dispar*; *P. torrenti* crisalidó entre finales de mayo y primeros de julio y *M. neustria* desde primeros de junio a primeros de julio. La emergencia de los adultos ocurrió primero en *T. viridana*, seguida por *M. neustria*, *L. dispar* y *P. torrenti* a lo largo del verano, por *C. pennaria* y *O. brumata* en el otoño, y *E. defoliaria* en invierno; *D. eremita* espació su emergencia entre el verano y el otoño.

Los porcentajes de crisalidación en cautividad estuvieron entre 3,5 y 35,4%: los más bajos se obtuvieron en *P. torrenti* y *D. eremita*, seguidos por *T. viridana* y *L. dispar*, y los mayores se produjeron en *E. defoliaria*, *M. neustria* y *C. pennaria*. Las emergencias fueron altas, entre el 30,4% en *O. brumata* y el 100% en *M. neustria* y *L. dispar*.

La incidencia de los parásitos abarcó entre 3,7% en *L. dispar* (constituyó plaga también al año siguiente) y 20% en *M. neustria*, hasta el 75% en *O. brumata*, constituyendo entre 33,3 y 47,6% para el resto de las especies.

***T. viridana*:** se capturaron orugas en primeros estadios desde el 13 de abril. Es una oruga temprana y de rápido desarrollo, encontrándose en sus primeros estadios desde abril y mayo en zonas frías, y marzo en zonas cálidas (SORIA, 1987). La crisalidación se produjo en un corto período de tiempo: la última semana de mayo y la primera de junio (Figura 1). La duración media en estado de crisálida es 18 días, según las observaciones realizadas en 32 orugas. Excepcionalmente puede durar hasta mes y medio, emergiendo los adultos a mediados de julio. La especie inverna en estado de huevo. La tasa de parasitismo observada sobre 103 orugas y crisálidas fue de 7,8%. El porcentaje de crisálidas



Figura 1. *Tortrix viridana* L.: oruga; oruga parasitada por *Apanteles* sp.; crisálida extraída del capullo; vista dorsal y lateral de los imagos.

viables es del 71%, lo que da idea del potencial biótico y peligrosidad de esta especie. En ausencia de alimento las orugas pueden crisalidar aceleradamente, o estar sin comer durante largo tiempo: una oruga construyó un capullo el 5 de junio de 1992, aparentemente para crisalidar; en noviembre la oruga estaba viva, ya no crisalidó.

En el monte de Valverde (Antigüedad, Palencia), en el año 1991 se registró un fuerte ataque de *T. viridana*. En 1992 se realizó un muestreo en el mismo monte, mediante vareo con tres puntos de muestra y en cada uno de ellos tres quejigos: se encontraron 170 orugas, de las cuales el 87% eran *T. viridana*. En años posteriores a infestaciones graves de este insecto, es previsible un nivel de plaga similar al del año precedente y nuevas defoliaciones intensas. Su presencia fue detectada en todos los montes estudiados, siempre en porcentajes elevados de abundancia relativa: 37% en Dueñas, 57% en Villalba de los Alcores, 26% en Villarmiro. Todos estos ejemplos indican la presencia endémica de *T. viridana* en los quejigares de Cerrato y Torozos. Esta especie ocasionó defoliaciones importantes en la Dehesa de Valverde durante tres años consecutivos. Sus daños se infravaloran en la región por el escaso aprovechamiento silvopastoral de estos montes.

***M. neustria*:** se han capturado algunas orugas en mayo, y la mayoría en junio, en la fase en que están bastante desarrolladas y se alimentan individualmente. En sus primeros estadios viven gregariamente, lo cual ha

sido confirmado por SORIA (1987). La crisalidación tiene lugar la última mitad de junio y la primera de julio, durando en este estadio una media de veinticuatro días, los adultos vuelan durante todo el mes de julio y parte de agosto.

Su oruga es activa y vistosa, y su localización es sencilla (Figura 2). En los quejigares estudiados resultó escasa, salvo los ataques graves ocasionados en el Monte del Rey (Valdeolmillos) en 1992 y 1997 conjuntamente por varias especies, de las que *M. neustria* y *O. brumata* fueron las más abundantes.

En esta especie se observó una alta tasa de parasitismo, del orden del 33%, sobre todo por Himenópteros Bracónidos, y un alto porcentaje de emergencia.

***P. torrenti*:** se capturaron orugas de primeros estadios desde principios de mayo. Las crisalidaciones se produjeron escalonadamente desde los últimos días de mayo a últimos de junio, durando este período, 29 días de media. La emergencia de los adultos sobrevino a mediados del mes de julio. Según SORIA (1987; citando a AGENJO, 1962) puede presentarse una segunda generación de adultos; la especie inverna en forma de huevo.

Esta especie presentó una baja tasa de parasitismo, según lo observado en laboratorio, de un 7% en fase de oruga. La falta de adaptación a la cría artificial puede ser la razón del bajo porcentaje de emergencia (40%) de las crisálidas. El comportamiento de las orugas (Figura 3) fue muy activo, rea-



Figura 2. Vista dorsal de la oruga de *Malacosoma neustria* L.



Figura 3. Vista dorsal de la oruga de *Phycita torrenti* Agenjo

lizando violentas sacudidas al ser molestadas. En el árbol se descolgaban rápidamente por un hilo de seda al notar algún peligro.

Se comprobó mediante los muestreos que *P. torrenti* es una especie abundante en todos los quejigares estudiados: la abundancia sobre las demás especies fue el 12%. Este dato se comprobó también en encinas muestreadas en los Montes de Torozos y el Cerrato. La abundancia y frecuencia de esta especie son, de por sí, razones suficientes para considerarla plaga secundaria, aunque a menudo pasa inadvertida por la semejanza de sus daños con los de *T. viridana*. Además, las defoliaciones de *P. torrenti* complementaron en el tiempo a las de *T. viridana*, ya que su crisalidación tuvo lugar como media 15 días después que la de ésta. Los tratamientos contra *T. viridana* resultan altamente eficaces contra *P. torrenti* (SÁNCHEZ-HERRERA y SORIA, 1987).

O. brumata tiene una generación invernal, de noviembre a febrero, cuando efectúa la puesta; las orugas (Figura 4) nacen en mayo y crisalidan a mediados de agosto (SORIA 1987). Sus poblaciones en la zona de estudio resultaron escasas en la mayoría de los años y las localidades estudiadas; en los años 1991 y 1992 se recolectaron orugas que respondían a la descripción hecha por Soria, pero sólo un ejemplar pudo identificarse con seguridad.

Se encontraron muchas orugas en el monte de Dueñas el año 1997; el año 1998, en el mismo monte, produjo defoliaciones apreciables en muchos quejigos. En el Monte del Rey, ese mismo año 1998 se pro-

dujeron nuevas defoliaciones, y *O. brumata* resultó la especie más abundante. Ese año no se observaron parásitos en esta especie.

C. pennaria: las orugas nacieron en abril o mayo, y pasaron en este estado todo el mes (Figura 5). Crisalidaron a mediados de junio, o más tarde según las condiciones ambientales. Los adultos volaron en septiembre-octubre, la especie pasa el invierno en forma de huevo (Figura 6). Durante el año 1992 sólo se capturó esta especie en Villarmiro. En 1997 abundó en el monte de Dueñas y llegó a defoliar buena parte de los quejigos. El año siguiente fue menos abundante, y sufrió una gran presión por parte de los parásitos. Algo similar ocurrió en el Monte "El Viejo" de Palencia a finales de la década de 1980. Por tanto, se trata de un Lepidóptero habitualmente escaso, que puede formar plagas importantes esporádicamente, pero que difícilmente pueden repetirse en años sucesivos. Se detectó un porcentaje de parasitismo del 12,8% el año 1997, y del 100% en el año 1998.



Figura 4. Vista lateral de la oruga de *Operophtera brumata* L.



Figura 5. Vista lateral de la oruga de *Colotois pennaria* L.



Figura 6. *Colotois pennaria* L.: cremáster; oruga muerta por la acción de un parásito; imago; puesta.

***E. defoliaria*:** las orugas son tempranas, naciendo al principio de la primavera; se capturaron orugas desarrolladas en mayo (Figura 7). La crisalidación tuvo lugar a principios de junio. Los adultos volaron en invierno, subiendo las hembras a las copas de los árboles para ser fecundadas.

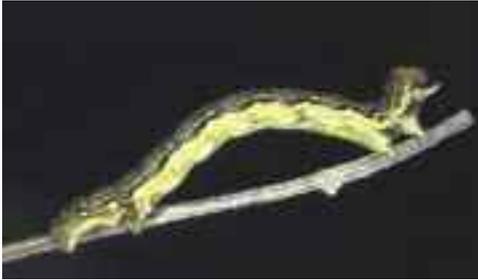


Figura 7. Aspecto desafiante de la oruga de *Erannis defoliaria* Clerck

La tasa de parasitismo observada fue relativamente alta (22,2%). SORIA y TOIMIL (1983) citan 14 especies de parásitos sobre esta especie. La cría en cautividad presentó muchos problemas, produciéndose elevadas mortalidades, escasas crisalidaciones y sólo una emergencia, sin que se conocieran las causas.

E. defoliaria sólo resultó relativamente abundante en Dueñas, en las primeras semanas de mayo (un 7%), con poblaciones que no ponían en peligro a los quejigos. La bibliografía consultada clasifica a esta especie como muy peligrosa, siendo una plaga de primer orden en gran parte de Europa debido a su gran polifagia y voracidad. En España no se han descrito ataques de entidad, salvo el citado por SORIA y TOIMIL (1983) en Montes de Toledo.

***E. chrysorrhoea*:** no se llevaron orugas al laboratorio para su cría, debido al carácter fuertemente urticante que presentan, que hace imposible trabajar con estos animales vivos en un lugar cerrado. En los vaneos realizados aparecieron orugas de *E. chrysorrhoea* en todas las localidades. Se considera suficiente el conocimiento acerca de su biología, por las observaciones he-

chas en el campo, en Herrera de Valdecañas y Tabanera de Cerrato (Palencia) donde esta especie constituye plaga de forma endémica.

En la zona de estudio las orugas nacieron en el mes de septiembre y permanecieron agrupadas, comenzando a alimentarse. Al empezar el otoño tejieron un refugio en forma de nido piriforme, uniendo varias hojas o ramillas con seda, teniendo un aspecto típico en su brillo plateado-nacarado. En este refugio pasaron el invierno, saliendo de él en primavera (Figura 8). Así empezaron a defoliar el árbol nada más brotar éste, y alcanzaron en pocas semanas el tercer y cuarto estadios. Las orugas continuaron alimentándose de los sucesivos rebrotes de los árboles, sin permitirles reconstruir su follaje hasta finales de julio, cuando crisalidaron. Si los árboles están totalmente defoliados, las orugas buscan alimento en cualquier otro vegetal: los matorrales, el pasto o los cultivos. Los adultos aparecieron a finales de julio, se aparearon y realizaron la puesta.

La característica más notable de *E. chrysorrhoea* desde el punto de vista forestal fue su gran voracidad y polifagia, que le permitió alimentarse prácticamente de cualquier vegetal, siendo especialmente perjudicial para los olmos (*Ulmus minor* Miller) y quejigos en la zona estudiada. Es un defoliador otoñal y primaveral, lo cual agrava el problema de la plaga y condiciona la planificación de los tratamientos.



Figura 8. Orugas de tercer estadio de *Euproctis chrysorrhoea* L.

E. chrysoorrhoea puede considerarse plaga de primera magnitud, produce defoliaciones muy bruscas e intensas donde su población es elevada: totales, repetidas y acompañadas por infestación de pelos urticantes, que hace insalubre cualquier actividad humana en el monte: uso recreativo, cinegético, pastoreo, labores selvícolas etc.

En el año 1986, las masas de quejigo y encina de Villalba de los Alcores (Valladolid), sufrieron una defoliación casi total, causada por esta especie. El año siguiente se repitió la defoliación con menos intensidad. En los años 1991, 1992 y 1993, los montes de quejigo de Herrera de Valdecañas (“Barbas de oro”), y Tabanera de Cerrato (“Dehesa”) sufrieron defoliaciones totales por parte de la especie; debido a la gravedad de los daños se realizó un tratamiento químico en 1991. En el término municipal de Ampudia (Palencia), el quejigar de “Dehesilla”, sufrió un ataque de *E. chrysoorrhoea* el año 1992 que fue combatido mediante tratamiento químico. En las demás localidades estudiadas, esta oruga fue muy escasa, o no se encontró. Las observaciones realizadas apuntan a que esta especie se instala de manera permanente en ciertos biotopos, actuando allí como plaga endémica y repetida.

***L. dispar*:** Varios cientos de orugas (Figura 9), procedentes en su mayoría de Dueñas (Palencia), capturadas por vareo y directamente del árbol, fueron trasladadas a labora-



Figura 9. Oruga de *Lymantria dispar* L. mostrando el diseño anal, muy similar al de la cápsula cefálica.

torio para estudiar el complejo parasitario asociado. El bajo porcentaje de crisalidaciones puede deberse a que de forma individualizada se cría muy mal: cuando se criaron en grupos de 10 se obtuvieron muchos adultos.

La eclosión de los huevos se produjo a principios de la primavera y depende de la temperatura ambiente. Se recogieron 30 puestas en el monte de Dueñas el 5 de marzo de 1992 y se mantuvieron en el exterior. Otras 30 puestas recogidas el 16 de marzo de 1992, procedentes también de Dueñas, fueron mantenidas en laboratorio a una temperatura de 15° C. El resultado fue que de las puestas mantenidas en laboratorio comenzaron a nacer orugas el día 23 de marzo, mientras que de las mantenidas al aire libre comenzó la eclosión mes y medio más tarde, el 11 de mayo. Las crisalidaciones tuvieron lugar escalonadamente, en junio y julio, durando en este estado aproximadamente tres semanas. Los imagos emergieron a mediados de julio; los machos emergieron unos días antes que las hembras.

Se observó un amplio cortejo parasitario que afecta a *L. dispar* en todos sus estadios y comprobó el alto índice de parasitismo de huevos por parte de Himenópteros de la familia Pteromalidae. En la fase de oruga se encontraron Dípteros Tachinidae, e Himenópteros de las familias Ichneumonidae y Braconidae, que actúan sobre todo en el estadio 3°, 4° y 5°. La fase de crisálida también tuvo sus parásitos, y se encontraron especies de las familias Tachinidae (Dípteros) y Chalcididae (Himenópteros).

En la zona de Cerrato y Torozos destacan como predadores las aves, especialmente los Páridos: carbonero común (*Parus major* Linnaeus, Paseriformes, Paridae), herrerillo común (*Parus caeruleus* Linnaeus, Pas., Paridae), etc. El predador más importante de esta plaga en cuanto al control que ejerce sobre sus poblaciones es *Calosoma sycophanta* Linnaeus (Coleoptera, Carabidae). Otras especies de Carábidos, también útiles en el control de esta plaga, son *Calosoma inquisitor* Linnaeus (Col., Carabidae) y *Calosoma auropunctatum* Herbst (Col., Carabidae). A diferencia de especies que se en-

contraron en todos los montes muestreados, *L. dispar* fue la especie más abundante en Dueñas, y no fue detectada en Villalba de los Alcores, Tariego y Villarmiro.

En el monte de Dueñas, los muestreos realizados en 1992 indicaron que *T. viridana* es una plaga precoz, coincidiendo sus defoliaciones con la brotación y floración del arbolado, tanto de quejigos como de encinas: en mayo fue la oruga más abundante (37%) y *L. dispar* la siguió con el 18%; en junio, cuando el arbolado tenía su follaje desarrollado, *L. dispar* llegó al 34%, y *T. viridana*, que ya había comenzado a crisalidar, bajó al 15%.

D. eremita: se capturaron orugas desde mediados de mayo (en estadios inferiores) hasta principios de junio (en último estadio) (Figura 10). Se capturaron en porcentajes apreciables en la mayoría de los montes estudiados.



Figura 10. Vista lateral de la oruga de *Dryobotodes eremita* Fabricius.

La crisalidación tuvo lugar escalonadamente durante los meses de mayo y junio, y se obtuvieron crisálidas en laboratorio desde el 23 de mayo hasta el 15 de junio. Los adultos emergieron entre la última semana de septiembre y la primera de octubre de 1992. Según SORIA (1987) es especie univoltina, con una sola generación anual, volando los adultos de agosto a septiembre.

DISCUSIÓN

T. viridana debe considerarse plaga de primera magnitud pues sus defoliaciones, a

veces totales aunque de corta duración, dañan considerablemente al arbolado; la decisión de utilizar o no control químico dependerá del uso del monte y de la intensidad y frecuencia interanual de la defoliación. En España es de los más importantes defoliadores de la encina (TOIMIL, 1989; SORIA y NOTARIO, 1990; TEMPLADO, 1990), del rebollo (PASCUAL *et al.*, 1991) y del alcornoque (SOUSA, 1995; LUCIANO y PROTA, 1995). Es el defoliador de *Quercus* cuya presencia interanual es más constante (TOIMIL, 1989). TORRENT *et al.* (1961) y COBOS y SORIA (1981) analizan y valoran las pérdidas que ocasiona en las producciones de bellota en montes mediterráneos. Está considerado como defoliador de frondosas muy dañino en Francia, Polonia, Austria y Holanda.

Las poblaciones de *M. neustria* normalmente fluctúan sin llegar a causar daños, a lo que contribuye el control que ejercen los parásitos. En las localidades estudiadas se detectó un grado de parasitismo muy importante. Ha mostrado carácter epidémico en algunas ocasiones en España (OBAMA *et al.*, 1988; TEMPLADO, 1990). CONSTANTINEANU y CONSTANTINEANU (1988) han destacado la importancia de los Ichneumónidos parásitos de crisálida y LUCIANO y PROTA (1995), en los alcornocales sardos, encontraron fluctuaciones periódicas regidas por una variedad de enemigos naturales. *Bacillus thuringiensis* Berliner es el insecticida más eficaz, aunque pierde eficacia en orugas de estadios superiores.

La predación sobre crisálidas y la competencia intraespecífica son determinantes en la evolución de la población de *O. brumata* (HUNTER *et al.*, 1997; HUNTER, 1998). Aunque es una de las plagas más estudiadas en el norte de Europa, en Palencia tiene escasa incidencia sobre el quejigo. SORIA (1987) cita su abundancia sobre el rebollo (*Q. pyrenaica*) en el centro de la península Ibérica. A menudo causa plaga en combinación con otras especies: con *T. viridana* causa daños a frondosas en Alemania (MAJUNKE *et al.*, 1997); causa daños a *Quercus robur* Linnaeus en Holanda con *E. defoliaria* (MORAAL,

1998) y en Alemania junto con *Agriopsis leucophaearia* Denis y Schiffermuller (Lep. Geometridae) y *Agriopsis auriantaria* Hübner (Lep. Geometridae) (TOPP *et al.*, 1998).

O. brumata adapta la duración de su crisalidación para emerger en el instante oportuno: altas temperaturas primaverales aceleran el desarrollo y alargan la estivación, mientras que el alimentarse de hojas tardías le induce a acortarla (TOPP y KIRSTEN, 1991). Se da una sincronía no siempre perfecta entre apertura de yemas y nacimiento de orugas (WATT y MCFARLANE, 1991): la eclosión de los huevos está relacionada con los grados-día acumulados y la brotación de las yemas se rige además por las heladas acaecidas (DEWAR y WATT, 1992). La fragmentación del bosque puede influir en la gravedad de la plaga (WESÓLWSKI y ROWINSKI, 2008).

Durante la cría de *O. brumata* no se detectaron parásitos; no es extraño, porque son los parásitos de puesta los más importantes (GLAVENDEKIC y GRUPPE, 1992) con 55% de huevos parasitados por *Telenomus minutus* Westwood (Hym. Scelionidae). En Chequia se han detectado parasitismos conjuntos entre 2,8 y 28%, con *Cyzenis albicans* Fallén (Dipt. Tachinidae), *Phorocera obscura* Fallén (Dipt. Tachinidae) y *Agrypon flavolatatum* Gravenhorst (Hym. Ichneumonidae) como parásitos más abundantes (SAN y SPITZER, 1993).

En *C. pennaria*, los niveles de población encontrados concuerdan con la abundancia en encinares españoles (SORIA 1987) y los daños de consideración en países de Europa Central (LECHEVA, 1998). Se ha constatado que puede llegar a constituir plaga para el quejigo y que el año siguiente a la plaga presenta elevados porcentajes de parasitación.

E. defoliaria sólo ha resultado abundante en Dueñas, al comienzo de mayo (7%). Esta especie es plaga de primer orden en gran parte de Europa por su polifagia y voracidad. En España se han producido defoliaciones totales (SORIA y TOIMIL, 1983) en quejigales de los Montes de Toledo. GÓMEZ DE AIZPURÚA (1989a) reseña la abundancia y

los daños causados sobre hayas (*Fagus sylvatica* Linnaeus). En Alemania (TOPP *et al.*, 1998), Holanda (MORAAL, 1998) y Austria (KREHAN, 1993) es un importante defoliador de *Q. robur*. Es necesario estar prevenidos contra ascensos poblacionales de esta especie, que podrían causar graves daños al arbolado.

E. chryssorrhoea causa daños a árboles forestales, frutales y ornamentales (CHARMILOT *et al.*, 1995) y los pelos urticantes perjudican a hombres y animales en muchos países europeos (LONGO, 1995; CSOKA *et al.*, 1997). LESKÓ (1987) encontró pérdidas de producción entre un 35% y un 62% en robles después de 5 años seguidos de plaga, dependiendo de la precocidad de brotación. SCUTAREANU y MODOREAN (1988) y SCUTAREANU y LINGEMAN (1994) encontraron relación entre la resistencia de hojas de *Q. robur* y su contenido en taninos y fenoles.

L. dispar representa la plaga de mayor incidencia en el quejigo y en todas las Quercíneas de Castilla y León. En Cerrato y Torozos produce defoliaciones periódicas muy intensas, habiéndose realizado tratamientos químicos en varias ocasiones durante la década de 1990. Esta especie sufre fluctuaciones anuales en sus poblaciones: es plaga epidémica, que se repite aproximadamente cada siete años, manteniendo el nivel de plaga durante tres años (FALCÓ *et al.*, 1990). Los predadores oófagos destruyen del 60 al 90% de los huevos en el alcornocal de Marmora (Marruecos), disgregando las puestas, y colaborando así al colapso de la población (VILLEMANT y RAMZI, 1995).

En los montes estudiados, *L. dispar* prefiere al quejigo en sus primeros estadios por su brote más tierno y precoz. En estadios avanzados, en cambio, la encina es el alimento preferido por las orugas. Los tratamientos contra *L. dispar* deben comprender toda la zona afectada, ya que su poder de dispersión es notable, produciéndose reinfestaciones a partir de pequeños focos. Asimismo, estos tratamientos deben hacerse lo antes posible, siempre que las condiciones climatológicas lo permitan, para aprovechar

la acción insecticida contra otras especies más tempranas en el quejigar como *T. viridana*, y no favorecerlas indirectamente. Si el tratamiento se efectúa ya empezada la primavera también es útil, pues se evita que las defoliaciones continúen en verano, permitiendo al arbolado recuperarse en esos meses.

La mortalidad de árboles individuales se estima a partir de la intensidad de defoliación, el vigor de copas, la posición de la copa y la especie con un porcentaje de validación acertada entre 63 y 78 (GOTTSCHALK *et al.*, 1998). LYAMTSEV (1995) afirma que el crecimiento diametral de *Q. robur* en Rusia disminuye de acuerdo con la duración y la intensidad de la defoliación: defoliaciones completas de uno o dos años de duración reducen el crecimiento entre el 40 y el 50%, y a partir del tercer año el crecimiento baja en un 60%, y la continua defoliación ocasiona reducción duradera de crecimientos y mortandades en masa del arbolado. La consecuencia de la defoliación en la calidad de las hojas de los años siguientes, es la reducción del tamaño durante dos años, el incremento de proteínas durante tres, y el incremento de fenoles durante uno (SCHMIDT y LINSENMAIR, 1997).

D. eremita es especie frecuente y relativamente abundante, no muy notoria debido al color verdoso de sus orugas que permanecen escondidas entre hojas y brotes. Su comportamiento es activo, moviéndose con frecuencia y comiendo con avidez. Incluso hay citas de agresividad hacia otras orugas que comparten sus plantas nutricias, llegando a preñar sobre ellas (GÓMEZ-BUSTILLO, 1979). TOIMIL (1989) la encuentra sobre encinares en Huelva, y estudia la variación de sus poblaciones. Está representada en todos los montes estudiados en porcentajes alrededor del 5%. El grado de parasitismo observado ha sido bajo. Es plaga secundaria, asociada a otros Lepidópteros de mayor incidencia como *T. viridana*. Presenta gran voracidad por lo que, en condiciones favorables, puede constituir un peligro para el quejigar.

Incidencia en los árboles

Las larvas de Lepidópteros que utilizan las hojas o los amentos de *Q. faginea* en su alimentación, en muchos casos son también parásitos de otras quercíneas. Las encontradas en este estudio coinciden en buena parte con las catalogadas por SORIA (1987) en *Q. pyrenaica*, y se encuentran todas en la lista exhaustiva de devoradores de *Quercus* europeos (SORIA, 1988). La mayoría de las especies no ocasionan problemas fuera de su contribución a la defoliación global, por la escasa voracidad de las orugas, por la escasa densidad con que se presentan, o por la abundante fauna parasitoide a ellas asociada que suele controlar eficazmente sus poblaciones. El equilibrio biológico se restablece y la resistencia del medio (parasitoides, predadores e inclemencias) controla habitualmente las poblaciones después de los brotes epidémicos.

La dinámica de plagas está asociada al brote y crecimiento de las hojas del árbol: en el quejigo, esa evolución de la entomocenosis y su variedad aparece estrechamente ligada a las hojas vernaes: condiciona la abundancia de orugas y las fechas de crisalidación. Las hojas tiernas del quejigo son excelente alimento para orugas no especialmente voraces, ni adaptadas para alimentarse de hojas endurecidas. Se da un progresivo endurecimiento y pérdida de palatabilidad de las hojas del quejigo para los fitófagos y, en especial, para las larvas de Lepidópteros. Una evidencia de este proceso es la mortandad creciente de las orugas criadas en cautividad cuando el quejigo completa el endurecimiento de sus hojas. *T. viridana* necesita sincronizar su desarrollo con la especie fundamental de la estación en masas mezcladas (ADOMAS, 1988) y algunos *Quercus* modifican su fenología para quedar libres de ella, lo que sólo es realizable a pequeña escala (MERLE, 1988; PASCUAL *et al.*, 1994); esto afecta a la estructura genética de huésped y hospedante (SCHROEDER y DEGEN, 2008; SIMCHUK, 2008a, 2008b). *L. dispar*, incluso en especies fácilmente mas-

ticables, experimenta dificultades por lo indigesto del rebrote (MONTGOMERY, 1989). La digestibilidad está condicionada por el contenido en agua y el valor nutritivo de los rebrotes, y ambos aspectos dependen fundamentalmente de la edad de éstos (MONTERO y MONTOTO, 1985). También influyen inhibidores de las proteasas en la resistencia del hospedante a los defoliadores (IVASOV *et al.*, 2001). La precocidad de la vegetación favorece a *E. chrysoorrhoea* (KELMER, 1989).

L. dispar acompasa sus primeros estadios a la brotación y desarrollo foliar del quejigo. Cuando las hojas desarrolladas se endurecen y cargan de taninos, las larvas de estadios avanzados pueden devorarlas con su poderoso aparato masticador. La especial dinámica de *L. dispar* en bosques mezclados de encina y quejigo se manifiesta en la evolución de los primeros estadios de esta especie, condicionada en especial al quejigo. Los últimos estadios de la oruga ya tienen la capacidad de devorar no sólo los brotes de encina, sino especialmente las hojas añosas. La preferencia de *L. dispar* por las hojas viejas de encina frente al rebrote del quejigo se manifiesta en la defoliación marcada y total de las encinas a mediados de julio en masas mezcladas, en la misma época en que los quejigos empiezan a recuperarse.

Las orugas de primer estadio de *E. chrysoorrhoea* son capaces de alimentarse de las hojas del árbol a finales del verano. Estas orugas invernan en nidos y completan su desarrollo en la primavera siguiente. La voracidad de las orugas de 2º y 3º estadio sobre las hojas recién brotadas ocasiona defoliaciones totales. DAVARI y ASKARI (2005) reportan mortandades de una tercera parte de los árboles en un robledal de Irán, debilitados por *E. chrysoorrhoea*.

Estas especies pueden inferir daños de importancia al arbolado, que incluso comprometen su supervivencia. Tras las defo-

liaciones primaverales el árbol rebrota y con su nueva área foliar repone sus reservas. IERUSALIMOV (1994) y UTKINA y RUBTSOV (1994) observan que *Q. robur* soporta sin resentirse defoliaciones de hasta el 50%; aguanta defoliaciones completas hasta dos años consecutivos sin cesar su crecimiento diamétrico. La importancia relativa de las defoliaciones tempranas realizadas por *O. brumata*, es menor que en las tardías realizadas por *L. dispar* que, a igual nivel de daño, consumen más biomasa. La defoliación estival es la más dañina para la salud de los árboles, pues obliga al árbol a agotar sus reservas en una nueva brotación que difícilmente podrá rentabilizar. Este proceso se agrava en un clima caracterizado por la sequía estival. En el quejigo, la respuesta del árbol a la eliminación de su masa foliar, y su capacidad de rebrote han sido estudiadas por MONTERO y MONTOTO (1985). MEDIAVILLA y ESCUDERO (2009) advierten de la mayor dependencia de los quejigos frente a la sequía estival, y MONTERRAT-MARTÍ *et al.* (2009) advierten que *Q. faginea* es más sensible que *Q. ilex* a la sequía estival, lo que se manifiesta en sus crecimientos y en la brotación del año siguiente. Estas defoliaciones, de repetirse año tras año, pueden llevar a la muerte del arbolado (WARGO, 1981; SORIA 1987), por el sucesivo debilitamiento de los árboles, lo que hemos constatado mediante la observación de mortandades considerables de pies en montes repetidamente defoliados por *E. chrysoorrhoea* y *L. dispar*.

Esta posible mortandad es el perjuicio más importante que provocan los defoliadores y en ocasiones justifica su tratamiento químico. La conservación de bosques y montes bajos de *Quercus* está sobradamente justificada por la protección que prestan al suelo contra la erosión, y la producción de alimento para los animales domésticos y silvestres.

ABSTRACT

MARTÍNEZ-ZURIMENDI, P., E. ROSA Y CUBO, M. DOMÍNGUEZ-DOMÍNGUEZ. 2011. Lepidopters which feed on the lusitanian oak leaves (*Quercus faginea* Lamck.) in Castilla y León (ESPAÑA). *Bol. San. Veg. Plagas*, 37: 145-161.

Species of Lepidopters feeding on the lusitanian oak leaves, in 8 locations in the province of Palencia and Valladolid, were identified. For years 1991-1999 the damage were mainly caused by nine species: *Tortrix viridana* Linnaeus (Lepidoptera, Tortricidae), *Lymantria dispar* Linnaeus (Lep., Lymantriidae) and *Euproctis chrysorrhoea* Linnaeus (Lep., Lymantriidae) caused repeated defoliations, often repeated the following year; *Colotois pennaria* Linnaeus (Lep., Geometridae), *Malacosoma neustria* Linnaeus (Lep., Lasiocampidae), *Operophtera brumata* Linnaeus (Lep., Geometridae) caused total defoliation, but without recurrence the next; *Erannis defoliaria* Clerck (Lep., Geometridae), *Phycita torrenti* Agenjo (Lep., Phycitidae) and *Dryobotodes eremita* Fabricius (Lep., Noctuidae), caused significant defoliations in competition between them or had significant involvement in concurrence with major pests, but without repeating defoliation in successive years.

Key words: *Tortrix viridana*, *Lymantria dispar*, *Euproctis chrysorrhoea*, *Colotois pennaria*, *Phycita torrenti*.

REFERENCIAS

- ADOMAS, J. 1988. Control of the oak (*Quercus robur*) roller moth *Tortrix viridana* in Olsztyn forest region in 1986. *Sylwan*, 132 (6): 41-44.
- ALLUÉ-ANDRADE, J. L. 1966. *Subregiones Fitoclimáticas de España*. Ministerio de Agricultura. Madrid. 221 p.
- BACHILLER, P., CADAHÍA, D., CEBALLOS, G., CEBALLOS, P., COBOS, J. M., CUEVAS, P., DAFAUCE, C., DÁVILA, J., GONZÁLEZ, J. R., HERNÁNDEZ, R., LEDESMA, L., MALLEN, J. A., MOLINA, J., MONTOYA, R., NEIRA, M., OBAMA, E., RIESGO, A., ROBREDO, F., ROMANYK, N., RUPÉREZ, A., SÁNCHEZ, A., SORIA, S., TOIMIL, F. J., TORRENT, J. A. 1981. *Plagas de insectos en las masas forestales españolas*. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Madrid. 260 p.
- CEBALLOS, L., RUIZ DE LA TORRE, J. 1979. *Árboles y arbustos de la España Peninsular*. E.T.S.I.M. Madrid. 512 p.
- COBOS, J. M., SORIA, S. 1981. Estudio económico de los tratamientos fitosanitarios contra la plaga del encinar *Tortrix viridana* (Lep. Tortricidae) *Bol. Serv. Plag. For.*, 7: 115-126.
- CONSTANTINEANU, R., CONSTANTINEANU, Y. 1988. Parasitoids ichneumonids (Hymenoptera, Ichneumonidae) recovered from the defoliator moths *Lymantria dispar* L. and *Malacosoma neustria* L. in Romania. *Revue Roumaine de Biologie, Biologie Animale*, 33 (2): 81-85.
- CSOKA, G., KULFAN, J., SUSLIK, V., ZACH, P., KRISTIN, A. 1997. Increased insect damage in Hungarian forests under drought impact. *Biologia Bratislava*, 52 (2):159-162.
- CHARMILLOT, P. J., HAECHLER, M., GRAF, B., HOEHN, H. 1995. *Bombyx chrysorrhoea* ou "cul brun". *Revue suisse de viticulture, arboriculture, horticulture*, 27: 109-110.
- DAVARI, M., ASKARI, B. 2005. *Armillaria mellea* as a cause of oak decline in Hatam-baigh forest of Iran. *Communications in agricultural and applied biological sciences*, 70 (3): 295-304.
- DEWAR, R.C., WATT, A. D. 1992. Predicted changes in the synchrony of larval emergence and and budburst under climatic warming. *Oecologia*, 89 (4): 557-559.
- EXTREMERA, F. M., COBO, A., VARGAS OSUNA, E., PÉREZ RODRÍGUEZ, M.C., PÉREZ GUERRERO S. 2004. El complejo de lepidópteros defoliadores de *Quercus* en la provincia de Córdoba. *Bol. San. Veg. Plagas*, 30 (1): 203-210.
- FALCÓ, V., LUNA, F., JIMÉNEZ, R. 1990. Complejo parasitario de *Lymantria dispar* L. en Sierra Espadán, Castellón (Lep. Lymantriidae). *Bol. Asoc. Esp. Entom.*, 14: 261-267.
- GLAVENDEKIC, V. M., GRUPPE, A. 1992. *Telenomus minutus* Ratzb. (Hym., Scelionidae), an egg parasitoid of winter moth *Operophtera brumata* L. and *O. fagata* Scharf. (Lep., Geometridae) in northern Bavaria. *Journal of Applied Entomology*, 113 (3): 265-270.
- GÓMEZ BUSTILLO, M. R. 1979. *Mariposas de la península Ibérica*, Vol. IV. ICONA. Madrid. 280 p.
- GÓMEZ DE AIZPURÚA, C. 1985. Biología y morfología de las orugas. Lepidoptera. Tomo I. Noctuidae-Dilobidae. *Bol. San. Veg. Plagas. Fuera de Serie*, 5.
- GÓMEZ DE AIZPURÚA, C. 1986. Biología y morfología de las orugas. Lepidoptera. Tomo II. Cossidae-Sphingidae-Thaumetopoeidae Lymantriidae-Arctiidae. *Bol. San. Veg. Plagas, Fuera de Serie*, 6.
- GÓMEZ DE AIZPURÚA, C. 1987a. Biología y morfología de las orugas. Lepidoptera. Tomo III. Geometridae. *Bol. San. Veg. Plagas, Fuera de Serie*, 8.
- GÓMEZ DE AIZPURÚA, C. 1987b. Biología y Morfología de las orugas. Lepidoptera (Tomo IV. Noctuidae). *Bol. San. Veg. Plagas, Fuera de Serie*, 10.

- GÓMEZ DE AIZPURÚA, C. 1988a. Biología y Morfología de las orugas. Lepidoptera (Tomo V. Danaidae-Papilionidae-Pieridae-Libytheidae-Nymphalidae). *Bol. San. Veg. Plagas*, **Fuera de Serie**, **11**.
- GÓMEZ DE AIZPURÚA, C. 1988b. Biología y Morfología de las orugas. Lepidoptera (Tomo VI. Syssphingidae-Saturniidae-Endromidae-Lasiocampidae-Drepanidae-Thyatridae-Notodontidae-Hypsiidae). *Bol. San. Veg. Plagas*, **Fuera de Serie**, **12**.
- GÓMEZ DE AIZPURÚA, C. 1989a. Algunos lepidópteros huéspedes del haya *Fagus sylvatica* Linne. *Bol. San. Veg. Plagas*, **15** (2): 105-128
- GÓMEZ DE AIZPURÚA, C. 1989b. Biología y morfología de las orugas. Lepidoptera. Tomo VII. Geometridae. *Bol. San. Veg. Plagas*, **Fuera de Serie**, **15**.
- GÓMEZ DE AIZPURÚA, C. 1990a. Biología y morfología de las orugas. Lepidoptera. Tomo VIII. Oecophoridae-Gelechiidae-Yponomeutidae-Tortricidae-Pyralidae. *Bol. San. Veg. Plagas*, **Fuera de Serie**, **18**.
- GÓMEZ DE AIZPURÚA, C. 1990b. Biología y morfología de las orugas. Lepidoptera. Tomo IX. Nymphalidae-Satyridae-Lycaenidae-Zygaenidae. *Bol. San. Veg. Plagas*, **Fuera de Serie**, **21**.
- GÓMEZ DE AIZPURÚA, C. 1990c. Biología y morfología de las orugas. Lepidoptera. Tomo X. Noctuidae. *Bol. San. Veg. Plagas*, **Fuera de Serie**, **22**.
- GÓMEZ DE AIZPURÚA, C. 2003. *Orugas y mariposas de Europa*. (5 Vols.) DGCONA (Organismo Autónomo Parques Nacionales). Madrid. 1500 p.
- GÓMEZ DE AIZPURÚA, C. 2007. *Orugas y mariposas de Europa*. (Tomo VI. HETEROCCERA & RHOPALOCERA) DGCONA (Organismo Autónomo Parques Nacionales). Madrid. 281 p.
- GOTTSCHALK, K. W., COLBERT, J. J., FEICHT, D. L. 1998. Tree mortality risk of oak due to gypsy moth. *European Journal of Forest Pathology*, **28** (2): 121-132.
- HUNTER, M. D. 1998. Interactions between *Operophtera brumata* and *Tortrix viridana* on oak: new evidence from time-series analysis. *Ecol. Entomology*, **23** (2): 168-173.
- HUNTER, M. D., VARLEY, G. C., GRADWELL, G. R. 1997. Estimating the relative roles of top-down and bottom-up forces on insect herbivore populations: a classic study revisited. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **94** (17): 9176-9181.
- IERUSALIMOV, E. N. 1994. Features of defoliation of oak in outbreaks of *Lymantria dispar* and *Operophtera brumata*. *Lesovedenie*, **3**: 10-22.
- IVASHOV, A. V., SIMCHUK, A. P., MEDVEDKOV, D. A. 2001. Possible role of inhibitors of trypsin-like proteases in the resistance of oaks to damage by oak leafroller *Tortrix viridana* L. and gypsy moth *Lymantria dispar* L. *Ecological Entomology*, **26** (6): 664-668.
- KELMER, C., 1989. Les relations entre la forêt et l'agriculture: L'exemple de Bombyx Cul Brun, *Schwoeiz. Z. Forstwes*, **140**, 7: 621-631.
- KREHAN, H. 1993. Outbreaks of caterpillar forest pests in oak forests of eastern Austria. *Forstschutz Aktuell*, **12-13**: 1-4.
- LECHEVA, I. 1998. Species diversity and population dynamics of geometrids (Geometridae: Lepidoptera) in the plum tree agrocoenosis. *Rastenievdni Nauki*, **35** (4): 322-325.
- LESKÓ, K. 1987. Increment loss of pedunculate oak (*Quercus robur*) stands of Ormánáság (Hungary) in the years of damage by *Lymantria dispar* and *Euproctis chrysorrhoea* and in subsequent periods. *Erdészeti Kutatások*, **78**: 369-372.
- LONGO, S. 1995. Una nuova infestazione di *Euproctis chrysorrhoea* (L.) in ambienti mediterranei (foreste, Calabria, Sicilia). *Informatore Fitopatologico*, **45** (6): 18-23.
- LUCIANO, P., PROTA, R. 1995. Insect pests in Sardinian cork-oak forests. *Bulletin OILB/SROP*, **18** (6): 1-7.
- LYAMTSEV, N. I. 1995. Influence of leaf-eating insects on oak increment in sprout oak forests. *Lesovedenie*, (6): 23-33.
- MAJUNKE, C., WALTER, C., HEYDECK, P. 1997. Forest protection in Brandenburg and Berlin during 1996-97. *Forst und Holz*, **52** (8): 213-215.
- MEDIAVILLA, S., ESCUDERO, A. 2009. Ontogenetic changes in leaf phenology of two co-occurring Mediterranean oaks differing in leaf life span. *Ecol. Res.*, **24**: 1083-1090.
- MERLE, P. DU. 1988. Phenological resistance of oaks to the green oak leafroller, *Tortrix viridana* (Lepidoptera: Tortricidae). En MATTSON, W. J., LEVIEUX, J., BERNARD-DAGAN, C. (eds.). *Mechanisms of woody plant defences against insects: search for pattern*. Edit. Springer-Verlag. New York (USA). Pp. 215-226.
- MONTERO, G., MONTOTO, J. L. 1985. Aumento de las posibilidades pastorales en montes de quejigo (*Quercus faginea* Lamk.). *Anales del Instituto Nacional de Investigaciones Agrarias. Serie Forestal*, **9**: 105-113.
- MONTGOMERY, M. E. 1989. Relationships between foliar chemistry and susceptibility to *Lymantria dispar*. General technical report NE - U.S. Department of Agriculture, Forest Service, Northeastern Forest Experiment Station, **123**: 339-350.
- MONTERRAT-MARTÍ, G., CAMARERO, J. J., PALACIO, S., PÉREZ-RONTOMÉ, C., MILLA, R., ALBUIXECH J., MAESTRO, M. 2009. Summer-drought constrains the phenology and growth of two coexisting Mediterranean oaks with contrasting leaf habit: implications for their persistence and reproduction *Trees*, **23**: 787-799.
- MORAAL, L. G. 1998. In forests, nature reserves and roadside plantations: insect pests on trees and shrubs in 1997. *Nederlands-Bosbouw tijdschrift*, **70** (3): 123-129.
- OBAMA, E., SORIA, S., TOME DE LA VEGA, F. 1988. Grave ataque de *Malacosoma neustria* (LINNAEUS 1758) (Lep. Lasiocampidae) y otros lepidópteros en el Encinar del Monte del Pardo (Madrid); ensayos de laboratorio para su control y evaluación de la Campaña de Lucha Química. *Bol. San. Veg. Plagas*, **14**: 27-38
- PASCUAL, J. A., PERIS, S., ROBREDO, F. 1991. Efectos de tratamientos forestales con Cipermetrina y malatión sobre el éxito de cría del herrero común (*Parus caeruleus*). *Ecología*, **5**: 359-374.
- PASCUAL, J., PÉREZ, M., PERIS, S. 1994. Densidad de *Tortrix viridana* L. en encina y quejigo en una masa mixta. *Bol. San. Veg. Plagas*, **20** (4): 899-907.

- RODRÍGUEZ, F. 1992. Los árboles de nuestra región: el quejigo. *Belarra*, **9**: 21-30.
- SAN MIGUEL, A. 1986. *Ecología, tipología, valoración y alternativas silvopascícolas de los quejigares (Quercus faginea Lamck.) de Guadalajara*. M.A.P.A., I.N.I.A. Madrid. 431 p.
- SAN, N. VAN, SPITZER, K. 1993. Isolated populations of the winter moth, *Operophtera brumata* (Lepidoptera: Geometridae), their heavy metal content and parasitism. *European Journal of Entomology*, **90** (3): 311-321.
- SÁNCHEZ-HERRERA, F., SORIA, S. 1987. La problemática del seguimiento y control de lepidópteros nocivos del encinar, con especial referencia al encinar adeshado madrileño. *Bol. San. Veg. Plagas*, **13**: 213-224.
- SCUTAREANU, P., LINGEMAN, R. 1994. Natural contents of phenols and tannin in *Quercus robur* leaves related to development of *Euproctis chryssorrhoea* caterpillars. *Acta horticulturae*, **381**: 738-748.
- SCUTAREANU, P., MODOREAN, D. 1988. Date preliminare privind rezistenta individuala a stejarului pedunculat la atacul defoliatorului *Euproctis chryssorrhoea* L. *Revista Padurilor*, **103** (4): 201-206.
- SCHMIDT, T., LINSSENMIR, K. E. 1997. Long term consequences of defoliation by the gypsy moth (*Lymantria dispar* L.). *Mitteilungen der Deutschen Gesellschaft für allgemeine und angewandte Entomologie*, **11**: 691-694.
- SCHROEDER, H., DEGEN, B. 2008. Spatial genetic structure in populations of the green oak leaf roller, *Tortrix viridana* L. (Lepidoptera, Tortricidae). *Eur. J. Forest Res.*, **127**: 447-453.
- SIMCHUK, A. P. 2008a. The effect of fodder plant genotype on the variation of larval fitness traits in genotype classes of green oak leafroller moth *Russian Journal of Genetics*, **44** (4): 418-424.
- SIMCHUK, A. P. 2008b. Influence of genetic variation of oaks as forage substrate on the fitness components of *Tortrix viridana* L. *Cytology and Genetics*, **42** (1): 45-52.
- SORIA, S. 1987. Lepidópteros defoliadores de *Quercus pyrenaica* Willdenow, 1805. *Bol. San. Veg. Plagas, Fuera de Serie* **7**.
- SORIA, S. 1988. Relación de Lepidópteros paleárticos defoliadores del género *Quercus* L. *Bol. San. Veg. Plagas*, **14**: 11-26.
- SORIA, S., NOTARIO, A. 1990. *Tortrix viridiana* L. (Lepidoptera, Tortricidae) una nueva plaga de las encinas de problemático control. *Bol. San. Veg. Plagas*, **16** (1): 247-262.
- SORIA, S., TOIMIL, J. F. 1983. Fuerte ataque de *Erannis defoliaria* Clerck. (Lep. Geometridae) en los Montes de Toledo y ensayos de lucha química para su combate. *Bol. San. Veg. Plagas*, **9**: 61-75.
- SOUSA, E. M. R. DE. 1995. Les principaux ravageurs du chêne liège au Portugal. Leurs relations avec le déclin des peuplements. *Bulletin OILB/SROP*, **18** (6): 18-23.
- TEMPLADO, J. 1990. Datos fenológicos sobre lepidópteros defoliadores de la encina (*Quercus ilex* L.). *SHILAP*, **18** (72): 325-334.
- TOIMIL, F. J. 1989. Comparación del período larval de las especies de defoliadores más importantes del encinar encontradas en la provincia de Huelva entre 1985 y 1988. *Bol. San. Veg. Plagas*, **15** (4): 365-374.
- TOPP, V. W., KULFAN, J., MERGEL, S., ZACH, P. 1998. Mass occurrence of phyllophagous caterpillars in the deciduous forests of the Rhineland. *Anzeiger für Schadlingskunde Pflanzenschutz Umweltschutz*, **71** (5): 88-93.
- TOPP, W., KIRSTEN, K. 1991. Synchronization of pre-imaginal development and reproductive success in the winter moth, *Operophtera brumata* L. *Journal of Applied Entomology*, **111** (2): 137-146.
- TORRENT, J., VARELA, G., BOZA, J. 1961. Digestibilidad y valor nutritivo de la bellota en cerdos y estudio de la capacidad de asentamiento en encinares. *Bol. Serv. Plag. For.*, **7**: 5-21.
- TUTIN T. G., BURGESS N. A., CHATER A. O., EDMONDSON J. R., HEYWOOD V. H., MOORE D. M., VALENTINE, D. H., WALTERS S. M., WEBB D. A. 1993. *Flora Europea*. Cambridge Univ. Press. Cambridge. 630 p.
- UTKINA, I. A., RUBTSOV, V. V. 1994. Refoliation of *Quercus robur* er damage by insects. *Lesovedenie*, **3**: 23-31.
- VIEJO, J. L. 1984a. Estudio faunístico de los ropalóceros del quejigar supramediterráneo de Madrid. *Shilap*, **12** (46): 135-140.
- VIEJO, J. L. 1984b. Los lepidópteros ropaloceros de las agrupaciones de *Quercus faginea* de la subregión de Madrid. *Graellsia*, **40**: 219-227.
- VIEJO, J. L., TEMPLADO, J. 1986. Los piéridos, satíridos y ninfálidos (Lep.) de la región de Madrid en relación con las formaciones vegetales. *Graellsia*, **42**: 237-265.
- VILLEMANT, C., RAMZI, H. 1995. Predators of *Lymantria dispar* (Lep. Lymantriidae) egg masses: spatio temporal variation of their impact during the 1988-89 pest generation in the Mamora cork oak forest (Morocco). *Entomophaga*, **40** (3/4): 441-456.
- VIVES MORENO, A. 1977. Como realizar preparaciones de genitales. *Shilap*, **5**(19): 247-254.
- WARGO, P. M. 1981. Defoliation, dieback and mortality. En DOANE, C. C., MC MANUS, M. L. (Eds.) *The gypsy moth: research toward integrated pest management*. U.S. Department of Agriculture. Washington D.C. Pp. 240-248.
- WATT, A. D., MCFARLANE, A. M. 1991. Winter moth on Sitka spruce: synchrony of egg hatch and budburst, and its effect on larval survival. *Ecol. Entomol.*, **16** (3): 387-390.
- WESÓLWSKI, T., ROWINSKI, P. 2008. Late leaf development in pedunculate oak (*Quercus robur*): An antiherbivore defence? *Scandinavian Journal of Forest Research*, **23**: 386-394.
- WWF. 2009. *Bosques españoles. Los bosques que nos quedan y propuestas de WWF para su restauración*. WWF/Adena Madrid. Disponible en formato electrónico en: <http://assets.wwfspania.panda.org/downloads/gap.pdf> Consultado el 21/07/2011.
- YELA, J. L. 1992. *Los Noctuidos (Lepidoptera) de la Alcarria (España central) y su relación con las principales formaciones vegetales de porte arbóreo*. Subdirección General de Sanidad Vegetal. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Madrid. 569 p.

(Recepción: 14 febrero 2011)

(Aceptación: 2 agosto 2011)

Prospección de posibles vectores (Hemiptera: Cicadellidae, Aphididae y Psylloidea) de patógenos en apio y zanahoria

F. J. VILLAESCUSA, S. SANJUÁN, M. C. CEBRIÁN, A. ALFARO-FERNÁNDEZ, M. I. FONT, J. C. FERRÁNDIZ, A. HERMOSO DE MENDOZA

Se ha realizado durante 2009 una prospección de posibles vectores de los patógenos causantes de amarilleos y deformaciones en apio y zanahoria observados en Villena (Alicante), centrándose en los hemípteros de las familias Cicadellidae y Aphididae y de la superfamilia Psylloidea. Se han utilizado trampas adhesivas amarillas (para capturar cicadélidos y psílidos) y muestreos de colonias en hojas (para los áfidos) en 4 campos de apio y 3 de zanahoria.

La identificación de las capturas ha permitido elaborar una lista de especies de cada grupo taxonómico (24 de cicadélidos, 3 de psílidos y 3 de áfidos), entre las cuales destacan por su frecuencia *Asymmetrasca decedens* (Paoli) y *Empoasca solani* (Curtis) en el caso de los cicadélidos, *Bactericera* sp. y *Cacopsylla pyri* (Linnaeus) entre los psílidos y *Cavariella aegopodii* (Scopoli) en áfidos. En las trampas adhesivas, el 7,55% eran cicadélidos y el 92,45% psílidos.

La evolución en el tiempo de las capturas indica que, en el caso de los cicadélidos, presenta tres máximos en verano y dos más en otoño. En el caso de los psílidos presenta dos máximos en verano y dos más en otoño. En áfidos, se establecen las colonias en verano, sobre las hojas de estos cultivos herbáceos ya desarrollados.

Entre los cicadélidos de la tribu Empoascini, predominan las hembras en primavera, igualándose los dos sexos en verano y predominando los machos en otoño.

F. J. VILLAESCUSA. Grupo de Virología Vegetal. Instituto Agroforestal Mediterráneo. Universidad Politécnica de Valencia. Cam. Vera s/n, 46022 Valencia.

S. SANJUÁN. Dpto. Técnico. Agrícola Villena, Coop. V. Ctra. del Puerto, s/n, 03400 Villena (Alicante).

M. C. CEBRIÁN. Grupo de Virología Vegetal. Instituto Agroforestal Mediterráneo. Universidad Politécnica de Valencia. Cam. Vera, s/n, 46022 Valencia.

A. ALFARO-FERNÁNDEZ. Grupo de Virología Vegetal. Instituto Agroforestal Mediterráneo. Universidad Politécnica de Valencia. Cam. Vera, s/n, 46022 Valencia.

M. I. FONT. Grupo de Virología Vegetal. Instituto Agroforestal Mediterráneo. Universidad Politécnica de Valencia. Cam. Vera, s/n, 46022 Valencia.

J. C. FERRÁNDIZ. Dpto. Técnico. Agrícola Villena, Coop. V. Ctra. del Puerto, s/n, 03400 Villena (Alicante).

A. HERMOSO DE MENDOZA. Institut Valencià d'Investigacions Agràries, Carretera de Nàquera, km 5, 46113 Montcada, València. E-mail: ahermoso@ivia.es

Palabras clave: CeMV, fitoplasma, *Spiroplasma citri*.

INTRODUCCIÓN

En 2008 se detectaron en Villena (Alicante) unas anomalías en apio y zanahoria consistentes en falta de desarrollo de las plantas, amarilleos y deformaciones de

hojas, excesiva brotación y pencas más delgadas y retorcidas en apio, y amarilleos y enrojecimientos de hojas, proliferación de hojas en corona, deformaciones en raíces y una abundante proliferación de raicillas secundarias en zanahoria. En los análisis reali-

zados para diagnosticar los agentes causales se detectaron varios patógenos de tipo fitoplasma (fitoplasma del grupo aster yellows, 16SrI-A) en apio y zanahoria, de tipo espiroplasma (*Spiroplasma citri*) en zanahoria (1ª cita de este patógeno en cultivos de zanahoria en Europa) y virus (*Celery mosaic virus*, CeMV) en apio (CEBRIÁN *et al.*, 2010 a,b; FONT *et al.*, 2010 a,b).

Estos agentes son transmitidos de forma natural por vectores de grupos diferentes (aunque normalmente hemípteros): los fitoplasmas y espiroplasmas por cicadélidos y psílidos, y los virus por pulgones (MARAMOROSCH y HARRIS, 1979; WEINTRAUB y JONES, 2010), mientras que existen antecedentes en la implicación del psílido *Bactericera trigonica* (Hodkinson) en la transmisión de un fitoplasma del grupo stolbur (16Sr-XII-A) en cultivos de zanahoria de las Islas Canarias (FONT *et al.*, 1998 y 1999, ABAD *et al.*, 2000, FONT *et al.*, 2000; JORDÁ *et al.* 2003); es por ello que se decidió realizar una prospección de estos grupos de insectos en las principales zonas afectadas por el problema.

El objetivo de este trabajo es, pues, averiguar las especies de las familias Cicadellidae y Aphididae y de la superfamilia Psylloidea que se dan en los campos de apio y de zanahoria en las zonas afectadas de Villena, así como su abundancia relativa y su dinámica poblacional, como paso imprescindible para abordar posteriores estudios de transmisión de la enfermedad.

MATERIAL Y MÉTODOS

Este estudio se llevó a cabo en 2009, mediante prospecciones en campo en parcelas de apio y zanahoria con elevada incidencia de plantas sintomáticas durante el año anterior.

Para las capturas de cicadélidos y psílidos se emplearon trampas adhesivas amarillas (HERMOSO DE MENDOZA y MEDINA, 1979; LA SPINA *et al.*, 2005). Se situaron 2 trampas amarillas adhesivas en el margen y

2 dentro de 4 parcelas de apio, y otras 4 trampas (2 dentro y 2 fuera) en 3 parcelas de zanahoria en Villena (Alicante). En las de apio, en la parcela I se plantaron las variedades *Monterey*, *Imperial* y *Kylian*, en la parcela II y III la variedad *Imperial* y en la parcela IV las variedades *Kylian*, *Istar* y *Bufalo*. En las de zanahoria, la parcela I incluía las variedades *Ivor* y *Nandrin* y las parcelas II y III la variedad *Maestro*. Estas trampas comenzaban a colocarse cuando se iniciaba el cultivo y se sustituían semanalmente por unas nuevas hasta que se retiraba el cultivo del campo. La presencia de trampas en campo duró desde el 23 de febrero al 23 de noviembre, variando su número según los diferentes ciclos de los cultivos. Para las capturas de pulgones se utilizaron muestreos de trozos de hojas con colonias, que se cortaron y se introdujeron, sin separar los pulgones, en envases con etanol al 70%.

Para poder identificar correctamente los cicadélidos y psílidos capturados en las trampas, fue necesario separar todos los individuos recogidos en ellas. Esto se realizó con la ayuda de un pincel mojado en disolvente (xileno al 98%) en cámara de extracción de humos. A continuación los insectos separados se dejaron en un pocillo con xileno durante un período de tiempo que osciló entre 16 y 24 horas, para que el pegamento desapareciera por completo por la acción del disolvente. Transcurrido este tiempo, los insectos en cuestión se transfirieron a otro pocillo con etanol al 70%, medio en el cual ya es posible iniciar el proceso de clasificación e identificación.

La metodología de identificación de cicadélidos comenzó distinguiendo previamente entre los Typhlocybinae y los no Typhlocybinae mediante la observación de las alas anteriores; posteriormente, se realizó la separación de machos y hembras, distinguibles por el ovipositor característico en las hembras. Una vez realizados estos pasos, se procedió a la identificación de las distintas especies mediante la observación de las genitales de los machos, utilizando las cla-

ves de RIBAUT (1936 y 1952) y DELLA GIUSTINA (1989).

En el caso de las hembras de Typhlocybinæ se puede llegar a un nivel de identificación permitiéndonos obtener la tribu a partir de la observación de las alas anteriores y posteriores; para el resto de las hembras (no Typhlocybinæ) no hay claves adecuadas para identificar las especies.

Para la preparación de las genitalias masculinas de cicadélidos, se siguió el método de DELLA GIUSTINA (1989). Se utilizó un microscopio estereoscópico con base diascópica para la visión por transparencia (modelo MZ8 de Leica), con objetivo acromático plano de 1,0 x, oculares de 16x/14B y cambiando de aumentos con zoom 1:8, con el que se consiguió unos aumentos de hasta 80 veces y un campo visual de hasta 2,8 mm.

Para la identificación de las distintas especies de psílidos, se utilizó las claves de RAMÍREZ (1955, 1956 y 1959), BEI-BIENKO *et al.* (1967) y OSSIANNILSSON (1992). Para la preparación de las genitalias de psílidos, se siguió la misma metodología que para cicadélidos y se observó con el mismo microscopio estereoscópico.

Para la identificación de los pulgones se usó la clave de BLACKMAN y EASTOP (1985). Para la preparación de pulgones, se siguió la metodología descrita por HERMOSO DE MENDOZA (1984). La preparación se observó con un microscopio de gran aumento con luz de transparencia.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En las trampas adhesivas, el 7,55% de los posibles vectores objetos de estudio capturados eran cicadélidos y el 92,45% psílidos. Las 24 especies de cicadélidos capturadas se indican en el cuadro 1, agrupadas por subfamilias y tribus, entre las que destacan por su elevado número *Empoasca solani* y *Asymmetrasca decedens*, pertenecientes a la tribu Empoascini de la subfamilia Typhlocybinæ. Otras tres especies, pertenecientes a la

subfamilia Deltocephalinae, son destacables por su capacidad transmisora, como *Euscelidius variegatus* y *Macrosteles quadripunctulatus*, capaces de transmitir el fitoplasma *Candidatus Phytoplasma asteris* (BOSCO *et al.*, 2007), y *Circulifer haematoceps*, principal transmisor en el área del Mediterráneo de *Spiroplasma citri*, causante de la enfermedad "Stubborn" en los cítricos (BOVÉ, 1986) descrita en España ya desde 1975-1976 (HERNÁNDEZ, 1975; ALFARO *et al.*, 1976). La presencia de *E. variegatus*, confirmada por las capturas e identificación de machos, se hizo notoria en zanahoria a principios de marzo (parcela I) y a mitad de julio (parcela III), y en apio (parcelas I y II) desde mitad de mayo a finales de junio en repetidas ocasiones. *M. quadripunctulatus* se localizó, mediante algunas capturas de sus machos, en zanahoria (parcela I) a principios de mayo y en apio (parcela I) a mitad de junio. Se identificaron diversos machos de *C. haematoceps* durante todo el mes de junio en las tres parcelas de zanahoria, de forma continuada en la parcela III y de forma esporádica en las parcelas I (a finales de junio) y II (a principios de junio), también encontrándose su presencia en la parcela II de apio a finales de junio.

En el caso de los psílidos, *Bactericera* sp. y *Cacopsylla pyri* (Linnaeus), este último citado como transmisor del fitoplasma pear decline en España (AVINENT *et al.*, 1997), resultaron los más representativos por su elevado número. Podríamos decir que alrededor de un 85% de los 25.836 individuos capturados corresponderían a *Bactericera* sp., un 5% correspondería a *Cacopsylla pyri* y el 10% restante a otras especies como *Triozia* sp.

Entre los áfidos localizados más representativos en campos de zanahoria, citaremos a *Cavariella aegopodii* (Scopoli) por ser transmisor de virosis como *Carrot red leaf luteovirus* (CRLV) y *Carrot mottle virus* (CMotV) (STUBBS, 1948). También se localizaron los áfidos *Brachycaudus cardui* (Linnaeus) e *Hyperomyzus lactucae* (Linnaeus) pero en menor número.

Cuadro 1. Relación y abundancia de las especies de Cicadellidae capturadas en campos de zanahoria y de apio de Villena (Alicante) en trampas adhesivas amarillas

	Machos capturados	
	Nº	%
TYPHLOCYBINAE		
EMPOASCINI		
<i>Asymmetrasca decedens</i> (Paoli)	159	26,19
<i>Empoasca alsiosa</i> Ribaut	10	1,66
<i>Empoasca decipiens</i> Paoli	8	1,32
<i>Empoasca solani</i> (Curtis)	300	49,42
<i>Jacobiasca lybica</i> (Bergevin & Zanon)	1	0,16
ERYTHRONEURINI		
<i>Zygina nivea</i> (Mulsant & Rey)	1	0,16
<i>Ziginidia scutellaris</i> (Herrich-Schäffer)	29	4,78
TYPHLOCYBINI		
<i>Ficocyba ficaria</i> (Horváth)	2	0,33
<i>Ribautiana cruciata</i> (Ribaut)	1	0,16
AGALLIINAE		
<i>Agallia laevis</i> Ribaut	22	3,63
<i>Austroagallia sinuata</i> (Mulsant & Rey)	9	1,49
APHRODINAE		
<i>Aphrodes carinatus</i> (Stål)	1	0,16
IDIOCERINAE		
<i>Idiocerus herrichii</i> Kirschbaum	2	0,33
DELTOCEPHALINAE		
<i>Circulifer haematoceps</i> (Mulsant & Rey)	17	2,81
<i>Doratura</i> sp.	2	0,33
<i>Euscelidius variegatus</i> (Kirschbaum)	15	2,47
<i>Goniagnathus guttulinervis</i> (Kirschbaum)	1	0,16
<i>Grypotes staurus</i> Ivanoff	7	1,15
<i>Macrosteles quadripunctulatus</i> (Kirschbaum)	3	0,49
<i>Neoliturus fenestratus</i> (Herrich-Schäffer)	2	0,33
<i>Paralimnus phragmitis</i> (Boheman)	2	0,33
<i>Paralimnus pulchellus</i> (Rey)	2	0,33
<i>Phlepsius intricatus</i> (Herrich-Schäffer)	1	0,16
<i>Psammotettix striatus</i> (Linnaeus)	9	1,49

La evolución en el tiempo de los individuos pertenecientes a la familia Cicadellidae (mayoritariamente de la subfamilia Typhlocybinae, tribu Empoascini) capturados en 2009 se plasma en la Figura 1 (en apio) y Figura 2 (en zanahoria). En estas dos figuras podemos ver un máximo en la segunda quincena de junio, otro a finales de la primera quincena de julio, un tercero en la pri-

mera semana de agosto, un cuarto en la primera quincena de octubre y un quinto en la primera semana de noviembre. Si comparamos las trampas localizadas fuera de las parcelas con las que se encuentran dentro de ellas, podemos ver en las Figuras 1 y 2 cómo el mayor número de cicadélidos suele encontrarse en trampas ubicadas dentro de la parcela, excepto en casos concretos.

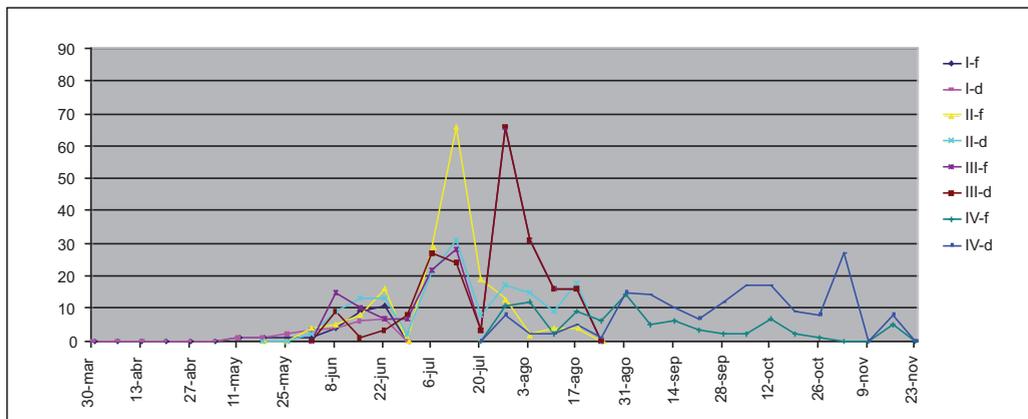


Figura 1. Evolución temporal de los individuos pertenecientes a la familia Cicadellidae (mayoritariamente de la subfamilia Typhlocybae, tribu Empoascini) capturados en 2009 en las dos trampas amarillas adhesivas situadas fuera (f) y en las dos situadas dentro (d) de cada uno de los 4 campos de apio (I, II, III y IV) de Villena (Alicante)

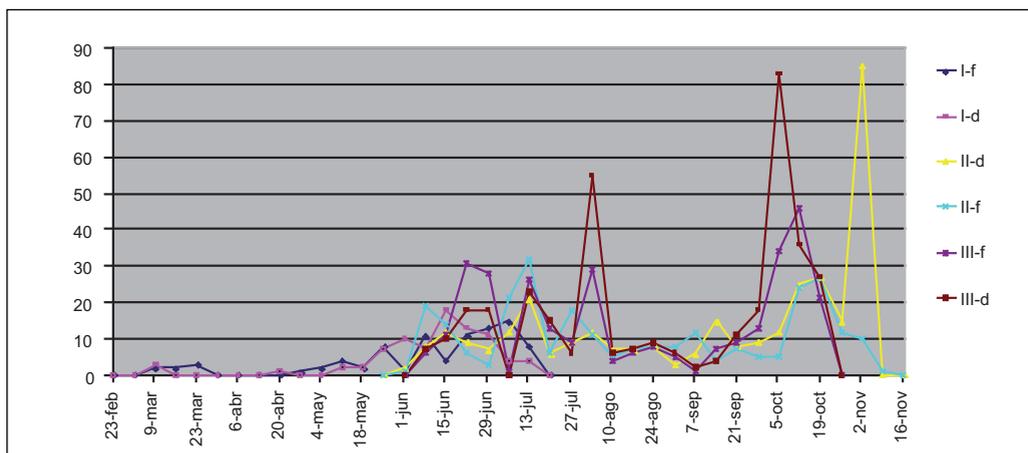


Figura 2. Evolución temporal de los individuos pertenecientes a la familia Cicadellidae (mayoritariamente de la subfamilia Typhlocybae, tribu Empoascini) capturados en 2009 en las dos trampas amarillas adhesivas situadas fuera (f) y en las dos situadas dentro (d) de cada uno de los 3 campos de zanahoria (I, II y III) de Villena (Alicante)

Entre los cicadélidos, en la evolución temporal de la proporción entre machos y hembras de la tribu Empoascini, representada en la Figura 3, podemos ver cómo predominan las hembras en primavera, igualándose posteriormente los dos sexos en verano y predominando los machos en otoño.

Los máximos pertenecientes a la evolución en el tiempo de los individuos de la

familia Cicadellidae, mayoritariamente Empoascini, y la evolución temporal de la proporción de ambos sexos de Empoascini en estos dos cultivos herbáceos, apio y zanahoria, podemos compararlos con los del estudio realizado por LA SPINA *et al.* (2005), donde realizan una prospección de Empoascini en viñedos localizados en las provincias de Alicante y Valencia, y se puede ver cómo su

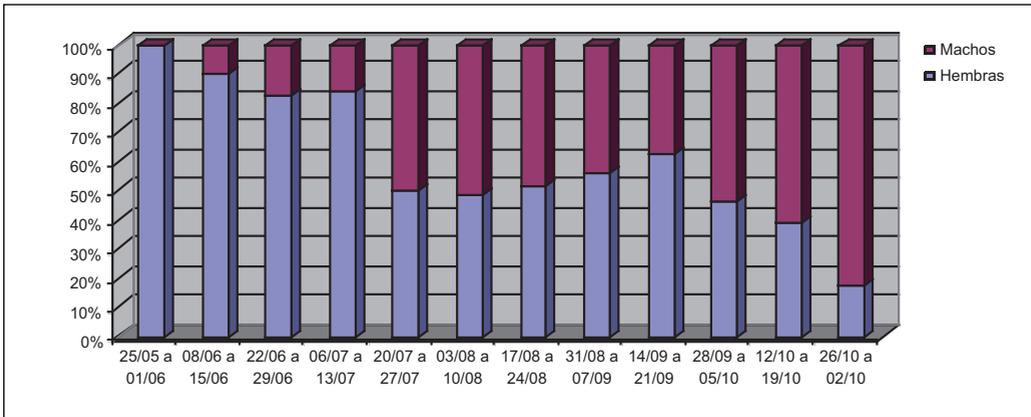


Figura 3. Evolución temporal de la proporción entre machos y hembras de Empoascini (mayoritariamente, *Empoasca solani* y *Asymmetrasca decedens*) capturados en 2009 en trampas adhesivas en campos de zanahoria y apio en Villena (Alicante)

máximo está comprendido entre finales de junio y finales de agosto, englobando tres de los cinco máximos localizados en este estudio. En el caso de la proporción entre hembras y machos, coinciden fielmente los dos estudios.

La evolución temporal de los individuos pertenecientes a la superfamilia Psylloidea (mayoritariamente, *Bactericera* sp. y *Ca-*

copsylla pyri) capturados en 2009, se representa en la Figura 4 (en campos de apio) y en la Figura 5 (en campos de zanahoria), donde podemos ver cuatro máximos más representativos, uno a finales de julio-principios de agosto, otro a principios de septiembre, un tercero en la primera quincena de octubre y uno más en la primera quincena de noviembre. En la comparación de las trampas ubica-

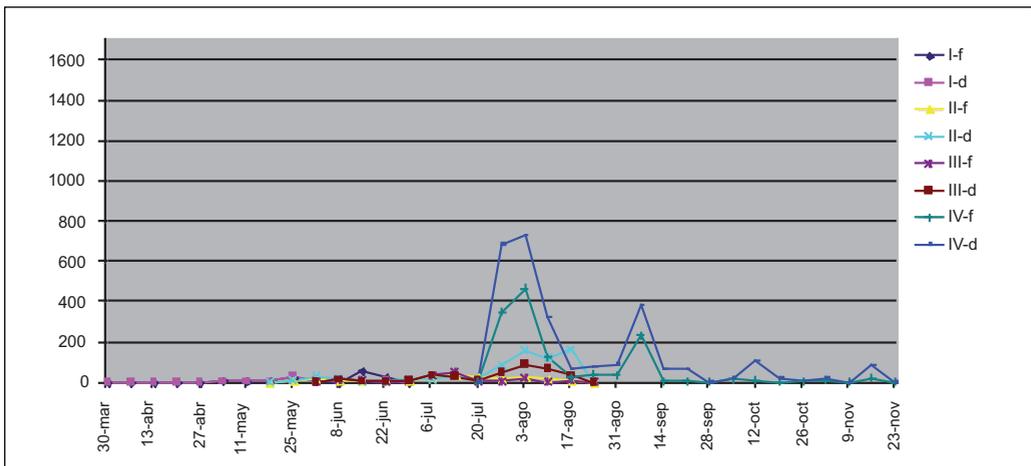


Figura 4. Evolución temporal de los individuos pertenecientes a la superfamilia Psylloidea (mayoritariamente, *Bactericera* sp. y *Cacopsylla pyri*) capturados en 2009 en las dos trampas amarillas adhesivas situadas fuera (f) y en las dos situadas dentro (d) de cada uno de los 4 campos de apio (I, II, III y IV) de Villena (Alicante)

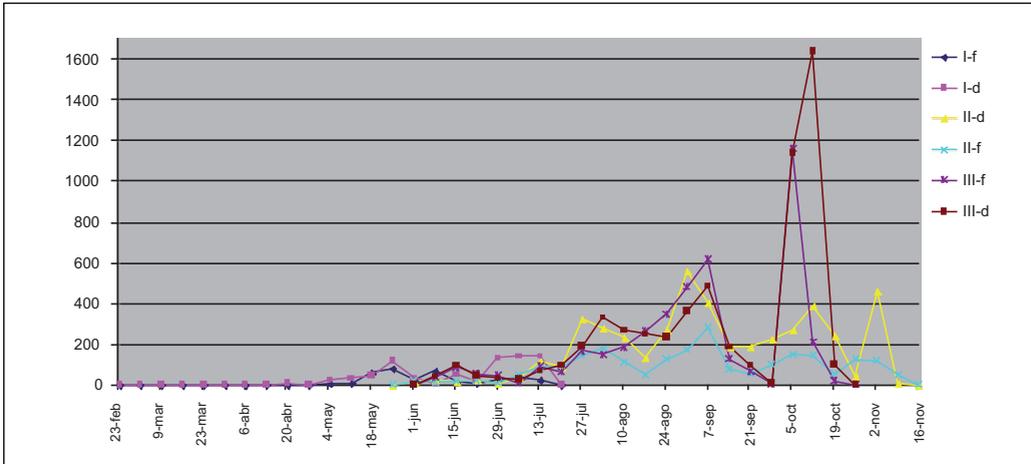


Figura 5. Evolución temporal de los individuos pertenecientes a la superfamilia Psylloidea (mayoritariamente, *Bactericera* sp. y *Cacopsylla pyri*) capturados en 2009 en las dos trampas amarillas adhesivas situadas fuera (f) y en las dos situadas dentro (d) de cada uno de los 3 campos de zanahoria (I, II y III) de Villena (Alicante)

das fuera de las parcelas con las que se encuentran dentro de ellas, podemos ver en las Figuras 4 y 5 cómo el mayor número de psílidos suele encontrarse en trampas ubicadas dentro de la parcela, o bien son similares el número de capturas obtenidas en las trampas de fuera y las de dentro de las parcelas.

En áfidos, se establecen las colonias en verano, sobre las hojas de estos cultivos herbáceos ya desarrollados.

AGRADECIMIENTOS

Queremos expresar nuestro reconocimiento a M.C. CAMAÑEZ, R. DOMENE, P. MUÑOZ y J. SANJUÁN, del departamento técnico de la cooperativa Agrícola Villena Coop., por su ayuda en la puesta y recogida de trampas y en el conteo de insectos.

ABSTRACT

VILLAESCUSA, F. J., S. SANJUÁN, M. C. CEBRIÁN, A. ALFARO-FERNÁNDEZ, M. I. FONT, J. C. FERRÁNDIZ, A. HERMOSO DE MENDOZA. 2011. Survey of possible vectors (Hemiptera: Cicadellidae, Aphididae and Psylloidea) of celery and carrot pathogens. *Bol. San. Veg. Plagas*, **37**: 163-171.

During 2009, a survey of potential vectors of the pathogens that cause yellowing and distortion on celery and carrot observed in Villena (Alicante) have been carried out. This survey has been focused on Hemiptera belonging to the families Cicadellidae and Aphididae and Psylloidea superfamily, and performed on four parcels of celery and three of carrot. The leafhoppers and psyllids have been captured using yellow sticky traps, and aphids were sampled capturing colonies on leaves.

The identification of these potential vectors has allowed making a list of species in each taxonomic group (24 Cicadellidae, 3 Psylloidea and 3 Aphididae). Leafhopper species mostly found in Villena have been *Asymmetrasca decedens* (Paoli) and *Empoasca solani* (Curtis). *Bactericera* sp. and *Cacopsylla pyri* (Linnaeus) have been identified as the most abundant psyllid species, and *Cavariella aegopodii* (Scopoli) has been the aphid

species primarily identified. In the yellow sticky traps, 7,55% were leafhoppers and 92,45% psyllids.

The evolution in time of the number of catches has indicated that the number of leafhoppers have presented three peaks in summer and two more in the autumn. Specifically, in the species of the tribe Emposcini, females has predominated in spring, males in autumn and during the summer in both sexes the number have been equal. In the case of the psyllids, there have been two peaks in summer and two more in the autumn. In aphids, the colonies have been established on leaves of developed crops during the summer.

Key words: CeMV, phytoplasma, *Spiroplasma citri*.

REFERENCIAS

- ABAD, P., FONT, I., DALLY, E.L., ESPINO, A.I., JORDÁ, C., DAVIS, R.E. 2000. Phytoplasmas associated with carrot yellows in two spanish regions. *Journal of Plant Pathology*, **82**: 69.
- ALFARO, A., CAMPOS, T., MARTÍ, F. 1976. *Spiroplasma citri* Sagl. en los cítricos españoles. *Anales del Instituto Nacional de Investigaciones Agrarias (INIA). Protección Vegetal*, **6**: 55-65.
- AVINENT, L., LLÁCER, G., ALMACELLAS, J. 1997. Pear decline in Spain. *Plant Pathology*, **46**: 694-698.
- BEI-BIENKO, G.Y. 1967. *Keys to the insects of the European USSR*, I. Ac. Sciences USSR, 1214 pp.
- BLACKMAN, R.L., EASTOP, V.F. 1985. *Aphids on the world's crops: An identification guide*. John Wiley & sons, Chichester, 466 pp.
- BOSCO, D., GALETTO, L., LEONCINI, P., SARACCO, P., RACCAH, B., MARZACHÌ, C. 2007. Pattern of chrysanthemum yellows phytoplasma multiplication in three leafhopper vector species (Cicadellidae Deltocephalinae). *Bulletin of Insectology*, **60** (2): 227-228.
- BOVÉ, J.M. 1986. Stubborn and its natural transmission in the mediterranean area in the Near East. *FAO Plant Protection Bulletin*, **34**: 15-23.
- CEBRIÁN, M.C., VILLAESCUSA, F.J., ALFARO-FERNÁNDEZ, A., HERMOSO DE MENDOZA, A., CÓRDOBA-SELLÉS, M.C., JORDÁ, C., FERRÁNDIZ, J.C., SANJUÁN, S., FONT, M.I. 2010a. First Report of *Spiroplasma citri* in Carrot in Europe. *Plant Disease*, **94** (Aceptado para publicar en Julio 2010).
- CEBRIÁN, M.C., VILLAESCUSA, F.J., JORDÁ, C., CÓRDOBA-SELLÉS, M.C., ALFARO-FERNÁNDEZ, A., FERRÁNDIZ, J.C., SANJUÁN, S., HERMOSO DE MENDOZA, A., FONT, M.I. 2010b. Aster yellows y Stolbur: fitoplasmas implicados en el desarrollo de nuevas sintomatologías en cultivos de apio y chirivía en España. *Actas XV Congreso de la Sociedad Española de Fitopatología (SEF)*, Vitoria-Spain.
- DELLA GIUSTINA, W. 1989. *Faune de France. Homopteres Cicadellidae. Volume 3*. INRA, Paris, 353 pp.
- FONT, I., ABAD, P., ALBIÑANA, M., ESPINO, A.I., DALLY, E.L., DAVIS, R.E., JORDÁ, C. 1998. Diagnóstico de una nueva enfermedad en zanahoria. *Actas IX Congreso de la Sociedad Española de Fitopatología (SEF)*, Salamanca-Spain, p. 87
- FONT, I., ABAD, P., ALBIÑANA, M., ESPINO, A.I., DALLY, E.L., DAVIS, R.E., JORDÁ, C. 1999. Amarillos y enrojecimientos en zanahoria: una enfermedad a diagnóstico. *Boletín de Sanidad Vegetal-Plagas*, **25**: 405-415.
- FONT, I., ABAD, P., DALLY, E.L., DAVIS, R.E., JORDÁ, C. 2000. Diagnosis of a new carrot disease in Spain. *Proceedings The First Asian Conference on Plant Pathology*, Beijing-China, p 6.
- FONT, M.I., CEBRIÁN, M.C., VILLAESCUSA, F.J., ALFARO-FERNÁNDEZ, A., CÓRDOBA-SELLÉS, M.C., FERRÁNDIZ, J.C., SANJUÁN, S., REYES J.A., SIVERIO F., JORDÁ, C., HERMOSO DE MENDOZA, A. 2010a. *Spiroplasma citri* y Aster yellows implicados en el desarrollo de amarillos, enrojecimientos y deformaciones en los cultivos de zanahoria en España. *Actas XV Congreso de la Sociedad Española de Fitopatología (SEF)*, Vitoria-Spain.
- FONT, M.I., CEBRIÁN, M.C., VILLAESCUSA, F.J., CÓRDOBA-SELLÉS, M.C., FERRÁNDIZ, J.C., SANJUÁN, S., ALFARO-FERNÁNDEZ, A., HERMOSO DE MENDOZA, A., JORDÁ, C. 2010b. First report of phytoplasma disease in celery and parsnip in Spain. *Proceedings 13th Congress of the Mediterranean Phytopathological Union (MPU)*, Rome-Italy. *Petria*, **20**: 260-261.
- HERMOSO DE MENDOZA, A., 1984. Pugons (Hom., Aphidinea) transmissors de la "tristeza" dels cítrics al País Valencià. *Tesi doctoral*. Universitat Politècnica de València.
- HERMOSO DE MENDOZA, A., MEDINA, V. 1979. Estudio inicial sobre cicadélidos (Homoptera, Cicadellidae) en los huertos de agrios del País Valenciano. *Anales INIA. Protección Vegetal*, **10**: 43-68.
- HERNÁNDEZ, E. 1975. Detección de "stubborn" en cítricos españoles. Métodos para su diagnóstico. *An. Real Academia de Farmacia*, **41** (2): 187-206.
- JORDÁ, C., FONT, I., ABAD, P. 2003. Enfermedades de la zanahoria causadas por virus y fitoplasmas. En: *Biofumigación en Agricultura Extensiva de Regadío*. Mundi-Prensa España, 239-256.
- LA SPINA, M., HERMOSO DE MENDOZA, A., TOLEDO, J., ALBUJER E., GILABERT, J., BADIA, V., FAYOS, V. 2005. Prospección y estudio de la dinámica poblacional de cicadélidos (Hemiptera, Cicadellidae) en viñedos de las comarcas meridionales valencianas. *Boletín de Sanidad Vegetal. Plagas*, **31**: 397-406.
- MARAMOROSCH, K., HARRIS, K.F. 1979. *Leafhopper Vectors and Plant Disease Agents*. Academic Press, Inc., 654 pp.

- OSSIANNILSSON, F. 1992. The Psylloidea (Homoptera) of Fennoscandia and Denmark. *Fauna Entomologica Scandinavica*, **26**: 1-347.
- RAMÍREZ, C. 1955. Los psílidos de España I. *Bol. Real Soc. Esp. Hª Nat. Sección Biológica*, **53**: 151-217.
- RAMÍREZ, C. 1956. Los psílidos de España II. *Bol. Real Soc. Esp. Hª Nat. Sección Biológica*, **54**: 63-106.
- RAMÍREZ, C. 1959. Los psílidos de España III. *Bol. Real Soc. Esp. Hª Nat. Sección Biológica*, **57**: 1-87, lám. I-IV.
- RIBAUT, H. 1936. *Homopteres Auchenorrhynches, I (Typhlocybidae)*, *Faune de France*. Paul Lechevalier et fils. Paris, 232 pp.
- RIBAUT, H. 1952. *Homopteres Auchenorrhynches, II (Jassidae)*, *Faune de France*. Paul Lechevalier et fils. Paris, 474 pp.
- STUBBS, L.L. 1948. A new virus disease of carrot, its transmission, host range, and control. *Australian Journal of Scientific Research*, **1**: 303-338.
- WEINTRAUB, G., JONES, P. 2010. *Phytoplasmas: Genomes, Plant Hosts and Vectors*. CABI Publishing, 336.

(Recepción: 11 marzo 2011)

(Aceptación: 4 octubre 2011)

Flutuação populacional de *Deois flavopicta* (Stal, 1854) em pastagem de *Brachiaria decumbens*

M. F. A. PEREIRA, R. DOS S. BORGES, E. E. B. MENDES, L. C. TOSCANO, R. F. O. DE MORAES

O objetivo deste trabalho foi de avaliar a flutuação populacional de *Deois flavopicta* em pastagens de *Brachiaria decumbens*. O estudo foi conduzido em duas áreas de 5.000 m², divididas em 50 parcelas de 10m x 10 m, entre agosto de 2007 e abril de 2009. As avaliações ocorreram a cada 15 a 20 dias no período chuvoso e de 30 a 40 dias na época da seca, sendo a contagem de ninfas efetuada em 0,0625 m² e a de adultos em cinco lances de rede entomológica (LRE), por parcela. Entre 2007 e 2008, foram constatadas três gerações de cigarrinhas, sendo a maior densidade de ninfas na 2^a quinzena de novembro de 2007 (259 ninfas/m²), com segundo pico populacional na 2^a quinzena de janeiro e 1^a de fevereiro de 2008 (109 ninfas/m²) e um terceiro na 1^a quinzena de março de 2008 (114 ninfas/m²). Maiores densidades de adultos foram registradas na 1^a quinzena de dezembro de 2007 (62 insetos/5 LRE), 1^a quinzena de fevereiro de 2008 (19 insetos/5 LRE) e 2^a quinzena de março de 2008 (10 insetos/5 LRE). Entre agosto de 2008 e abril de 2009 foi observada apenas uma geração de *D. flavopicta*, com pico populacional de ninfas na 2^a quinzena de outubro de 2008 (19 ninfas/m²) e de adultos na 2^a quinzena de novembro de 2008 (3 insetos/5 LRE).

M. F. A. PEREIRA. PqC. Dr. APTA Regional Centro Norte / UPD de São José do Rio Preto. Rod. Washington Luis, km 445, Caixa Postal 1013, CEP 15025-970 São José do Rio Preto, SP, Brazil, mfpereira@apta.sp.gov.br * Autor para correspondência.

E. E. B. MENDES, R. DOS S. BORGES. APTA Regional Centro Norte / UPD de São José do Rio Preto.

L. C. TOSCANO, R. F. O. DE MORAES. Universidade Estadual do Mato Grosso do Sul – UEMS / Unidade Universitária de Cassilândia.

Palavras-chave: Cigarrinha-das-pastagens, Cercopidae, bioecologia, capim-braquiária.

INTRODUÇÃO

A introdução e cultivo extensivo de gramináceas africanas no Brasil Central, principalmente do gênero *Brachiaria*, resultaram em surtos populacionais de cigarrinhas-das-raízes (Hemiptera: Cercopidae), consideradas principais pragas de pastagens na América Tropical (COSENZA, 1981; VALÉRIO & NAKANO, 1988; SUJII *et al.*, 2001). De acordo com AUAD *et al.* (2009), *Brachiaria decumbens* Stapf normalmente é mais atacada por cigarrinhas-das-pastagens em relação a outras espécies de capim-braquiária.

As espécies de cigarrinhas *Deois flavopicta*, *D. schach* e *Notozulia entreriana* são mais comuns na região Centro-Sul do Brasil (SILVEIRA NETO *et al.*, 1992). Normalmente, fêmeas ovipositam no sólo ou em restos de vegetação e após eclosão, as ninfas se fixam na base do capim, permanecendo protegidas por espuma característica (PEREIRA & PEREIRA, 1985; ZUCCHI *et al.*, 1993). Ainda, os cercopídeos requerem calor e umidade para desenvolverem e proliferarem, podendo ocorrer de três a cinco gerações anuais durante o período chuvoso, dependendo das condições climáticas (COSENZA, 1989; FON-

TES *et al.*, 1995). Portanto, segundo OLIVEIRA & CURI (1979), surtos populacionais destes insetos coincidem com o crescimento de forrageiras e, conseqüentemente, com a melhor fase de aproveitamento das pastagens. A ação das cigarrinhas às pastagens tem início na fase de ninfa, quando sugam seiva de raízes e caules próximos à superfície do sólo. Os adultos, ao sugarem as folhas, injetam toxinas que causam o amarelecimento e secamento do capim. Além disso, reduzem os teores de proteína bruta, gordura e minerais essenciais e aumenta matéria seca, tornando a gramínea impalatável. Com isso, o animal come menos, diminuindo a produção de leite e carne (HEWITT, 1988; VALÉRIO & NAKANO, 1988).

O conhecimento da dinâmica populacional de insetos é fundamental para o estabelecimento de estratégias de manejo (LYRA NETTO *et al.*, 1989). Trabalhos envolvendo estudo da flutuação de cigarrinhas em pastagens foram conduzidos em diferentes regiões do Brasil (RAMIRO *et al.*, 1984; LEITE *et al.*, 2007; AUAD *et al.*, 2006; 2009). Entretanto, de acordo com SILVEIRA NETO *et al.* (1976), devido à influência dos fatores ambientais, é importante que a população da praga seja conhecida nas diferentes regiões produtoras. Assim, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a flutuação populacional de *D. flavopicta* em pastagens de *B. decumbens* na região Noroeste do Estado de São Paulo, visando indicar o período em que o inseto ocorre nas pastagens e as variações no número de indivíduos ao longo do tempo.

MATERIAL E MÉTODOS

Para estudo da flutuação populacional da cigarrinha *D. flavopicta* em pastagens de braquiária (*B. decumbens*), na região Noroeste do Estado de São Paulo, foram conduzidos levantamentos populacionais do inseto na Unidade de Pesquisa e Desenvolvimento de São José do Rio Preto / APTA Regional Centro Norte, localizada nos Municípios de Mirassol e São José do Rio Preto,

SP (49°23'O, 20°48'S, altitude 468m). Segundo Koeppen, a região apresenta clima tipo Aw, com estação chuvosa no verão, seguido de tempo ameno e seco no inverno. A temperatura média anual é de 24,8° C e a precipitação média anual de 1.350 mm.

Para o levantamento populacional de *D. flavopicta*, em pastagens formadas com *B. decumbens*, foram demarcadas duas áreas de 5.000 m² (50 m x 100 m), subdivididas em 50 parcelas de 10 m x 10 m. A contagem de ninfas foi efetuada por ponto de 0,0625 m² (0,25 m x 0,25 m) por unidade experimental, conforme NILAKHE (1982) e LYRA NETTO *et al.* (1989). Adultos do inseto-praga foram quantificados com rede entomológica (aro de 38cm de Ø), passada por cinco vezes sobre a parte superior (dossel) da pastagem, por parcela (Figura 1). As avaliações foram realizadas a cada 15 a 20 dias, no período “das águas” e em intervalos de 30 a 40 dias na “época seca”, de agosto de 2007 a abril de 2009. A população de imaturos foi extrapolada para número de ninfas por m². Para os dados obtidos, foi elaborada curva de flutuação populacional de cigarrinhas, juntamente com o índice de precipitação acumulado em cada período de avaliação.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em avaliações conduzidas de agosto de 2007 a junho de 2008 foram detectadas três gerações da cigarrinha *D. flavopicta* em pastagens de braquiária, com picos populacionais de ninfas e adultos bem definidos, independentemente da área experimental amostrada (Figuras 2 e 3). A eclosão de ninfas, iniciando o ciclo anual da cigarrinha-das-pastagens, ocorreu na segunda quinzena de outubro de 2007, simultaneamente com as primeiras chuvas da estação. Portanto, verificou-se maior densidade populacional na segunda quinzena de novembro de 2007 (259 ninfas/m²). O segundo pico populacional se deu entre a segunda quinzena de janeiro e a primeira de fevereiro de 2008 (109 ninfas/m²) e o terceiro na



Figura 1. Amostragem de ninfas e adultos de *D. flavopicta* em pastagens de *B. decumbens*

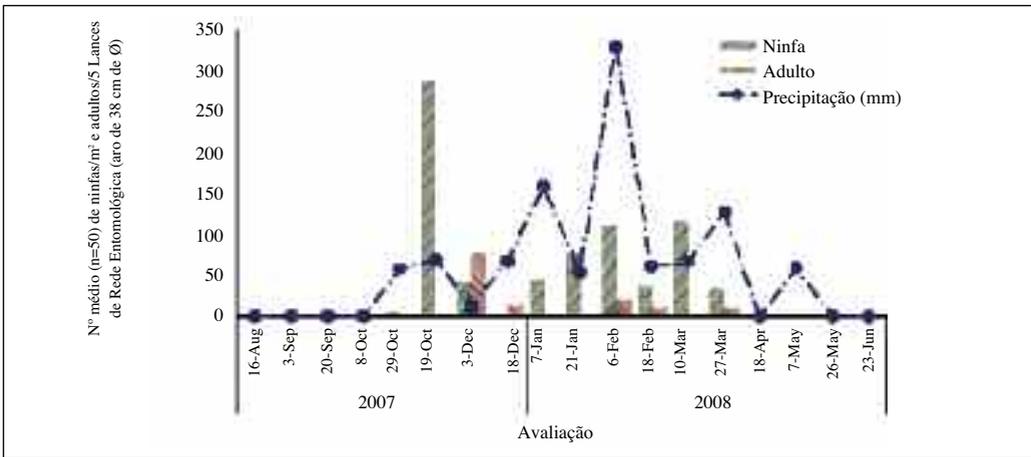


Figura 2. Flutuação populacional de ninfas e adultos de *Deois flavopicta* em pastagem de *Brachiaria decumbens* e precipitação pluviométrica (área 1). S. J. do Rio Preto, SP. 2007/08

primeira quinzena de março de 2008 (114 ninfas/m²). Seguidamente, picos populacionais de adultos foram registrados na primeira quinzena de dezembro de 2007 (62 insetos/5 lances de rede entomológica - LRE), primeira quinzena de fevereiro de 2008 (19 insetos/5 LRE) e segunda quinzena de março de 2008 (10 insetos/5 LRE). Os índices de precipitação acumulada, registrados nos três períodos de maior incidência do inseto-praga, foram de aproximadamente

60 mm, 310 mm e 70 mm, respectivamente. Assim, evidencia-se que a população de *D. flavopicta* não aumentou proporcionalmente com o índice de precipitação pluviométrica, durante a estação chuvosa. Este comportamento da cigarrinha-das-raízes em pastagens difere do descrito e esquematizado em GALLO *et al.* (2002) e ZUCCHI *et al.* (1993), que indicam um ciclo populacional crescente do inseto em três gerações subseqüentes.

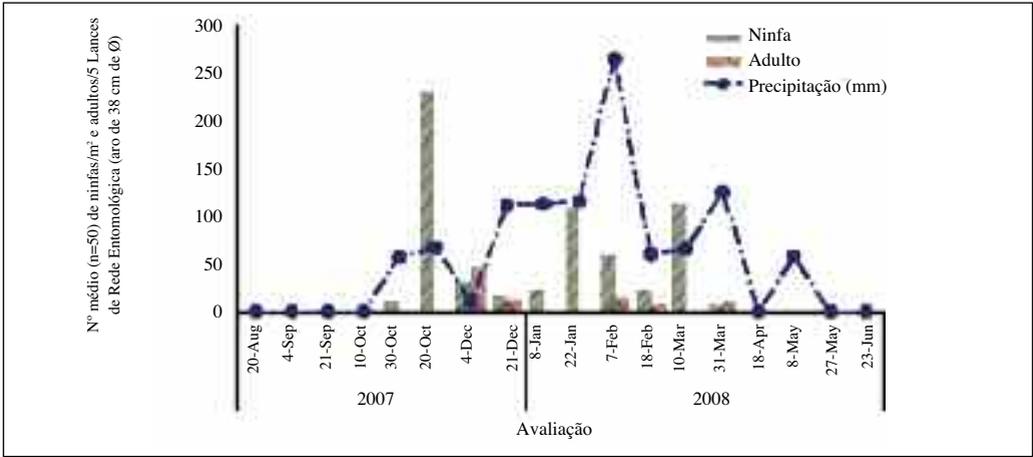


Figura 3. Flutuação populacional de ninfas e adultos de *Deois flavopicta* em pastagem de *Brachiaria decumbens* e precipitação pluviométrica (área 2). S. J. do Rio Preto, SP. 2007/08

No período de agosto de 2008 a abril de 2009 foi constatada apenas uma geração da cigarrinha-das-raízes em pastagens de capim-braquiária (Figuras 4 e 5). O ciclo anual do inseto iniciou-se em outubro de 2008 (áreas 1 e 2), com a eclosão de ninfas. O pico populacional de imaturos de *D. flavopicta* ocorreu na segunda quinzena de outubro de 2008 (19

ninfas/m²) e maior população de adultos do cercopídeo foi verificada na segunda quinzena de novembro de 2008 (3 insetos/5 LRE), independentemente da área experimental.

A infestação média de ninfas e adultos de *D. flavopicta* no período “chuvoso” de 2007/08 foi 22 e 26 vezes, respectivamente, superior à constatada em 2008/09. Este fato

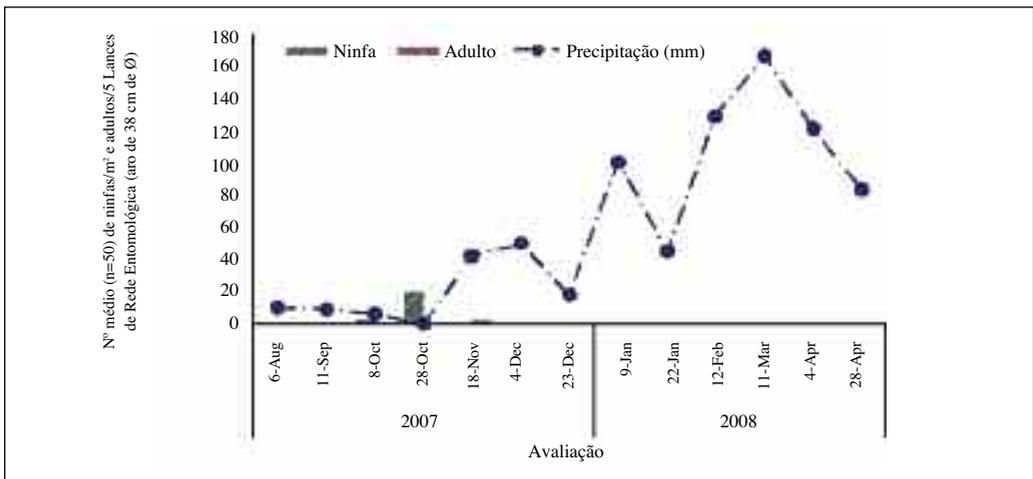


Figura 4. Flutuação populacional de ninfas e adultos de *Deois flavopicta* em pastagem de *Brachiaria decumbens* e precipitação pluviométrica (área 1). S. J. do Rio Preto, SP. 2008/09

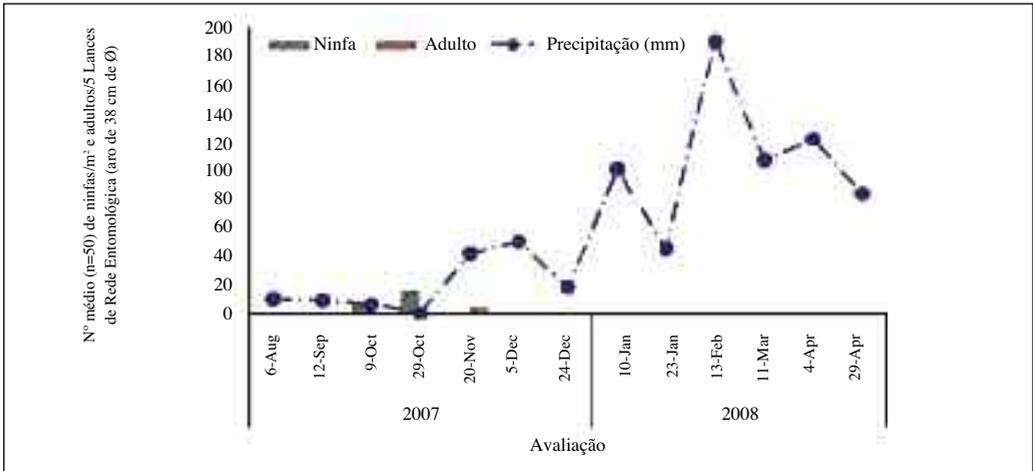


Figura 5. Flutuação populacional de ninfas e adultos de *Deois flavopicta* em pastagem de *Brachiaria decumbens* e precipitação pluviométrica (área 2). S. J. do Rio Preto, SP. 2008/09

ocorreu, provavelmente, devido ao baixo índice de precipitação acumulada (786 mm) no período de amostragens em 2008/09, ou seja, cerca de 33% inferior ao registrado no período chuvoso de 2007/08 (1,171 mm).

Independentemente do período de amostragens, a ocorrência de ninfas e adultos de *D. flavopicta* coincidiu com o período chuvoso da região Noroeste do Estado de São Paulo, corroborando com COSENZA (1989); FONTES *et al.* (1995) e VALÉRIO (1995).

Contudo, evidencia-se a importância do monitoramento e adoção de estratégias de manejo de cigarrinhas em pastagens, na re-

gião Noroeste do Estado de São Paulo, durante todo o período “das águas”, com ênfase ao início de ocorrência da praga, conforme PEREIRA *et al.* (2008), considerando o nível de controle recomendado (MENEZES *et al.*, 1983).

AGRADECIMENTO

Ao PqC. Dr. Alexander Machado Auad, da Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG, Brasil, pela confirmação específica da cigarrinha *D. flavopicta*.

RESUMEN

PEREIRA, M. F. A., R. DOS S. BORGES, E. E. B. MENDES, L. C. TOSCANO, R. F. O. DE MORAES. 2011. Dinâmica poblacional de *Deois flavopicta* (Stal, 1854) en pastos de *Brachiaria decumbens*. *Bol. San. Veg. Plagas*, 37: 173-179.

El objetivo de este trabajo fue evaluar la oscilación poblacional de *Deois flavopicta* en praderas de *Brachiaria decumbens*. El estudio fue conducido en dos áreas de 5,000 m², divididas en 50 parcelas de 10 m x 10 m, entre agosto de 2007 y abril de 2009. Las evaluaciones se realizaron cada 15-0 días en el período lluvioso y cada 30-40 días en el período seco: se contaron las ninfas en una superficie de 0,0625 m² en cada parcela y los adultos en cinco lances de red entomológica (LRE), por parcela. Entre agosto de 2007 y junio de 2008, se puso de manifiesto la existencia de tres generaciones de insecto, obteniéndose la mayor densidad de ninfas en la 2ª quincena de noviembre de 2007 (259 nin-

fas/m²), con un segundo pico poblacional entre la 2ª quincena de enero y la 1ª quincena de febrero de 2008 (109 ninfas/m²) y un tercero en la 1ª quincena de marzo de 2008 (114 ninfas/m²). Las mayores capturas de adultos se obtuvieron en la 1ª quincena de diciembre de 2007 (62 insectos/5 LRE), en la 1ª quincena de febrero de 2008 (19 insectos/5 LRE) y en la 2ª quincena de marzo de 2008 (10 insectos/5 LRE). Entre agosto de 2008 y abril de 2009 se observó solamente una generación, con un pico poblacional de ninfas en la 2ª quincena de octubre de 2008 (19 ninfas/m²) y de adultos en la 2ª quincena de noviembre de 2008 (3 insectos/5 LRE).

Palabras clave: chinche-escupidora, Cercopidae, bioecología, praderas.

ABSTRACT

PEREIRA, M. F. A., R. DOS S. BORGES, E. E. B. MENDES, L. C. TOSCANO, R. F. O. DE MORAES. 2011. Population fluctuations *Deois flavopicta* (Stal, 1854) on *Brachiaria decumbens* pastures. *Bol. San. Veg. Plagas*, **37**: 173-179.

The objective of this work was to evaluate the fluctuation of *Deois flavopicta* population on *Brachiaria decumbens* pastures, in São José do Rio Preto, SP, Brazil. The work was conducted in two pasture fields, each one with the area of 0.5 hectares to share in 50 plots of 10 m x 10 m, from August 2007 to April 2009. Spittlebug nymphs were counted using square of 0.0625 m² (0.25 x 0.25 m) and adults were determined by sampling with a sweep net at five beats in the vegetation, per plot, for each 15 to 20 days during the wet season and every 30 to 40 days in the dry period. Three generations of spittlebugs were observed in wet season 2007/08, with greatest occurrence of nymphs in November 2007 (259 nymphs/m²), and population peak second in January and February 2008 (109 nymphs/m²) and population peak third in March 2008 (114 nymphs/m²). Adults of *D. flavopicta* were more numerous in December 2007 (62 insects), in February 2008 (19 insects) and March 2008 (10 insects). In wet season of 2008/09 was observed just one generation of spittlebugs, with population peak of nymphs in October 2008 (19 nymphs/m²) and of adults in November 2008 (3 insects).

Key words: Spittlebug, Cercopidae, bioecology, signalgrass.

REFERÊNCIAS

- AUAD A. M., CARVALHO C. A. DE, SILVA D. M. DA, DERESZ F. 2009. Flutuação populacional de cigarrinhas-das-pastagens em braquiária e capim-elefante. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, **44**: 1205-1208.
- AUAD A. M., SIMÕES A. D., DERESZ F., CASTRO M. M., SOBRINHO F. S., PEREIRA A. V., BRAGA A. L. F., LEDO F. J. S., PAULA-MORAES S. V. 2006. Flutuação populacional de *Deois schach* (Fabricius, 1787) em pastagem de *Brachiaria brizantha*. In: 43ª REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 2006. João Pessoa, PB. 4 p.
- COSENZA G. W. 1989. Biologia e ecologia de pragas das pastagens. In: Simpósio sobre ecossistema de pastagens, 1989. Jaboticabal: FUNEP. p 87-96.
- COSENZA G. W. 1981. Resistência de gramíneas forrageiras à cigarrinha-das-pastagens *Deois flavopicta* (Stal., 1854). Planaltina: EMBRAPA Cerrados. 1981. 16p. (Boletim de Pesquisa, 7).
- FONTES E. G., PIRES C. S. S., SUIJI E. R. 1995. Mixed risk-spreading strategies and the population dynamics of a Brazilian pasture pest, *Deois flavopicta* (Homoptera: Cercopidae). *Journal of Economic Entomology*, **88**: 1256-1262.
- GALLO D. (in memorian), NAKANO O., SILVEIRA NETO S., CARVALHO R. P. L., BAPTISTA G. C. DE, BERTI FILHO E., PARRA J. R. P., ZUCCHI R. A., ALVES S. B., VENDRAMIM J. D., MARCHINI L. C., LOPES J. R. S., OMOTE C. 2002. Entomologia Agrícola. 2ªed., Piracicaba: FEALQ, 920p.
- HEWITT G. B. 1988. Grazing management as a means of regulating spittlebug (Homoptera: Cercopidae) numbers in Central Brazil. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, **23**: 697-707.
- LEITE G. L. D., ALMEIDA C. I. M., AMORIM C. A. D., ROCHA S. L. 2007. Fatores que influenciam o ataque de cigarrinhas-das-pastagens em pastagens do norte de Minas Gerais. *Revista Universidade Rural, Série Ciências da Vida*, **27**: 01-05.
- LYRA NETTO A. M. C. DE, WARUMBY J. F., ARAÚJO A. D. DE, MARQUES I. M. R. 1989. Flutuação populacional da cigarrinha de pastagens *Deois schach* (Fabricius, 1787) (Homoptera: Cercopidae) em capim pangola (*Digitaria decumbens*) no Estado de Pernambuco. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, **18**: 33-41.
- MENEZES M. DE, EL-KADI M. K., PEREIRA J. M., RUIZ M. A. M. Bases para o controle integrado das cigarrinhas-das-pastagens na região Sudeste da Bahia. Ilhéus: CEPLAC-CEPEC, 1983. 1-36. (Boletim avulso da Ceplac).

- NILAKHE S. S. 1982. Amostragem de ninfas de cigarrinhas em pastagens de *Brachiaria decumbens* Stapf. Campo Grande: EMBRAPA Gado Corte. 1982, 67p. (Boletim de Pesquisa, 2).
- OLIVEIRA M. A. S., CURI W. J. 1979. Dinâmica de população e controle biológico da cigarrinha em pastagens de *Brachiaria decumbens* em Rondônia. Porto Velho: EMBRAPA-UEPAT. 1979, 13p. (Comunicado Técnico, 7).
- PEREIRA J. R., PEREIRA J. C. R. 1985. Cigarrinha das Pastagens: Importância e métodos de controle para a Zona da Mata de Minas Gerais. Coronel Pacheco: EMBRAPA Gado de Leite. 1985, 23p. (Circular Técnica, 25).
- PEREIRA M. F. A., BENEDETTI R. A. L., ALMEIDA J. E. M. 2008. Eficiência de *Metarhizium anisopliae* (Metsch) Sorokin no controle de *Deois flavopicta* (Stal., 1854), em pastagem de capim-braquiária (*Brachiaria decumbens*). *Arquivos do Instituto Biológico*, **75**: 465-469.
- RAMIRO Z. A., MIRANDA R. DE A., BATISTA FILHO A. 1984. Observações sobre a flutuação de cigarrinhas (Homóptera: Cercopidae) em pastagem formada com *Brachiaria decumbens*, mantida em diferentes níveis de desenvolvimento vegetativo. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, **13**: 357-370.
- SILVEIRA NETO S., NAKANO O., BARBIN D., VILLA NOVA N. A. 1976. Manual de ecologia dos insetos. São Paulo: Agronômica Ceres, 419p.
- SILVEIRA NETO S., MARCHINI L. C., ALVES S. B. 1992. Pragas das pastagens. In: Curso de entomologia aplicada à agricultura. Piracicaba: FEALQ, p. 335-353.
- SUJII E. R., PIRES C. S. S., FONTES E. M. G., GARCIA M. A. 2001. Effect of host plant on the fecundity of spittlebug *Deois flavopicta* Stal (Homoptera: Cercopidae): implications on population dynamics. *Neotropical Entomology*, **30**: 547-552.
- VALÉRIO J. R. 1995. Cigarrinha-das-pastagens: uma praga que retorna com as chuvas. Campo Grande: EMBRAPA Gado de Corte. 1995. Disponível em <<http://www.cnpqc.embrapa.br/publicacoes/divulga/GCD08.html>>. Acesso em: 12 fev. 2010.
- VALÉRIO J. R., NAKANO O. 1988. Danos causados pelo adulto da cigarrinha *Zulia entreriana* na produção e qualidade de *Brachiaria decumbens*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, **23**: 447-453.
- ZUCCHI R. A., SILVEIRA NETO S., NAKANO O. 1993. Guia de identificação de pragas agrícolas. Piracicaba: FEALQ, 193p.

(Recepción: 11 abril 2011)

(Aceptación: 8 junio 2011)

***Platypus cylindrus* Fab. (Coleoptera: Platypodidae) transports *Biscogniauxia mediterranea*, agent of cork oak charcoal canker**

M. L. INÁCIO, J. HENRIQUES, L. GUERRA-GUIMARÃES, H. GIL AZINHEIRA, A. LIMA, E. SOUSA

Severe outbreaks of the ambrosia beetle *Platypus cylindrus* have been reported in Portuguese cork oaks stands for nearly three decades, mainly in trees recently decorked. Simultaneously, the incidence of charcoal canker caused by *Biscogniauxia mediterranea* became alarming. The great abundance of inoculum on colonized parts of host trees and the likelihood that spores might be vectored and inoculated by insects constitutes the basis of the hypothesized association between the oak pinhole borer and *B. mediterranea*. This assay undoubtedly proves the specific transport of the fungal propagules by *P. cylindrus*. *B. mediterranea* has a proven pathogenicity against *Quercus suber* seedlings and produces phytotoxic compounds causing necroses on indicator plants.

M. L. INÁCIO, J. HENRIQUES, E. SOUSA. Instituto Nacional de Recursos Biológicos – Unidade de Silvicultura e Produtos Florestais, Quinta do Marquês, 2780-159 Oeiras, Portugal, lurdes.inacio@inrb.pt

L. GUERRA-GUIMARÃES, H. GIL AZINHEIRA. Centro de Investigação das Ferrugens do Cafeeiro, Instituto de Investigação Científica e Tropical, Quinta do Marquês, 2784-505 Oeiras, Portugal.

A. LIMA. Centro de Engenharia dos Biosistemas, Instituto Superior de Agronomia, Tapada da Ajuda, 1349-017 Lisboa, Portugal.

Key words: Ambrosia beetle, charcoal disease, *Quercus suber*, mycangia, symbiosis.

INTRODUCTION

Platypus cylindrus Fab., the oak pinhole borer, used to be regarded as a secondary pest of cork oak stands in Portugal and Mediterranean basin countries (SEABRA, 1939; BAETA-NEVES, 1950). However, since the 1980s its numbers increased and attacks have been noticed in apparently healthy trees, especially those recently decorked (SOUSA, 1992; SOUSA & DÉBOUZIE, 2002). The time between onset of the first symptoms to death can be as short as 3 months to one year and a half, depending on the host vigour and resistance (SOUSA & INÁCIO, 2005).

P. cylindrus bore galleries and lay eggs in the nutrient-poor sapwood of selected hosts

and introduce into their tunnels ambrosia fungi which grow on the tunnel walls and serve as the main source of food for the adults and their offspring. The principal ambrosia fungi are *Raffaelea* spp. and the inoculation of some *Raffaelea* species caused wilting and/or death of cork oak seedlings and thus would be a pathogenic fungi (INÁCIO *et al.*, 2008; INÁCIO *et al.*, 2011). Nevertheless, the recent modification of insects' behavior leads us to suppose that new associations may have arisen. Taking into consideration that charcoal canker caused by *Biscogniauxia mediterranea* (de Not.) Kuntze is increasing in Portuguese cork oak stands, namely in young trees which exhibit a sudden decline process (SOUSA *et al.*, 2007), *P. cylindrus* could be hypothesized as a disease vector

spreading the inoculum in oak stands. Thus, the goal of this work was to ascertain the transportation of *B. mediterranea* by *P. cylindrus* and to verify its pathogenicity towards cork oak and the effect of phytotoxic compounds on disease development.

MATERIAL AND METHODS

Twelve logs of cork oak severely infested by *P. cylindrus* and exhibiting decline symptoms were collected in Alentejo and Ribatejo province, two main cork producing regions of Portugal. The logs were settled in the INRB, I.P. laboratories at Oeiras and the emerged adults were captured in fine mesh nets, attached to the log with a silicone joint. Each log was cut to follow one complete gallery. The samplings were repeated during 2005, 2006 and 2007. One hundred insects per year were aseptically dissected with iris scissors under a stereo binocular microscope to obtain their mycangia and parts of the exoskeleton (elytra). For isolating the fungi from tunnel walls, sections of the gallery system where the larvae graze on the fungus were taken. All the pieces were surface sterilized and plated in malt extract agar (MEA, Difco, USA) with 500mg/l of streptomycin sulfate (Sigma-Aldrich, USA), a large spectrum antibiotic. Cultures were incubated at $25\pm 1^\circ\text{C}$ in darkness.

Fungal identification was based on cultural and morphological features. Genomic DNA was extracted from pure cultures and the ITS rDNA region was amplified according to the protocol of COLLADO *et al.* (2001) using the primer pairs ITS4/ITS5. The sequences of both strands were determinate using the PCR-primers. For a preliminary taxonomical placement, each sequence was submitted to BLAST against the NCBI nucleotide databases.

Inoculation experiments were conducted in May 2008 on 1 year-old seedlings and repeated in October 2008. 16 seedlings were wound inoculated with a mycelial plug and the same number for the wound control plants, in both seasons. Symptoms (wilting

or death) were assessed daily for 4 months after inoculation. The length of stem lesions was measured after removal of the outer bark. Fungal isolations of the discolored sapwood of each newly dead or wilted seedling were carried out.

Toxicity of fungi filtrate solutions was evaluated by a modification of the Klement's injection infiltration method (KIRÁLY *et al.*, 1970), on tobacco plants (*Nicotina tabacum* var. Samsun) and consisted of injecting $100\mu\text{l}$ of fungi culture filtrates into the inter-cellular space of leaves with a syringe. The control leaves were infiltrated with water and with culture medium (MEA) and kept at 60% RH. The tests were repeated twice with two replicates each. Symptoms were assessed on tobacco leaves two weeks after infiltration using a scale based on the presence of lesions from chlorotic to necrotic (0- symptomless; 1- chlorotic spots; 2- almost necrotic spots; 3- necrotic spots). Results were analyzed through the non-parametric Kruskal-Wallis test or analysis of variance (ANOVA), with values presented as means \pm SD. Statistical analyses were carried out using the software Statistica 6 (StatSoft, Inc. 2003).

RESULTS

The characteristics of the fungi obtained from the mycangia and the exoskeleton of individual *P. cylindrus* (Fig.1) and its galleries place them near *Nodulisporium*-like genus (Fig. 2). *Nodulisporium* sp. is referred to include the anamorphs of *Biscogniauxia* sp. (HSIEH & ROGERS, 2005). COLLADO *et al.* (2001) and GIMBRA *et al.* (2009) identified *Nodulisporium* sp. as the asexual form of *B. mediterranea*.

The comparisons with the published sequences of the GenBank nucleotide sequences databases confirmed the relation of the isolates under study with *B. mediterranea*: the highest similarity (maximum identity-100%) was found with *B. mediterranea* isolated from *Quercus ilex* in Spain (AF280625.1 and AF280624.1) and *Q. cerris*, in Italy (AJ246222.1). No significant

length variation was observed in ITS amplicons, whose average length was 560 nucleotides. The sequence data that were suc-

cessfully sequenced were submitted to the GenBank nucleotide sequences databases as accessions FR734186 and FR734187.

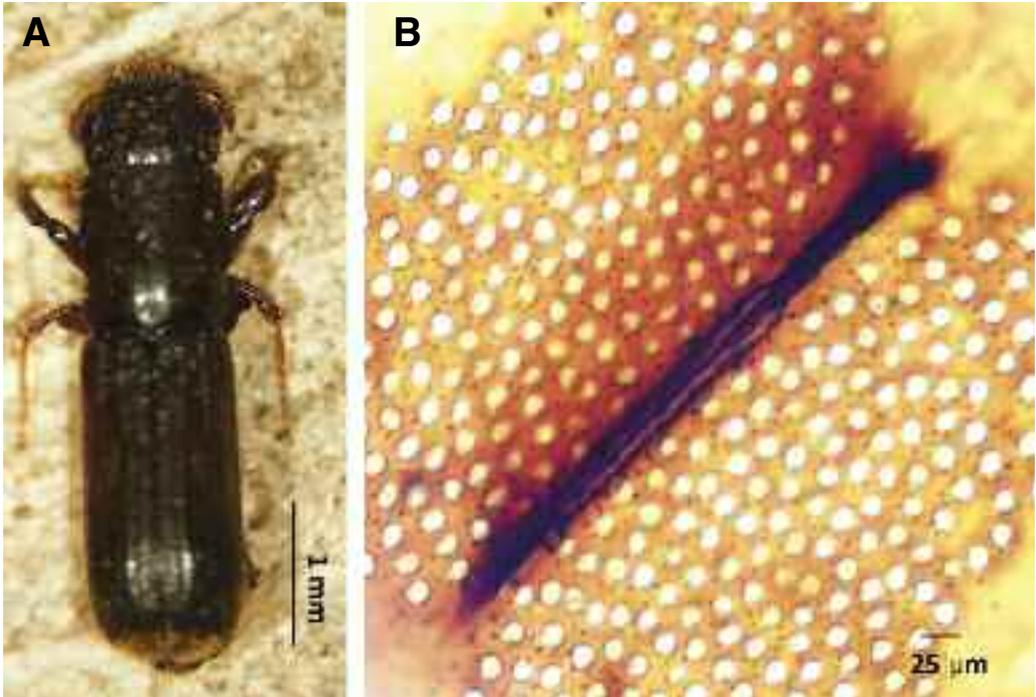


Figure 1. *Platypus cylindrus*: A. adult female, B. female mycangia with pits filled with fungal spores



Figure 2. *Biscogniauxia mediterranea* anamorph: A. colony morphology after 10 days on malt extract agar in a 90 mm diameter plate; B-C. Light micrographs; B. verticillate conidiogenous cells (x400); C. conidia and conidiophore (x400).

Control seedlings remained asymptomatic during the trial. No statistically significant differences between season inoculation and symptoms appearance were found ($F_{1,28}=0,0039$; $p=0,9506$), and therefore the results for both seasons were pooled. All but two seedlings inoculated with the pathogen showed bark and xylem lesion at the end of the experiment (average length lesion= $1,8\pm 0,3$ cm) (Fig. 3). These results agree with the assays of LINALDEDDU *et al.* (2009). The fungus was re-isolated from the stems of all symptomatic plants.

In the tobacco leaf toxicity assay, the compounds obtained from *B. mediterranea* proved to have phytotoxic activity causing symptoms on the injected leaves and no lesions were seen both with water and media (Kruskal Wallis test: $H=33,4328$, $d.f=2$, $p<0,001$). One half of the plants presented “chlorotic” to “almost necrotic” lesions and the other half exhibited “necrotic” lesions in all the punctures.

DISCUSSION

Results obtained in the present study confirm the specific transport of *B. mediterranea* by the ambrosia beetle *P. cylindrus* as besides its phoretic association the fungus was found closely associated with insect's mycangia. Furthermore, it was possible to isolate the symbiotic fungus from the beetle galleries. Morphological and molecular features refer the obtained *Nodulisporium*-like isolates to *B. mediterranea* which proved to be pathogenic towards cork oak seedlings. Fungal extracts exhibited phytotoxic activity in tobacco indicator plants as obtained by EVIDENTE *et al.* (2005) in *Q. suber* cuttings.

Charcoal canker is one of the most frequent disorders of Portuguese cork oak stands, *B. mediterranea* being considered an endophyte in oak tissues (SANTOS, 2003). However, its presence has increased in the last years especially in young cork oak trees without other symptoms of decline. The en-

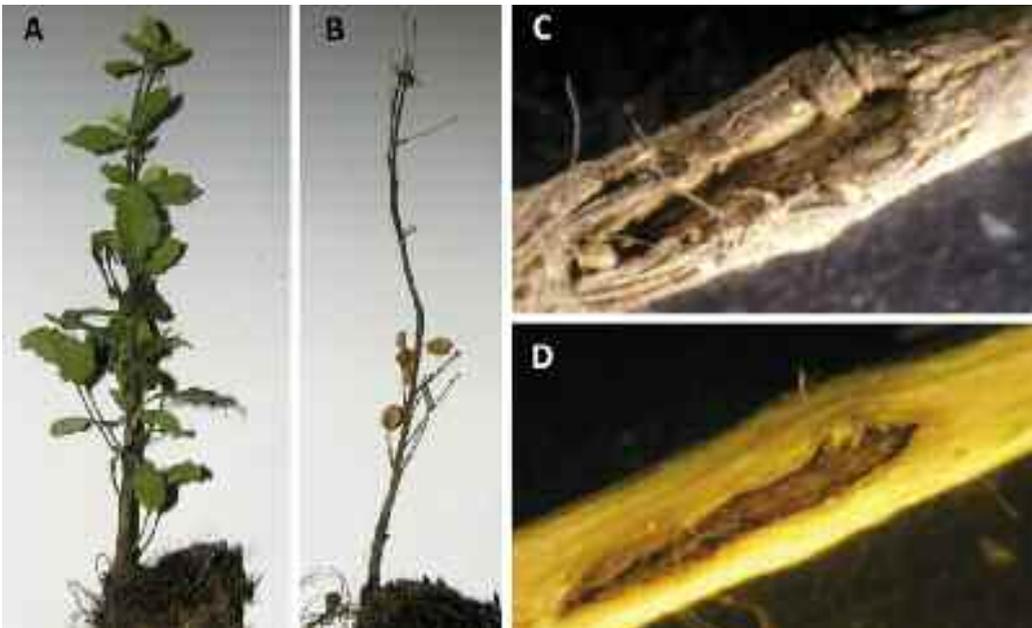


Figure 3. Pathogenicity tests on 1-year-old cork oak seedlings: A. control seedling; B-D. symptoms four months after inoculation with *Biscogniauxia mediterranea*; B. inoculated seedling; C. canker in the stem; D. bark and xylem necrosis.

tomochoric nature of its spores and the close association with *P. cylindrus* lead us to conclude that the insect outbreaks might contribute to disease spread, as stated by others (VANNINI & VALENTINI 1994). Being already inside the host, the fungus can rapidly

spread from several infection points (MAZZAGLIA *et al.* 2001). So, the direct inoculation of the pathogen into new hosts may increase disease incidence in cork oak stands, even when the attacks of the beetles yielding the fungus are aborted.

RESUMEN

INÁCIO, J. M. L., HENRIQUES, L. GUERRA-GUIMARÃES, H. GIL AZINHEIRA, A. LIMA, E. SOUSA. 2011. *Platypus cylindrus* Fab. (Coleoptera: Platypodidae) transporta *Biscogniauxia mediterranea*, el agente del chancro carbonoso del alcornoque. *Bol. San. Veg. Plagas*, **37**: 181-186.

Se han reportado en Portugal ataques severos del insecto ambrosia *Platypus cylindrus* desde hace casi tres décadas, principalmente en los árboles recién descortezados. Al mismo tiempo, la incidencia de la enfermedad causada por *Biscogniauxia mediterranea* se ha tornado alarmante. La abundancia del inoculo en las partes colonizadas de las plantas huéspedes y la posibilidad de que las esporas puedan ser vectorizadas e inoculadas por insectos son la base de la hipótesis de asociación entre el insecto y *B. mediterranea*. Este estudio demuestra sin duda el transporte específico de propagules del hongo por *P. cylindrus*. *B. mediterranea* ha demostrado su patogenicidad en plántulas de *Quercus suber* y produce compuestos fitotóxicos que causan necrosis en plantas indicadoras.

Palabras clave: insecto ambrosia, chancro carbonoso, *Quercus suber*, micangios, simbiosis.

REFERENCES

- BAETA-NEVES, C. 1950. Introdução à Entomologia Florestal Portuguesa. *A Serra e o Homem*. Lisboa, 120 pp.
- COLLADO J., PLATAS, G., PELÁEZ, F. 2001. Identification of an endophytic *Nodulisporium* sp. from *Quercus ilex* in central Spain as the anamorph of *Biscogniauxia mediterranea* by rDNA sequence analysis and effect of different ecological factors on distribution of the fungus. *Mycologia*, **93**: 875-886.
- EVIDENTE, A., ANDOLFI, A., MADDAU, L., FRANCESCHINI, A., FRANCESCO, M. 2005. Biscopyran, a Phytotoxic Hexasubstituted Pyranopyran Produced by *Biscogniauxia mediterranea*, a Fungus Pathogen of Cork Oak. *J. Nat. Prod.* **68**: 568-571.
- GIAMBRA, S., TORTA, L., SCOPEL, C., CAUSIN, R., BURRUANO, S. 2009. Primi studi su *Biscogniauxia mediterranea* in Sicilia Occidentale. In *Atti del Terzo Congresso Nazionale di Selvicoltura*. Taormina (ME), Italy, 1394-1396.
- HSIEH, H., JU, Y., ROGERS, J. D. 2005. Molecular phylogeny of *Hypoxylon* and closely related genera. *Mycologia*, **97**(4): 844-865.
- INÁCIO, M. L., HENRIQUES, J., LIMA, A., SOUSA, E. 2008. Fungi of *Raffaëlea* genus (Ascomycota: Ophiostomatales) associated with *Platypus cylindrus* (Coleoptera: Platypodidae) in Portugal. *Revista Ciências Agrárias*, **31**: 96-104.
- INÁCIO, M. L., HENRIQUES, J., LIMA, A., SOUSA, E. 2011. Ophiostomatoid fungi associated with cork oak mortality in Portugal. *IOBC/wprs Bull.* (in press).
- KIRÁLI, Z., KLEMENT, Z., VOROS J. 1970. *Methods in Plant Pathology*. Akadémiai Kiadó, Budapest, 509 pp.
- LINALDEDDU, B.T., SIRCA, C., SPANO, D., FRANCESCHINI, A. 2009. Physiological responses of cork oak and holm oak to infection by fungal pathogens involved in oak decline. *For. Path.*, **39**: 232-238.
- MAZZAGLIA, A., ANSELMINI, N., GASBARRI, A., VANNINI, A. 2001. Development of Polymerase Chain Reaction (PCR) assay for the specific detection of *Biscogniauxia mediterranea* living as an endophyte in oak tissues. *Mycol. Res.*, **105**: 952-956.
- SANTOS, M.N. 2003. Contribuição para o conhecimento das relações *Quercus suber* - *Biscogniauxia mediterranea*. *Silva Lusitana*, **11**: 21-29.
- SEABRA, A. F. 1939. Contribuição para a história da Entomologia em Portugal. *Publicações D.G.S.F.A.*, **6**: 1-20.
- SOUSA, E. 1992. Alguns factores responsáveis pelo declínio do montado de sobre na Herdade da Chaminé. In *Actas do 2º Encontro sobre os Montados de Sobre e de Azinho*, Évora: 324-335.
- SOUSA, E., DEBOUZIE, D. 2002. Contribution à la biologie de *Platypus cylindrus* Fab. au Portugal. *IOBC / wprs Bull.*, **25**: 75-83.
- SOUSA, E., INÁCIO, M. L. 2005. New Aspects of *Platypus cylindrus* Fab. (Coleoptera: Platypodidae) Life

- History on Cork Oak Stands in Portugal. In Lieutier, F., Ghaïoule, D., eds., *Entomological Research in Mediterranean Forest Ecosystems*. INRA Editions, France: 147-168.
- SOUSA, E., SANTOS, N., VARELA, C., HENRIQUES, J. 2007. *Perda de vigor dos montados sobre e azinho: análise da situação e perspectivas*, DGF, Lisboa, 80 pp.
- VANNINI, A., VALENTINI, R. 1994. Influence of water relations on *Quercus cerris* - *Hypoxyylon mediterraneum* interactions: a model of drought-induced susceptibility to a weakness parasite. *Tree Physiology*, **14**: 129-139.

(Recepción: 14 abril 2011)
(Aceptación: 13 junio 2011)

Diferentes densidades de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) e seu desenvolvimento sobre pupas de *Thyriniteina arnobia* (Lepidoptera: Geometridae)

B. ZACHÉ, R. R. C. ZACHÉ, C. F. WILCKEN

O controle de lagartas desfolhadoras em florestas de eucalipto através da aplicação de inseticidas químicos e biológicos é complexo, devido principalmente à grande extensão dos plantios e à altura das árvores. Devida a essa complexidade, métodos alternativos de controle têm sido propostos, como controle biológico. Para o sucesso de programas de controle biológico devem ser considerados vários fatores, entre eles a densidade de inimigos naturais liberados. Para este experimento foram utilizadas pupas de *Thyriniteina arnobia* com 48 horas de idade sendo expostas ao parasitismo por fêmeas de *Trichospilus diatraeae* de 48 horas de idade nas seguintes relações parasitoide: hospedeiro, respectivamente: 1:1, 7:1, 14:1, 21:1, 28:1 e 35:1 com 15 repetições para cada tratamento. A densidade mostrou ser fator importante para o desenvolvimento de *T. diatraeae*. Na densidade de uma fêmea por pupa foram encontradas taxas de parasitismo de 33,3%, enquanto não houve diferença entre a taxa de parasitismo para as densidades de 7, 14, 21, 28, 35 com taxas de parasitismo acima de 70%. Quanto à emergência a densidade de 1:1 e 35:1 não diferiram, apresentando baixa taxa de emergência, enquanto a densidade de 7:1 se apresentou intermediária, sendo mais eficientes às densidades de 14:1, 21:1, 28:1, com taxas de emergência acima de 90%. Quanto ao número de parasitoides emergidos verificou-se que houve interferência intraespecífica positiva até a densidade de 28:1. Ainda pode-se observar que houve aumento no período de desenvolvimento de ovo-adulto com o aumento da densidade de fêmeas por pupa.

B. ZACHÉ, R. R. C. ZACHÉ, C. F. WILCKEN. FCA/UNESP de Botucatu- Departamento de Produção Vegetal/ Defesa Fitossanitária, Caixa Postal 237, CEP: 18610-307, Botucatu, SP, Brasil. e-mail: bzache@bol.com.br

Palavras chave: Parasitoide, *Eucalyptus*, Controle biológico, Proteção florestal.

INTRODUÇÃO

Atualmente, os insetos desfolhadores são um dos mais importantes agentes daninhos às florestas plantadas no Brasil. O desfolhamento afeta o crescimento das árvores, fundamentalmente, pela redução da quantidade de tecido fotossintético, o que implica na redução direta da quantidade de carboidratos disponíveis para o crescimento.

No Brasil existem 117 espécies de lepidópteros desfolhadores em eucalipto, porém

poucas espécies causam danos (BERTI FILHO, 1981). *Thyriniteina arnobia* (Lepidoptera: Geometridae) é considerado o principal lepidóptero desfolhador de eucalipto no Brasil (PEREIRA, *et al.*, 2008b).

O controle de lagartas desfolhadoras em florestas de eucalipto através da aplicação de inseticidas químicos e biológicos é complexo, devido principalmente à grande extensão dos plantios e à altura das árvores. Devida a essa complexidade, métodos alternativos de controle têm sido propostos,

como controle biológico (BERTI FILHO, 1981; ZANÚNCIO, 1992).

Trichospilus (FERRIERE, 1930) é um gênero de Eulophidae e da tribo Eulophini com número reduzido de espécies (FERRIERE 1930; CHERIAN e MARGABANDHU, 1942; BOUCEK, 1976; ZHU *et al.*, 2002). *Trichospilus diatraeae* é considerado um parasitóide polígrafo, sendo principalmente primário, com preferência por insetos da ordem Lepidoptera (BOUCEK, 1976). Recentemente, *T. diatraeae* foi coletado em pupas de *T. arnobia* (STOLL, 1782) (Lepidoptera: Geometridae), em plantio de eucalipto, Minas Gerais, Brasil (PEREIRA *et al.*, 2008a), abrindo perspectivas para pesquisas visando determinar seu potencial para o controle biológico desse lepidóptero desfolhador de eucalipto.

Para sucesso de programas de controle biológico, devem ser considerados vários fatores entre eles a densidade de inimigos naturais liberados (GODFRAY, 1994). A densidade de fêmeas por hospedeiro afeta a capacidade de parasitismo (PARON e BERTI-FILHO, 2000; SAGARRA, 2000a; SAMPAIO *et al.*, 2001), o número de parasitoides emergidos (PARON, *et al.*, 1998), a razão sexual dos descendentes (CHOI *et al.*, 2001), e a duração do ciclo (SILVA-TORRES e MATTHEWS, 2003). Essa relação não pode ser muito elevada (superparasitismo) nem muito baixa, pois ambas as situações poderão ocasionar deficiências na eficiência dos parasitoides, comprometendo o desempenho reprodutivo dos mesmos (PARRA, 1997).

Portanto, o conhecimento dessas características biológicas é importante em um programa de controle biológico, pois servirá de pré-requisito para se estudarem variáveis que possam ser manipuladas, com o intuito de estabelecer o inimigo natural e incrementar sua eficiência.

Uma vez que *T. diatraeae* é um parasitóide gregário torna-se necessário determinar a densidade ideal de fêmeas por pupa para aumentar a eficiência das técnicas de produção em laboratório deste parasitóide, possibilitando a maximização de sua produção e complementando assim os conhecimentos a

respeito deste inseto que pode vir a ser utilizado com sucesso em amplos programas de controle biológico de pragas florestais.

MATERIAL E MÉTODOS

T. diatraeae foi obtida de pupas de *Iridopsis* sp. (Lepidoptera: Geometridae) coletadas em campo e multiplicado em pupas de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) Fêmeas desse parasitóide foram mantidas em tubos de vidro (2,5 cm de diâmetro e 8,5 cm de comprimento) vedados com tecido tipo "voil" e alimentados com gotículas de mel puro. Pupas de *S. frugiperda* com 24 a 48 horas de idade foram expostas ao parasitismo por 72 horas para a multiplicação do parasitóide. Após esse período, as pupas parasitadas foram individualizadas em tubos de vidro, acondicionadas em bandejas plásticas em sala climatizada $26 \pm 2^\circ \text{C}$; UR = 70% e fotofase de 12 h até a emergência dos adultos, conforme metodologia adotada para criação do parasitóide *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae) Delvare e LaSalle, 1993 (PEREIRA *et al.*, 2008a).

Pupas de *T. arnobia* obtidas da criação em dieta artificial, com 48 horas de idade foram expostas ao parasitismo por fêmeas de *T. diatraeae* de 48 horas de idade nas seguintes proporções parasitóide:hospedeiro, respectivamente: 1:1; 7:1; 14:1; 21:1; 28:1 e 35:1, com 20 repetições para cada tratamento. As pupas foram selecionadas com peso entre 0,280 g e 0,340 g para evitar variação na biomassa disponível do hospedeiro. Após 72 horas em contato com as pupas, as fêmeas de *T. diatraeae* foram retiradas dos tubos e os hospedeiros individualizados e mantidos em sala climatizada a $26 \pm 2^\circ \text{C}$ UR = 70% e fotofase de 12h até a emergência dos adultos desse parasitóide

A duração do ciclo de vida (ovo-adulto), porcentagem de parasitismo, razão sexual ($r_s = n^\circ \text{f}/n^\circ \text{m} + n^\circ \text{f}$), o número de parasitoides emergidos e o número de imaturos que não completaram seu desenvolvimento foram

avaliados. O sexo dos adultos foi determinado baseado nas características morfológicas da antena e do abdome de *T. diatraeae* (PARON, 1999). O delineamento estatístico utilizado para avaliar os parâmetros dos experimentos foi inteiramente casualizado. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$) para os dados paramétricos. Os dados não paramétricos foram submetidos ao teste de Kruskal-Wallis ($p \leq 0,05$).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A densidade se mostra como um fator importante para o desenvolvimento de *T. diatraeae*, pois, para a densidade de 1:1, foram encontrados taxas de parasitismo de 33,3%, enquanto não houve diferença significativa entre a taxa de parasitismo para as densidades de 7, 14, 21, 28 e 35:1, com taxas de parasitismo superando os 70% e chegando a 100% nas densidades mais altas (Tabela 1). Resultado semelhante foi encontrado quando mediram as taxas de parasitismo de *T. diatraeae* obtida em pupas de *Diatraea saccharalis*, *Anticarsia gemmatalis*, *Heliothis virescens* e *Spodoptera frugiperda* expostas individualmente a uma ou várias fêmeas desse parasitoide (PARON e BERTI FILHO, 2000).

Não houve diferença na emergência nas densidades de 1:1 e 1:35, com baixa taxa de emergência; a densidade de 7:1 apresentou resultados intermediários, sendo as densidades de 14, 21 e 28:1 mais efetivas, com taxas de emergência acima dos 90% (Tabela 1).

Houve diminuição nas taxas de parasitismo e emergência para a densidade 1:1, fato que pode ser explicado pela possibilidade de que pupas de *T. arnobia* apresentem algum tipo de mecanismo de defesa eficiente contra *T. diatraeae*. Um hospedeiro pode apresentar defesa celular e reações que envolvem o encapsulamento e melanização do ovo do endoparasitoide (PENNACCHIO e STAND, 2006). Em contrapartida, o superparasitismo pode aumentar as probabilidades de sobrevivência da progênie de um parasitoide, pois diversos ovos podem esgotar a resposta celular imune de um hospedeiro (SAGARRA *et al.* 2000b).

Para parasitoides gregários, entre as variáveis “número de parasitoides que emergem de um hospedeiro” e “carga de parasitoides colocados no hospedeiro” é representada graficamente por uma parábola crescente, sendo que o aumento no número de posturas em um hospedeiro aumenta o número de parasitoides que emerge do mesmo, até um limite que esse autor chama de carga máxima do hospedeiro, onde não há emergência dos parasitoides.

Tabela 1. Porcentagem de parasitismo e emergência (\pm EP) de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) com 1, 7, 14, 21, 28 ou 35 fêmeas por pupa de *Thyrinteina arnobia* (Lepidoptera: Geometridae) Temperatura $26 \pm 2^\circ$ C, umidade relativa de 60% e fotofase de 12 horas

Densidade Parasitoide: Hospedeiro	Parasitismo (%) ⁽¹⁾	Emergência (%) ⁽¹⁾
1 : 1	33,3 \pm 12,2b	31,8 \pm 2,1 b
7 : 1	73,3 \pm 11,8 a	68,2 \pm 4,4 ab
14 : 1	93,3 \pm 6,6 a	91,3 \pm 0,3 a
21 : 1	100 \pm 0,0 a	98,9 \pm 0,2 a
28 : 1	100 \pm 0,0 a	98,5 \pm 0,2 a
35 : 1	100 \pm 0,0 a	52,9 \pm 0,3 b

(1) Médias em cada coluna seguidas pela mesma letra não diferem pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

des (ALLEYNE e BECKAGE, 1997). A carga máxima de 280 parasitoides/pupa (Tabela 2) observado no presente trabalho foi encontrada nas proporções 28:1 (Tabela 1), quando começa redução na taxa de emergência.

Quanto ao número de parasitoides emergidos pode-se verificar que houve interferência intraespecífica positiva até a densidade de 28:1 (Tabela 2), na qual se atingiu o número máximo de descendentes (280 parasitoides por pupa). A partir daí o número de descendentes produzidos decaiu com o aumento da densidade das fêmeas do parasitoide, o que pode ser atribuído como resposta à presença coespecífica, pois as fêmeas parasitoides têm forte tendência a evitar o superparasitismo (SAGARRA *et al.*, 2000a). Esse fato se repete quanto ao número de imaturos de *T. diatraeae* encontrados mortos no interior da pupa, não havendo diferença significativa entre as densidades de 1, 7, 14, 21 e 28:1, enquanto na densidade de 35:1 foi verificado alto índice de parasitoides que

não emergiram (151 parasitoides por pupa) (Tabela 2). O número de descendentes produzidos por fêmea do parasitoide pode ser influenciado pela competição entre elas durante a oviposição (CHONG e OETTING, 2007). Assim, a densidade de fêmeas pode afetar a fecundidade, reduzindo a eficiência de um sistema de criação massal, por meio da interferência mútua, principalmente com o aumento do número de fêmeas (SAGARRA *et al.*, 2000a). Outro aspecto a se considerar é que a maior densidade de fêmeas de *T. diatraeae* pode ser responsável pela diminuição da prole, atingindo o limite de capacidade do hospedeiro (alimento disponível) para suportar os ovos do parasitoide. Cabe salientar que o alimento é o principal fator regulador do número e flutuação das populações de insetos, pois dele dependerá o sucesso das larvas em obter quantidades suficientes de nutrientes, interferindo na aptidão do adulto e, conseqüentemente, na perpetuação da espécie (MUELLER *et al.*, 2005).

Tabela 2. Número de parasitoides emergidos (NPE), não emergidos (NE) e progênie total (PT) (\pm EP) de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) por pupa com 1, 7, 14, 21, 28 ou 35 fêmeas de parasitoide por pupa de *Thyrinteina arnobia* (Lepidoptera: Geometridae) (Temperatura $26 \pm 2^\circ$ C, UR= 60% e fotofase de 12 horas)

Densidade	(NPE) ⁽¹⁾	(NE) ⁽¹⁾	(PT) ⁽¹⁾
1 : 1	31,4 \pm 4,3 d	2,3 \pm 0,2 b	32,8 \pm 6,0 d
1 : 7	74,3 \pm 9,1 d	8,4 \pm 2,6 b	79,7 \pm 5,2 d
1 : 14	135,6 \pm 11,1 c	3,25 \pm 0,4b	138,4 \pm 6,9 c
1 : 21	237,0 \pm 11,5 b	3,22 \pm 0,5b	238,9 \pm 7,1 b
1 : 28	276,6 \pm 9,0 a	5,0 \pm 0,8 b	280,7 \pm 6,3 a
1 : 35	153,25 \pm 21,1 c	151 \pm 13,1 a	192,8 \pm 7,3 b

(1) Médias seguidas por mesma letra (por coluna) não diferem pelo teste de Kruskal-Wallis ($p \leq 0,05$).

O período de desenvolvimento de ovo a adulto se alongou com o aumento da densidade (Tabela 3), mostrando que a competição por recurso e espaço ocasionou atraso no desenvolvimento das fases imaturas. Essa tendência ao aumento da duração do

desenvolvimento pós-embrionário em função do aumento do número de parasitoides por hospedeiro também foi encontrada por CARDOSO e MILWARD-DE-ÁZEVEDO (1995), que analisaram a influência do aumento da densidade de *Nasonia vitripennis*, e obser-

varam que o aumento do número de parasitoides, também propiciou a extensão da duração do desenvolvimento pós-embrionário. A duração do ciclo (ovo-adulto) de *T. diatrae* de 17 a 18 dias em pupas de *Chilo suppressalis* na África (BORDAT 1977). BRENIERE *et al* (1985) determinou o ciclo de *T. diatrae* em 16 dias em média a 25° C, UR 70±1% e fotofase de 18 horas.

O melhor desempenho de insetos gregários é obtido em faixa de densidade particular, ocorrendo declínio acima ou abaixo deste intervalo, devido à indução de condi-

ções micro-ambientais não-favoráveis ao desenvolvimento destes insetos (SLANSKY & SCRIBER, 1985). O desenvolvimento mais lento de *T. diatrae* na densidade 35:1 em relação às menores densidades, provavelmente, ocorreu devido ao superparasitismo, em que o número de parasitoides presentes em um único hospedeiro foi muito elevado, favorecendo a competição, onde nem o parasitoide e nem o hospedeiro emergiram, refletindo na taxa de emergência (Tabela 1) e no número de indivíduos não emergidos (Tabela 2).

Tabela 3. Duração do ciclo ovo adulto de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) com 1, 7, 14, 21, 28 ou 35 fêmeas por pupa de *Thyrinteina arnobia* (Lepidoptera : Geometridae). Temperatura 26 ± 2°C, UR de 60% e fotofase de 12 h

Densidade	Duração ciclo ovo adulto ⁽¹⁾
1 : 1	21,1 ± 2,9 c
1 : 7	21,4 ± 2,5 c
1 : 14	21,2 ± 1,4 c
1 : 21	23,8 ± 0,4 b
1 : 28	23,8 ± 0,3 b
1 : 35	26,8 ± 3,5 a

(1) Médias seguidas por mesma letra (por coluna) não diferem pelo teste de Kruskal-Wallis ($p \leq 0,05$).

Quanto à razão sexual não houve variação para as condições testadas, uma vez que 100% dos indivíduos emergidos eram fêmeas, fato que pode ser explicado pela reprodução partenogenética telítoca. Fato contrário foi observado em estudos biológicos do parasitoide utilizando como hospedeiro *Anagasta kuehniella* (Lepidoptera: Pyralidae), determinando que sua reprodução foi partenogenética arrenótoca (BOURNIER, 1975).

Os dados obtidos neste experimento reforçam a utilização de *T. diatrae* em progra-

mas de controle biológico, pois em todas as densidades houve emergência de adultos, sendo que densidade de 28:1 apresentou maior taxa de emergência, maior progênie total e maior número de parasitoides emergidos, mostrando-se a melhor densidade para dados de liberação e sistema de criação.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos a CAPES pela concessão de bolsa de estudos ao primeiro autor.

RESUMEN

ZACHÉ, B., R. R. C. ZACHÉ, C.F. WILCKEN. 2011. Diferentes densidades de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) y su desarrollo en pupas de *Thyriniteina arnobia* (Lepidoptera: Geometridae). *Bol. San. Veg. Plagas*, **37**: 187-193.

El control de lagartas defoliadoras en plantaciones de eucalipto a través de la aplicación de insecticidas químicos y biológicos es complejo, debido principalmente a la gran extensión de las plantaciones y la altura de los árboles. Debido a dicha complejidad, métodos alternativos de control han sido propuestos, tal como el uso de enemigos naturales en el control biológico. Para el éxito de los programas de control biológico deben ser considerados varios factores, entre ellos la densidad de enemigos naturales liberados. Para este experimento fueron utilizadas pupas de *Thyriniteina arnobia* con 48 horas de edad en las siguientes relaciones parasitoide-hospedero, respectivamente: 1:1, 7:1, 14:1, 21:1, 28:1 y 35:1 con 15 repeticiones para cada tratamiento. La densidad se muestra como un factor importante para el desarrollo de *Trichospilus diatraeae*, ya que para la densidad de una hembra por pupa fueron encontradas tasas de parasitismo de 33,3 % en tanto no hubo diferencia significativa entre la tasa de parasitismo para las densidades de 7, 14, 21, 28, y 35, con tasas de parasitismo de más de 70%. En cuanto a la emergencia, no hubieron diferencias estadísticas para las densidades de 1:1 y 35:1, presentando baja tasa de emergencia, en tanto que la densidad de 7:1 se presentó como intermedia, mientras que las más eficientes fueron las densidades 14:1, 21:1, 28:1, con tasas de emergencia por encima de 90%. En cuanto al número de parasitoides emergidos, se verificó que hubo interferencia intraespecífica positiva hasta la densidad de 28:1. También se pudo observar que hubo un aumento en la duración del desarrollo de huevo a adulto con un incremento en la densidad de hembras por pupa.

Palabras clave: Parasitoide, *Eucalyptus*, control biológico, Protección forestal.

ABSTRACT

ZACHÉ, B., R. R. C. ZACHÉ, C.F. WILCKEN. 2011. Different densities *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) and its development on *Thyriniteina arnobia* pupa (Lepidoptera: Geometridae). *Bol. San. Veg. Plagas*, **37**: 187-193.

The control of defoliating caterpillars in eucalyptus forests via the application of chemical and biological insecticides is a complex issue, mainly due to the large size of plantations and the height of trees. Because of this complexity, alternate control methods have been proposed, such as biological control. Several factors should be taken into consideration for biological control programs to be successful, including density of natural enemies released. In this experiment we used 48-hour-old *Thyriniteina arnobia* pupae exposed to parasitism by 48-hour-old *Trichospilus diatraeae* females at the following parasitoid/host ratios, respectively: 1:1, 7:1, 14:1, 21:1, 28:1, and 35:1, with 15 replicates per treatment. Density was an important factor for *T. diatraeae* development, since parasitism rates of 33.3% were found at a density of 1 female per pupa, while no significant differences were found among parasitism rates for densities of 7, 14, 21, 28, and 35 females/pupa, with parasitism rates above 70%. As to emergence, densities of 1:1 and 35:1 did not differ statistically, with low emergence rates. The 7:1 density had an intermediate performance, while densities of 14:1, 21:1, and 28:1 were the most effective, with emergence rates above 90%. With regard to the number of emerged parasitoids there was a positive intraspecific interference up to the 28:1 density. There was an increase in development period from egg-adult as the density of females per pupa increased.

Keywords: Parasitoid, *Eucalyptus*, biological control, Forest protection.

REFERÊNCIAS

ALLEYNE, M., BECKAGE, N. E. 1997. Parasitism-induced effects on host growth and metabolic efficiency in tobacco hornworm larvae parasitized by *Cotesia congregata*. *Journal of Insect Physiology*, **43**: 407-424.

BERTI FILHO, E. 1981. Insetos associados a plantações de espécies do gênero *Eucalyptus* nos Estados da Bahia, Espírito Santo, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais e São Paulo. Tese (Livro Docência), ESALQ, 176 p.

- BORDAT, D., BRENIERE, J., COQUARD, J. 1977. Foreus de graminées africaines: parasitisme et techniques d'élevage. *Agronomie Tropicale*, **32** (4): 391-399.
- BOUCEK, Z. 1976 The African and Asiatic species of *Trichospilus* and *Cotterellia* (Hymenoptera: Eulophidae). *Bulletin of Entomological Research*, **65**: 669-681.
- BOURNIER, J. P. 1975. Sur la reproduction parthenogénétique de *Trichospilus diatraeae*. *Bulletin de la Société Entomologique de France*, **80** (5): 116-118.
- BRENIÈRE, J., BORDAT, D., VERCAMBRE, B., HAMZA, H., RENAND, M. 1985. Lés opérations de lutte biologique contre le foreur du maïs *Chilo partellus* dans l'île de Ngazidja. *Agronomie Tropicale*, **40** (2): 157-166.
- CARDOSO, D., MILWARD-DE-AZEVEDO, E. M. 1995. Influência da densidade de *Chrysomya megacephala* (Fabricius) (Diptera: Calliphoridae) sobre a capacidade reprodutiva de fêmeas nuparas de *Nasonia vitripennis* (Walker) (Hymenoptera: Pteromalidae). *Revista Brasileira de Entomologia*, **39**: 779-786.
- CHERIAN, M. C., MARGABANDHU, V. 1942. A new species of *Trichospilus* (Hymenoptera: Chalcidoidea) from South India. *Indian Journal of Entomology*, **4**: 101-102.
- CHOI, W. I., YOON, T. J., RYOO, M. I. 2001. Host-size-dependent feeding behaviour and progeny sex ratio of *Anisopteromalus calandrae* (Hym.: Pteromalidae). *Journal of Applied Entomology*, **125**: 71-77.
- CHONG, J.-H., OETTING, R. D. 2007. Progeny fitness of the mealybug parasitoid *Anagyrus* sp. nov. nr. *sinope* (Hymenoptera: Encyrtidae) as affected by brood size, sex ratio, and host quality. *Florida Entomologist*, **90**: 656-664.
- FERRIERE, C. 1930. Notes on Asiatic Chalcidoidea. *Bulletin of Entomological Research*, **21**: 353-360.
- GODFRAY, H. C. J. 1994. Parasitoids, Behavioral and Evolutionary Ecology, Princeton University Press, Princeton, NJ, USA, 473 pp.
- MULLER, L. D., FOLK, D. G., NGUYEN, N., NGUYEN, P., LAM, P., ROSE, M. R.; BRADLEY, T. 2005. Evolution of larval foraging behavior in *Drosophila* and its effects on growth and metabolic rates. *Physiological Entomology*, **30**: 262-269.
- PARON, M. J. F. O., CIOCIOLA, A. I., CRUZ, I. 1998. Resposta de *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner (Hymenoptera: Trichogrammatidae) a diferentes densidades de ovos do hospedeiro natural, *Helicoverpa zea* (Boddie) (Lepidoptera: Noctuidae). *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, **27**: 427-433.
- PARON, M. R. 1999. Bioecologia de *Trichospilus diatraeae* Cheria & Maragabandhu, 1942 (Hymenoptera: Eulophidae), endoparasitóide de Lepidoptera. Piracicaba, SP. USP. Tese (Doutorado em Entomologia) – Escola Superior “Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo. Piracicaba.
- PARON, M. R., BERTI FILHO, E. 2000. Capacidade reprodutiva de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de diferentes hospedeiros (Lepidoptera). *Scientia Agrícola*, **57**: 355-358.
- PARRA, J. R. P. 1997. Técnicas de criação de *Anagasta kuehniella*, hospedeiro alternativo para produção de *Trichogramma*, 121-150. In: *Trichogramma e o controle biológico aplicado*. Piracicaba, FEALQ. 324 p.
- PENNACCHIO, F., STRAND, M. R. 2006. Evolution of developmental strategies in parasitic Hymenoptera. *Annual Review of Entomology*, **51**: 233-258.
- PEREIRA, F.F., ZANUNCIO, J.C., TAVARES, M.T., PASTORI, P.L., JACQUES, G.C. 2008a Record of *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) as parasitoid of the eucalypt defoliator *Thyrintina arnobia* (Lepidoptera: Geometridae) in Brazil. *Phytoparasitica*, **36**: 304-306.
- PEREIRA, F. F., ZANUNCIO, T. V., ZANUNCIO, J. C., PRATISSOLI, D., TAVARES, M. T. 2008b. Species of Lepidoptera defoliators of eucalyptus as new host for the parasitoid *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae). *Brazilian Archives of Biology Technology*, **51**: 259-262.
- SAGARRA, L. A., VICENT, C., STEWART, R. K. 2000a. Mutual interference among female *Anagyrus kamali Moursi* (Hymenoptera: Encyrtidae) and its impact on fecundity, progeny production and sex ratio. *Biocontrol Science and Technology*, **10**: 239-244.
- SAGARRA, L. A., PETERKIN, D. D., VICENT, C., STEWART, R. K. 2000b. Immune response of the hibiscus mealybug, *Maconellicoccus hirsutus* Green (Homoptera: Pseudococcidae), to oviposition of the parasitoid *Anagyrus kamali Moursi* (Hymenoptera: Encyrtidae). *Journal of Insect Physiology*, **46**: 647-653.
- SAMPAIO, M. V., BUENO, V. H. P., PEREZ-MALUF, R. 2001. Parasitismo de *Aphidius colemani* Viereck (Hymenoptera: Aphidiidae) em diferentes densidades de *Myzus persicae* (Sulzer) (Homoptera: Aphididae). *Neotropical Entomology*, **30**: 81-87.
- SILVA-TORRES, C. S. A., MATTHEWS, R. W. 2003. Development of *Melittobia australica* Girault and *M. digitata* Dahms (Parker) (Hymenoptera: Eulophidae) parasiting *Neobellieria bullata* (Parker) (Diptera: Sarcophagidae) puparia. *Neotropical Entomology*, **32**: 645-651.
- SLANSKY, J. R. F. E SCRIBER, M. 1985. Food consumption and utilization. In: *Comprehensive Insect Physiol. Biochemical Pharmacology*. Oxford, Pergamon, 162 p.
- ZANUNCIO, J. C., FAGUNDES, M., ARAÚJO, M. S. S., EVARISTO, F. C. 1992. Monitoramento de lepidópteros, associados a plantios de eucalipto da região de Açailândia (Maranhão), no período de agosto/90 a julho/91. *Acta Amazonia*, **22** (4): 615-622.
- ZHU, C. D., LASALLE, J., HUANG, D. W. 2002. A study of Chinese *Cirrospilus Westwood* (Hymenoptera: Eulophidae). *Zoological Studies*, **41**: 23-46.

(Recepción: 26 mayo 2011)

(Aceptación: 21 julio 2011)

Especificidad parasitaria de aislados de *Fusarium proliferatum* (Matsushima) Nirenberg sobre especies del género *Allium*

M. GARCÍA, M. DE CARA, L. GÁLVEZ, C. IGLESIAS, L. VARES, D. PALMERO

Fusarium proliferatum se ha citado como patógeno del ajo en el noreste de los Estados Unidos y Serbia, causando podredumbres húmedas de color pardo en los dientes de ajo afectados. Recientemente el patógeno se ha descrito en España. Bulbos de las variedades de ajo blanco “Garcua” y “Blancomor de Valledado” cultivados en la provincia de Segovia y posteriormente bulbos sintomáticos de la variedad de ajo “Morado de Pedroñeras” procedentes de Albacete fueron analizados, detectándose en ellos la presencia de *F. proliferatum*. Hay muy pocas referencias que sugieran que este patógeno pudiera afectar al ajo durante el cultivo, o enfermar a otras especies del género. En este estudio, se presentan ensayos para conocer la patogenicidad específica de seis aislados de *F. proliferatum* sobre cinco especies del género *Allium*. Se inocularon variedades de cebolla (*Allium cepa*), puerro (*A. porrum*) cebolleta (*A. fistulosum*) cebollino (*A. schoenoprasum*) y ajo (*A. sativum*) mediante inmersión de plántulas de tres semanas de desarrollo en suspensiones conídicas de los aislados evaluados durante 24 horas. Posteriormente las plántulas fueron sembradas en macetas y mantenidas en cámaras de ambiente controlado (12 h/12 h día/noche; 25/21 °C).

Los síntomas de podredumbre radicular fueron observados a las tres semanas de la inoculación y evaluados mediante escala. Se calcularon los Índices de Gravedad de la Enfermedad (IGE) como la media de tres plantas y cuatro repeticiones para cada especie vegetal.

El trabajo presenta también los ensayos de evaluación de la patogenicidad sobre la germinación y nascencia de semillas. Los resultados experimentales permiten asegurar que al menos 5 especies diferentes del género *Allium* son susceptibles de ser enfermadas por *F. proliferatum*. Cabría especular con cierta especificidad parasitaria del patógeno.

M. GARCÍA, L. GÁLVEZ, C. IGLESIAS, L. VARES, D. PALMERO. Plant production systems and sustainable plant protection research group. Technical University of Madrid. Ciudad Universitaria s/n. 28040. Madrid. Spain. daniel.palmero@upm.es

M. DE CARA. Departamento de Producción Vegetal. Universidad de Almería. Cañada de San Urbano s/n. 04120 Almería. Spain.

Palabras clave: fusariosis, Aliaceae, parasitismo, podredumbre del bulbo.

INTRODUCCIÓN

La producción mundial anual de ajo (*Allium sativum* L.), es de alrededor de 22.282.061 t. La producción en España es de alrededor de 154.000 t, donde el ajo es un cultivo extensivo que ocupa 16.100 ha. La producción española es una de las mayores de Europa y la tercera en el orden mundial de exportaciones, con 52.455 t al año.

El sector del ajo está viviendo momentos complicados, debido principalmente a las masivas importaciones de ajo desde China. Una de las principales dificultades que presenta su cultivo son las plagas y enfermedades que provocan importantes pérdidas de rendimiento en campo y almacén, según las informaciones proporcionadas por el sector.

En la comarca de Valledado (Segovia), y su entorno, el ajo es una especie hortícola de

cierta importancia, con una superficie media de cultivo de 200 ha. En octubre de 2008 agricultores de la Asociación para la Promoción del Ajo de Valledado detectaron bulbos de ajo (*Allium sativum* L. cv “Blancomor de Valledado”) procedentes de agricultores de la

Comarca de Valledado con síntomas de podredumbres húmedas en el almacenamiento (Fig. 1). Posteriormente, los mismos síntomas se detectaron en varios municipios, donde se cultivaba el mismo cultivar, ubicadas en las provincias de Segovia y Valladolid.



Figura 1. Sintomatología de la podredumbre del ajo causada por *Fusarium proliferatum*

Los aislamientos responsables de la podredumbre observada fueron identificados como *Fusarium proliferatum* (T. Matsushima) Nirenberg (PALMERO *et al.*, 2010). Corroborando de esta manera la presencia del hongo en el campo ajero español, que parece estar ya bien establecido en nuestro territorio tan sólo unos años después de haberse detectado por primera vez en EE.UU. (DUGAN, 2003; 2007). Este fue, a nuestro entender, el primer informe de una patología causada en ajo por una especie de *Fusarium* de la sección *Liseola* en España. Abundando en el problema, varios científicos han informado sobre la presencia de fumonisinas (toxinas producidas por el hongo) en bulbos de ajo en Alemania (SEEFELDER, 2002).

En Castilla La-Mancha, el ajo también es una especie hortícola de gran importancia para la Comunidad Autónoma, especialmente en las provincias de Albacete (4.900 hectáreas dedicadas al cultivo) y Cuenca (2.632 hectáreas). Con una producción media superior a los 8.000 kg/ha. En

este entorno se localizan ajos de los tipos morados y blancos (PALMERO *et al.*, 2004). Algunos de sus ecotipos son conocidos vulgarmente como el “Ajo Morado de las Pedroñeras”. El cultivo del ajo es para la comarca no sólo una sustancial fuente de ingresos sino también parte de su patrimonio cultural y natural.

En junio de 2009, bulbos afectados por la podredumbre mencionada se observaron en ajo almacenado de cultivar “Morado de Cuenca” en la provincia de Albacete. Aún con porcentajes de enfermedad mucho menores que en el caso del ajo blanco, también fue observada ésta durante el ciclo de producción (desde el cultivo de embriones hasta la F5 en el campo) en una cooperativa donde la producción fue exhaustivamente analizada a lo largo de 2010.

En anteriores trabajos sobre la etiología de las podredumbres radiculares del puerro del campo de Villena, MARTÍNEZ-RESTOY *et al.* (2006) aislaron dieciséis especies o géneros de hongos diferentes, entre los que destacaron, por su frecuencia, varias espe-

cies del género *Fusarium*: *Fusarium moniliforme* (*F. verticillioides* según los autores), *F. oxysporum*, *F. roseum* y *F. solani*. Aunque las posteriores inoculaciones no permitieron relacionarlos con las podredumbres observadas en campo.

El presente trabajo aborda la especificidad parasitaria que los aislados de *Fusarium proliferatum*, causantes de la podredumbre del ajo en almacén, pudieran tener sobre distintas especies del género *Allium*, tanto en los primeros estadios del ciclo vegetativo como sobre plántulas ya desarrolladas.

MATERIAL Y MÉTODOS

Material vegetal utilizado en los ensayos de patogenicidad

Las plántulas sanas de cebolla, puerro, cebolleta y cebollino utilizadas en las pruebas

de patogenicidad se obtuvieron después de tres semanas de crecimiento en semilleros realizados con sustrato mezcla de sustrato vegetal [Rizhum Universal. PELEMIX España.S.L.] y vermiculita [Agroalse S.L. Polígono Virgen de los Dolores, 220, N° 15, 46113-Moncada (Valencia)] al 50% y autoclavado dos veces durante dos días consecutivos (30 min y 120° C, cada vez) en condiciones de asepsia con diferentes variedades comerciales (Tabla 1), las plantas no fueron abonadas durante el tiempo que duraron los ensayos. Las semillas y los dientes de ajo fueron previamente desinfectadas en superficie con una solución en agua de hipoclorito de sodio (NaOCl) al 10% durante 10 minutos y posteriormente se enjuagaron tres veces con agua destilada estéril.

Las plantas se sembraron en alvéolos de plástico con sustrato vegetal y vermiculita (50-50 v/v) previamente esterilizado en autoclave durante dos días consecutivos.

Tabla 1. Cultivares de diferentes especies de aliáceas utilizadas en los ensayos de patogenicidad y estado fenológico en el cual fueron inoculadas

Estado	Especie	Cultivar	Fuente	N° de referencia
Plántulas	Ajo (<i>Allium sativum</i> L.).	Garcua	INIA	Ref: 12.500.003
Plántulas	Ajo (<i>Allium sativum</i> L.).	Plamegar	INIA	Ref: 20.030.193
Germinación-nascencia y plántulas	Cebolla (<i>Allium cepa</i> L.)	Albarracín	INIA	Ref: 20352
Germinación-nascencia y plántulas	Cebolla (<i>Allium cepa</i> L.)	Panter	INIA	Ref: 20.279
Plántulas	Puerro (<i>Allium ampeloprasum</i> var. <i>Porrum</i>)	Carental 3	BATLLE S.A. (mercado)	Lot 002-2131
Plántulas	Puerro (<i>Allium ampeloprasum</i> var. <i>Porrum</i>)	Genita	Carrefour S.A. (mercado)	Lot 9B-254549
Germinación-nascencia	Puerro (<i>Allium ampeloprasum</i> var. <i>Porrum</i>)	Gennevillier	INIA	Ref: 6864
Germinación-nascencia	Puerro (<i>Allium ampeloprasum</i> var. <i>Porrum</i>)	Royal	INIA	Ref: 7054
Plántulas	Cebollino (<i>Allium schoenaprasum</i>)	–	BATLLE S.A. (mercado)	Lot 0010-4455/07
Plántulas	Cebolleta (<i>Allium fistulosum</i>)	–	Carrefour S.A. (mercado)	Lot 9B/255383

Una vez sembradas, las plántulas se mantuvieron en una cámara climatizada con humedad, temperatura y luz controlada (80% HR, 12 horas de luz, 25/20°C, oscilación térmica en función del período de luz/oscuridad), hasta el momento de la inoculación y posteriormente hasta el final del ensayo (30 días).

Material fúngico inoculado

Seis aislados de *Fusarium proliferatum* elegidos al azar de entre los conservados en la micoteca de la Unidad Docente de Protección Vegetal (Dep. de Producción Vegetal: Botánica y Protección Vegetal de la Universidad Politécnica de Madrid, UPM) fueron utilizados en las pruebas de patogenicidad, tanto sobre la germinación y nascencia de las semillas como sobre las plántulas.

La producción de las masas miceliarias y conidios necesarios para inocular las semillas y plántulas se realizó sobre medio PDA, incubándolos en estufa microbiológica a 25° C en oscuridad, durante 2 semanas. Un disco (3cm de diámetro) de micelio crecido, tomado del borde de la colonia se transfirió a 250 ml de medio líquido PD (patata-dextrosa) esterilizado en autoclave (30 min, 120° C) y se incubó a 26° C en un agitador orbital a 160 rpm en oscuridad, durante 7 días. Pasados los 7 días la mezcla se filtró a través de varias capas de muselina para eliminar el micelio. La concentración de esporas se midió con un hematocitómetro, obteniéndose una media en lecturas de 10^7 conidios/ml. Cada planta se replicó a una maceta y a cada maceta se le añadió 50 ml de la suspensión conídica.

Ensayos de patogenicidad sobre la germinación y nascencia de las semillas

Variedades inoculadas: las pruebas de germinación y nascencia se realizaron sobre semillas de dos variedades cultivadas de puerro (Royal y Gennevillier) y otras dos de

cebolla (Albarracín y Panter). Para la evaluación de la germinación, las semillas se desinfectaron previamente con hipoclorito de sodio (NaOCl) al 10% durante 10 minutos y luego se enjuagaron tres veces con agua destilada estéril. El efecto sobre la nascencia se evaluó sobre semillas previamente pregerminadas en toalla durante 4 días, hasta que asomó la raíz.

Cepas inoculadas y técnica de inoculación: Se inocularon 6 cepas de *F. proliferatum*, codificadas como: A (A3a1), B(A6m1), C (A4a1H), D (A10a1), E (A7a2) y F (A10a3). Cada variedad se separó en 7 lotes, (6 aislados y el Testigo) y cada lote (dividido en dos sublotes de semillas pregerminadas y sin pregerminar) se sumergió en su suspensión de conidios correspondiente durante 24 horas. A las 24 horas se sembró cada lote por separado y se regó con 50ml de la suspensión de conidios utilizada para la inmersión. El testigo se regó con PD líquido estéril.

En ambos experimentos se evaluó el porcentaje de plántulas germinadas a lo largo de las tres semanas de crecimiento tras la inoculación, que se realizó el mismo día de la siembra.

Ensayos de patogenicidad sobre plántulas

Las inoculaciones se realizaron sobre dos cultivares de puerro (Carental y Génita), dos de cebolla (Albarracín y Panter), dos de ajo (Garcua y Plamegar), y sobre una variedad cultivada de cebolleta y otra de cebollino (Tabla 1).

Cepas inoculadas y técnica de inoculación: Se inocularon 6 cepas de *F. proliferatum*, codificadas como: A (A3a1), B(A6m1), C (A4a1H), D (A10a1), E (A7a2) y F (A10a3). Los testigos fueron regados con el mismo caldo de cultivo estéril usados para multiplicar el inóculo.

Las plántulas con tres semanas de edad se sumergieron en la suspensión conídica de cada aislado de *F. proliferatum* durante 24 horas y pasado este tiempo se sembraron en alvéolos de plástico y se regaron con el caldo de cultivo sobrante de la inmersión.

Cada variedad se separó en 7 lotes de seis plantas y a cada lote se les añadió 50 ml de la suspensión conídica, según el aislado, y de cada lote se hicieron 3 repeticiones. Cada una de las plantas se trasplantaron en macetas separadas. Los testigos de cada variedad se regaron con PD estéril y se mantuvieron en cámara bajo las mismas condiciones de temperatura, luz y humedad controlada durante tres semanas más.

Los síntomas se observaron tres semanas después de la inoculación. Los síntomas de pudrición en la raíz se clasificaron en cinco categorías: 1= sin síntomas, 2= <10% raíces podridas, 3=10-50% raíces podridas, 4= >50% raíces podridas, y 5= completamente podridas las raíces.

Además de observar el índice de la enfermedad, también se tomó el peso seco de las plantas. En cebolla, cebollino y puerro se pesó el total de la planta, y en ajo se pesó por separado el sistema radicular de la parte aérea. Para ello se lavaron las raíces con agua, hasta eliminar los restos visibles del sustrato, y se secaron en estufa a 100° C hasta peso constante.

El índice de gravedad de la enfermedad (IGE) se calculó como la media de doce plantas de cada especie en las tres repeticiones.

Análisis estadísticos

El análisis de varianza (ANOVA) se realizó sobre los datos del IGE para determinar los efectos del aislado y de la variedad. Para las comparaciones de los aislados para cada hospedante, se utilizó la prueba de rangos múltiples de Duncan ($P < 0.05$) mediante el programa STATGRAPHICS Plus 5.1 statistical package software (StatPoint, Inc. 2325 Dulles Corner Boulevard, Suite 500 Herndon, Virginia 20171).

RESULTADOS

Para conocer la especificidad parasitaria que presentaba el patógeno del ajo se inocu-

laron, además de dos variedades comerciales de ajo, variedades comerciales de otros cultivos de la misma zona pertenecientes todos ellos al género *Allium* (cebollas, cebolletas, cebollinos y puerros). Hasta donde se ha podido consultar los aislados de *F. proliferatum*, procedentes de ajos almacenados no han sido evaluados en pruebas de patogenicidad sobre plantas, pero la presencia del hongo en los dientes dedicados a la siembra en la siguiente campaña, unido a la escasa información sobre la patogenicidad de este hongo permitieron plantear dudas sobre el efecto pernicioso que dicho hongo pudiera tener durante las primeras fases del cultivo en campo en diversas especies de *Allium*. De entre la bibliografía especializada, solamente STANKOVIC (2007) realizó inoculaciones sobre ajo y cebolla, utilizando para tal fin aislados obtenidos de plantas enfermas en campo (no de bulbos con sintomatología de podredumbre de dientes), e inoculando solamente una variedad vegetal en cada caso.

Los resultados que se muestran a continuación aportan información novedosa al respecto. Primero el uso de aislados procedentes de ajos almacenados en las pruebas de patogenicidad, lo que aporta conocimiento sobre ciertos aspectos epidemiológicos de la enfermedad en campo, que hasta hoy no son conocidos. Por otro lado, el uso de al menos dos variedades diferentes de ajo y cebolla, podría permitir detectar una posible respuesta varietal diferenciadora frente a la enfermedad, abriendo una vía para futuros ensayos. Y por último, la utilización en los ensayos de inoculaciones de tres especies de género *Allium* no evaluadas en los trabajos consultados (puerro, cebollino y cebolleta), podría aportar información de interés sobre la patogenicidad de la especie fúngica y su rango de hospedadores, pudiendo existir una especificidad parasitaria.

Ensayo de patogenicidad sobre plántulas

Las inoculaciones se realizaron sobre dos variedades cultivadas de puerro (Carental y

Génita), dos de cebolla (Albararcín y Panter), dos de ajo (Garcua y Plamegar) y una

variedad de cebolleta y cebollino. Los resultados se presentan en la Tabla 2.

Tabla 2. Índice de Gravedad de la Enfermedad (IGE) sobre plántulas en diferentes especies del género *Allium* inoculadas con aislados de *F. proliferatum* procedentes de ajos sintomáticos. Se expresan los datos como la media seguida de su desviación típica (valores con la misma letra no presentan diferencias estadísticamente significativas $p < 0.05$)

Código del aislado	Cebolla		Ajo	
	cv. Albararcín	cv. Panter	cv. Garcua	cv. Plamegar
Testigo	1,9 ± 0,2 a	1,7 ± 0,2 a	1,2 ± 0,1 a	1,5 ± 0,2 a
A (A3a1)	3,8 ± 0,4 bcd	4,0 ± 0,5 bc	3,6 ± 0,5 bc	3,7 ± 0,5 c
B (A6m1)	4,2 ± 0,3 c	4,1 ± 0,7 bc	3,9 ± 0,3 c	4,1 ± 0,1 d
C (A4a1H)	4,3 ± 0,2 d	4,8 ± 0,2 c	2,7 ± 0,1 b	3,6 ± 0,1 bcd
D (A10a1)	3,9 ± 0,3 bcd	3,8 ± 0,3 b	2,7 ± 0,6 b	3,1 ± 0,3 bc
E (A7a2)	3,6 ± 0,4 bc	3,7 ± 0,3 b	2,8 ± 0,3 b	2,9 ± 0,4 b
F (A10a3)	3,4 ± 0,2 b	3,7 ± 0,7 b	3,2 ± 0,7 bc	3,1 ± 0,3 bc

Código del aislado	Puerro		Cebolleta	Cebollino
	cv. Carental	cv. Génita		
Testigo	1,4 ± 0,0 a	1,5 ± 0,1 b	1,0 ± 0,0 a	1,3 ± 0,1 a
A (A3a1)	2,9 ± 0,2 b	2,4 ± 0,2 c	3,0 ± 0,4 b	2,6 ± 0,3 bc
B (A6m1)	3,0 ± 0,1 bc	3,1 ± 0,1 c	3,2 ± 0,2 b	3,1 ± 0,1 cd
C (A4a1H)	3,5 ± 0,2 cd	3,1 ± 0,3 d	2,7 ± 0,6 b	3,4 ± 0,3 d
D (A10a1)	4,3 ± 0,2 f	3,9 ± 0,2 cd	3,2 ± 0,2 b	3,0 ± 0,2 bcd
E (A7a2)	4,1 ± 0,2 ef	3,4 ± 0,2 bc	3,7 ± 0,5 bc	2,6 ± 0,3 b
F (A10a3)	3,6 ± 0,4 de	2,9 ± 0,5 c	4,5 ± 0,4 c	3,0 ± 0,2 bcd

El ensayo de patogenicidad sobre las dos variedades cultivadas de ajo muestra índices de gravedad de la enfermedad relativamente altos frente al testigo, la presencia de ligeras podredumbres en el testigo podrían deberse al manejo de plantas. Todos los aislados inoculados en ambas variedades produjeron síntomas, destacando por su patogenicidad los aislados A y B, con IGE casi tres puntos superiores al testigo sin inocular.

La sintomatología observada a las tres semanas de la inoculación consistió en raíces podridas con un aspecto acuoso, que finalmente se descomponían y desaparecían. Dicha sintomatología no quedaba localizada

en el sistema radicular, proliferando hasta el diente de ajo, que finalmente aparecía podrido con una consistencia acaramelada similar a la observada durante la podredumbre de dientes en el almacenamiento pero de consistencia más blanda. En la parte aérea no se observó síntoma alguno. La sintomatología observada en las dos variedades de ajo inoculadas coincide con lo observado por STANKOVIC (2007).

Todos los aislados inoculados sobre las variedades de puerro produjeron síntomas. En los ensayos sobre las variedades de puerro Carental y Génita, destacando por su patogenicidad los aislados D y E, con IGE de



Figura 2. Comparación del sistema radicular de una planta sana de ajo (T) y otra inoculada (S) con *Fusarium proliferatum*

entre 3 y 4 (un mínimo del 50% de las raíces podridas) (Figura 2). La sintomatología observada a las tres semanas de la inoculación fue: raíces de aspecto acuoso, que en un alto porcentaje llegaban aparecer descompuestas y finalmente desaparecían. La podredumbre quedaba localizada en el sistema radicular sin extenderse hasta el cuello de la planta, ni a la parte aérea, donde no se observó síntoma alguno.

Los resultados obtenidos tras la inoculación a la variedad de cebolla Albarracín, muestran una clara sintomatología del cultivo. Todos los aislados produjeron altos IGE, destacando los aislados B y C, con índices superiores a 4 (más del 50% de las raíces podridas). Al igual que los aislados serbios, los aislados procedentes del campo español provocan mayores podredumbres en las cebollas que en las variedades de ajo inoculadas. Los resultados obtenidos al inocular la variedad de cebolla Panter, muestran una afectación del cultivo menor que la de la variedad Albarracín. Aunque todos los aislados produjeron IGE superiores al testigo. El aislado C destaca sobre los demás, con un índice superior en 2 puntos al testigo.

Tras la inoculación sobre cebollino y cebolleta, las plántulas expresaron síntomas nítidos. Todos los aislados fueron patógenos, destacando el aislado F, con un IGE de 4,5 (casi el 100% de las raíces podridas) en cebolleta. De nuevo, al igual que en el caso de cebollino y puerro, la revisión bibliográfica permite decir que es la primera ocasión en la que se cita patogenicidad de la especie *F. proliferatum* sobre cebolleta. Al igual que en los casos anteriores la sintomatología observada consistió en una podredumbre radicular, con consistencia acuosa, que llegaba a hacer desaparecer, una vez podridas, gran parte del sistema radicular.

Los resultados sobre el peso seco de las plántulas inoculadas muestran como en ajo, la disminución del sistema radicular es menos notoria que en el resto de las especies del género *Allium* inoculados. Es conveniente especificar que en este caso la medida del peso seco se realizó exclusivamente sobre el sistema radicular de las plántulas y no sobre la plántula entera como en el resto de especies inoculadas. La diferencia observada puede deberse, en parte, a que los dientes del ajo no tienen la misma uniformi-

dad que las semillas: a mayor tamaño del diente, mayores sustancias de reserva, con el consiguiente mayor vigor.

Los resultados muestran una disminución del peso seco de los puerros inoculados respecto al testigo sin inocular.

Tabla 3. **Peso seco (g) de plántulas (raíces solamente en el caso del ajo) de diferentes especies del género *Allium* inoculadas con aislados de *F. proliferatum* procedentes de ajos sintomáticos. Se expresan los resultados como la media, seguida de su desviación típica. (Valores con la misma letra no presentan diferencias estadísticamente significativas)**

Código del aislado	Cebolla		Ajo	
	cv. Albararcín	cv. Panter	cv. Garcua	cv. Plamegar
Testigo	31,7±3,0 c	30,5±3,1 c	753,3±12,5 d	480,6±38,2 c
A (A3a1)	17,3±6,7 ab	8,8±2,0 ab	300,7±37,7 a	431,1±167,9 bc
B (A6m1)	15,7±3,3 ab	9,1±1,8 ab	381,9±20,6 b	149,4±18,1 a
C (A4a1H)	12,6±0,3 a	8,2±1,8 a	427,3±6,9 c	253,9±14,4 ab
D (A10a1)	14,3±3,9 a	11,6±2,3 ab	313,7±4,5 a	371,8±18,1 bc
E (A7a2)	13,8±0,9 a	11,6±1,8 ab	364,1±3,6 b	301,5±14,3 b
F (A10a3)	22,5±0,7 b	14,6±3,4 b	379,2±16,4 b	345,5±18,8 bc

Código del aislado	Puerro		Cebolleta	Cebollino
	cv. Carental	cv. Genita		
Testigo	64,9±18,1 c	46,3±5,5 d	35,4±3,5 b	60,7±7,4 b
A (A3a1)	38,2±8,5 ab	41,2±6,4 cd	17,0±11,6 ab	50,2±5,0 ab
B (A6m1)	42,2±15,7 bc	30,5±22,9 bcd	16,5±10,6 ab	57,3±11,6 b
C (A4a1H)	36,3±11,8 ab	21,3±5,4 abcd	12,8±5,5 a	40,2±5,5 a
D (A10a1)	13,7±12,2 a	8,3±5,0 a	16,5±5,1 ab	55,7±7,8 ab
E (A7a2)	15,0±5,3 a	16,5±7,2 ab	13,7±5,0 a	94,9±9,7 c
F (A10a3)	28,7±6,0 ab	19,6±5,3 abc	17,3±18,1 ab	45,0±2,7 ab

En cuanto al peso seco de las plantas de cebolla inoculadas, todos los aislados produjeron drásticas disminuciones del peso seco, con una media de 16,03 gramos, frente a los 31 gramos de peso seco del testigo.

En cebolleta, todos los aislados produjeron drásticas disminuciones del peso de las plántulas, con una media de 15,63 gramos de peso seco, frente a los 35,4 gramos de peso seco del testigo. Respecto a la cebolle-

ta, no hay mucha diferencia entre el peso seco obtenidos en plantas inoculadas y las testigo, con una media de 57,22 gramos de peso seco frente a los 60,7 gramos de peso seco del testigo, aunque los índices de Gravedad de la Enfermedad observados (Tabla 2) permiten sugerir que, aún sin diferencias en el peso seco de las plántulas, éstas podrían verse afectadas a lo largo del ciclo del cultivo con la consiguiente pérdida de peso en la cosecha.

Efecto de la inoculación con *F. proliferatum* sobre la germinación y nascencia de semillas de especies del género *Allium*

Conocido el efecto patógeno sobre las plántulas de las diferentes especies ensayadas, y para tener más datos sobre la epide-

miología de la enfermedad, tales como posible efecto en campo sobre las germinación-nascencia de las plántulas, se realizó la inoculación directa de semillas de cebolla y puerro, con y sin germinación previa, utilizando para ello los 6 aislados utilizados en las anteriores pruebas de patogenicidad. Los resultados se presentan en las Figuras 3 y 4.

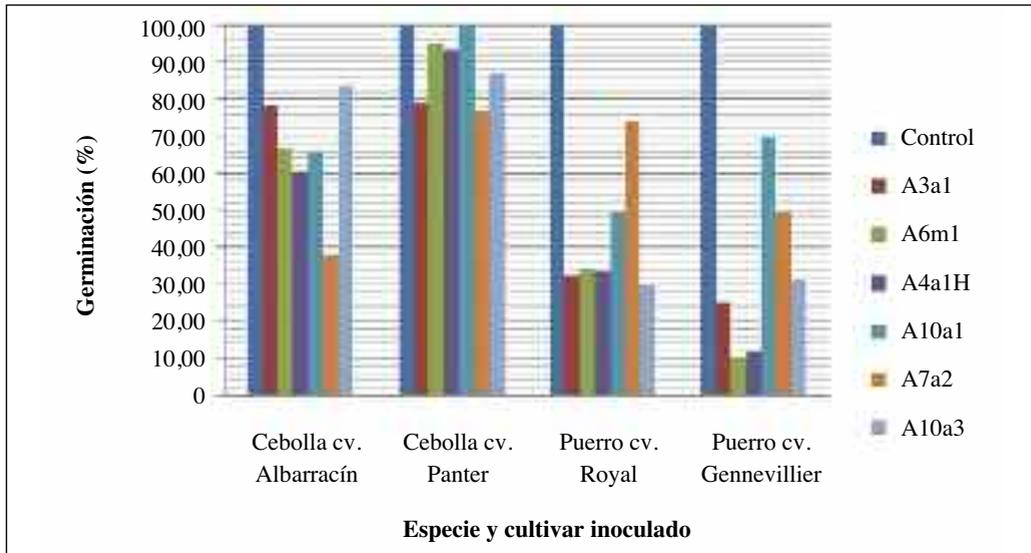


Figura 3. Efectos de los diferentes aislados de *Fusarium proliferatum* sobre la germinación de semillas de variedades de cebolla y puerro (se expresan los datos en % de semillas germinadas)

Tanto la germinación como la nascencia de los dos cultivares de cebolla estudiados, se ha visto mermada tras la inoculación. Obviamente la presión del inóculo que habrá en campo diferirá mucho de la utilizada en nuestros ensayos, pero una patogenicidad tan drástica como la observada en nuestros resultados, indica la grave problemática que este hongo puede suponer en campos de cultivo con altas densidades de inóculo y en los semilleros en alveolos con sustrato a base de turba el problema puede ser mayor, dada la capacidad multiplicadora de este sustrato (TELLO, com. pers., 2011). En las Figuras 3 y 4 se muestran los resultados finales tras tres semanas de ensayo, a lo largo de dichas

semanas, la proporción de plantas muertas fue aumentando, hasta las tasas finales que se presentan.

En la figura 4 se aprecia la alta patogenicidad de los aislados A(A3a1), B (A6m1) y C (A4a1H) que anulan, casi por completo, la emergencia de las plántulas procedentes de semilla pregerminada de ambas variedades de cebolla. Existe además diferente patogenicidad entre los aislados estudiados, pues mientras que los aislados D y E disminuyen el porcentaje de nascencia hasta el 18,75% en Albarracín y el 37,5% en Panter. Su efecto sobre la germinación (sin haber pregerminado las semillas con anterioridad a la inoculación), es mucho menor (Fig. 3),

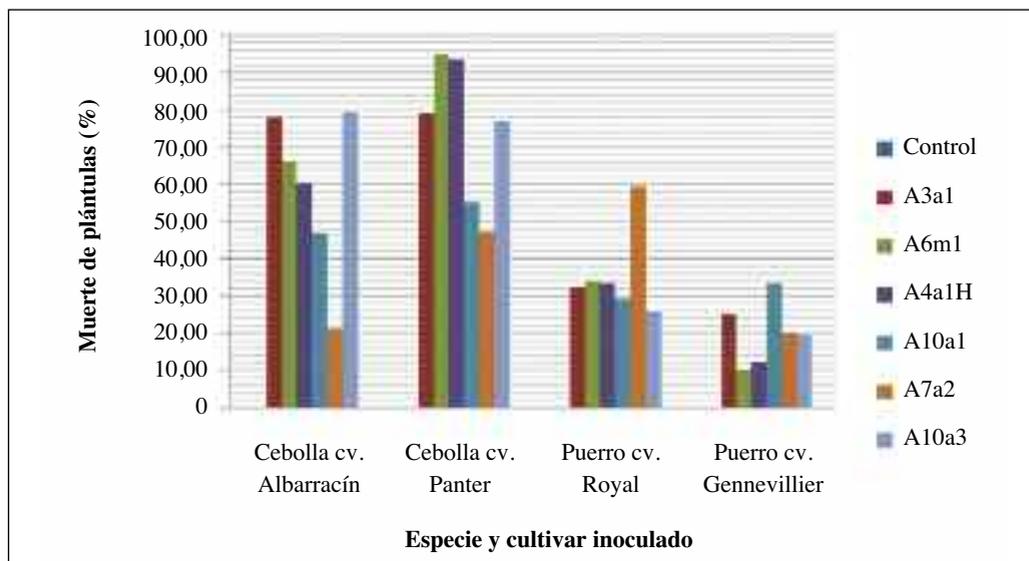


Figura 4. Efectos de los diferentes aislados de *Fusarium proliferatum* sobre la nascencia de variedades de cebolla y puerro (los datos en % de plántulas muertas)

al permitir una germinación de un 67,39% y 50% respectivamente. Es decir estos aislados disminuyen drásticamente la nascencia, pero influyen mucho menos en la germinación, aún siendo los 6 aislados contrastadamente patógenos sobre plántulas adultas.

El efecto observado sobre la germinación y nascencia de las semillas de puerro, aunque cierto, no fue tan drástico como en el caso de la cebolla. En la variedad Royal, los aislados A(A3a1) y C (A4a1H) son los que mayores efectos producen, tanto en la nascencia como en la germinación. En la variedad Gennevillier el aislado C (A4a1H) es el que mayor contundencia mostró, con una bajada del 88,89% en la nascencia. En cuanto a la germinación, no se observan grandes diferencias respecto al testigo.

DISCUSIÓN

Los resultados experimentales sugieren que al menos 5 especies diferentes del género *Allium* son susceptibles de ser enfermas por *F. proliferatum* en las condiciones

de ensayo. Cabría también sugerir una cierta especificidad parasitaria de la especie fúngica, respecto al género vegetal.

Comparando los resultados obtenidos en las pruebas de patogenicidad realizadas sobre ajo con los resultados de STANKOVIC (2007), parece que la patogenicidad de los aislados españoles es mayor (habiendo usado el mismo método experimental en la inoculación). Esto puede deberse a la variabilidad patogénica de los aislados o a una diferente susceptibilidad varietal, como podría concluirse por los resultados experimentales, donde la variedad Garcua es menos susceptible a la enfermedad que la variedad Plamegar. Siendo ambas variedades del mismo tipo de ajo, un ajo blanco que no produce escapo floral y que, al menos morfológicamente, son muy cercanas. En el trabajo citado anteriormente los investigadores no detallan la variedad de ajo utilizada en los ensayos de patogenicidad.

Respecto al peso seco de las plántulas de puerro inoculadas, la disminución observada tras las inoculaciones fue drástica, con espe-

cial expresión en los dos aislados que producían los mayores índices de la enfermedad (D y E), con una bajada del rendimiento de hasta el 73%.

Los resultados obtenidos en las pruebas de patogenicidad realizadas sobre puerro, muestran la capacidad patógena de *F. proliferatum* sobre esta especie vegetal. Esta es la primera vez que se obtienen dichos resultados experimentales a partir de aislados procedentes de ajos enfermos. El hecho de que la enfermedad se localice en el sistema radicular tiene cierta importancia, por una parte en la epidemiología de la enfermedad del ajo estudiada originariamente, puesto que el puerro es una especie hortícola semi-extensiva, con cierta presencia en las comarcas ajenas. Este hecho unido a la confirmación de la patogenicidad del hongo sobre este cultivo, nos permite sugerir que los propágulos del patógeno podrían encontrar un huésped alternativo en los cultivos de puerro de la zona.

Por otro lado, la drástica disminución del peso seco de las plantas inoculadas, aún teniendo en cuenta que la presión de inoculación fue muy fuerte, permite conjeturar que el hongo puede estar causando ciertos descensos del rendimiento en el cultivo del puerro. Serían necesarios nuevos estudios que determinen la frecuencia de aparición del hongo y su importancia en la sanidad del cultivo del puerro.

Del mismo modo también serían necesarios estudios que determinen la diferente respuesta de las variedades de puerro frente a la enfermedad, ya que como se puede ver en este estudio, la variedad de puerro Carental tiene una mayor índice de patogenicidad que Genita, lo que parece indicar que hay cierto grado de susceptibilidad varietal. Información sobre la susceptibilidad que sería

necesario conocer para poder incorporarla a la lucha contra la enfermedad en campo.

Al igual a lo observado tras la inoculación de las variedades de puerro, ambas variedades de cebolla resultaron susceptibles a la inoculación, si bien es cierto en este caso que la variedad Panter resultó menos afectada que Albarracín. Esto sugiere que hay cierto grado de susceptibilidad varietal que habrá que tener en cuenta a la hora de manejar tanto las rotaciones de cultivo de las explotaciones manchegas, como a la hora de elegir la variedad de cebolla a sembrar. En este sentido, al igual que en el caso del puerro, serán necesarios posteriores estudios que determinen la diferente respuesta de las variedades de cebolla frente a la enfermedad. Estudios no disponibles en la actualidad para los agricultores.

Los resultados obtenidos pueden tener un interés añadido en los semilleros de puerro y cebolla, tal y como sugirieron MARTÍNEZ-RESTOY *et al* (2006) para el puerro.

En la actualidad los semilleros en sustratos y bandejas alveoladas han cambiado la forma tradicional de hacer la producción de plantas y los problemas que se presentan en el Sureste de España no son despreciables y adolecen de una evaluación de las patologías y fisiopatías posibles (TELLO, com. pers., 2011).

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado por el proyecto 0100255-453 (Universidad Politécnica de Madrid- Coopaman SCL) y fue premiado con el premio a jóvenes investigadores del Centro de Estudios e Investigación para la Gestión de Riesgos Agrarios y Medioambientales (CEIGRAM).

ABSTRACT

GARCÍA, M., M. DE CARA, L. GÁLVEZ, C. IGLESIAS, L. VARES, D. PALMERO. 2011. Host specificity of isolates of *Fusarium proliferatum* (Matsushima) Nirenberg on species within the *Allium* genus. *Bol. San. Veg. Plagas*, **37**: 195-206.

Fusarium proliferatum was reported as a pathogen on garlic in northeastern United States and Serbia, causing brown rot in affected garlic cloves. Recently, the pathogen has been reported in Spain from white garlic bulbs cvs. "Garcua" and "Blancomor de Vallelado" grown in the province of Segovia. Later, symptomatic bulbs from Albacete province (cv. Morado de Pedroñeras) were also analyzed and the presence of *F. proliferatum* was confirmed. There are very few references that suggest that this pathogen could affect garlic during cultivation cycle or disease other species within the genus. In this study, we determine the specific pathogenicity of six isolates of *F. proliferatum* on five species of the *Allium* genus.

Different varieties of onion (*Allium cepa*), leek (*A. porrum*), chives (*A. fistulosum*) chives (*A. schoenoprasum*) and garlic (*A. sativum*) were inoculated by three weeks seedlings immersion in a spore suspension of each evaluated isolate for 24 hours. After inoculation, seedlings were planted in pots and kept in controlled environment (12 h/12 h day / night 25/21 ° C).

Root rot were observed and scaled by symptoms after three weeks from inoculation. Disease Severity Index (DSI) was calculated as the mean of three plants and four replicates for each plant cultivar and specie.

This study also presents the evaluation of pathogenicity on seeds germination. Experimental results allow us to determine that at least 5 different species of the *Allium* genus are likely to be affected by *F. proliferatum*. Some specificity pathogenicity could be speculated.

Key words: *Fusarium* disease, *Aliaceae*, parasitism, bulb rot.

REFERENCIAS

- DUGAN, F. M., HELLIER, B. C., LUPIEN, S. L. 2003. First report of *Fusarium proliferatum* causing rot of garlic bulbs in north America. *Plant Pathol.*, **52**: 426.
- DUGAN, F. M., HELLIER, B. C., LUPIEN, S. L. 2007. Pathogenic Fungi in Garlic Seed Cloves from the United States and China, and Efficacy of Fungicides Against Pathogens in Garlic Germplasm in Washington State. *J. Phytopathology*, **155**: 437-445.
- MARTINEZ-RESTOY R. E., DIANEZ, F., SANTOS, M., DE CARA, M., FERRÁNDIZ-HERNÁNDEZ, J., TELLO, J. C. 2006. Microbiota fúngica asociada a las podredumbres radiculares del puerro cultivado en Villena. *Bol. San. Veg. Plagas*, **32**: 673-683.
- PALMERO, D., VÁZQUEZ, J. F., CARRILLO, J. M. 2004. Caracterización de variedades cultivadas de ajo (*Allium sativum* L.) por medio de caracteres morfológicos y bioquímicos. *Actas de Horticultura*, **40**: 387-390.
- PALMERO, D., DE CARA, M., IGLESIAS, C., MORENO, M. M., GONZÁLEZ, N., TELLO, J. C. 2010. First Report of *Fusarium proliferatum* Causing Rot f Garlic Bulbs in Spain. *Plant Disease*, **94** (2): 277.
- SEEFELDER, A., GOSSMAN, M., HUMPF, H. U. 2002. Analysis of Fumonisin B1 in *Fusarium proliferatum*-infected asparagus spears and garlic bulbs from Germany by liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrometry. *J. Agric. Food Chem*, **50**: 2778-2781.
- STANKOVIC, S., LEVIC, J., PETROVIC, T., LOGRIECO, A., MORETTI, A. 2007. Pathogenicity and mycotoxin production by *Fusarium proliferatum* isolated from onion and garlic in Serbia. *Plant Pathol.*, **118**: 165-172.

Recepción: 5 abril 2011

Aceptación: 9 junio 2011

Patogenia de *Pythium aphanidermatum* y *Pythium* spp. sobre plántulas de pepino: I Influencia del cultivar y del sustrato en la gravedad de la enfermedad

J. GÓMEZ, J. M^a MELERO

Prospecciones realizadas en un total de 64 invernaderos situados en las provincias de Almería y Granada durante cuatro años consecutivos, indicaron que los daños debidos a enfermedades causadas por hongos de suelo en pepino largo, a pesar de estar éstas bastante extendidas, no fueron excesivamente cuantiosos. Las enfermedades bióticas estuvieron siempre asociadas a *Pythium* spp. Dos de las especies aisladas: *Pythium aphanidermatum*, el más frecuentemente aislado, y *P. irregulare*, demostraron su poder patógeno sobre plántulas de pepino.

El poder patógeno de *P. aphanidermatum* sobre plántulas se puso siempre de manifiesto causando necrosis del hipocotilo, marchitez y muerte de las mismas, con independencia del cultivar utilizado. Todos los aislados ensayados resultaron patógenos, aunque en algunos experimentos se pudieron apreciar diferencias de agresividad entre ellos.

Con respecto a los sustratos usados, el compuesto por una mezcla de turbas fue el menos conductivo de la enfermedad, mientras que el sustrato que intentaba simular a un suelo de invernadero, realizado mezclando arena, tierra y turba no fue menos conductivo que los tres sustratos inertes utilizados: perlita, vermiculita y lana de roca.

J. GÓMEZ. Centro IFAPA La Mojonera. Camino de San Nicolás, 1, 04745 La Mojonera (Almería). juliom.gomez@juntadeandalucia.es

J. M^a MELERO. Instituto de Agricultura Sostenible, CSIC. Alameda del Obispo, s/n, 14004 Córdoba.

Palabras clave: epidemiología, *Cucumis sativus*, *P. irregulare*, *P. ultimum*.

INTRODUCCIÓN

La agricultura intensiva dedicada a la producción hortícola se ha desarrollado extraordinariamente durante los últimos 40 años en el litoral mediterráneo español. En la actualidad, y sólo en la provincia de Almería, existe una superficie invernada que se estima en 25 902 ha, con un coeficiente de intensidad de cultivo cercano al 1,5 (SANJUÁN, 2007). Durante los últimos 20 años, se observa además un interés creciente por el cultivo de hortalizas en sustratos, estimándose que la superficie dedicada a estos cultivos en dicha provincia puede alcanzar actualmente las 5.300 ha, siendo los

dos sustratos más frecuentemente utilizados, perlita y lana de roca (CÉSPEDES *et al.*, 2009). El pepino largo (*Cucumis sativus* L.) es ampliamente cultivado en las provincias de Granada y Almería, la superficie dedicada en 2007 se estimó en 5 536 ha (Anónimo, 2008).

Las plántulas de pepino son susceptibles a *Pythium aphanidermatum*, *P. ultimum*, *P. myriotylum*, *P. debaryanum*, *P. irregulare*, *P. coloratum* y a *Pythium* pertenecientes a los grupos "G" y "F". Los síntomas que pueden causar son: disminución o retraso del crecimiento, marchitamiento, necrosis con o sin podredumbre de la base del tallo y del sistema radicular y muerte de las plántu-

las. Los daños ocasionados en inoculaciones artificiales varían desde muy graves (pérdidas del 100% de las plantas), hasta pequeñas necrosis en el sistema radicular. Los síntomas dependen de las especies implicadas, de la agresividad de los aislados, de las variedades utilizadas, de los sistemas de cultivo y de las condiciones ambientales (MESSIAEN y LAFON, 1970; JENKINS y AVERRE, 1983; FAVRIN *et al.*, 1988; BLANCARD *et al.*, 1992; MESSIAEN *et al.*, 1995). La especie fitopatogena más importante en las diferentes áreas de cultivos parece ser *P. aphanidermatum*, que causa daños importantes con temperaturas superiores a los 25° C. Otras por el contrario, como *P. ultimum*, los causan en invernaderos sin calefacción cuando las temperaturas descienden por debajo de los 15° C. (MESSIAEN y LAFON, 1970; GOLD y STANGHELLINI, 1985; BLANCARD *et al.*, 1991; MESSIAEN *et al.*, 1995).

La muerte de plántulas de pepino largo es un síntoma muy común en los invernaderos de la costa mediterránea andaluza, cuando las semillas se siembran o las plántulas se trasplantan en el suelo o sobre sustratos reutilizados (GÓMEZ, 2001). En trabajos anteriores dos especies fueron capaces de reproducir sobre plantas el síndrome observado: *Rhizoctonia solani* y *P. aphanidermatum* (TELLO *et al.*, 1991).

Los objetivos del estudio realizado fueron evaluar la importancia y distribución de las enfermedades de las raíces y de la base del tallo del pepino en el sureste andaluz, estudiar el poder patógeno de varios aislados de *Pythium* spp., obtenidos en las prospecciones realizadas o de la micoteca del IFAPA-La Mojonera, sobre plántulas y valorar la influencia del cultivar y del sustrato de cultivo en la patogenicidad de *P. aphanidermatum*.

MATERIAL Y MÉTODOS

a) De las prospecciones y de los análisis de las plantas enfermas. Para evaluar la importancia y distribución de las enfermedades causadas por hongos de suelo en los

cultivos de pepino fuera de suelo del sureste andaluz se realizó una prospección en explotaciones comerciales situadas en las provincias de Almería y Granada. En cuatro años consecutivos se visitaron 64 invernaderos, anotándose la superficie cultivada, el sistema de cultivo y cultivar utilizado, la edad del sustrato, calidad y sistema de almacenamiento del agua utilizada para el riego y, en el caso de detectar plantas enfermas, descripción de los síntomas observados, distribución de las plantas enfermas y estimación de la mortandad.

Las partes dañadas de las plantas enfermas se lavaron con agua del grifo hasta eliminar todo vestigio visible de sustrato y otras impurezas, y se dejaron secar sobre papel de filtro a temperatura ambiente del laboratorio. Se analizaron, generalmente, tres tipos de muestras: 1) de tallos, que estaban constituidas por 15-20 cm de éstos, cortados a partir de 40 cm sobre la base de las plantas 2) de la zona del hipocotilo y 3) de parte del sistema radicular. Las detecciones de los hongos en las muestras se realizaron mediante la siembra de las diferentes zonas afectadas sobre medios de cultivo, la utilización de trampas vegetales y la observación de las muestras del material vegetal enfermo bajo la lupa y microscopio óptico. El análisis microbiológico para hongos se realizó, según las necesidades, en los siguientes medios de cultivo: agar de patata glucosado (PDA) (RAPILLY, 1968), que fue modificado en ocasiones para evitar enmascaramientos bacterianos, añadiéndole 50 ppm de sulfato de estreptomina; medio agar, patata y zanahoria (PZA) según la receta de VAN DER PLAATS-NITERINK (1981) y un medio selectivo (P) para *Phytophthora* y *Pythium* descrito por PONCHET *et al.* (1972). Para la detección de hongos vasculares se analizó un material compuesto por tallos, lavados y flameados suavemente con alcohol, cortando secciones transversales de 0,5 cm aproximadamente y colocándolos sobre medio de cultivo PDA. Para la detección de los hongos asociados a las raíces o al hipocotilo, se cortaron porciones de ambas zonas de las

plantas enfermas, y después de lavadas y secadas en papel de filtro, se sembraron sobre medio de cultivo PDA, PZA y P. Para detectar la presencia de *Pythium* spp. o *Phytophthora* spp. se emplearon técnicas basadas en la utilización de “trampas vegetales” con pétalos inmaduros de clavel. Las incubaciones se hicieron en estufa a 25° C. Las lecturas se realizaron a partir de las 48 horas y hasta los siete días, mediante la observación por microscopía óptica. Los aislados obtenidos de las plantas enfermas, una vez purificados mediante el aislamiento de punta de hifa y clasificados de forma preliminar, fueron mantenidos por transferencias sucesivas efectuadas sobre medios de cultivo con una periodicidad trimestral, y además, conservados en tubos con medios de cultivos cubiertos con aceite de vaselina estéril y a la temperatura de 4-8° C. La taxonomía del género *Pythium* se realizó de acuerdo con VAN DER PLAATS-NITERINK (1981).

b) De los experimentos de patogenia sobre plántulas. Todos los experimentos se realizaron en un invernadero multitúnel de ambiente semicontrolado con cubierta de placas de metacrilato y dotado de ventilación lateral, de calefacción por aire caliente, de refrigeración por pantalla de evaporación de agua y de automatismos para su gestión. Con estos sistemas las temperaturas se mantuvieron en rango comprendido entre los 32° C grados de máxima y los 10° C de mínima.

1) Poder patógeno de *Pythium* spp. Para evaluar el poder patógeno de algunos de los aislados de *Pythium* spp. obtenidos en la prospección o de la micoteca del IFAPA de Almería sobre plántulas se realizaron dos experimentos, uno en invierno y otro en primavera, con idea de abarcar diferentes condiciones ambientales. Se inocularon plántulas en estado de cotiledones con los veinte aislados siguientes: Py-14, Py-20, Py-5, Py-29, Py-58, Py-116, Py-74, Py-77, Py-32, Py-41, Py-110, Py-112, Py-118, Py-124, Py-22, Py-23, Py-52, Py-53, Py-35 y Py-67. De éstos, cuatro fueron clasificados como *P. irregulare*, dos como *P. aphanidermatum*,

dos como *Pythium* “Grupo F”, dos como “Grupo T”, dos como “Grupo P”, cuatro como “Grupo G”, mientras que los otros cuatro no pudieron ser clasificados. El código asignado, especie vegetal de la que se aisló, encuadre taxonómico y sitio de procedencia se encuentran reflejados en el Cuadro 1. La siembra de pepino cv. Nevada se realizó a primeros de diciembre en invierno y a mediados de mayo en primavera, directamente con semillas pregerminadas sobre los contenedores de 1 L de capacidad rellenos con vermiculita. Se inocularon nueve plántulas con cada uno de los aislados, repartidas en tres contenedores. Como testigos sirvieron nueve plántulas del cultivar Nevada sin inocular. Las inoculaciones con los aislados seleccionados se realizaron 13 y 6 días después de las siembras (dds), para los experimentos de invierno y primavera, respectivamente, cuando las plantas se encontraban en el estado de cotiledones. El inóculo estuvo compuesto por un triturado en 300 mL de agua destilada del cultivo puro del aislado a ensayar crecido hasta quedar la placa de Petri de 90 mm de diámetro, con 20 mL de medio de cultivo PZA, completamente cubierta por la colonia fúngica. Cada contenedor se inoculó con 100 mL del triturado. Las concentraciones de inóculo para *P. aphanidermatum* estuvieron comprendidas entre 10^2 y 5.0×10^2 UFC mL⁻¹. Durante los experimentos se realizaron dos observaciones semanales de los síntomas aparecidos, fundamentalmente, marchitez y muerte de las plantas. Los experimentos se finalizaron el 20 de enero y el 12 de junio, para los experimentos de invierno y de primavera, respectivamente.

2) Influencia del cultivar en el poder patógeno de *P. aphanidermatum*. Para evaluar la patogenia de *P. aphanidermatum* sobre plántulas de diferentes cultivares de pepino se inocularon plántulas pertenecientes a los cvs. Alaska, Brunex, Corona, Marumba, Nevada y Virginia. Se utilizó un diseño experimental completamente aleatorio con 10 repeticiones, con parcelas elementales de una plántula de cada cultivar. La

Cuadro 1. Aislados de *Pythium* spp. inoculados sobre plántulas de pepino en los experimentos de invierno y primavera

Aislado	Procedencia	Especie	Sustrato
Py-5	Tomate	Grupo F	Lana
Py-14	Pepino	<i>P. irregulare</i>	Lana
Py-20	Pepino	<i>P. irregulare</i>	Lana
Py-22	Melón	Sin clasificar	Turba
Py-23	Sandía	Sin clasificar	Turba
Py-29	Melón	Grupo F	Lana
Py-32	Melón	Grupo P	Lana
Py-35	Sandía	<i>P. aphanidermatum</i>	Perlita
Py-41	Sandía	Grupo P	Lana
Py-52	Tomate	<i>P. irregulare</i>	Perlita
Py-53	Tomate	<i>P. irregulare</i>	Perlita
Py-58	Melón	Grupo T	Lana
Py-67	Pepino	<i>P. aphanidermatum</i>	Perlita
Py-74	Pepino	Sin clasificar	Perlita
Py-77	Pepino	Sin clasificar	Perlita
Py-110	Agua	Grupo G	Embalse
Py-112	Agua	Grupo G	Embalse
Py-116	Agua	Grupo T	Embalse
Py-118	Agua	Grupo G	Embalse
Py-124	Agua	Grupo G	Embalse

siembra de los diferentes cultivares de pepino se realizó a mediados de mayo, directamente con semillas pregerminadas sobre los contenedores rellenos con vermiculita. La inoculación se realizó seis días, cuando las plantas se encontraban en estado de cotiledones, con una mezcla de los ocho aislados (PyMezcla) de *P. aphanidermatum* siguientes: Py-10, Py-11, Py-12, Py-13, Py-15, Py-16, Py-17 y Py-18, Todos los aislados se habían obtenido de la base del tallo de las plantas sobre sistemas de cultivo sin suelo. El método de inoculación fue similar al especificado en el apartado anterior, triturando cada placa de Petri en 500 mL y utilizando 50 mL del triturado para cada plántula. Como testigos sirvieron diez plántulas del cv. Nevada sin inocular. Durante el experimento se realizaron dos observaciones semanales de los síntomas aparecidos, fundamentalmente, marchitez y muerte de las

plantas. El experimento se finalizó 21 días después de la inoculación (ddi).

3) Influencia del sustrato de cultivo en el poder patógeno de *P. aphanidermatum*.

Para evaluar la patogenia de varios aislados de *P. aphanidermatum* y conocer la influencia del sustrato de cultivo en la severidad de la enfermedad se realizaron dos experimentos, uno en otoño y otro en primavera, con idea de abarcar diferentes condiciones ambientales e intentando simular las condiciones de cultivos de pepino realizados en campaña de otoño y de primavera, respectivamente. Para ello se inocularon plántulas en estado de cotiledones con los aislados Py-10, Py-11, Py-16, Py-21, Py-26, Py-35, Py-45, Py-54, Py-67 y Py-72, de *P. aphanidermatum*. El aislado Py-26 se había obtenido de plantas de melón, el Py-35 de sandía y el resto, de plantas adultas de pepino con podredumbre de hipocotilo sobre sistemas de cultivo sin suelo.

Las plántulas fueron cultivadas en cinco sustratos: tres de ellos inertes: lana de roca, perlita y vermiculita; uno orgánico, compuesto de una mezcla de turba rubia y negra; y otro intentando simular un suelo de cultivo, mezclando suelo, turba y arena a partes iguales en volumen. Los dos últimos fueron esterilizados en autoclave durante 30 minutos a 120° C cada uno de tres días consecutivos.

El diseño experimental utilizado fue un factorial completamente aleatorizado de dos factores, con diez niveles para el factor aislado y con cinco para el factor sustrato. Las siembras de pepino se realizaron a finales de octubre en el experimento de otoño y a mediados de abril en el de primavera, en ambos casos directamente con semillas pregerminadas del cv. Nevada y sobre contenedores de 1 L de capacidad rellenos con los diferentes sustratos. Para cada aislado y sustrato se utilizaron diez plantas. Las inoculaciones se realizaron cuando las plantas se encontraban en el estado de cotiledones, ocho y diez dds, para los experimentos de otoño y primavera, respectivamente. El método de inoculación fue el especificado anteriormente. Como testigos sirvieron diez plántulas sin inocular en cada uno de los cinco sustratos utilizados. Durante los dos experimentos, además de las observaciones semanales de los síntomas aparecidos en las plantas, se realizó, al término del cultivo, una valoración de la severidad de la enfermedad anotando como 0 a las plantas sin síntomas y como 4 a las plantas muertas. Los valores intermedios se anotaron según los síntomas observados en el sistema radicular, en la base del tallo o generalizados por toda la planta. Los experimentos se finalizaron a mediados de diciembre y finales de mayo para los experimentos de otoño y primavera, respectivamente.

RESULTADOS

a) De la prospección

La superficie total prospectada fue de 74,35 ha, oscilando el tamaño de las explo-

taciones, desglosadas por situación, sustratos y cultivares entre las 0,25 y 5 ha. Los dos sustratos muestreados fueron perlita, con un 83,86% de la superficie total, y lana de roca, con el 16,14% restante. Los cultivares utilizados en las explotaciones fueron: Aidas, Alaska, Atlanta, Brunex, Corona, Estela, Gredos, Marumba, Morena, Nevada y Virginia. Se detectaron plantas enfermas en 20 de las 64 explotaciones prospectadas. El porcentaje de explotaciones afectadas a lo largo del período de muestreo se puede considerar homogéneo, observándose plantas sintomáticas en el 35,0, 20,0, 33,3 y 44,4% de los invernaderos prospectados durante las cuatro campañas. Sin embargo, el porcentaje de plantas enfermas fue muy reducido. Las valoraciones realizadas sobre los daños en los invernaderos prospectados oscilaron entre porcentajes de plantas enfermas inferiores al 0,5% que no causaron daños económicos apreciables, y el 7% de plantas enfermas. No se encontró asociación entre la detección de plantas enfermas y la conductividad eléctrica o con el sistema de almacenamiento del agua utilizada para el riego. Frecuentemente, las plantas enfermas se detectaron en sustratos recién implantados en el invernadero. Aunque el sustrato se utilizó en pocas ocasiones durante tres años consecutivos, se observaron plantas enfermas en cuatro de las cinco veces en la que se visitaron invernaderos con sustratos de dichas características.

En todos los casos, los síntomas que mostraron las plantas enfermas en los invernaderos prospectados consistieron en necrosis del hipocotilo, con o sin podredumbre, y necrosis del sistema radicular que, en ocasiones, parecían ocasionar la marchitez y muerte de las plantas. *Pythium* spp., se aisló de todas las plantas enfermas analizadas. Generalmente, de cada explotación se intentó seleccionar dos aislados, que fueron posteriormente purificados, conservados, preliminarmente clasificados, y la mayoría de ellos, inoculados. Se conservaron un total de 33 aislados de *Pythium* spp., de los cuales 25 fueron encuadrados como pertenecientes

a *P. aphanidermatum*, dos a *P. irregulare* y cuatro de ellos respondieron a las características de la especie *P. dissotocum* y otros dos no pudieron ser clasificados.

b) De los experimentos de patogenicidad sobre plántulas

1) Poder patógeno de *Pythium* spp. Los resultados sobre la patogenicidad de *Pythium* spp. sobre plántulas de pepino en época invernal se encuentran reflejados en el Cuadro 2. Nueve de los veinte aislados inoculados provocaron síntomas: Los cuatro de *P. irregulare* (Py-14, Py-20, Py-52 y Py-53), los dos de *P. aphanidermatum* (Py-35 y Py-67) y tres no clasificados, Py-22, Py-23 y Py-74, aislados de melón, sandía y pepino,

respectivamente. Los primeros síntomas se observaron en las plántulas inoculadas con los dos aislados de *P. irregulare* obtenidos de pepino. En la observación realizada a los 14 ddi, ya mostraban síntomas el 88,9 y el 77,8% de las plantas inoculadas con los aislados Py-14 y Py-20, respectivamente. Y cuando se finalizó el experimento, todas las plantas inoculadas con ambos aislados mostraban síntomas, muriendo además, el 55,6% de las plantas inoculadas con el aislado Py-14 y el 88,9%, con el Py-20. Los dos aislados obtenidos de tomate Py-52 y Py-53, causaron síntomas a todas las plantas inoculadas y Py-52 produjo una importante mortalidad de plántulas que afectó al 66% de éstas. Aunque todas las plántulas inoculadas con los aislados Py-35 y Py-67 de *P. aphanidermatum* mostraron síntomas, solamente

Cuadro 2. Patogenicidad de *Pythium* spp. sobre plántulas de pepino cv. Nevada en invierno y primavera

Aislado	Especie	Invierno		Primavera	
		PS ^u	PM ^v	PS ^u	PM ^v
Py-5	Grupo F	0,0	0,0	0,0	0,0
Py-14	<i>P. irregulare</i>	100,0	55,6	0,0	0,0
Py-20	<i>P. irregulare</i>	100,0	88,9	0,0	0,0
Py-22	Sin clasificar	100,0	100,0	0,0	0,0
Py-23	Sin clasificar	100,0	11,1	0,0	0,0
Py-29	Grupo F	0,0	0,0	0,0	0,0
Py-32	Grupo P	0,0	0,0	0,0	0,0
Py-35	<i>P. aphanidermatum</i>	100,0	0,0	100,0	100,0
Py-41	Grupo P	0,0	0,0	0,0	0,0
Py-52	<i>P. irregulare</i>	100,0	66,7	33,3	33,3
Py-53	<i>P. irregulare</i>	100,0	0,0	0,0	0,0
Py-58	Grupo T	0,0	0,0	0,0	0,0
Py-67	<i>P. aphanidermatum</i>	100,0	33,3	100,0	100,0
Py-74	Sin clasificar	33,3	0,0	0,0	0,0
Py-77	Sin clasificar	0,0	0,0	0,0	0,0
Py-110	Grupo G	0,0	0,0	0,0	0,0
Py-112	Grupo G	0,0	0,0	0,0	0,0
Py-116	Grupo T	0,0	0,0	0,0	0,0
Py-118	Grupo G	0,0	0,0	0,0	0,0
Py-124	Grupo G	0,0	0,0	0,0	0,0

^u PS: Porcentaje de plantas sintomáticas. ^v PM: Porcentaje de plantas muertas.

murió un 33% de las plantas inoculadas con el aislado Py-67. También los aislados obtenidos de plantas de melón y de sandía, Py-22 y Py-23 causaron síntomas a todas las plantas inoculadas, ocasionando la muerte del 100% y del 11,1% de las plantas, respectivamente. Los síntomas que se observaron en las plántulas enfermas fueron de podredumbre de la base del tallo, marchitamiento de los cotiledones y muerte. Las plantas testigo no mostraron síntomas.

Los resultados sobre la patogenicidad de *Pythium* spp. sobre plántulas de pepino en primavera se encuentran también reflejados en el Cuadro 2. Solamente tres de los veinte aislados de *Pythium* spp. inoculados provocaron síntomas. La aparición de los primeros síntomas fue muy rápida en las plántulas inoculadas con el aislado de tomate Py-52. En la observación realizada a los tres días de la inoculación, ya mostraban síntomas el 22% y tres días más tarde ya habían muerto el 33% de ellas. Posteriormente ya no se observaron más plantas con síntomas. Los primeros síntomas en las plántulas inoculadas con los aislados Py-35 y Py-67 de *P. aphanidermatum* se observaron a los 6 ddi y ocho días más tarde ya habían muerto todas. Los síntomas que se observaron en las plántulas enfermas fueron de podredumbre de la base del tallo, marchitamiento de los cotiledones y muerte de las plantas. Las plantas testigo no mostraron síntomas.

2) Patogenicidad de *P. aphanidermatum* e influencia del cultivar en la severidad de la enfermedad. Los resultados sobre la patogenicidad de *P. aphanidermatum* y la influencia del cultivar en la severidad de la enfermedad sobre plántulas de pepino se encuentran reflejados en el Cuadro 3 y en la Figura 1. La inoculación con la mezcla de los ocho aislados de *P. aphanidermatum* ocasionó los síntomas típicos de la enfermedad. En las plantas del testigo no inoculado del cv. Nevada no se detectaron síntomas. El progreso del porcentaje de plantas con síntomas y muertas fue algo más lento en el cv. Nevada que en el resto de los cultivares. Todas las plantas que mostraron síntomas de marchitez acabaron muriendo. Los porcentajes de plantas muertas contabilizados al finalizar el experimento fueron del 90% en el cv. Nevada y del 100% en el resto de los cultivares, no existiendo diferencias significativas.

3) Influencia del sustrato de cultivo en el poder patógeno de *P. aphanidermatum*.

En otoño. Los resultados sobre la patogenicidad de *P. aphanidermatum* y la influencia del sustrato en la severidad de la enfermedad sobre plántulas en otoño se encuentran reflejados en el Cuadro 4 y en las Figuras 2 y 3. Los diez aislados de *P. aphanidermatum* provocaron síntomas sobre las plantas inoculadas, aunque sólo nueve de ellos causaron síntomas que se diferenciaron estadísticamente de los de las plantas del testigo no

Cuadro 3. Patogenicidad de *Pythium aphanidermatum* e influencia del cultivar en la severidad de la enfermedad sobre plántulas de pepino en primavera

Variedades	PS ^u	PM ^v
Alaska	100,0 a	100,0 a
Corona	100,0 a	100,0 a
Brunex	100,0 a	100,0 a
Marumba	100,0 a	100,0 a
Nevada	90,0 a	90,0 a
Virginia	100,0 a	100,0 a

Valores en cada columna seguidos de la misma letra no son significativamente diferentes. ^u PS: Porcentaje de plantas sintomáticas. ^v PM: Porcentaje de plantas muertas.

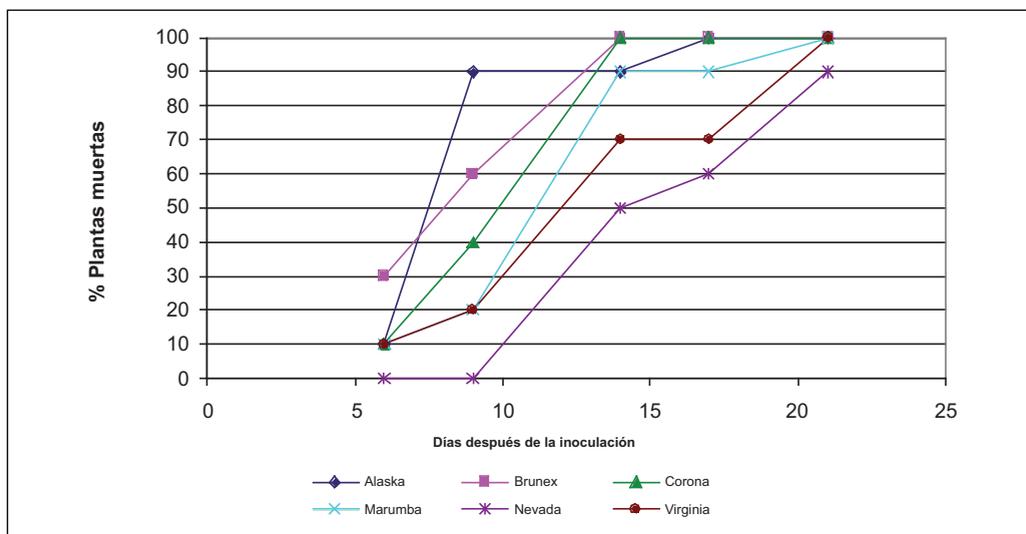
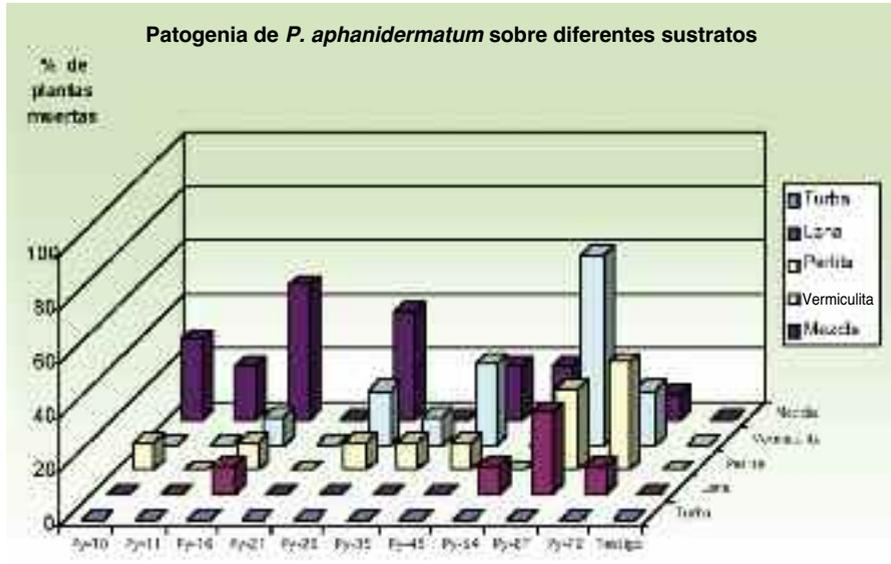


Figura 1. Patogenia de *Pythium aphanidermatum* e influencia del cultivar en la severidad de la enfermedad sobre plántulas de pepino cv. Nevada en primavera. Progreso temporal de plantas muertas

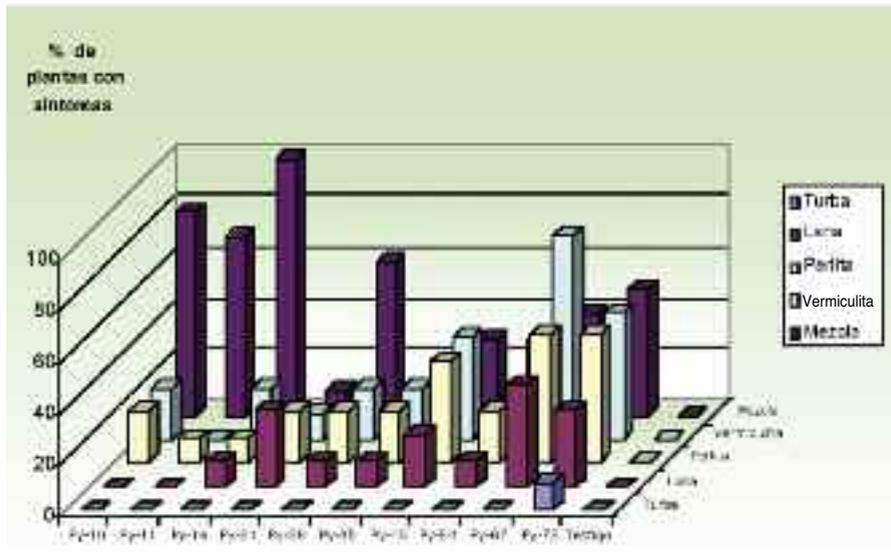
Cuadro 4. Patogenia de *Pythium aphanidermatum* e influencia del sustrato en la severidad de la enfermedad sobre plántulas de pepino cv. Nevada en otoño

Factores	Niveles	Serendidad ^u	PS ^v (%)	PM ^w (%)
Aislados	Py-10	0,72 cde	24	8
	Py-11	0,40 ef	16	4
	Py-16	0,92 bc	28	16
	Py-21	0,28 f	14	0
	Py-26	0,64 cde	22	14
	Py-35	0,28 fg	10	4
	Py-45	0,76 cd	26	12
	Py-54	0,44 def	16	6
	Py-67	1,48 a	42	30
	Py-72	1,08 b	38	16
Testigo		0,0 g	0	0
Sustratos	Lana	0,42 c	16	6
	Mezcla	1,24 a	47	21
	Perlita	0,69 b	26	12
	Turba	0,02 d	1	0
	Vermiculita	0,82 b	28	16

^u Para cada factor, valores promedio de la severidad de los síntomas en escala 0-4, seguidos de la misma letra no son significativamente diferentes ($P=0,05$) conforme a la prueba de la menor diferencia significativa. ^v PS: Porcentaje de plantas sintomáticas. ^w PM: Porcentaje de plantas muertas.



Aislados de *P. aphanidermatum*



Aislados de *P. aphanidermatum*

Figura 2. Patogenia de *Pythium aphanidermatum* e influencia del sustrato en la severidad de la enfermedad sobre plántulas de pepino cv. Nevada en otoño. Porcentajes de plantas con síntomas y muertas

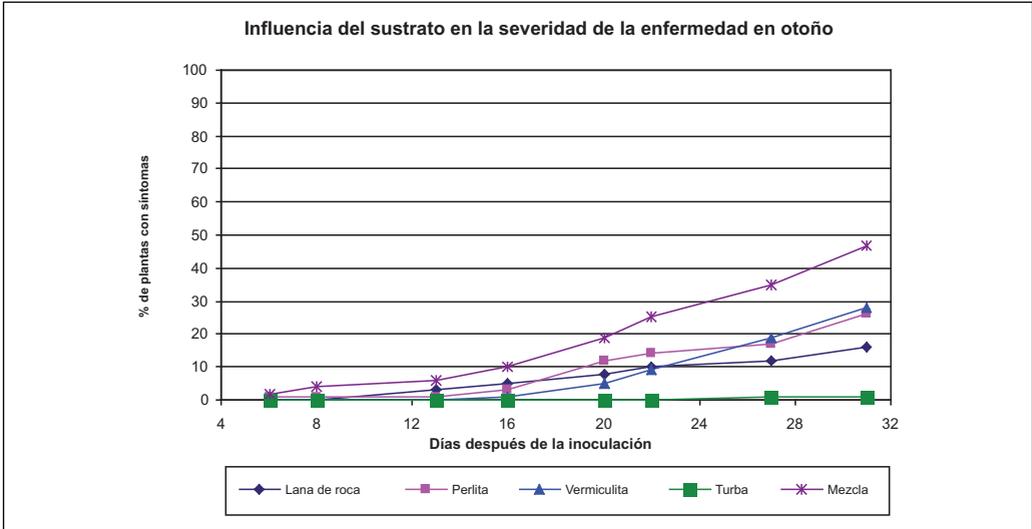


Figura 3. Patogenia de *Pythium aphanidermatum* e influencia del sustrato en la severidad de la enfermedad sobre plántulas de pepino cv. Nevada en otoño. Progreso temporal de plantas con síntomas y muertas

inoculadas. Los primeros síntomas de la enfermedad, consistentes en la necrosis de la base del tallo y el marchitamiento de las plántulas se observaron seis ddi. Al término del experimento, la severidad de la enfermedad en las plantas inoculadas fue de 0,28 a 1,48, según los aislados, mientras que en las plantas del testigo no se observaron síntomas. Los aislados más agresivos fueron Py-67 y Py-72 que ocasionaron síntomas al 42,0% y al 38,0% de las plantas, respectivamente. La mortandad observada fue muy reducida con todos los aislados inoculados; solamente los aislados Py-16, Py-72 y Py-67 causaron la mortandad a más del 15% de las plantas. Todos los aislados de *P. aphanidermatum* inoculados ocasionaron síntomas aunque no todos lo hicieron sobre los cinco sustratos utilizados, manifestando así una interacción entre ambos factores analizados.

También se observaron diferencias entre los sustratos. La severidad de la enfermedad fue prácticamente nula en turba, mientras que la mayor conductividad se produjo en la mezcla de invernadero. El progreso temporal de los porcentajes de plantas con síntomas a

lo largo de las ocho observaciones realizadas durante el experimento se encuentra reflejado en la Figura 3. El sustrato más favorable para el desarrollo de la enfermedad, con índice de severidad de 1,24, fue la mezcla de arena, suelo y turba, que intentaba simular a un suelo de invernadero. Los tres sustratos inertes, lana de roca, perlita y vermiculita, se comportaron de forma parecida con índices comprendidos entre 0,42 y 0,82, conductivos de la enfermedad aunque menos favorables que la mezcla de invernadero. Y por último, la turba se comportó en las condiciones del experimento, con un índice de 0,02, como supresora de la enfermedad.

En primavera. Los resultados sobre la patogenia de *P. aphanidermatum* y la influencia del sustrato en la severidad de la enfermedad sobre plántulas se encuentran reflejados en el Cuadro 5 y en las Figuras 4 y 5. La severidad de los síntomas ocasionada, por cualquiera de los diez aislados de *P. aphanidermatum* inoculados, fue significativamente superior a los de las plantas testigo no inoculadas. Los síntomas que causaron fueron similares a los observados en el ex-

perimento anterior. El progreso de la enfermedad fue muy rápido a lo largo de las seis observaciones realizadas durante el transcurso del experimento. Los primeros síntomas de la enfermedad, consistentes en la necrosis de la base del tallo y el marchitamiento de las plántulas, se observaron cinco ddi. Al término del experimento, los índices de severidad de la enfermedad variaron entre 2,00 y 3,00 según aislados, mientras que en las plantas del testigo no se observaron síntomas. El análisis estadístico reveló también diferencias significativas entre la agresividad mostrada por algunos de los aislados inoculados. Los aislados más agresivos fueron Py-67 y Py-72, con índices de severidad de la enfermedad de 3,0 y de 2,84, respectivamente. Un grupo de cinco aislados compuesto por el Py-35, Py-45, Py-54, Py-16, Py-21 y Py-26 ocasionaron índices de severidad situados alrededor de 2,50. Los aisla-

dos menos agresivos fueron Py-10 y Py-11 con índices de 2,24 y 2,00, respectivamente. Los porcentajes de plantas con síntomas se situaron entre el 64 y el 86%, mientras que los de mortandad, en las parcelas inoculadas al finalizar el experimento, oscilaron entre el 36 y el 66%, dependiendo de los aislados inoculados.

También en este caso se observaron importantes diferencias entre los diferentes sustratos usados. El sustrato más conductivo de la enfermedad fue la vermiculita, con un índice de severidad de 3,02. Le siguieron la mezcla de invernadero y la lana de roca, con índices de 2,71 y 2,64, respectivamente, y después la perlita (2,15). El sustrato menos conductivo volvió a ser la turba (1,11). Todos los aislados de *P. aphanidermatum* provocaron síntomas sobre los cinco sustratos utilizados, y además en algunos casos la interacción entre los factores aislados y sus-

Cuadro 4. **Patogenia de *Pythium aphanidermatum* e influencia del sustrato en la severidad de la enfermedad sobre plántulas de pepino cv. Nevada en primavera**

Factores	Niveles	Serenidad ^a	PS ^v	PM ^w
Aislados	Py-10	2,24 de	74	46
	Py-11	2,00 e	64	36
	Py-16	2,60 bc	76	54
	Py-21	2,60 bcd	74	56
	Py-26	2,40 cd	68	44
	Py-35	2,64 abc	86	46
	Py-45	2,64 abc	80	52
	Py-54	2,60 abc	84	46
	Py-67	3,00 a	84	66
	Py-72	2,84 ab	84	58
Testigo	0,00 f	0	0	
Sustratos	Lana	2,64 b	87	58
	Mezcla	2,71 b	81	68
	Perlita	2,15 c	84	34
	Turba	1,11 d	45	16
	Vermiculita	3,02 a	90	75

Para cada factor, valores promedio de la severidad de los síntomas en escala 0-4, seguidos de la misma letra no son significativamente diferentes ($P=0,05$) conforme a la prueba de la menor diferencia significativa. ^v PS: Porcentaje de plantas sintomáticas. ^w PM: Porcentaje de plantas muertas.

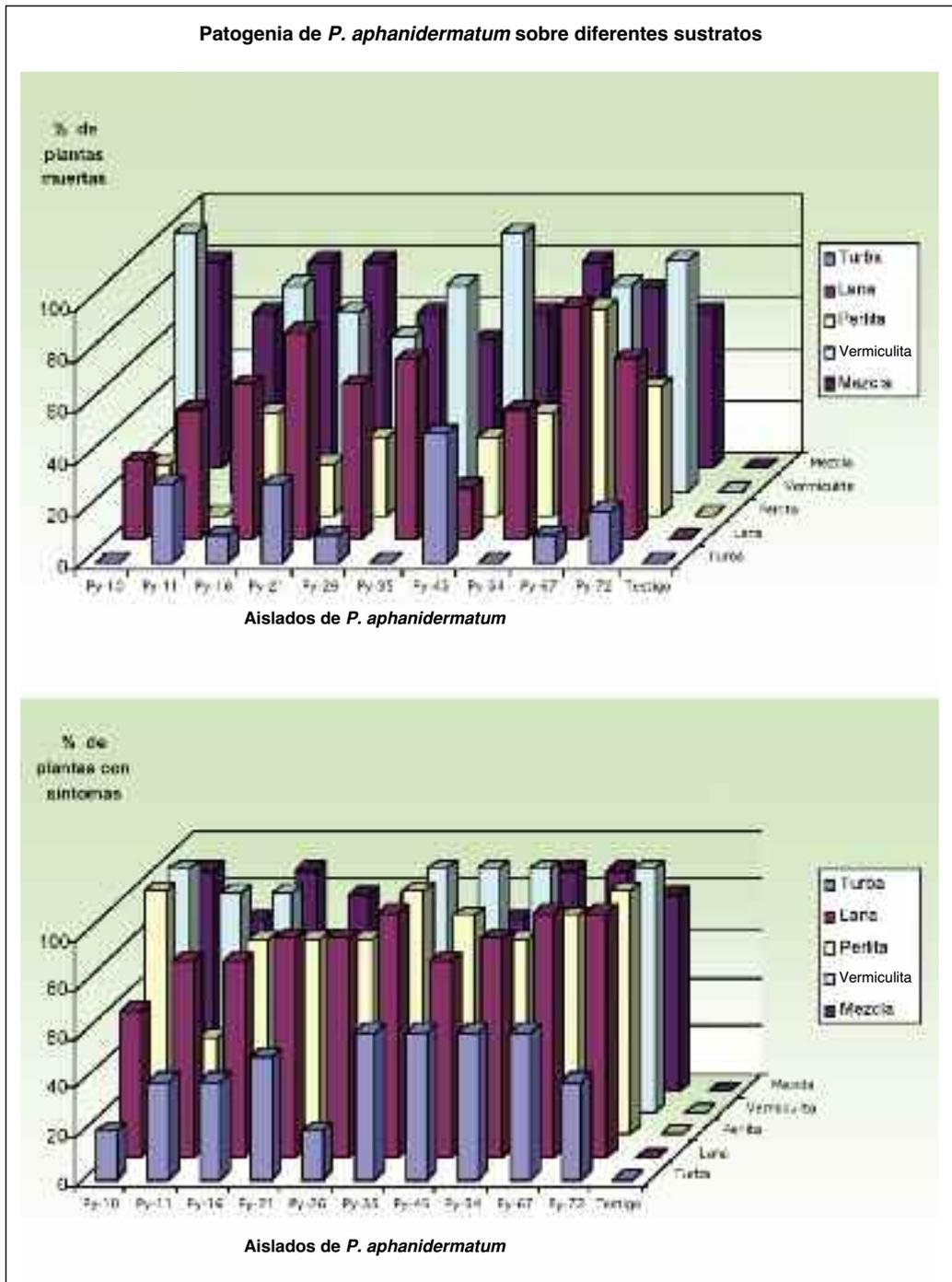


Figura 4. Patogenia de *Pythium aphanidermatum* e influencia del sustrato en la severidad de la enfermedad sobre plántulas de pepino cv. Nevada en primavera. Porcentajes de plantas con síntomas y muertas.

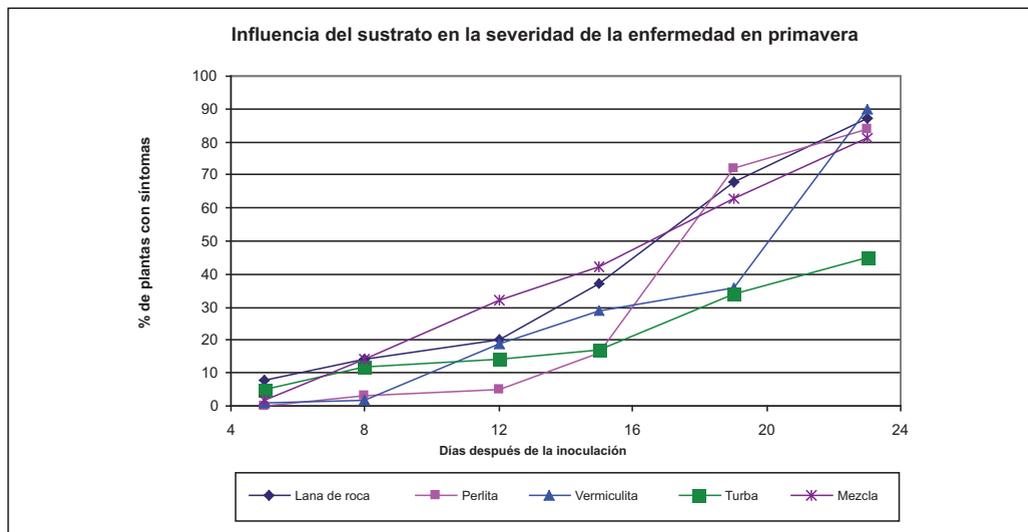


Figura 5. Patogenia de *Pythium aphanidermatum* e influencia del sustrato en la severidad de la enfermedad sobre plántulas de pepino cv. Nevada en primavera. Progreso temporal de plantas con síntomas y muertas

tratos fue estadísticamente significativa. Al término del experimento, los porcentajes de plantas con síntomas estuvieron comprendidos entre el 81 y el 90% de las inoculadas en todos los sustratos, excepto en turba en el que sólo alcanzó al 45% de las plantas. Los porcentajes de mortandad fueron más variables oscilando en los sustratos utilizados entre el 34 al 75%, excepto en la turba en el que sólo murió el 16% de las plantas.

DISCUSIÓN

Se detectaron plantas enfermas en el 31,3% de las explotaciones comerciales prospectadas, con síntomas de necrosis en la base del tallo y/o en el sistema radicular, que parecía causar a veces la marchitez y muerte. En la mayoría de las ocasiones la gravedad de la enfermedad no implicó daños económicos importantes. La enfermedad fue más grave cuando los síntomas de marchitez y muerte de las plantas comenzaron a manifestarse a los pocos días del trasplante. En general, y después de que el responsable de la explotación realizara va-

rias aplicaciones con fungicidas contra pitia-ceos, la enfermedad solía remitir, y a partir de aquí solamente moría un porcentaje pequeño de plantas. En las prospecciones realizadas no se observaron síntomas de “damping-off” dado que no es frecuente que se realice la siembra directa de las semillas. Aunque la gravedad de las enfermedades en los cultivos de pepino sin suelo en el sudeste andaluz tiene cierta importancia, como parece ocurrir en el sudoeste de Francia (BLANCARD *et al.*, 1992) o en La Columbia Británica, Canadá (FAVRIN *et al.*, 1988), no parece ser tan grave como la observada por JENKINS y AVERRE (1983) en el norte de California.

Se detectó *Pythium* spp. en todas las muestras de las plantas enfermas analizadas. Tres especies fueron aisladas: *P. aphanidermatum*, la más frecuente, *P. irregulare* y *P. dissotocum*. Otros dos aislados no pudieron ser clasificados. La frecuente presencia de *Pythium* spp. en los cultivos sin suelo de pepino del sudeste andaluz, asociado a podredumbres radiculares y de la base del tallo, que en ocasiones parecen causar la muerte de las plantas, coincide en general con lo ci-

tado para los cultivos sin suelo de otros países, siendo uno de los géneros patógenos más comunes (JENKINS y AVERRE, 1983; FAVRIN *et al.*, 1988; BLANCARD *et al.*, 1992; PAULITZ, 1997). En relación a las especies aisladas, *P. aphanidermatum* fue la más frecuente, hecho que coincide con lo que ocurre también en algunos de los lugares donde se cultiva el pepino largo sin suelo (JENKINS y AVERRE, 1983; FAVRIN *et al.*, 1988; BLANCARD *et al.*, 1992). *P. irregulare* ha sido también aislado de plantas de pepino cultivadas sin suelo en Canadá y Francia (FAVRIN *et al.*, 1988; BLANCARD *et al.*, 1992). Por el contrario, si bien *P. disсотocum* no parece ser una especie frecuentemente asociada a las raíces del pepino, sí lo es a los cultivos de lechuga y espinaca sin suelo en el estado de California, Estados Unidos y en Canadá (Bates y Stanghellini, 1984; STAGHELLINI y KRONLAND, 1986). Por otra parte, en la prospección realizada, no se ha detectado una de las enfermedades más importantes descritas para el pepino en los cultivos sin suelo: la podredumbre negra de las raíces causada por *Phomopsis sclerotioides* (LESKI, 1984).

La patogenia de *P. irregulare* sobre plántulas de pepino, así como la de otras especies de *Pythium* que causan damping-off u otros síntomas sobre plántulas, ha sido probada también por varios investigadores (FAVRIN, 1988; BLANCARD *et al.*, 1992; MESSIAEN y LAFON, 1970). En el experimento realizado en el invierno, la agresividad mostrada por los aislados de *P. irregulare* fue elevada, produciendo síntomas en el 100% de las plantas, en contraste con la ausencia de agresividad en el experimento realizado en la primavera, en época más calurosa.

El poder patógeno de *P. aphanidermatum* sobre plántulas de pepino se puso de manifiesto en todos los experimentos realizados. Los síntomas observados de marchitez, podredumbre del tallo y muerte de las plántulas, son coincidentes con los descritos por otros autores para otras zonas y sistemas de cultivo (MESSIAEN y LAFON, 1970; RODRÍ-

GUEZ, 1978; FLETCHER, 1984; BLANCARD *et al.*, 1991).

El experimento realizado para valorar la influencia del cultivar en la severidad de la enfermedad, puso de manifiesto la elevada susceptibilidad de los seis cultivares ensayados frente al patógeno *P. aphanidermatum*, aunque hubo ciertas diferencias en el progreso de la enfermedad entre algunos de los cultivares. Esta susceptibilidad frente al hongo de todos los cultivares ensayados es coincidente con los resultados obtenidos por RODRÍGUEZ (1978), quien al inocular en la isla de Gran Canaria con *P. aphanidermatum*, sobre compost estéril, encontró que los veinte cultivares de pepino ensayados eran susceptibles. La ausencia de cultivares de pepino resistentes a enfermedades causadas por *Pythium* spp., ha sido también manifestada por CHERIF *et al.* (1994).

Y en los dos experimentos realizados para evaluar la influencia del sustrato en la severidad de la enfermedad, los diez aislados de *P. aphanidermatum* provocaron síntomas sobre las plantas crecidas en al menos uno de los sustratos utilizados. Los síntomas observados fueron similares en los cinco sustratos ensayados. Sin embargo, la gravedad de éstos varió según las fechas en la que se efectuaron los experimentos. Cuando estos se realizaron en el otoño, el índice de severidad de la enfermedad estuvo comprendido entre los valores 0,28 y 1,48, el porcentaje de plantas con síntomas entre el 10 y el 42% y el de muerte de plantas fue inferior al 30%. Por el contrario, en los experimentos de primavera, el índice de severidad fue mayor (2,0-3,0), el porcentaje de plantas con síntomas también (64-86%) y el de plantas muertas varió entre el 36 y el 66%. En el experimento realizado en las condiciones menos favorables para el desarrollo de la enfermedad se pudieron apreciar diferencias estadísticamente significativas en la agresividad de algunos de los aislados utilizados. Los aislados más agresivos en el experimento realizado en el otoño fueron el Py-67 y Py-72 y en el realizado en la primavera, Py-35, Py-45, Py-54, además de los anteriores.

En el experimento de otoño, llaman la atención dos de los resultados obtenidos: primero, el hecho de que no muriera ninguna de las plantas inoculadas en un sustrato compuesto por una mezcla esterilizada de turbas, mostrándose en este experimento como un sustrato supresor de la enfermedad, y segundo, que el sustrato más favorable para el desarrollo de la enfermedad fuese la mezcla de arena, tierra y turba, que intentaba simular a un suelo de invernadero. Las diferencias observadas entre estos dos y el resto de los sustratos fueron estadísticamente significativas. En un nivel intermedio de conductividad de la enfermedad estuvieron los tres sustratos inertes: perlita, vermiculita y lana de roca, aunque este último fue el menos conductivo de los tres. En el experimento de primavera y a grandes rasgos, todos los sustratos excepto la turba se comportaron de manera parecida, permitiendo un alto nivel de enfermedad, aunque las diferencias observadas entre estos cuatro sustratos fuesen, en algunos de los casos, significativas. La interacción observada entre los factores aislados y sustratos parece sugerir una cierta especialización de algunos aislados del hongo para producir una mayor severidad de la enfermedad sobre ciertos sustratos. Valorando en conjunto los dos experimentos realizados, sorprende en primer lugar que el sustrato compuesto por la mezcla de turba rubia y negra sea el menos favorable para el desarrollo de la enfermedad. Las capacidades supresoras de las turbas, sustratos o compost frente a determinadas enfermedades han sido puestas de manifiesto por varios investigadores, debiéndose generalmente a componentes microbiológicos aunque en ocasiones, pueden producirse también por efecto de algunos factores abióticos (CAMPBELL, 1994). Se considera que los factores físicos y químicos del compost como el tamaño de partícula, los niveles de nutrientes orgánicos e inorgánicos, los contenidos en nitrógeno, celulosa y lignina, la conductividad eléctrica, el pH y la producción de compuestos inhibidores, pueden afectar a la incidencia de enfermedades cau-

sadas por patógenos de suelo. La capacidad de aireación del compost podría ser responsable de algunos fenómenos de supresividad frente a hongos que se diseminan por medio de zoosporas en el agua, como *Phytophthora* spp., ya que desaparece dicha supresividad cuando se reduce la capacidad de aire del compost (HOITINK y FAHY, 1986; CAMPBELL, 1994). Asimismo, algunos compost, particularmente los realizados con cortezas de árboles liberan ciertos compuestos inhibidores que pueden afectar a *Phytophthora* spp. y a ciertos nematodos, sin afectar a *Rhizoctonia solani*. Otro factor, como el efecto de la enmienda con compost sobre la disponibilidad del nitrógeno, puede afectar a su capacidad supresora (HOITINK y KUTER, 1986). En nuestros experimentos, al utilizarse el sustrato previamente esterilizado en autoclave, el carácter supresor del mismo debe estar en principio asociado a determinadas características fisicoquímicas y no a su microbiota.

La mayor severidad de la enfermedad causada por *P. aphanidermatum* en todos los experimentos realizados con temperaturas superiores concuerdan con el hecho de considerarse dicha especie como tropical, teniendo como temperaturas más favorables para producir enfermedad las comprendidas entre 26 y los 30° C (BLANCARD *et al.*, 1992), y con los resultados obtenidos por otros autores que concluyen que *P. aphanidermatum* es mucho más agresivo a temperaturas superiores a los 25° C (GOLD y STANGHELLINI, 1985).

Por el contrario, los resultados obtenidos en los experimentos con diferentes sustratos no parecen estar de acuerdo con las observaciones realizadas por algunos de los técnicos asesores de explotaciones de cultivos hortícolas sin suelo del sudeste andaluz (comunicaciones personales), ni con las de varios investigadores (ZINNEN, 1988; BLANCARD *et al.*, 1992; STANGHELLINI y RASMUSSEN, 1994; PAULITZ, 1997), al señalar que los cultivos sobre sustratos inertes son más susceptibles a las enfermedades causadas por pitiáceos que los tradicionales realizados en el suelo. Una

de las posibles explicaciones para entender esta falta de concordancia podría estribar en las diferencias existentes entre las temperaturas del suelo donde se desarrollan las raíces en un cultivo tradicional y la de los sustratos en los cultivos sin suelo comerciales o en los experimentos realizados sobre contenedores de poca capacidad, donde la temperatura de éstos se aproxima bastante a la ambiental, siendo por lo tanto más favorable para la patogenicidad de ciertos pitiaíceos. Por lo tanto, la susceptibilidad observada en las explotaciones comerciales dedicadas a los cultivos sin suelo podría deberse a la interacción del sustrato con su temperatura, más influenciada por la temperatura ambiente que la del suelo en los cultivos tradicionales. Este efecto es, salvando ciertas distancias, similar al observado por algunos investigadores que señalan

como particularmente sensible el período estival y los trasplantes, ya que en ese estadio los contenedores del cultivo se calientan al estar particularmente expuestos a los rayos solares (BLANCARD *et al.*, 1992).

AGRADECIMIENTOS

A Josefina Ros Orta por su imprescindible trabajo tanto en los experimentos de campo como en los de laboratorio. Los estudios se han realizado fundamentalmente con financiación del Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria, otorgada al proyecto de investigación titulado: Enfermedades causadas por hongos de suelo en tomate, pepino y sandía sobre sustratos.

ABSTRACT

GÓMEZ, J., J. M^a MELERO. 2011. Pathogenicity of *Pythium aphanidermatum* and *Pythium* spp. on cucumber seedlings: I. Influence of cultivar and substrate on the disease severity. *Bol. San. Veg. Plagas*, **37**: 207-223.

Surveys in a total of 64 greenhouses located in the provinces of Almería and Granada for four consecutive years, indicated that damage from diseases caused by soil fungi, despite being fairly widespread, were not overly large. Biotic diseases were always associated with *Pythium* spp. Two of the isolated species: *Pythium aphanidermatum*, the most frequently isolated, and *P. irregulare*, demonstrated their pathogenicity on cucumber seedlings. The pathogenicity of *P. aphanidermatum* on seedlings was always reveal hypocotyl causing necrosis, wilting and death of the same, regardless of cultivar. All isolates tested were pathogenic, although some experiments were able to appreciate differences in aggressiveness between them.

With respect to the substrates used, the compound of a mixture of peat was the least conducive of the disease, while the substrate was trying to simulate a greenhouse soil, made by mixing sand, soil and peat was no less conducive than the three substrates inert used: Perlite, vermiculite and rock wool.

Key words: Epidemiology, *Cucumis sativus*, *P. irregulare*, *P. ultimum*.

REFERENCIAS

- ANÓNIMO. 2008. Anuario de estadística. Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino. www.marm.es
- BATES, M. L., STANGHELLINI, M. E. 1984. Root rot of hydroponically grown spinach caused by *Pythium aphanidermatum* and *P. dissotocum*. *Plant Disease*, **68**: 989-991.
- BLANCARD, D., LECOQ, H., PITRAT, M. 1991. Maladies des Cucurbitacées. Observer, Identifier, Lutter. Ed. INRA. 301 pp.
- BLANCARD, D., RAFIN, C., CHAMONT, S., TIRILLY, Y., JAILLOUX, F. 1992. Phénomène de perte de racines en culture hors sol. Rôle des *Pythium* spp. *PHM*, **329**: 35-45.
- CAMPBELL, R. 1994. Biological control of soil-borne diseases: some present problems and different approaches. *Crop protection*, **13** (1): 4-13.
- CÉSPEDES, A. J., GARCÍA, M. C., PÉREZ, J. J., CUADRADO, I. M. 2009. Caracterización de la explotación hortícola protegida de Almería. Fundación para

- la Investigación Agraria de la Provincia de Almería (FIAPA), Almería. 177 pp.
- CHÉRIF, M., ASSELIN, A., BÉLANGER, R. 1994. Defense responses induced by soluble silicon in cucumber roots infected by *Pythium* spp. *Phytopathology*, **84**: 236-242.
- FAVRIN, R. J., RAHE J. E., MAUZA B. 1988. *Pythium* spp. associated with crown rot of cucumbers in British Columbia greenhouses. *Plant Disease*, **72**: 683-687.
- FLETCHER, J. T. 1984. Diseases of greenhouse plants. Longman. 351 pp.
- GOLD, S. E., STAGHELLINI, M. E. 1985. Effect of temperature on *Pythium* root rot of spinach grown under hydroponic conditions. *Phytopathology*, **75**: 333-337.
- GÓMEZ, J. 2001. Consideraciones sobre la sanidad de los cultivos hortícolas sobre sustratos. V Jornadas de sustratos de la Sociedad Española de Ciencias Hortícolas. Noviembre 2000. Almería. *Actas de Horticultura*, **32**: 191-207.
- HOITINK, H. A. J., KUTER, G. A. 1986. Effects of composts in growth media on soilborne pathogens. En: The role of organic matter in modern agriculture. Eds. Y.Chen y Y. Avnimelech. 289-306.
- JENKINS, JR., S. F., AVERRE, C. W. 1983. Root diseases of vegetables in hydroponic culture systems in North Carolina greenhouses. *Plant Disease*, **67**: 968-970.
- LESKI, B. 1984. Black root rot caused by *Phomopsis sclerotoides* Van Kest. –The most destructive disease of glasshouse cucumbers new to Poland. *Acta Horticulturae*, **156**: 209-219.
- MESSIAEN, C. M., BLANCARD, D., ROUXEL, F., LAFON, R. 1995. Enfermedades de las hortalizas. Ed.: Mundi-Prensa, 576 pp.
- MESSIAEN, C. M., LAFON, R. 1970. Les maladies des plantes maraichères. 2ª edit. Ed.: INRA. Paris. 441 pp.
- PAULITZ, T. C. 1997. Biological control of root pathogens in soilless and hydroponic systems. *HortScience*, **32** (2): 193-195.
- PONCHET, J., RICCI, P., ANDREOLI, C., AUGE, G. 1972. Méthodes sélectives d'isolement de *Phytophthora nicotianae* f. sp. *parasitica* (DASTUR) WATERH á partir du sol. *Ann. Phytopathol.*, **4**: 97-108.
- RAPILLY, F. 1980. Les techniques de mycologie en pathologie végétale. *Annales des épiphyties*, **19** (Hors-série). 102 pp.
- RODRÍGUEZ, R. 1978. Investigación sobre el agente causal de "la Cinturilla" (Damping-off) y marchitamiento de plantas de pepinos cultivadas en invernadero. *Xoba*, **1** (3): 162-166.
- SANJUAN, J. F. 2007. Detección de la superficie invernada en la provincia de Almería a través de imágenes ASTER. Fundación para la Investigación Agraria de la Provincia de Almería (FIAPA), Almería.
- STAGHELLINI, M. E., KRONLAND, W. C. 1986. Yield loss in hidroponically grown lettuce attributed to subclinical infection of feeder rootlets by *Pythium dissotocum*. *Plant Disease*, **70**: 1153-1056.
- STANGHELLINI, M. E., RASMUSSEN, S. L. 1994. Hydroponics. A solution for zoosporic pathogens. *Plant Disease*, **78**: 1129-1138.
- TELLO, J. C., GÓMEZ, J., CAMPOROTA, P., LACASA, A. 1991. Capacidades parasitarias de *Pythium aphanidermatum* y de *Rhizoctonia solani* sobre pepino y melón. Estudios de Fitopatología de la S.E.F.: 102-108.
- VAN DER PLAATS-NITERINK, A. J. 1981. Monograph of genus *Pythium*. *Studies of Micology*, **21**. Centraalbureau voor Schimmelcultures, Baarn. 242 pp.
- ZINNEN, T. M. 1988. Assessment of plant diseases in hydroponic culture. *Plant Disease*, **72**: 96-99.

(Recepción: 15 abril 2011)

(Aceptación: 3 octubre 2011)

Patogenia de *Pythium aphanidermatum* sobre plantas adultas de pepino en cultivo sin suelo: II Influencia de algunos factores del cultivo en la enfermedad

J. GÓMEZ, J. M^a MELERO

El poder patógeno de *Pythium aphanidermatum* sobre plantas adultas de pepino se puso siempre de manifiesto por las necrosis ocasionadas en el sistema radicular, y a veces, por causar necrosis del hipocotilo, marchitez, muerte de las plantas y mermas de producción. La necrosis del hipocotilo se observó en un porcentaje alto de las plantas sólo cuando se inocularon con cuatro hojas, mientras que cuando se inocularon al inicio de la recolección la mostraron infrecuentemente. No siempre el patógeno produjo la muerte de las plantas, y, a pesar de las importantes necrosis causadas al sistema radicular, no siempre éstas tuvieron un significativo reflejo en la producción de frutos.

El uso de una dosis doble de agua de riego, no produjo un aumento de la agresividad del hongo y tampoco influyó en la producción del cultivo. La utilización del fungicida propamocarb inhibió la aparición del síntoma de necrosis del hipocotilo y la muerte de las plantas, aunque no eliminó siempre el marchitamiento reversible de las plantas, ni tampoco impidió la necrosis del sistema radicular. Por otra parte, se comprobó la ausencia de fitotoxicidad del fungicida en la forma utilizada.

J. GÓMEZ. Centro IFAPA La Mojonera. Camino de San Nicolás, 1, 04745 La Mojonera (Almería). juliom.gomez@juntadeandalucia.es

J. M^a MELERO. Instituto de Agricultura Sostenible, CSIC. Alameda del Obispo, s/n, 14004 Córdoba.

Palabras clave: epidemiología, *Cucumis sativus*, riego, control.

INTRODUCCIÓN

En Almería se estima, que existe una superficie de invernaderos dedicados al cultivo de hortalizas en sustratos a solución perdida, cercana a las 5.300 ha (SANJUÁN, 2007). En sus inicios, el aumento de estos cultivos se debió fundamentalmente a la idea de incrementar la producción y mejorar la calidad de los frutos de pepino y tomate, y de aportar una alternativa de control contra determinadas enfermedades de suelo en el cultivo del melón. En la actualidad, el alto coste de ejecución del enarenado ha conducido a una fuerte implantación directa de los cultivos sobre sustratos en

las nuevas explotaciones. Esto ha supuesto que en la actualidad “los campos de Dalías y Níjar” se consoliden como uno de los principales núcleos de cultivos sin suelo a escala mundial. De la superficie dedicada a éstos, se estima que el 55,2% se realiza en perlita, el 37,6% en lana de roca, el 5,0% en fibra de coco y el 2,2% restante en otros sustratos como arlita, turba en contenedores, etc. (CÉSPEDES *et al.*, 2009). El pepino largo (*Cucumis sativus* L.) es ampliamente cultivado sin suelo. Se estima que el 24,3% de la superficie dedicada en Almería a dicho cultivo se realiza sobre los sustratos antes mencionados (CÉSPEDES *et al.*, 2009).

Si el cultivo fuera de suelo se utilizó en principio para resolver el problema de las enfermedades provocadas por patógenos de suelo, con el paso del tiempo se comprobó que no era la solución definitiva, pero también, que presentaba otras ventajas en comparación con el cultivo tradicional en el suelo (COUTEAUDIER y LEMANCEAU, 1989). Aunque la mayoría de los cultivos sin suelo pueden comenzarse libre de patógenos, sobre todo si se trata de cultivos sobre sustratos inertes, una vez instalados pueden aparecer enfermedades importantes. El conocimiento y control de las posibles fuentes de entrada de los patógenos es fundamental para mantenerlos libre de enfermedades (GÓMEZ, 2001). Generalmente, cuando un patógeno se ha introducido en el sistema, su diseminación se ve favorecida por un ambiente húmedo ininterrumpido en el sistema radicular, por determinadas prácticas de cultivo y, sobre todo si se utilizan sistemas cerrados, por el movimiento de la solución nutritiva que le proporciona una rápida y uniforme diseminación de sus propágulos a través del sistema de cultivo (PAULITZ, 1997). El cultivo sin suelo parece disminuir la diversidad de los microorganismos patógenos que afectan al sistema radicular en comparación con los cultivos convencionales en suelo, pero éstos pueden producir enfermedades cuyas pérdidas acaban siendo mayores que las producidas en el suelo (ZINNEN, 1988; STANGHELLINI y RASMUSSEN, 1994; PAULITZ, 1997). Esto parece concretarse para enfermedades causadas por *Pythium* spp., los cuales se han adaptado perfectamente al medio acuático, poco aireado y pobre en antagonistas naturales, de los sistemas de cultivos sin suelo más empleados (BLANCARD *et al.*, 1992; HENDRIX y CAMPBELL, 1973).

La muerte de plantas adultas de pepino largo es un síntoma muy común en los invernaderos del sureste español cuando éstas se cultivan sobre sustratos reutilizados. La especie patógena más importante sobre plántulas parece ser *Pythium aphanidermatum*. El objetivo del estudio fue conocer su

poder patógeno sobre plantas adultas y valorar la influencia en la gravedad de la enfermedad de algunos factores de cultivo como: la dosis de riego, la utilización del fungicida propamocarb, la edad de la planta en la infección, el cultivar utilizado y la campaña de cultivo.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para conseguir los objetivos pretendidos se realizaron varios experimentos en campañas de otoño y primavera. Los cultivos de pepino se realizaron sin suelo utilizando como sustrato perlita, en un invernadero multicapilla con estructura de hierro galvanizado y cubierta de polietileno de 200 mm de espesor. Con agua de 0,5 a 0,6 dS m⁻¹ de conductividad, el riego se realizó con la ayuda de un depósito de 25 m³ de capacidad, donde se preparó la solución final de riego. Mediante una bomba y con la ayuda de un reloj programable, la solución nutritiva de 1,9 a 2,1 dS m⁻¹ fue aportada a cada planta, con un sistema de goteros, microtubos y piquetas. El sustrato se regó según el volumen de agua de drenaje (procurando mantener un drenaje próximo al 20%) y a la conductividad eléctrica (C.E.) de dicha agua, procurando que esta no superara los 5,0 dS m⁻¹.

Los diseños experimentales de los experimentos realizados para conseguir los objetivos planteados fueron en algunos casos factoriales de dos o de tres factores en bloques completos al azar, mientras que en otros casos se utilizaron diseños en bloques completamente al azar. El número de plantas de pepino por parcela elemental fue de 12 a 18 con un marco de plantación aproximado de 2 x 0,5 m, en líneas pareadas y colocando tres plantas por saco. La disposición de los bloques se realizó, excepto en el experimento de primavera, en la dirección norte/sur, quedando dos bloques en la parte norte del invernadero y los otros dos en el sur, tomando como eje el pasillo central del invernadero orientado en dirección este-oeste. Los tra-

tamientos se dispusieron en parcelas elementales al azar en cada uno de los bloques. Un número igual de plantas no inoculadas para cada uno de los factores considerados sirvieron como testigos.

En todos los experimentos, el inóculo estuvo compuesto por un triturado en agua destilada del cultivo puro del aislado o mezcla de aislados a ensayar, crecidos hasta quedar la placa de Petri de 90 mm de diámetro, con 20 mL del medio de cultivo patata-zanahoria-agar, completamente cubierta por la colonia fúngica. De forma general, se utilizó una placa de Petri para cada diez plantas y 50 mL de la suspensión de inóculo por planta. Para el inóculo, en algunos experimentos se utilizó el aislado Py-10 y en otros una mezcla de los ocho aislados (PyMezcla) siguientes: Py-10, Py-11, Py-12, Py-13, Py-15, Py-16, Py-17 y Py-18, pertenecientes también a *P. aphanidermatum*, obtenidos de plantas adultas de pepino con podredumbre de hipocotilo sobre sistemas de cultivo sin suelo. Cuando las inoculaciones se realizaron sobre plantas con cuatro hojas verdaderas se realizaron alrededor de los 20 días después de la siembra (dds), mientras que las que se inocularon al inicio de la recolección se hicieron a los 40 dds. En los experimentos realizados en el otoño, las siembra de las semillas de pepino del cv. Nevada, o de los cvs. Virginia y Marumba en algunos de aquellos, se realizaron a mediados de septiembre, directamente sobre los sacos de cultivo. En el experimento de primavera la siembra del cv. Nevada se realizó a primeros de febrero sobre tacos de lana de roca, transplantándose a los sacos de cultivo dos semanas más tarde. Cuando se utilizó el fungicida propamocarb (Previcur N, propamocarb-HCl, 72,2% SL, Schering AG), el tratamiento se realizó aplicando al cuello de cada una de las plantas 50 ml de caldo a una concentración del producto comercial de 1,5 ml L⁻¹.

Para estudiar la influencia del riego en la gravedad de la enfermedad se regaron parcelas con dos dosis, una considerada normal y la otra doble. Para ello, en algunas parce-

las se colocó un gotero por planta, mientras que en otras se colocaron dos goteros, uno a cada lado de la planta, con lo que aproximadamente éstas últimas recibían el doble de solución nutritiva que las primeras. En las primeras se intentó mantener un volumen de drenaje cercano al 20% del agua aportada. El volumen de agua aportado por los goteros fue medido, varias veces por semana, en cuatro depósitos instalados para tal efecto en cada uno de los cuatro bloques diseñados para el experimento, para verificar la similitud entre el agua prevista para el riego y el agua realmente aportada. Por otro lado, el volumen de lixiviación se midió mediante una cubeta, con forma de paralelepípedo de 200x20x20 cm, instalada debajo de dos sacos, que recogía el agua drenada por las plantas cultivadas en los mismos dependiendo de la densidad de plantación utilizada en el experimento.

Durante los experimentos se realizaron observaciones semanales de los síntomas aparecidos en las plantas, principalmente necrosis en la base del tallo, marchitez y muerte de las plantas. Cuando fue posible, al término del cultivo, se realizó una valoración sobre el aspecto sanitario del sistema radicular, con el siguiente criterio: De 0 a 1-Planta con el sistema radicular sin necrosis a planta con el 25% del sistema radicular necrosado. De 1 a 2- Plantas con un porcentaje del sistema radicular necrosado comprendido entre el 25 y el 50%. De 2 a 3-Plantas con un porcentaje del sistema radicular necrosado comprendido entre el 50 y el 75%. Y de 3 a 4-Plantas con un porcentaje del sistema radicular necrosado comprendido entre el 75% y el 100%. La producción total y comercial de los frutos en las recolecciones practicadas expresadas en kg planta⁻¹, se valoró mediante pesada con un dinamómetro, contándose el número de frutos recolectados. Los datos obtenidos en cada experimento para las variables dependientes fueron analizados mediante el análisis de la varianza (ANOVA) y los valores medios comparados usando el test de la menor diferencia significativa (LSD) para un nivel de con-

fianza del 95%. Los tratamientos fitosanitarios para las plagas y enfermedades aéreas, no estudiadas en los experimentos presentados, y las técnicas de cultivo fueron los habituales en la zona. Se determinó, previamente a cada experimento, la ausencia de *Pythium* spp. y de *Olpidium* spp. en el agua de riego.

La metodología específica para cada uno de los experimentos realizados para conseguir los objetivos planteados fue la siguiente:

1. Otoño

a) Para evaluar la patogenia de *P. aphanidermatum* y estudiar la influencia del riego en la severidad de la enfermedad se inocularon plantas, en estado de cuatro hojas y al inicio de la recolección, con los aislados Py-10 y PyMezcla, en parcelas regadas con dosis de riego, normal y doble. El diseño experimental utilizado tanto para las plantas con cuatro hojas como para las del inicio de la recolección fue un factorial con dos factores. El factor principal fue el llamado “aislados” con tres niveles, Py10, PyMezcla y testigo no inoculado, y como factor secundario el llamado “riego” con dos niveles, normal y doble.

b) Para determinar la influencia en la gravedad de la enfermedad de la aplicación del fungicida propamocarb se inocularon plantas con cuatro hojas verdaderas y al inicio de la recolección, bajo dos dosis de riego, con PyMezcla. Las aplicaciones iniciales se realizaron, dos días antes de inocular con el patógeno, como se explicó con anterioridad. Después de ésta, el fungicida se aplicó con una periodicidad de 15 días hasta el término del experimento. El diseño experimental utilizado fue un factorial de tres factores en bloques completos al azar. El factor principal fue el de “aislados” con dos niveles, Py-Mezcla y testigo no inoculado, para el factor secundario, denominado “riego” se aplicaron dos niveles, dosis normal y doble, mientras que el factor terciario se denominó “fungicida”, con dos niveles, tratado y no tratado.

c) Para estudiar la influencia de la edad de la planta en el momento de la infección se inocularon plantas con cuatro hojas verdaderas y al inicio de la recolección con los aislados Py-10 y PyMezcla. El diseño experimental utilizado fue un factorial con dos factores. El factor principal fue el llamado “aislados” con tres niveles, Py10, PyMezcla y testigo no inoculado y como factor secundario, el llamado “inoculación” con dos niveles, cuatro hojas y recolección. El resto de la metodología fue como en el apartado a).

d) Para evaluar la patogenia de *P. aphanidermatum* y determinar la influencia de la dosis de riego y del cultivar en la gravedad de la enfermedad, se inocularon plantas con PyMezcla en estado de cuatro hojas verdaderas y al inicio de la recolección, sobre parcelas de los cultivares Nevada, Virginia y Marumba, regadas con dos dosis de riego, normal y doble. La metodología fue similar a la usada en experimentos anteriores. Como testigos respectivos para cada uno de los tratamientos ensayados sirvieron parcelas sin inocular de los cultivares Nevada, Virginia y Marumba regadas con riego normal y con doble dosis de riego.

2. En primavera

El objetivo principal fue evaluar el poder patógeno de *P. aphanidermatum* durante una campaña de cultivo de primavera. Otros objetivos fueron: estudiar si la gravedad de la enfermedad provocada por la inoculación artificial realizada en los experimentos anteriores era similar a la medida en un saco reutilizado y contaminado por el patógeno en un cultivo anterior, como ocurre habitualmente en las explotaciones comerciales. Y evaluar el control de la enfermedad sobre sacos previamente contaminados con el hongo, mediante la aplicación sistemática quincenal del fungicida propamocarb. Para la consecución de los objetivos propuestos se utilizaron sacos de perlita nuevos y sacos previamente utiliza-

dos, pertenecientes a las parcelas inoculadas con *P. aphanidermatum* y no inoculadas, del experimento realizado en el otoño del año anterior. El experimento se realizó en la parte norte del invernadero utilizado anteriormente, al quedar éste dividido por el pasillo central con sentido este-oeste. El diseño experimental utilizado fue el de cuatro bloques completos al azar, quedando dos de ellos en la parte norte y otros dos, en la sur. Las parcelas elementales se colocaron al azar en cada uno de los bloques. Se realizaron cinco tratamientos, dos sobre sacos nuevos y tres sobre sacos reutilizados. Los tratamientos diseñados fueron: PyMezcla = Plantas inoculadas con *P. aphanidermatum* en sacos de sustrato nuevos. PyMezcla2°Cul. = Plantas cultivadas en sacos de sustrato reutilizados y contaminados. PyMezcla2°CulFun. = Plantas cultivadas en sacos de sustrato reutilizados y contaminados, tratadas con fungicida. Testigo = Plantas cultivadas en sacos de sustrato nuevos. Y Testigo2°Cul. = Plantas cultivadas en sacos de sustrato reutilizados no inoculados.

Para evaluar el control de la enfermedad con el fungicida (PyMezcla2°CulFun.), las plantas se trataron con el pesticida de la misma manera que en el experimento anterior. La aplicación inicial se realizó a los dos días del trasplante, para repetirse de nuevo cada quince días hasta el término del experimento. Se efectuaron un total de seis aplicaciones. Las plantas cultivadas en sacos de sustrato reutilizados y contaminados con el patógeno (PyMezcla2°Cul.) fueron tratadas una sola vez con el fungicida con idea de impedir en lo posible una infección precoz del hongo sobre las plántulas recién transplantadas. Las plantas correspondientes a las parcelas elementales del tratamiento con sacos de sustrato nuevos inoculados con *P. aphanidermatum* (PyMezcla), se inocularon con seis hojas verdaderas a los 23 días después del trasplante. La inoculación se realizó con la mezcla de aislados como se describió anteriormente.

RESULTADOS

1. Otoño

a) **Patogenia de *P. aphanidermatum* e influencia de la dosis de riego en la gravedad de la enfermedad.** Los resultados sobre la patogenia de *P. aphanidermatum* y la influencia de la dosis de riego en la gravedad de la enfermedad se encuentran reflejados en los Cuadros 1 y 2. Sobre plantas con cuatro hojas verdaderas los dos inóculos de *P. aphanidermatum* utilizados, el aislado Py-10 y PyMezcla ocasionaron los síntomas típicos de la enfermedad: necrosis del hipocotilo, marchitamiento de las hojas, necrosis del sistema radicular y muerte de las plantas. Los primeros síntomas de la enfermedad, consistentes en la necrosis del hipocotilo se observaron nueve días después de la inoculación. Al término del experimento, dicho síntoma se observó en el 97,9% de las plantas inoculadas con el aislado Py-10 y en el 92,7% de las inoculadas con la mezcla de aislados. En algunas de las observaciones de síntomas, coincidentes con horas cálidas de días soleados, un pequeño porcentaje de las plantas inoculadas mostró un marchitamiento reversible; en la observación realizada a primeros de diciembre a los 83 dds, se marchitaron el 6,3% de las plantas inoculadas con el aislado Py-10 y el 4,2% de las inoculadas con la mezcla de aislados, si bien éstos no fueron estadísticamente significativos. Al finalizar el experimento, el porcentaje de plantas muertas contabilizado en las parcelas inoculadas con los dos inóculos fue del 6,3%. Además, las plantas inoculadas mostraron una apreciable necrosis del sistema radicular, los dos inóculos causaron valores medios de 2,9, estadísticamente significativos al compararlos con el valor promedio de 0,3, observado en el testigo. Las plantas testigo no mostraron esos síntomas.

En relación a los resultados obtenidos sobre la producción de frutos (Cuadro 2 y Figura 1), la patogenia de los dos inóculos de *P. aphanidermatum* utilizados se manifestó igualmente por las mermas de cosecha

Cuadro 1. Patogenia de *Pythium aphanidermatum* sobre plantas de pepino cv. Nevada en otoño e influencia de la dosis de riego en la gravedad de la enfermedad. Síntomas observados sobre las plantas del experimento. Las letras distintas, dentro de cada columna y factor, indican diferencias significativas ($P<0,05$), según la prueba de la menor diferencia significativa

	Factores	Niveles	NH^u(%)	PM^v(%)	PS83^w(%)	NR^x
Plantas inoculadas con cuatro hojas verdaderas	Aislados	Py-10	97,9 a	6,3 a	6,3 a	2,9 a
		PyMezcla	92,7 a	6,3 a	4,2 a	2,8 a
		Testigo	0,0 b	0,0 b	0,0 a	0,3 b
	Riego	Normal	63,9 a	4,2 a	2,1 a	2,1 a
		Doble	63,2 a	4,2 a	4,9 a	1,9 a
	Bloques	Sur/Sur	66,7 a	1,4 a	6,9 a	2,3 a
		Norte/Sur	62,5 a	2,8 a	1,4 a	1,9 bc
		Sur/Norte	62,5 a	4,2 a	4,2 a	1,7 c
		Norte/Norte	62,5 a	8,3 a	1,4 a	2,2 ab
Plantas inoculadas al inicio de la recolección	Aislados	Py-10	5,2 a	4,2 a	40,6 a	2,3 a
		PyMezcla	3,1 a	0,0 b	27,1 a	1,9 a
		Testigo	0,0 a	0,0 b	0,0 b	0,3 b
	Riego	Normal	2,1 a	1,4 a	25,7 a	1,5 a
		Doble	3,5 a	1,4 a	19,4 a	1,5 a
	Bloques	Sur/Sur	5,6 a	2,8 a	41,7 a	1,8 a
		Norte/Sur	4,2 a	2,8 a	34,7 ab	1,5 ab
		Sur/Norte	1,4 a	0,0 a	12,5 b	1,3 b
		Norte/Norte	0,0 a	0,0 a	1,4 c	1,4 ab

^u NH: Porcentaje de plantas con necrosis en la base del tallo. ^v PM: Porcentaje de plantas muertas. ^w PS83: Porcentaje de plantas marchitas a los 83 días después de la siembra. ^x NR: Valores promedio de severidad de necrosis del sistema radicular.

Cuadro 2. Patogenia de *Pythium aphanidermatum* sobre plantas de pepino cv. Nevada en otoño e influencia de la dosis de riego en la gravedad de la enfermedad. Valoración de la producción total y comercial. Las letras distintas, dentro de cada columna y factor, indican diferencias significativas ($P<0,05$), según la prueba de la menor diferencia significativa

	Factores	Niveles	Pr. Total^u	NFT^v	PMFT^w	Pr. Com.^x	NFC^y	PMFC^z
Plantas inoculadas con cuatro hojas verdaderas	Aislados	Py-10	4,1 b	11,6 b	0,352 a	3,9 b	10,5 b	0,333 a
		PyMezcla	4,2 b	11,8 b	0,348 a	3,9 b	10,7 b	0,331 a
		Testigo	4,9 a	14,1 a	0,341 a	4,6 a	12,7 a	0,321 a
	Riego	Normal	4,3 a	12,3 a	0,345 a	4,0 a	11,1 a	0,327 a
		Doble	4,5 a	12,6 a	0,350 a	4,2 a	11,4 a	0,330 a
	Bloques	Sur/Sur	5,5 a	15,2 a	0,361 a	5,1 a	13,6 a	0,340 ab
		Norte/Sur	5,3 a	14,7 a	0,365 a	5,0 a	13,3 a	0,344 a
		Sur/Norte	3,8 b	11,3 b	0,333 b	3,6 b	10,3 b	0,313 bc
		Norte/Norte	2,9 c	8,7 c	0,331 b	2,8 c	8,0 c	0,316 bc
Plantas inoculadas al inicio de la recolección	Aislados	Py-10	3,8 b	11,6 b	0,330 b	3,6 b	10,3 b	0,309 b
		PyMezcla	4,5 ab	13,0 ab	0,346 a	4,3 ab	11,9 ab	0,329 a
		Testigo	4,9 a	14,1 a	0,341 ab	4,6 a	12,7 a	0,321 b
	Riego	Normal	4,4 a	12,8 a	0,343 a	4,2 a	11,6 a	0,326 a
		Doble	4,4 a	13,0 a	0,335 a	4,1 a	11,6 a	0,314 a
	Bloques	Sur/Sur	5,5 a	15,5 a	0,357 a	5,2 a	13,7 a	0,333 a
		Norte/Sur	5,1 a	14,8 a	0,346 a	4,8 a	13,4 a	0,325 a
		Sur/Norte	3,9 b	11,9 b	0,331 b	3,8 b	11,0 a	0,317 b
		Norte/Norte	3,0 c	9,4 c	0,322 b	2,8 c	8,3 b	0,302 b

^u Pr. Total: Producción Total (kg planta⁻¹). ^v N. F. T.: Número de frutos de la producción total. ^w P. M. F. T.: Peso medio de los de frutos de la producción total (kg). ^x Pr. Com.: Producción comercial (kg planta⁻¹). y N. F. C.: Número de frutos de la producción comercial. ^z P. M. F. C.: Peso medio de los de frutos de la producción total (kg).

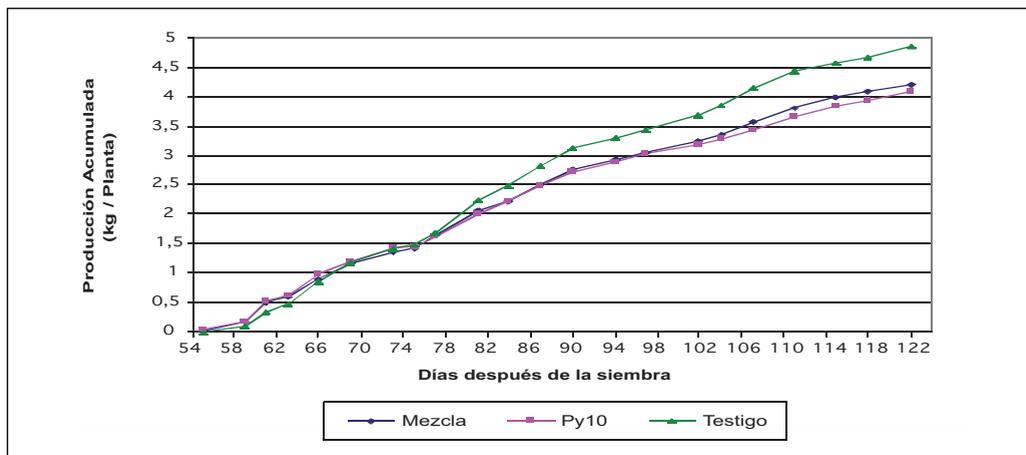


Figura 1. Patogenia de *Pythium aphanidermatum* sobre plantas de pepino cv. Nevada inoculadas con cuatro hojas verdaderas. Evolución de la producción total acumulada

producidas con respecto a la producción del testigo no inoculado. Las diferencias observadas entre la producción total y comercial de las parcelas inoculadas con *P. aphanidermatum* y las no inoculadas fueron estadísticamente significativas. El aislado Py-10 disminuyó la producción total un 15,9% y la comercial en un 15,3%, mientras que Py-Mezcla lo hizo en un 14,4% para la producción total y en un 13,5% para la comercial. Estas mermas de cosecha fueron debidas a la diferencia entre el número de frutos producidos y no al peso medio de estos.

El riego no influyó en la severidad de los síntomas ocasionados por los dos inóculos de *P. aphanidermatum* utilizados. Los porcentajes medios de plantas con síntomas de necrosis de hipocotilo fueron del 63,9 y 63,2%, el de plantas muertas del 4,2 y 4,2% y el de plantas marchitas en la observación realizada a los 83 dds, del 2,1 y 4,9% para la dosis de riego normal y doble, respectivamente. Con respecto a las necrosis observadas en el sistema radicular, las medias obtenidas mostraron valores de 2,1 y 1,9, con la dosis de riego normal y doble, respectivamente. Ninguna de las pequeñas diferencias observadas en relación a los citados síntomas fue estadísticamente significativa.

La situación de los bloques en el invernadero influyó en la severidad de las necrosis causadas por los dos tipos de inóculo. Los índices medios obtenidos en los diferentes bloques del experimento fueron del 1,7 y 2,2, para los situados en la zona norte del invernadero y de 2,3 y 1,9 para los situados en la zona sur. Las necrosis en el sistema radicular fueron más severas en las parcelas situadas en el perímetro del invernadero, sobre todo en el bloque situado en el sur de la zona sur del invernadero, siendo significativas ($P < 0,05$) las diferencias observadas entre éste bloque y los situados en la zona central del invernadero y entre los dos bloques situados en la zona norte del invernadero. También, para la producción total y comercial y para el número de frutos totales y comerciales recolectados, existieron diferencias significativas entre algunos de los bloques. La producción total media obtenida en los diferentes bloques del experimento fue de 5,5 y 5,3 kg planta⁻¹, para los situados en la zona sur del invernadero y de 3,8 y 2,9 kg planta⁻¹ para los situados en la zona norte, existiendo diferencias significativas entre los dos bloques situados al norte y los dos del sur y entre los dos bloques situados en la zona norte del invernadero. Lo mismo

ocurrió con la producción comercial, que en este caso, tomó valores de 5,1 y 5,0 kg planta⁻¹ para los situados en la zona sur del invernadero y de 3,6 y 2,8 kg planta⁻¹ para los situados en la zona norte. La interacción entre los factores, aislado y riego, no fue significativa.

También cuando las plantas se inocularon al inicio de la recolección, los dos inóculos de *P. aphanidermatum* utilizados ocasionaron síntomas. Solamente un pequeño porcentaje, (el 5,2 y 3,1%), respectivamente, de las plantas inoculadas con el aislado Py-10 y con Pymeza, mostraron necrosis en la base del tallo. Los primeros síntomas generalizados de la enfermedad, consistentes en la marchitez reversible de las hojas, se observaron a partir de los veintitrés días después de la inoculación. El porcentaje de plantas marchitas en la observación realizada a los 83 dds fue del 40,6% para las parcelas inoculadas con el aislado Py-10 y del 27,1% para las inoculadas con la mezcla de aislados, diferencias que no fueron significativas entre sí, pero sí lo fueron ambas con respecto a las del testigo no inoculado, en el cual no se observó ninguna planta marchita. Sólo el inóculo Py-10 fue capaz de ocasionar la muerte de algunas plantas (4,2%). También las plantas inoculadas con el hongo mostraron una apreciable necrosis del sistema radicular que se pudo observar cuando se finalizó el experimento. Las inoculadas con el aislado Py-10 y con la mezcla de aislados, mostraron índices de 2,3 y de 1,9, respectivamente. Diferencias estadísticamente significativas al compararlas con los observados en el testigo (0,3).

En relación a los resultados obtenidos sobre la producción de frutos, la patogenia del aislado Py-10 de *P. aphanidermatum*, se manifestó también por las mermas de cosecha producidas con respecto a la producción del testigo no inoculado. Las diferencias observadas entre la producción total y comercial de las parcelas inoculadas con Py-10, del 22,4 y 21,7%, respectivamente, respecto a las no inoculadas fueron estadísticamente significativas. Estas mermas de cosecha fue-

ron debidas a la diferencia entre el número de frutos producidos y al peso medio de éstos. Por el contrario, la reducción de la producción ocasionada por la mezcla de aislados PyMezcla fue del 8,2% para la producción total y del 6,5% para la producción comercial, mermas de cosecha que no fueron estadísticamente significativas respecto al testigo.

El riego no influyó en la severidad de los síntomas causados por *P. aphanidermatum*. Los porcentajes de plantas con síntomas de necrosis de hipocotilo fueron del 2,1 y 3,5%, el de plantas muertas del 1,4 y 1,4%, y el de plantas marchitas en la observación realizada a los 83 dds, del 25,7 y 19,4% para la dosis de riego normal y doble, respectivamente. Con respecto a la valoración de la necrosis del sistema radicular, las medias obtenidas mostraron valores de 1,5 con ambas dosis de riego. Como se puede observar en el Cuadro 2, el riego tampoco influyó en la producción total y comercial de frutos. Tampoco en este caso, la interacción entre los factores aislados y riego no fue significativa.

Con respecto al factor "bloques", el porcentaje de plantas marchitas varió con respecto a la situación de éstos dentro del invernadero. Los porcentajes de plantas que se encontraron marchitas en la observación realizada a los 83 dds fueron del 41,7 y 34,7% para los bloques situados en la zona sur del invernadero y del 12,5 y 1,4%, para los de la zona norte. Las diferencias fueron significativas entre el bloque situado al sur y los dos situados en la parte norte del invernadero. Algo similar ocurrió con las necrosis observadas en el sistema radicular, cuyos síntomas fueron más severos en el bloque sur que en el bloque situado en el sur de la zona norte del invernadero.

También, para las variables relativas a la producción de frutos, existieron diferencias significativas entre algunos de los bloques del experimento. La producción total media obtenida para los diferentes bloques del experimento fue de 5,5 y 5,1 kg planta⁻¹, para los situados en la zona sur del invernadero y de 3,9 y 3,0 kg planta⁻¹ para los situados en

la zona norte, existiendo diferencias significativas entre los bloques situados al norte y al sur, y entre los dos bloques situados en la zona norte del invernadero. Lo mismo ocurrió con la producción comercial, que en este caso, tomó valores de 5,2 y 4,8 para los situados en la zona sur del invernadero y de 3,8 y 2,8 para los situados en la zona norte.

b) Influencia en la gravedad de la enfermedad de la aplicación del fungicida propamocarb, bajo dos dosis de riego. Los resultados sobre la influencia de la aplicación del fungicida propamocarb bajo dos dosis de riego en la gravedad de la enfermedad causada por una mezcla de aislados de *P. aphanidermatum* se encuentran reflejados en los Cuadros 3 y 4. Los síntomas observados sobre las plantas inoculadas fueron similares a los observados en el experimento anterior.

Sobre plantas con cuatro hojas verdaderas, la necrosis en la base del tallo se observó en más del 45% de las plantas inoculadas. Un porcentaje de éstas mostró además un marchitamiento reversible, que en la observación realizada a los 83 dds alcanzó al 16,7%, valor estadísticamente significativo con respecto al del testigo no tratado, en el cual no se marchitó ninguna planta. El porcentaje de plantas muertas en las parcelas inoculadas al finalizar el experimento fue del 3,1%. En las plantas testigo no se observaron síntomas. Además las plantas inoculadas mostraron una apreciable necrosis del sistema radicular, que se pudo observar cuando se finalizó el experimento, mostrando un índice medio de 2,5, que fue significativamente superior al obtenido de 0,3 en el testigo.

Cuadro 3. Efectos de la aplicación del fungicida propamocarb bajo dos dosis de riego en la gravedad de la enfermedad causada por una mezcla de aislados de *Pythium aphanidermatum* sobre plantas de pepino cv. Nevada inoculadas con cuatro hojas verdaderas y al inicio de la recolección en otoño. Síntomas observados sobre las plantas del experimento. Las letras distintas, dentro de cada columna y factor, indican diferencias significativas ($P < 0,05$), según la prueba de la menor diferencia significativa

	Factores	Niveles	NH ^u (%)	PM ^v (%)	PS83 ^w (%)	NR ^x	
Plantas inoculadas con cuatro hojas verdaderas	Aislados	PyMezcla	46,4 a	3,1 a	16,7 a	2,5 a	
		Testigo	0,0 b	0,0 b	0,0 b	0,3 b	
	Riego	Normal	22,9 a	1,0 a	6,3 a	1,5 a	
		Doble	23,4 a	2,1 a	10,4 a	1,3 b	
	Fungicida	No Tratado	46,4 a	3,1 a	2,1 b	1,6 a	
		Tratado	0,0 b	0,0 b	14,6 a	1,2 b	
	Bloques	Sur/Sur	25,0 a	0,0 a	16,7 a	1,6 a	
		Norte/Sur	21,9 a	1,0 a	10,4 ab	1,3 bc	
		Sur/Norte	21,9 a	2,1 a	1,0 b	1,2 c	
		Norte/Norte	24,0 a	3,1 a	5,2 ab	1,5 ab	
	Plantas inoculadas al inicio de la recolección	Aislados	PyMezcla	1,6 a	0,0	14,6 a	1,5 a
			Testigo	0,0 a	0,0	0,0 b	0,3 b
Riego		Normal	0,0 a	0,0	7,8 a	0,9 a	
		Doble	1,6 a	0,0	6,8 a	0,9 a	
Fungicida		No Tratado	1,6 a	0,0	13,5 a	1,1 a	
		Tratado	0,0 a	0,0	1,0 a	0,7 a	
Bloques		Sur/Sur	2,1 a	0,0	14,6 a	1,2 a	
		Norte/Sur	1,0 a	0,0	9,4 ab	0,9 ab	
		Sur/Norte	0,0 a	0,0	5,2 ab	0,9 ab	
		Norte/Norte	0,0 a	0,0	0,0 b	0,8 b	

^u NH: Porcentaje de plantas con necrosis en la base del tallo. ^v PM: Porcentaje de plantas muertas. ^w PS83: Porcentaje de plantas marchitas a los 83 días después de la siembra. ^x NR: Valores promedio de severidad de necrosis del sistema radicular.

Cuadro 4. Efectos de la aplicación del fungicida propamocarb bajo dos dosis de riego en la gravedad de la enfermedad causada por una mezcla de aislados de *Pythium aphanidermatum* sobre plantas de pepino cv. Nevada inoculadas con cuatro hojas verdaderas y al inicio de la recolección en otoño. Valoración de la producción total y comercial. Las letras distintas, dentro de cada columna y factor, indican diferencias significativas ($P < 0,05$), según la prueba de la menor diferencia significativa

	Factores	Niveles	Pr. Total ^u	NFT ^v	PMFT ^w	Pr. Com. ^x	NFC ^y	PMFC ^z
Plantas inoculadas con cuatro hojas verdaderas	Aislados	PyMezcla	4,2 b	12,0 b	0,347 a	4,0 b	10,9 b	0,329 a
		Testigo	5,0 a	14,2 a	0,346 a	4,7 a	13,0 a	0,330 a
	Riego	Normal	4,6 a	13,0 a	0,351 a	4,4 a	12,0 a	0,335 a
		Doble	4,6 a	13,2 a	0,343 a	4,3 a	11,9 a	0,324 a
	Fungicida	No Tratado	4,5 a	12,9 a	0,345 a	4,3 a	12,2 a	0,326 a
		Tratado	4,7 a	13,2 a	0,349 a	4,5 a	11,7 a	0,333 a
	Bloques	Sur/Sur	6,0 a	16,4 a	0,366 a	5,7 a	14,9 a	0,347 a
		Norte/Sur	5,5 a	15,3 a	0,358 a	5,2 a	13,9 a	0,340 a
		Sur/Norte	4,0 b	12,0 b	0,331 b	3,8 b	11,0 b	0,312 b
		Norte/Norte	2,9 c	8,6 c	0,332 b	2,7 c	7,9 c	0,319 b
Plantas inoculadas al inicio de la recolección	Aislados	PyMezcla	4,8 a	14,2 a	0,345 a	4,5 a	12,2 a	0,324 a
		Testigo	5,0 a	13,6 a	0,346 a	4,7 a	13,0 a	0,330 a
	Riego	Normal	5,0 a	14,1 a	0,351 a	4,8 a	12,9 a	0,334 a
		Doble	4,7 b	13,7 a	0,341 a	4,4 b	12,4 a	0,320 a
	Fungicida	No Tratado	4,7 a	13,5 a	0,344 a	4,4 a	12,3 a	0,325 a
		Tratado	5,0 a	14,3 a	0,348 a	4,8 a	13,0 a	0,330 a
	Bloques	Sur/Sur	6,8 a	18,2 a	0,371 a	6,3 a	16,3 a	0,347 a
		Norte/Sur	5,7 b	16,4 b	0,349 b	5,4 b	14,9 a	0,331 b
		Sur/Norte	4,0 c	11,9 c	0,335 bc	3,8 c	11,0 b	0,321 bc
		Norte/Norte	3,0 d	9,2 d	0,328 c	2,9 d	8,2 c	0,309 c

^u Pr. Total: Producción Total (kg planta⁻¹). ^v N. F. T.: Número de frutos de la producción total. ^w P. M. F. T.: Peso medio de los de frutos de la producción total (kg). ^x Pr. Com.: Producción comercial (kg planta⁻¹). ^y N. F. C.: Número de frutos de la producción comercial. ^z P. M. F. C.: Peso medio de los de frutos de la producción total (kg).

En relación a los resultados obtenidos sobre la producción de frutos (Cuadro 4), la patogenia de *P. aphanidermatum* se manifestó también por las mermas de cosecha producidas con respecto a la producción del testigo no inoculado. Las diferencias observadas entre la producción total y comercial de las parcelas inoculadas con *P. aphanidermatum* y las no inoculadas fueron estadísticamente significativas. La mezcla de aislados (PyMezcla) disminuyó la producción total un 16,0% y la comercial en un 14,9%. Estas mermas de cosecha fueron debidas a la diferencia entre el número de frutos producidos y no al peso medio de éstos.

Para el factor riego, sólo se observaron diferencias significativas para la variable necrosis del sistema radicular (NR). Salvo con

esta excepción, el riego no influyó significativamente en la severidad del resto de los síntomas ocasionados por el patógeno. Los porcentajes de plantas con síntomas observados en las parcelas regadas con riego normal fueron: del 22,9% para la necrosis de hipocotilo, del 1,0% para la mortandad y del 6,3% para las plantas marchitas en la observación realizada a los 83 dds. Estos valores fueron muy similares a los obtenidos en las parcelas regadas con dosis doble, del 23,4% 2,1% y 10,4%, respectivamente. La necrosis del sistema radicular ocasionada por el hongo, fue mayor en la dosis normal de riego (con un índice medio de 1,5) que el observado en las plantas con doble dosis de riego (índice medio de 1,3). Diferencia que aunque no fue muy elevada, si fue estadísticamente significativa.

Con respecto al factor fungicida, el análisis de la varianza reveló diferencias significativas entre las parcelas no tratadas y las tratadas de forma sistemática con el fungicida, para todas las variables relativas a los síntomas observados. Y por el contrario, no reveló diferencias para aquellas que trataban de medir las mermas de producción ocasionadas por el patógeno. La aplicación sistemática del fungicida inhibió totalmente los síntomas de necrosis en la base del tallo y la muerte de las plantas inoculadas. Sin embargo, en las parcelas no tratadas, la necrosis se observó en el 46,4% de las plantas y la mortandad alcanzó al 3,1% de las plantas. Sorprendentemente, y a pesar de que la utilización del fungicida disminuyó la necrosis del sistema radicular, el porcentaje de plantas con marchitez a los 83 dds (del 14,6%), fue significativamente mayor en las parcelas tratadas con el fungicida que en las no tratadas, en las que sólo se marchitaron el 2,1% de las plantas.

En relación a los resultados obtenidos sobre la producción de frutos (Cuadro 4), la aplicación del fungicida no aumentó de forma significativa la producción total, ni la comercial. Por otra parte, la aplicación periódica del fungicida no ocasionó síntomas que pudieran ser atribuidos a una posible fitotoxicidad del pesticida ni tampoco disminuyó la producción de las plantas.

Con respecto al factor "bloques", se observaron diferencias significativas entre algunos de ellos para las variables: porcentaje de plantas marchitas a los 83 dds, valoración del sistema radicular (NR) y para todas las variables relativas a la producción. La marchitez reversible de las plantas varió con la situación de las plantas dentro del invernadero. El porcentaje de plantas marchitas observado en los diferentes bloques del experimento promedió el 16,7 y el 10,4%, para los situados en la zona sur del invernadero y del 1,0 y 5,2% para los situados en la zona norte, existiendo diferencias significativas entre el bloque situado en el sur de la zona sur del invernadero y el situado en el sur de la zona norte. Algo similar ocurrió

con respecto a las necrosis observadas en el sistema radicular. El índice de necrosis observado en los diferentes bloques del experimento fue de 1,6 y 1,3, para los situados en la zona sur del invernadero y de 1,2 y 1,5 para los situados en la zona norte, siendo las diferencias significativas entre el bloque situado en el sur de la zona sur del invernadero y los dos bloques centrales.

También, para la producción total y comercial y para el número de frutos totales y comerciales recolectados, existieron diferencias significativas entre algunos de los bloques del experimento. La producción total media obtenida en los diferentes bloques del experimento fue de 6,0 y 5,5 kg planta⁻¹, para los situados en la zona sur del invernadero y de 4,0 y 2,9 kg planta⁻¹ para los situados en la zona norte, existiendo diferencias significativas entre los bloques situados al norte y al sur, y entre los dos bloques situados en la zona norte del invernadero. Lo mismo ocurrió con la producción comercial, que en este caso, tomó valores de 5,7 y 5,2 para los situados en la zona sur del invernadero y de 3,8 y 2,7 para los situados en la zona norte. La interacción entre los factores aislado con riego, riego con fungicida y aislado con riego y fungicida no fue significativa para ninguna de las variables observadas. Por el contrario, sí fue significativa la interacción entre los factores aislados y fungicida para las variables relativas a los síntomas y no para las variables relativas a la productividad de las plantas.

Sobre plantas al inicio de la recolección, y a diferencia de lo que ocurrió cuando se inoculó en el estadio de cuatro hojas, la patogenicidad del hongo no se manifestó causando una generalizada necrosis en la base del tallo, ni tampoco ocasionando la muerte de las plantas, pero sin embargo, sí causó la marchitez de las plantas y necrosis en el sistema radicular. Solamente un 1,6% de las plantas inoculadas mostró síntomas necróticos en la base del tallo. Con respecto a las necrosis en el sistema radicular, las plantas inoculadas con PyMezcla mostraron índices medios de 1,5, mientras que en las plantas testigo el ín-

dice observado fue de 0,3. Esta necrosis pareció causar el marchitamiento reversible observado en el 14,6% de las plantas a los 83 dds, pero no ocasionó la muerte de ninguna de ellas. Las plantas del testigo no mostraron síntomas. La patogenia del hongo tampoco se manifestó reduciendo la productividad de las plantas. Las pequeñas diferencias observadas en relación a la producción total y comercial de frutos (Cuadro 4) no fueron significativas.

El riego no influyó en la severidad de los síntomas causados por *P. aphanidermatum*, pero sí en la productividad de las plantas. Las parcelas regadas con dosis doble de riego produjeron un 6% y 8,3% menos, para la producción total y comercial, respectivamente, que las regadas con la dosis normal.

La aplicación del fungicida disminuyó levemente algunos de los síntomas y aumentó, levemente también, la producción de las plantas, aunque esas pequeñas diferencias no fueron nunca significativas.

Algunos de los síntomas causados por el hongo estuvieron de nuevo influenciados por la disposición de las plantas dentro del invernadero. Los porcentajes de marchitez en los diferentes bloques del experimento fueron del 14,6 y 9,4% para los situados en la zona sur del invernadero y del 5,2 y 0,0% para los situados en la zona norte, existiendo diferencias significativas entre el bloque situado al sur de la zona sur y el situado al norte de la zona norte. Igualmente la severidad de las necrosis en el sistema radicular fue mayor en el bloque situado en el sur del invernadero, siendo las diferencias observadas con respecto al situado en el norte del invernadero, estadísticamente significativas.

También, para la producción total y comercial y para el número de frutos totales y comerciales recolectados, existieron diferencias significativas entre algunos de los bloques del experimento. La producción total media obtenida en los diferentes bloques del experimento fue de 6,8 y 5,7 kg planta⁻¹, para los situados en la zona sur del invernadero y de 4,0 y 3,0 kg planta⁻¹ para los situados en la zona norte, existiendo diferencias

significativas entre cada uno de los bloques. Lo mismo ocurrió con la producción comercial, con valores de 6,3 y 5,4 kg planta⁻¹ para los situados en la zona sur del invernadero y de 3,8 y 2,9 kg planta⁻¹ para los situados en la zona norte.

Al igual que ocurrió en el experimento sobre plantas con cuatro hojas verdaderas, las interacciones entre los factores aislado con riego, riego con fungicida y aislado con riego y fungicida no fueron significativas para ninguna de las variables observadas. Por el contrario, la interacción entre los factores aislados y fungicida fue significativa para las variables relativas a los síntomas y no para las relativas a la productividad de las plantas.

c) Patogenia de *Pythium aphanidermatum* e influencia de la edad de la planta en el momento de la inoculación. Los resultados sobre la patogenia de *P. aphanidermatum* y la influencia de la edad de la planta en el momento de la inoculación se muestran en los Cuadros 5 y 6 y en la Figura 2.

El poder patógeno de *Pythium* se manifestó con los dos inóculos utilizados, causando síntomas sobre las plantas. Sin embargo, algunos de éstos dependieron de la edad de éstas al inocular. Su evolución a lo largo de las diez observaciones realizadas queda reflejada en la Figura 2. El primer síntoma de la enfermedad, consistente en una necrosis en la base del tallo, se observó en las plantas inoculadas con cuatro hojas nueve días después de la inoculación (ddi). Por el contrario, el primer síntoma en las plantas inoculadas en recolección de frutos fue de marchitez y se observó a los 23 ddi. Como puede observarse, mientras que las plantas inoculadas con cuatro hojas verdaderas (Py104H y PyMezcla4H) mostraron en una alta proporción necrosis de la base del tallo, 100,0 y 91,7% con Py-10 y con PyMezcla, respectivamente, las inoculadas en recolección (Py10Rec y PyMezclaRec) apenas mostraron dicho síntoma, en el 6,2% de las plantas inoculadas con el aislado Py-10 y en ninguna de las inoculadas con la mezcla de aislados.

Cuadro 5. Patogenia de *Pythium aphanidermatum* e influencia de la edad de las plantas de pepino cv. Nevada en el momento de la inoculación en otoño. Síntomas observados sobre las plantas del experimento. Las letras distintas, dentro de cada columna y factor, indican diferencias significativas ($P<0,05$), según la prueba de la menor diferencia significativa

Aislados	Inoculación	NH ^u (%)	PM ^v (%)	PS83 ^w (%)	NR ^x
Py-10	4 Hojas	100,0 a	4,2 ab	2,1 b	2,8 a
	Recolección	6,2 b	4,2 ab	45,8 a	2,2 b
PyMezcla	4 Hojas	91,7 a	8,3 a	4,2 b	3,0 a
	Recolección	0,0 b	0,0 b	31,3 a	1,8 b
Testigo	No inoculado	0,0 b	0,0 b	0,0 b	0,6 c

^u NH: Porcentaje de plantas con necrosis en la base del tallo. ^v PM: Porcentaje de plantas muertas. ^w PS83: Porcentaje de plantas marchitas a los 83 días después de la siembra. ^x NR: Valores promedio de severidad de necrosis del sistema radicular.

Cuadro 6. Patogenia de *Pythium aphanidermatum* e influencia de la edad de las plantas de pepino cv. Nevada en el momento de la inoculación en otoño. Valoración de la producción total y comercial. Las letras distintas, dentro de cada columna y factor, indican diferencias significativas ($P<0,05$), según la prueba de la menor diferencia significativa

Aislados	Inoculación	Pr. Total ^u	NFT ^v	PMFT ^w	Pr. Com. ^x	NFC ^y	PMFC ^z
Py-10	4 Hojas	4,0 ab	11,6 ab	0,350 a	3,8 ab	10,6 ab	0,332 a
	Recolección	3,7 b	10,9 b	0,335 a	3,5 b	10,0 b	0,318 a
PyMezcla	4 Hojas	4,0 ab	11,5 ab	0,341 a	3,7 ab	10,3 ab	0,323 a
	Recolección	4,8 a	13,5 a	0,352 a	4,6 a	12,4 ab	0,336 a
Testigo	No inoculado	4,8 a	13,9 a	0,343 a	4,5 a	12,6 a	0,324 a

^u Pr. Total: Producción Total (kg planta⁻¹). ^v N. F. T.: Número de frutos de la producción total. ^w P. M. F. T.: Peso medio de los de frutos de la producción total (kg). ^x Pr. Com.: Producción comercial (kg planta⁻¹). y N. F. C.: Número de frutos de la producción comercial. ^z P. M. F. C.: Peso medio de los de frutos de la producción total (kg).

A partir de los 61 dds, algunas de las plantas inoculadas mostraron una marchitez reversible. El porcentaje de plantas marchitas fue en ese momento mayor en las parcelas inoculadas con cuatro hojas que en las inoculadas en recolección. La manifestación de este síntoma disminuyó en la observación que se realizó ocho días después y aumentó de forma importante dos semanas más tarde, aunque sólo en las plantas inoculadas en recolección. Las diferencias observadas entre los porcentajes de marchitez en plantas inoculadas con cuatro hojas y al inicio de la recolección, en las observaciones realizadas a los 61 y 83 dds, fueron estadísticamente significativas. En la observación

realizada a los 83 dds se encontraron marchitas el 31,3 y 45,8% de las plantas inoculadas en recolección con el aislado Py-10 y con la mezcla de aislados, respectivamente. Por el contrario en las parcelas inoculadas con cuatro hojas sólo se marchitaron el 4,2 y 2,1%, también para ambos inóculos respectivamente. Asimismo, el porcentaje de marchitez a los 83 dds, varió con los diferentes bloques diseñados para el experimento. En la zona norte del invernadero se marchitaron el 7,3% de las plantas, mientras que en la zona sur del mismo lo hicieron el 34,4%. Los porcentajes de plantas con marchitez observados en los diferentes bloques del experimento fueron del 39,6 y 29,2% para los

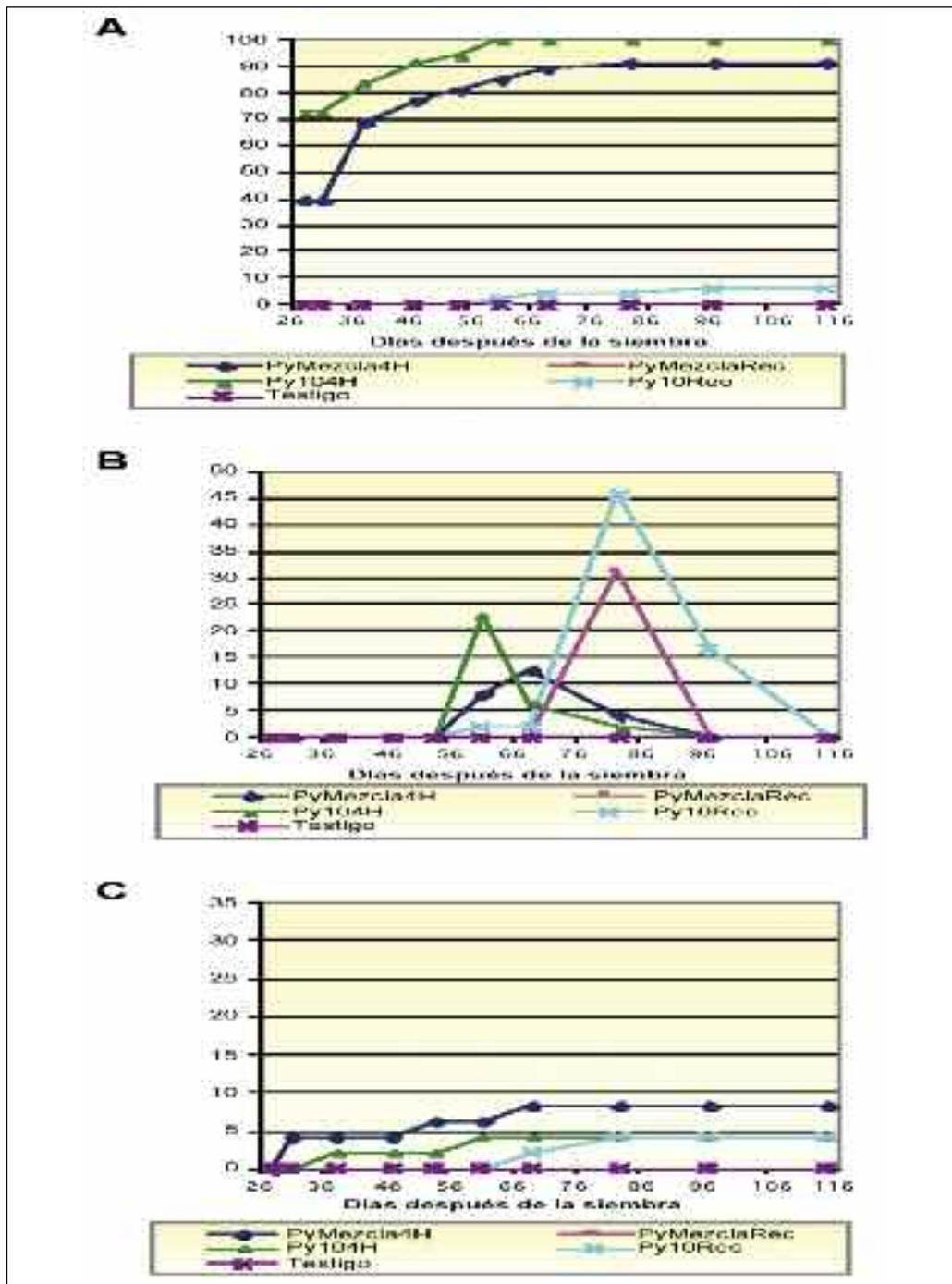


Figura 2. Patogenia de *Pythium aphanidermatum* e influencia de la edad de la planta en el momento de la inoculación. Progreso temporal de síntomas (%): de plantas con necrosis de hipocotilo (A), con marchitez (B) y muertas (C)

bloques situados en la zona sur del invernadero y del 12,5 y 2,1% para los situados en la zona norte, existiendo diferencias significativas para éste síntoma entre el bloque situado al norte de la zona norte y el situado al sur de la zona sur del invernadero (datos no mostrados).

La mortandad observada en las parcelas inoculadas con *P. aphanidermatum* fue muy reducida, alcanzando al 4,2 y 8,3% para las plantas inoculadas con cuatro hojas y al 4,2 y 0%, para las inoculadas en recolección, con el aislado Py-10 y con la mezcla de aislados, ambos respectivamente. Como puede observarse en el Cuadro 5, solamente fueron significativas las diferencias entre las plantas inoculadas con la mezcla de aislados en el estadio de cuatro hojas y las testigos. Las plantas no inoculadas no mostraron síntomas aéreos.

La patogenicidad de los dos inóculos de *Pythium* se manifestó también por las necrosis provocadas en el sistema radicular. Todas las parcelas inoculadas con el hongo, independientemente del tipo de inóculo utilizado y del estado de la planta al inocular, manifestaron necrosis importantes en la raíces en comparación con los testigos no inoculados. Pero además, las plantas inoculadas con cuatro hojas verdaderas, con índices de 2,8 y 3,0, mostraron una necrosis radicular más grave que las inoculadas al inicio de la recolección de frutos, que mostraron índices de 2,2 y 1,8, para el aislado Py-10 y para la mezcla de aislados, ambos respectivamente. El índice obtenido en las parcelas no inoculadas fue del 0,6.

Los resultados obtenidos sobre la producción de frutos se encuentran reflejados en el Cuadro 6. Las plantas de las parcelas inoculadas en el estadio de cuatro hojas produjeron un promedio de 4,0 kg planta⁻¹, mientras que las inoculadas al inicio de la recolección produjeron 3,7 y 4,8 kg planta⁻¹ con el aislado Py-10 y con PyMezcla, respectivamente. A pesar de las sensibles mermas de producción ocasionadas por el patógeno cuando se inoculó en un estadio precoz, próximas al 17%, solamente el aislado Py-10 cuando se

inoculó sobre plantas al inicio de la recolección redujo significativamente la producción total y comercial de frutos con respecto al testigo no inoculado. Las mermas de cosecha provocadas por el aislado Py-10 cuando se inoculó en recolección fueron del 22,9 y del 23,9% para la producción total y comercial, respectivamente. En ambos casos estas diferencias fueron debidas al número de frutos recolectados y no al peso medio de los mismos.

d) Patogenicidad de *Pythium aphanidermatum* e influencia de la dosis de riego y del cultivar en la gravedad de la enfermedad.

Los resultados sobre la patogenicidad de *P. aphanidermatum* y la influencia de la dosis de riego y del cultivar en la gravedad de la enfermedad se encuentran reflejados en los Cuadros 7 y 8. La recolección de frutos comenzó el 7 de noviembre a los 42 días después de la siembra. Se practicaron un total de 20 recolecciones, realizándose la última la primera semana de enero.

Sobre plantas con cuatro hojas PyMezcla causó los síntomas típicos de la enfermedad. Al final del experimento, la necrosis en la base del tallo se observó en el 80,6% de las plantas inoculadas. Un porcentaje de éstas mostró también un marchitamiento reversible que en la observación realizada a los 76 dds afectó al 15,3%. El porcentaje de plantas muertas en las parcelas inoculadas alcanzó el 9,7%. Además, las plantas inoculadas con el hongo mostraron una apreciable necrosis del sistema radicular, que alcanzó un índice medio de 3,2, significativamente y estadísticamente superior al valor obtenido en el testigo de 0,8. Las plantas testigo no mostraron síntomas generalizados. Como en los experimentos anteriores, el poder patógeno de *P. aphanidermatum* se manifestó también por las mermas de cosecha producidas con respecto a la producción del testigo no inoculado, disminuyendo la producción total un 19,6% y la comercial un 20,0%. Diferencias que fueron estadísticamente significativas, y que se debieron al número de frutos producidos y no al peso medio de éstos.

Cuadro 7. Influencia del cultivar y de dos dosis de riego en la gravedad de la enfermedad causada por una mezcla de aislados de *Pythium aphanidermatum* sobre plantas de pepino inoculadas con cuatro hojas verdaderas y al inicio de la recolección en otoño. Síntomas observados sobre las plantas del experimento. Las letras distintas, dentro de cada columna y factor, indican diferencias significativas ($P < 0,05$), según la prueba de la menor diferencia significativa

Factores		Niveles	NH ^u (%)	PM ^v (%)	PS83 ^w (%)	NR ^x	
Aislados	PyMezcla		80,6 a	9,7 a	15,3 a	3,2 b	
	Testigo		0,0 b	0,0 b	0,0 b	0,8 a	
Riego	Normal		41,3 a	5,9 a	4,9 a	2,0 a	
	Doble		39,2 a	3,8 a	10,4 a	2,0 a	
Plantas inoculadas con cuatro hojas verdaderas	Cultivar	Nevada	39,1 a	0,5 b	9,9 a	1,9 a	
		Virginia	41,7 a	10,4 a	9,9 a	2,1 a	
		Marumba	40,1 a	3,6 b	3,1 a	2,0 a	
	Bloques	Sur/Sur	45,1 a	9,7 a	17,4 a	2,2 a	
		Norte/Sur	43,8 a	4,9 ab	5,6 b	1,9 b	
		Sur/Norte	36,8 b	3,5 b	5,6 b	2,0 b	
		Norte/Norte	35,4 b	1,4 b	2,1 b	1,9 b	
	Aislados	PyMezcla		14,9 a	11,8 a	35,1 a	2,6 a
		Testigo		0,0 b	0,0 b	0,0 b	0,8 b
	Riego	Normal		6,9 a	6,9 a	17,7 a	1,7 a
Doble			7,9 a	4,9 a	17,4 a	1,7 a	
Plantas inoculadas al inicio de la recolección	Cultivar	Nevada	5,2 a	4,7 a	21,4 a	1,6 a	
		Virginia	8,3 a	7,3 a	14,6 a	1,7 a	
		Marumba	8,9 a	5,7 a	16,7 a	1,8 a	
	Bloques	Sur/Sur	18,8 a	14,6 a	36,1 a	2,1 a	
		Norte/Sur	3,5 b	7,6 ab	22,2 ab	1,5 b	
		Sur/Norte	4,9 b	1,4 b	7,6 bc	1,8 ab	
		Norte/Norte	2,8 b	0,0 b	4,2 c	1,5 b	

^u NH: Porcentaje de plantas con necrosis en la base del tallo. ^v PM: Porcentaje de plantas muertas. ^w PS76: Porcentaje de plantas marchitas a los 76 días después de la siembra. ^x NR: Valores promedio de severidad de necrosis del sistema radicular.

El riego no influyó en la severidad de los síntomas ocasionados por el patógeno. Los porcentajes de plantas con síntomas observados en las parcelas con riego simple fueron del 41,3% para la necrosis de hipocotilo, del 5,9% para el de plantas muertas y del 4,9% para el de marchitez en la observación realizada a los 76 dds. Valores similares a los obtenidos en las parcelas regadas con dosis doble, del 39,2, 3,8 y 10,4% para esos mismos síntomas, respectivamente. Los índices de necrosis en el sistema radicular fueron idénticos para las dos dosis de riego. La producción total y comercial de frutos fue algo mayor en las parcelas regadas con doble dosis de riego, aunque las diferencias, de 0,2 kg planta⁻¹ tanto para la producción

total como para la comercial, y que se debieron a un aumento del peso medio de los frutos, no fueron estadísticamente significativas.

Los síntomas causados por *Pythium* fueron similares en los tres cultivares inoculados. Al término del experimento, la necrosis en la base del tallo se observó en valores en torno al 40% de las plantas para los tres cultivares ensayados. Un pequeño porcentaje de éstas mostró también un marchitamiento reversible, que en la observación realizada a los 76 dds, afectó a los tres cultivares en porcentajes comprendidos entre el 3,1 y el 9,9%. El porcentaje de plantas muertas en las parcelas del cultivar Virginia del 10,4%, fue mayor que la causada en las de los culti-

Cuadro 8. Influencia del cultivar y de dos dosis de riego en la gravedad de la enfermedad causada por una mezcla de aislados de *Pythium aphanidermatum* sobre plantas de pepino inoculadas con cuatro hojas verdaderas y al inicio de la recolección en otoño. Valoración de la producción total y comercial. Las letras distintas, dentro de cada columna y factor, indican diferencias significativas ($P < 0,05$), según la prueba de la menor diferencia significativa

	Factores	Niveles	Pr. Total ^U	NFT ^V	PMFT ^W	Pr. Com. ^X	NFC ^Y	PMFC ^Z	
Plantas inoculadas con cuatro hojas verdaderas	Aislados	PyMezcla	4,1 b	10,8 b	0,376 a	4,0 b	10,7 b	0,371 a	
		Testigo	5,1 a	13,6 a	0,374 a	5,1 a	13,6 a	0,379 a	
	Riego	Normal	4,5 a	12,1 a	0,371 b	4,5 a	12,0 a	0,371 b	
		Doble	4,7 a	12,4 a	0,378 a	4,7 a	12,3 a	0,379 a	
	Cultivar	Nevada	4,8 a	12,7 a	0,378 a	4,8 a	12,6 a	0,378 a	
		Virginia	4,4 b	11,7 b	0,378 a	4,4 b	11,6 b	0,378 a	
		Marumba	4,5 ab	12,3 ab	0,369 b	4,5 ab	12,3 ab	0,369 b	
	Bloques	Sur/Sur	4,7 a	11,9 b	0,398 a	4,7 a	11,8 b	0,398 a	
		Norte/Sur	4,7 a	12,1 ab	0,376 b	4,5 ab	12,1 ab	0,376 b	
		Sur/Norte	4,6 a	12,8 a	0,367 c	4,7 ab	12,7 a	0,367 c	
			Norte/Norte	4,4 a	12,2 ab	0,359 c	4,3 b	12,1 ab	0,359 c
	Plantas inoculadas al inicio de la recolección	Aislados	PyMezcla	4,6 b	12,5 b	0,371 a	4,6 b	12,4 b	0,371 a
Testigo			5,1 a	13,6 a	0,374 a	5,1 a	13,6 a	0,374 a	
Riego		Normal	4,8 a	13,0 a	0,370 a	4,8 a	12,9 a	0,370 a	
		Doble	4,9 a	13,1 a	0,375 a	4,9 a	13,1 a	0,375 a	
Cultivar		Nevada	5,0 a	13,0 a	0,378 a	4,9 a	13,0 a	0,379 a	
		Virginia	4,9 a	13,2 a	0,373 ab	4,9 a	13,1 a	0,373 ab	
		Marumba	4,8 a	13,0 a	0,367 b	4,7 a	12,9 a	0,367 b	
Bloques		Sur/Sur	5,1 a	12,8 bc	0,401 a	5,1 a	12,7 bc	0,401 a	
		Norte/Sur	5,0 a	13,4 ab	0,375 b	5,0 a	13,3 ab	0,376 b	
		Sur/Norte	4,9 a	13,6 a	0,363 c	4,9 a	13,5 a	0,363 c	
			Norte/Norte	4,4 b	12,5 c	0,352 d	4,4 b	12,5 c	0,352 d

^U Pr. Total: Producción Total (kg planta⁻¹). ^V N. F. T.: Número de frutos de la producción total. ^W P. M. F. T.: Peso medio de los de frutos de la producción total (kg). ^X Pr. Com.: Producción comercial (kg planta⁻¹). ^Y N. F. C.: Número de frutos de la producción comercial. ^Z P. M. F. C.: Peso medio de los de frutos de la producción total (kg).

vares Nevada y Marumba, del 0,5 y 3,6%, respectivamente. Los índices de necrosis en el sistema radicular fueron muy similares en los tres cultivares ensayados. Aunque no era uno de los objetivos perseguidos, el cultivar Nevada resultó, en las condiciones en la que se desarrolló el experimento, el más productivo. La producción fue de 4,8, 4,4 y 4,5 kg planta⁻¹ para los cultivares Nevada, Virginia y Marumba, respectivamente. Diferencias que fueron significativas entre los cvs. Nevada y Virginia y que se debieron al número de frutos producidos y no al peso medio de éstos. A diferencia de lo ocurrido en experimentos anteriores, las diferencias para la producción total de los diferentes bloques del experimento no fueron estadísticamente

significativas, aunque sí lo fueron para la producción comercial entre algunos de ellos, diferencias que fueron debidas al número de frutos producidos y al peso medio de éstos.

La interacción entre los factores aislados y cultivares fue significativa para la mayoría de las variables analizadas. Sin embargo, las interacciones entre los factores: aislados y riego, riego y cultivar, y la triple interacción aislados, riego y cultivar no fueron significativas para ninguna de las variables.

Sobre plantas al inicio de la recolección, PyMezcla causó sobre las plantas inoculadas los síntomas típicos de la enfermedad. Como ocurrió en un experimento anterior, solamente un bajo porcentaje, el 14,9% de

las plantas inoculadas mostraron necrosis en la base del tallo. Los primeros síntomas de marchitez reversible de las hojas se observaron a los catorce días de la inoculación. El porcentaje medio de plantas marchitas en la observación realizada a los 76 dds fue del 35,1%. En el testigo no se observó ninguna planta marchita y las diferencias observadas entre ambos tratamientos fueron estadísticamente significativas. El porcentaje de plantas muertas contabilizado en las parcelas inoculadas alcanzó al término del experimento el 11,8%, valor que fue estadísticamente significativo al compararlo con el obtenido en el testigo no inoculado. También las plantas inoculadas con el hongo mostraron una apreciable necrosis del sistema radicular, mostrando un índice medio de 2,6, que fue significativamente superior al valor obtenido en el testigo (0,8).

Como en los experimentos anteriores, *P. aphanidermatum* redujo la producción de frutos con respecto al testigo no inoculado. Las mermas de cosecha observadas, del 9,8% tanto para la producción total como para la comercial, fueron estadísticamente significativas. Mermas de cosecha que fueron debidas a la diferencia entre el número de frutos producidos.

El riego no influyó en la severidad de los síntomas ocasionados por el patógeno. Los porcentajes de plantas con síntomas observados en las parcelas regadas con la dosis normal de riego fueron: del 6,9% tanto para el de necrosis de hipocotilo, como el de plantas muertas, y del 17,7% para las plantas marchitas en la observación realizada a los 76 dds. Valores que fueron muy similares a los obtenidos en las parcelas regadas con dosis doble, del 7,9%, del 4,9% y del 17,4% para esos mismos síntomas, respectivamente. Los índices de necrosis en el sistema radicular fueron idénticos, de 1,7, para las dos dosis de riego. La producción total y comercial de frutos fue algo mayor en las parcelas regadas con doble dosis de riego, aunque las diferencias, de 0,1 kg planta⁻¹ tanto para la producción total como para la comercial, no fueron estadísticamente signi-

ficativas. Con respecto a los cultivares ensayados, los porcentajes de plantas con los diferentes síntomas de la enfermedad fueron muy similares. Al término del experimento, la necrosis en la base del tallo se observó en el 5,2, 8,3 y 8,9%, de las plantas de los cultivares Nevada, Virginia y Marumba, respectivamente. Un discreto porcentaje de éstas mostró también un marchitamiento reversible que en la observación realizada a los 76 dds, afectó a los tres cultivares en porcentajes comprendidos entre el 14,6 y 21,4%. Los porcentajes de mortandad en las parcelas inoculadas al finalizar el experimento fueron del 4,7, 7,3 y 5,7% para los cultivares Nevada, Virginia y Marumba, respectivamente, sin que existieran entre ellos diferencias estadísticamente significativas. Los índices de las necrosis observadas en el sistema radicular, comprendidos entre los valores 2,2 y 2,4, fueron también muy similares en los tres cultivares inoculados. La producción total en los cultivares Nevada Virginia y Marumba fue de 4,8, 4,4 y 4,5 kg planta⁻¹, respectivamente. Diferencias que no fueron significativas.

La situación de los bloques en el invernadero influyó en la severidad de los síntomas ocasionados por el patógeno. Los porcentajes de plantas con síntomas de necrosis en la base del tallo fueron del 18,8% para el bloque situado en el sur de la zona sur del invernadero, mientras que para los otros tres bloques esos síntomas sólo se observaron en porcentajes comprendidos entre el 2,8 y 4,9%. También los de plantas marchitas a los 76 dds fueron del 36,1% en el bloque situado en el sur de la zona sur del invernadero, del 22,2% en situado en el norte de la zona sur del invernadero, y muy inferiores para los dos de la zona norte. El porcentaje de mortandad al término del experimento también varió con la situación de las parcelas elementales. Los porcentajes de plantas muertas fueron del 14,6% para el bloque situado en el sur de la zona sur del invernadero y del 7,6 y 1,4% para los bloques situados en el norte de la zona sur y en el sur de la zona norte, respectivamente. En el situa-

do en el norte de la zona norte del invernadero no murió ninguna planta. Algo similar ocurrió también con respecto a las necrosis observadas en el sistema radicular, cuyos síntomas fueron más severos en el bloque sur que en el resto de los bloques. De forma general y con respecto a éstos cuatro síntomas principales constituyentes del síndrome de la enfermedad, existieron diferencias significativas entre los valores obtenidos en el bloque situado al sur de la zona sur del invernadero y los obtenidos para los restantes tres bloques. Para las variables relativas a la producción de frutos existieron igualmente diferencias. La producción total media obtenida para los diferentes bloques del experimento fue de 5,1 y 5,0 kg planta⁻¹, para los situados en la zona sur del invernadero y de 4,9 y 4,4 kg planta⁻¹ para los situados en la zona norte, existiendo diferencias significativas sólo entre el bloque situado al norte de la zona norte y los otros tres bloques. Lo mismo ocurrió con la producción comercial, que tomó en este caso los mismos valores que la producción total, debido a la casi prácticamente nula producción de frutos de destrío. En este caso las diferencias de producción observadas fueron debidas tanto al número de frutos como al peso medio de éstos. Las interacciones entre los factores aislado y riego, aislado y cultivar, riego y cultivar, y la triple interacción aislado riego y cultivar no fueron significativas para ninguna de las variables observadas.

2. En primavera

Patogenia de *Pythium aphanidermatum* en cultivo de primavera e influencia de la aplicación del fungicida propamocarb y de la repetición del sustrato en la gravedad de la enfermedad. Los resultados sobre la patogenia de *P. aphanidermatum* en cultivo de primavera, la eficacia de la aplicación del fungicida propamocarb y la influencia de la repetición de uso del sustrato en la gravedad de la enfermedad se muestran en los Cuadros 9 y 10 y en la Figura 3.

P. aphanidermatum causó síntomas generalizados en las plantas de las parcelas inoculadas con PyMezcla y de los sacos reutilizados y contaminados. Los primeros síntomas de la enfermedad, de necrosis en la base del tallo y muerte de las plantas, se observaron a finales de abril a los 49 ddi, en las parcelas con sacos de sustrato nuevos inoculados con PyMezcla. En éstas, la necrosis del tallo se observó al término del experimento en el 6,9% de las plantas, mientras que se observó en el 1,4% de las cultivadas sobre sacos reutilizados contaminados y no tratados con fungicida (PyMezcla2°Cul.). El porcentaje de plantas muertas observado en las parcelas inoculadas con *P. aphanidermatum* fue del 11,1% en las parcelas con sacos nuevos inoculados y del 20,83% en las parcelas con sacos reutilizados contaminados y no tratados con el fungicida, siendo las diferencias entre éstos tratamientos y el resto, estadísticamente significativas. Ninguna de las plantas cultivadas sobre los sacos tratados con el fungicida (PyMezcla2°CulFun.) o sobre los sacos no inoculados (Testigo y Testigo2°Cul.) mostraron estos síntomas.

La patogenia del hongo se manifestó también por las necrosis ocasionadas en el sistema radicular. Todas las parcelas infectadas con el hongo manifestaron necrosis importantes en la raíces en comparación con los testigos no inoculados. Como puede observarse en el Cuadro 9, las necrosis observadas en el sistema radicular, con índices de 3,6 para las parcelas con sacos nuevos (PyMezcla) y de 3,3 para las realizadas con sacos reutilizados (PyMezcla2°Cul.), fueron bastante más importantes en las parcelas contaminadas con *P. aphanidermatum* y no tratadas con fungicida que en las parcelas testigo, con índices de 0,6 y de 0,4, para las parcelas con sacos nuevos y reutilizados, respectivamente.

La recolección de frutos comenzó a los 62 dds, practicándose un total de 22 recolecciones y realizándose la última el 25 de mayo. Los datos sobre las producciones totales y comerciales acumuladas se encuen-

Cuadro 9. Influencia de la reutilización del sustrato y de la aplicación del fungicida propamocarb en la gravedad de la enfermedad causada *Pythium aphanidermatum* sobre plantas de pepino cv. Nevada en primavera. Síntomas observados sobre las plantas del experimento. Las letras distintas, dentro de cada columna y factor, indican diferencias significativas ($P < 0,05$), según la prueba de la menor diferencia significativa

Tratamientos	NH ^u (%)	PM ^v (%)	NR ^w
Testigo	0,0 b	0,0 b	0,6 d
PyMezcla	6,9 a	11,1 a	3,6 a
PyMezcla2°CulFun.	0,0 b	0,0 b	2,9 c
Testigo2°Cul.	0,0 b	0,0 b	0,4 d
PyMezcla2°Cul.	1,4 b	20,8 a	3,3 b

Los códigos reflejan las variables siguientes: Testigo no inoculado sobre sacos nuevos (Testigo); Cultivo sobre sacos nuevos inoculados con *P. aphanidermatum*. (PyMezcla); Cultivo sobre sacos viejos inoculados con *P. aphanidermatum* y tratados periódicamente con el fungicida (PyMezcla2°CulFun.); Testigo no inoculado sobre sacos usados en la campaña anterior (Testigo2°Cul.); Cultivo sobre sacos viejos e inoculados con *P. aphanidermatum* en la anterior campaña (PyMezcla2°Cul.).

^u NH: Porcentaje de plantas con necrosis en la base del tallo. ^v PM: Porcentaje de plantas muertas. ^w NR: Valores promedio de severidad de necrosis del sistema radicular.

Cuadro 10. Influencia de la reutilización del sustrato y de la aplicación del fungicida propamocarb en la gravedad de la enfermedad causada *Pythium aphanidermatum* sobre plantas de pepino cv. Nevada en primavera. Valoración de la producción total y comercial. Las letras distintas, dentro de cada columna y factor, indican diferencias significativas ($P < 0,05$), según la prueba de la menor diferencia significativa

Aislados	Pr. Total ^u	NFT ^v	PMFT ^w	Pr. Com. ^x	NFC ^y	PMFC ^z
Testigo	7,0 a	18,9 a	0,370 ab	6,3 a	16,0 a	0,394 ab
PyMezcla	5,2 bc	14,2 bc	0,360 b	4,7 bc	12,4 bc	0,382 cd
PyMezcla2°CulFun.	5,7 b	15,3 b	0,370 ab	5,3 b	13,6 b	0,389 bc
Testigo2°Cul.	6,8 a	18,0 a	0,380 a	6,1 a	15,2 a	0,402 a
PyMezcla2°Cul.	5,0 c	13,7 c	0,360 c	4,6 c	12,2 c	0,377 d

Los códigos reflejan las variables siguientes: Testigo no inoculado sobre sacos nuevos (Testigo); Cultivo sobre sacos nuevos inoculados con *P. aphanidermatum*. (PyMezcla); Cultivo sobre sacos viejos inoculados con *P. aphanidermatum* y tratados periódicamente con el fungicida (PyMezcla2°CulFun.); Testigo no inoculado sobre sacos usados en la campaña anterior (Testigo2°Cul.); Cultivo sobre sacos viejos e inoculados con *P. aphanidermatum* en la anterior campaña (PyMezcla2°Cul.).

^u Pr. Total: Producción Total (kg planta⁻¹). ^v N.F.T.: Número de frutos de la producción total. ^w P.M.F.T.: Peso medio de los de frutos de la producción total (kg). ^x Pr. Com.: Producción comercial (kg planta⁻¹). ^y N.F.C.: Número de frutos de la producción comercial. ^z P.M.F.C.: Peso medio de los de frutos de la producción total (kg).

tran reflejados en el Cuadro 10. El poder patógeno de *P. aphanidermatum* se manifestó también por las mermas de cosecha producidas con respecto a la producción de los respectivos testigos no inoculados. El aislado PyMezcla disminuyó la producción total un 25,7% y la comercial un 25,4%, al compararlo con el testigo sobre sacos nuevos no inoculados. Las mermas de cosecha obser-

vadas en los sacos reutilizados y contaminados con respecto a los reutilizados y no contaminados fueron del 26,5% para la producción total y del 24,6% para la comercial.

La utilización del fungicida (PyMezcla2°CulFun.) aumentó la producción total con respecto a su homólogo no tratado (PyMezcla2°Cul.) un 12,3%, y la comercial un 13,2%. Sin embargo su uso no fue capaz de

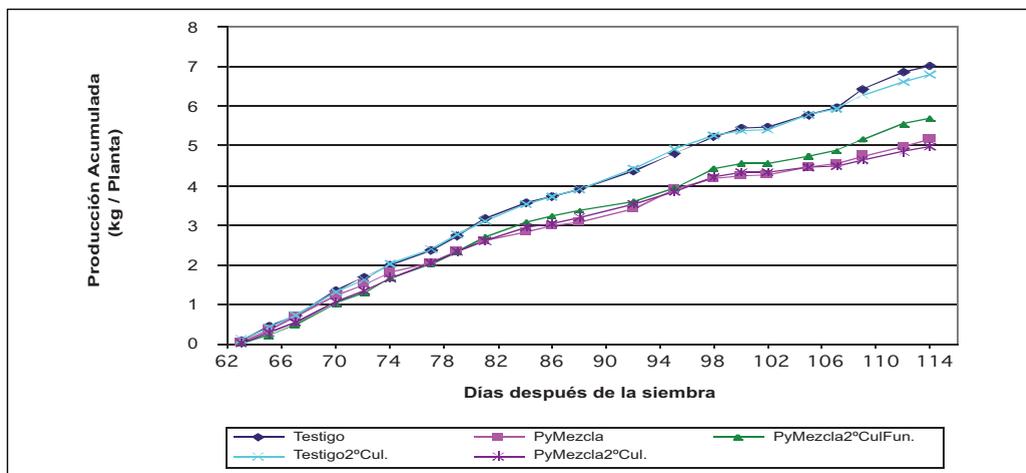


Figura 3. Influencia de la reutilización del sustrato y de la aplicación del fungicida propamocarb en la severidad de la enfermedad causada por *P. aphanidermatum* sobre plantas de pepino cv. Nevada en primavera. Evolución de la producción total acumulada, en parcelas con sacos nuevos de sustrato (Testigo), con sacos nuevos inoculados (PyMezcla), sobre sacos contaminados de un cultivo anterior tratados (PyMezcla2°CulFun.) y no tratados con fungicida (PyMezcla2°Cul.) y sobre parcelas no inoculadas en sacos de segundo cultivo (Testigo2°Cul.)

impedir totalmente la acción del patógeno, ya que las parcelas con sacos contaminados tratadas con el fungicida produjeron un 16,2% y 13,1% menos, para la producción total y comercial, respectivamente, que las parcelas de sacos reutilizados y no contaminados. Las mermas de cosecha fueron debidas a las diferencias entre el número de frutos producidos y al peso medio de éstos.

Por otra parte, las producciones obtenidas en las parcelas con sacos nuevos o reutilizados no contaminados con el patógeno fueron muy similares. Con sacos nuevos, las producciones totales y comerciales fueron de 7,0 y de 6,3 kg planta⁻¹, mientras que en los sacos reutilizados fueron de 6,8 y 6,1 kg planta⁻¹, ambos respectivamente.

DISCUSIÓN

El poder patógeno de *P. aphanidermatum* sobre plantas adultas se puso de manifiesto en todos los experimentos realizados. Los síntomas causados, de necrosis de la base del tallo, marchitamiento de las hojas, ne-

crosis del sistema radicular y muerte de las plantas, coinciden con los observados en los invernaderos prospectados y con los descritos por otros investigadores para otras áreas y sistemas de cultivo (MESSIAEN y LAFON, 1970; RODRÍGUEZ, 1978; BLANCARD *et al.*, 1991). Los dos inóculos utilizados en nuestros experimentos, el aislado Py-10 y la mezcla de ocho aislados, mostraron una agresividad parecida, causando síntomas en un alto porcentaje de las plantas inoculadas. A pesar de que no causaron una mortandad muy elevada cuando se inocularon en otoño, ambos produjeron una significativa merma de la producción. La mortandad observada parece coincidir en buena medida con las estimaciones de la enfermedad obtenidas en las prospecciones de campo, donde el porcentaje de plantas muertas observado alcanzó en casos aislados al 7%.

El síntoma de necrosis en la base del tallo, observado generalmente a partir de los diez días posteriores a la inoculación, dependió del estadio de la planta al inocular. Mientras que las plantas inoculadas con cuatro hojas verdaderas mostraron mayoritariamente ne-

crisis de la base del tallo, las plantas inoculadas al iniciar la recolección de frutos no mostraron, por lo menos de forma masiva, dicho síntoma. Tras la inoculación, las plantas de las parcelas inoculadas con cuatro hojas verdaderas parecieron crecer más lentamente que las otras, mostrando menor vigor, tamaño de hojas y volumen foliar. Por el contrario, un porcentaje, en ocasiones importante, de las plantas inoculadas con *P. aphanidermatum* al inicio de la recolección mostraron un marchitamiento reversible. Marchitamiento, que fue más o menos grave y generalizado, según días y momentos del día, pareciendo depender de la temperatura del ambiente y de la radiación solar. Una hipótesis para explicar estas diferencias entre los síntomas, sería que al inocularse las plantas con cuatro hojas, el sistema radicular resulta precozmente infectado y parcialmente necrosado por el patógeno, formándose una planta con biomasa reducida en comparación con las plantas no inoculadas, y manteniendo un equilibrio entre su sistema radicular necrosado y su volumen foliar. Este equilibrio también se da en las plantas no inoculadas, con un sistema radicular sin necrosis, dando lugar a plantas de mayor crecimiento, vigor y volumen foliar. Equilibrio que se altera, cuando las plantas se inoculan al comienzo de la recolección de los primeros frutos y el patógeno produce la necrosis parcial del sistema radicular.

En aquellos experimentos en los que los porcentajes de marchitez fueron moderados o elevados, se pudo observar que éstos variaron con respecto a la situación de los diferentes bloques del experimento, sobre todo entre el bloque situado más al sur y los dos situados en la parte norte del invernadero. Estas diferencias estuvieron correlacionadas con las diferencias de radiación solar observadas entre los diferentes bloques diseñados para el experimento (GÓMEZ, sin publicar). El poder patógeno de *P. aphanidermatum* se manifestó siempre por las necrosis que ocasionó en el sistema radicular. Todas las parcelas inoculadas con el hongo, independientemente del aislado utilizado, de

la dosis de riego, del estadio de las plantas en el momento de la inoculación, o de que estuviesen o no tratadas con el fungicida, manifestaron necrosis importantes de las raíces, en comparación con sus respectivos testigos no inoculados. Sin embargo, y aunque aquéllas fueron en ocasiones muy importantes, no siempre se tradujeron en síntomas generalizados de las plantas como por ejemplo, la marchitez de las mismas. La severidad de las necrosis del sistema radicular no dependió del aislado utilizado, pero sí varió, en alguno de los experimentos, con la dosis de riego utilizada, con la aplicación del fungicida, con el estadio de las plantas en el momento de la inoculación y con la situación de las plantas en los diferentes bloques dentro del invernadero.

Los cambios de susceptibilidad frente a los ataques de *Pythium* de las plantas pertenecientes a las cucurbitáceas a lo largo de su ciclo vegetativo, referidos por BLANCARD *et al.* (1991), se pusieron también de manifiesto en nuestros experimentos. Además de la ya conocida susceptibilidad de las plántulas y de plantas jóvenes con una importante carga de frutos, o de las plantas adultas al sufrir diversos estreses climáticos o agronómicos (BLANCARD *et al.*, 1991), se podrían añadir, por lo menos para el cultivo del pepino, las plantas al inicio de la recolección. Aunque dicha susceptibilidad no se produjo, de forma lineal, para todos y cada uno de los síntomas de la enfermedad. Mientras que las plantas inoculadas al inicio de la recolección de frutos fueron más susceptibles al patógeno que las inoculadas con cuatro hojas verdaderas al observar el porcentaje de plantas que sufrieron marchitez, no lo fueron si consideramos otro de los síntomas de la enfermedad, el de la necrosis en la base del tallo. Tanto la producción total, como la comercial acumulada de frutos fue siempre inferior en las parcelas inoculadas con el hongo que en las parcelas no inoculadas, si bien estas diferencias, no fueron siempre estadísticamente significativas en todos los experimentos realizados en otoño.

La diferente susceptibilidad de algunos cultivares de pepino frente al patógeno se pudo detectar sólo, cuando las plantas se inocularon en estado de cuatro hojas. En esta situación el cv. Virginia se mostró más susceptible que los cvs. Nevada y Marumba. Estos resultados, contrastan con los obtenidos al inocular las plántulas en estado de cotiledones, y se asemejan a los obtenidos por RODRÍGUEZ (1980), que encuentra pequeñas diferencias de susceptibilidad entre una larga lista de cultivares. En ausencia del patógeno, no existieron diferencias entre las producciones totales o comerciales acumuladas de los tres cultivares utilizados.

Con respecto a la patogeneidad de *P. aphanidermatum* en primavera, el porcentaje de las plantas que mostró síntomas de necrosis en la base del tallo fue menor que el observado en los experimentos de otoño cuando el patógeno se inoculó sobre plantas con cuatro hojas. Posiblemente, la inoculación en un estadio más avanzado de las plantas, con seis hojas, o las condiciones ambientales que se produjeron en los días posteriores a la inoculación, pudieron limitar la expresión de este síntoma. Por el contrario, la mortandad que produjo fue algo mayor que la observada en el otoño, sobre todo, en las parcelas con sacos de perlita contaminados y reutilizados (20,8%). Las diferencias con respecto a las de las parcelas con sacos nuevos inoculados, podrían ser debidas a las diferentes cantidades de inóculo del hongo entre los sustratos de ambos tratamientos. De todas formas, al no existir diferencias estadísticamente significativas entre ambos tratamientos, podría deducirse que el método de inoculación utilizado en nuestros experimentos parece válido y representativo para reproducir la enfermedad, de la manera que ocurre en las explotaciones comerciales. La mayor severidad de la enfermedad causada por *P. aphanidermatum* en el experimento realizado durante la primavera, en comparación con los daños ocasionados en los de otoño, son coincidentes con los resultados obtenidos en los experimentos realizados con plántulas y con los

realizados por otros equipos, confirmando que las temperaturas superiores a los 25 y 30°C son muy favorables para la expresión de la enfermedad (GOLD y STANGHELLINI, 1985; BLANCARD *et al.*, 1991).

La situación de los bloques en el invernadero influyó, como era de esperar, para las variables relativas a la producción de frutos, pero también tuvo influencia en la severidad de los síntomas ocasionados por el patógeno. Todos los síntomas valorados, la necrosis en la base del tallo, la marchitez reversible de las plantas, las necrosis radiculares y el porcentaje de mortandad, fueron más patentes en los bloques situados en el sur del invernadero, que en los del norte.

La utilización de forma sistemática del fungicida propamocarb no eliminó siempre el marchitamiento reversible de las plantas en las horas cálidas del día, no impidió la necrosis del sistema radicular, ni tampoco, las significativas mermas en la producción total y comercial acumulada, cuando el patógeno tuvo en primavera, condiciones favorables para causar enfermedad. Las pérdidas de producción en las parcelas dispuestas con sacos reutilizados y contaminados, tratadas y no tratadas con el fungicida, fueron del 18,6% y del 28,6%, respectivamente, al compararlas con la producción las parcelas con sacos reutilizados y no contaminados. Sin embargo, el fungicida inhibió totalmente el síntoma de necrosis en el hipocotilo y la mortandad de las plantas, y aumentó hasta un 15,0% la producción, con respecto a las parcelas contaminadas con el patógeno y no tratadas con el fungicida. Y además, cuando el fungicida se utilizó sobre las plantas en ausencia del patógeno, no produjo ningún síntoma de fitotoxicidad, ni tampoco redujo la producción. Por ello, a la falta de fitotoxicidad del mencionado fungicida para tratamientos sobre plántulas, que ya habían puesto de manifiesto algunos investigadores (RODRÍGUEZ, 1980), se le puede añadir también la falta de fitotoxicidad del producto sobre las plantas adultas de pepino, incluso cuando se utiliza de forma sistemática durante el cultivo. A pesar de esto, los resulta-

dos obtenidos con el conjunto de los experimentos realizados, parecen indicar que es más económico y conveniente impedir la entrada del patógeno en la explotación, cuidando lo más posible las fuentes de entrada del patógeno, que recurrir a tratamientos preventivos que, incluso en ausencia del patógeno, realizaron prácticamente la totalidad de los responsables de las explotaciones comerciales prospectadas.

Las mermas de producción ocasionadas por el patógeno estuvieron comprendidas entre el 16,0 y el 23% en otoño, mientras que fueron superiores al 28% en primavera. Dado que éste ocasiona síntomas generalizados irreversibles a un número menor de plantas que mermas de cosecha ocasiona, se podría decir que a nivel general, *P. aphanidermatum* produce una enfermedad subclínica en el cultivo. Enfermedad subclínica ya ha sido citada para otra especie de *Pythium*, *P. dissotocum* cuando infecta a los pelos absorbentes de la lechuga cultivada fuera de suelo (STAGHELLINI y KRONLAND, 1986).

La reutilización del saco de perlita, cuando éste no estuvo contaminado por *P. aphanidermatum*, no influyó de forma negativa sobre la producción de frutos. En el experimento de primavera, no existieron diferencias significativas entre las producciones obtenidas en los sacos de sustrato nuevos y los de segundo cultivo o reutilizados.

Las interacciones estadísticamente significativas que se observaron en algunos experimentos entre el factor "aislados" y los factores "fungicida" y "cultivar", para las variables relativas a los síntomas, fueron lógicas, ya que el fungicida sólo mostró su efecto de inhibición de síntomas y los cultivares mostraron síntomas cuando las plantas se inocularon.

Y ya por último, el uso de una dosis doble de agua, con respecto a la que podría considerarse como normal para el pepino con agua de buena calidad, no ha producido en los experimentos realizados, un aumento

importante en la severidad de la enfermedad. Los síntomas ocasionados por *P. aphanidermatum* no fueron más marcados en las parcelas regadas con doble dosis de agua, ni tampoco fueron significativamente diferentes las producciones obtenidas. A pesar de ello, no parece razonable extrapolar éstos resultados a otras condiciones de cultivo, por ejemplo, cuando los sacos de perlita sean varias veces reutilizados, ya que las raíces remanentes de los cultivos anteriores podrían modificar la estructura físico-química y el contenido en materia orgánica del sustrato. Sin embargo, los resultados obtenidos sí parecen poder afirmar que, no en todas las condiciones de cultivo, un exceso en la dosis de riego tiene por qué producir, forzosamente, un aumento en la severidad de la enfermedad, en contra de lo que quizás se especule o afirme con cierta asiduidad por una mayoría de los técnicos asesores de las explotaciones de los cultivos sin suelo del sudeste andaluz. A pesar de esto, si conviene tener en cuenta que al utilizar una dosis de riego mayor que la consumida por las plantas, aparte del lógico perjuicio económico, podríamos estar favoreciendo la diseminación del patógeno de una planta a otra, hecho que no se ha podido valorar en nuestros experimentos por la metodología utilizada, ya que se inocularon todas las plantas de una parcela concreta.

AGRADECIMIENTOS

A Josefina Ros Orta por su imprescindible trabajo tanto en los experimentos de campo como en los de laboratorio. Los estudios se han realizado fundamentalmente con financiación del Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria, otorgada al proyecto de investigación n^o SC95-076, titulado: Enfermedades causadas por hongos de suelo en tomate, pepino y sandía sobre sustratos.

ABSTRACT

GÓMEZ, J., J. M^a MELERO. 2011. Pathogenicity of *Pythium aphanidermatum* on cucumber adult plant in soilless crops: II Influence of agricultural practices on the disease. *Bol. San. Veg. Plagas*, **37**: 225-249.

The pathogenicity of *Pythium aphanidermatum* on adult plants was always reveal caused necrosis by the root system and sometimes, hypocotyls necrosis, wilting, death of plants and production losses.

Hypocotyls necrosis was observed in a high percentage of plants, only when inoculated with four leaves, whereas when inoculated at the beginning of harvest, showed him infrequently. Not always the pathogen resulted in the death of plants, and, despite the significant necrosis caused the root system, they were not always reflected in a significant fruit production. The use of a double dose of water not resulted in increased aggressiveness of the fungus and it affected the crop production. The use of the fungicide propamocarb inhibited the appearance of symptoms of hypocotyls necrosis and plant death, although not always eliminated reversible wilting of plants, nor prevent necrosis of the root system. Moreover, we verified the absence of phytotoxicity of the fungicide in the form used.

Key words: Epidemiology, *Cucumis sativus*, irrigation, control.

REFERENCIAS

- BLANCARD D., LECOQ H., PITRAT M. 1991. Maladies des Cucurbitacées. Observer, Identifier, Lutter. Ed. INRA. 301 pp.
- BLANCARD, D., RAFIN, C., CHAMONT, S., TIRILLY, Y., JAILLOUX, F. 1992. Phénomène de perte de racines en culture hors sol. Rôle des *Pythium* spp. PHM, **329**: 35-45.
- CÉSPEDES A. J., GARCÍA M.C., PÉREZ J.J., CUADRADO I.M. 2009. Caracterización de la explotación hortícola protegida de Almería. Fundación para la Investigación Agraria de la Provincia de Almería (FIAPA), Almería. 177 pp.
- COUTEAUDIER, Y., LEMANCEAU, P. 1989. Culture hors-sol et maladies parasitaires. P.H.M., **301**: 9-17.
- GOLD, S.E., STAGHELLINI, M. E. 1985. Effect of temperature on *Pythium* root rot of spinach grown under hydroponic conditions. *Phytopathology*, **75**: 333-337.
- GÓMEZ, J. 2001. Consideraciones sobre la sanidad de los cultivos hortícolas sobre sustratos. V Jornadas de sustratos de la Sociedad Española de Ciencias Hortícolas. Noviembre 2000. Almería. Actas de Horticultura, **32**: 191-207.
- HENDRIX, F.F., CAMPBELL, W.A. 1973. *Pythium* as plant pathogens. *Annual Review of Phytopathology*, **11**: 78-98.
- MESSIAEN, C.M., LAFON, R. 1970. Les maladies des plantes maraichères. 2^a edit. Ed.:INRA. Paris. 441 pp.
- PAULITZ, T.C. 1997. Biological control of root pathogens in soilless and hydroponic systems. *HortScience*, **32** (2): 193-195.
- RODRÍGUEZ, R. 1978. Investigación sobre el agente causal de "la Cinturilla" (Damping-off) y marchitamiento de plantas de pepinos cultivadas en invernadero. *Xoba*, **1** (3): 162-166.
- RODRÍGUEZ, R. 1980. *Pythium butleri* Subramanian aislado de plantitas de pepinos con "Damping-off" ("Cinturilla"). *Xoba*, **3** (3): 142-148.
- SANJUAN, J.F. 2007. Detección de la superficie invernada en la provincia de Almería a través de imágenes ASTER. Fundación para la Investigación Agraria de la Provincia de Almería (FIAPA), Almería.
- STANGHELLINI, M.E., RASMUSSEN, S.L. 1994. Hydroponics. A solution for zoospore pathogens. *Plant Disease*, **78**: 1129-1138.
- ZINNEN, T.M. 1988. Assessment of plant diseases in hydroponic culture. *Plant Disease*, **72**: 96-99.

(Recepción: 15 abril 2011)
(Aceptación: 3 octubre 2011)

Susceptibilidad a *Phytophthora cinnamomi* de cultivos herbáceos habituales en dehesas y su influencia en la podredumbre radical de los *Quercus*

M. S. SERRANO, P. FERNÁNDEZ REBOLLO, M. E. SÁNCHEZ

En este trabajo se ha evaluado la susceptibilidad a *Phytophthora cinnamomi*, causante de la podredumbre radical de encinas y alcornoques en las dehesas, de cuatro cultivos habituales en las mismas: avena, trigo, veza y altramuz amarillo, huésped conocido de *P. cinnamomi*. Para ello, se llevaron a cabo experimentos de inoculación artificial con el patógeno. Se obtuvieron aislamientos positivos en las raíces de altramuz (sintomático) y veza (asintomática), pero nunca en trigo y avena (asintomáticas). Mediante ensayos de infección *in vitro* se evaluó el efecto de las cuatro herbáceas en la producción de zoosporas de *P. cinnamomi*. Los resultados mostraron que el altramuz es capaz de estimular la producción de zoosporas, al contrario que la veza, el trigo y la avena. En altramuz y veza *P. cinnamomi* colonizó el interior de las raíces, desarrollando hinchazones hifales o clamidosporas solamente en el altramuz. Se demostró que, al contrario que el altramuz, la veza no produce incrementos significativos en la densidad y viabilidad de las clamidosporas del patógeno en el suelo. Además, la veza sembrada en sustrato infestado mostró severidades medias de síntomas aéreos y radicales muy bajas y significativamente menores que el altramuz infectado. Debido a la baja susceptibilidad de la veza a *P. cinnamomi*, su cultivo puede ser una alternativa al altramuz en las dehesas afectadas por la podredumbre radical de los *Quercus*, además del cultivo de trigo y avena, que no influyen en la epidemiología de la enfermedad.

M. S. SERRANO, M. E. SÁNCHEZ. Dpto. Agronomía (Patología Agroforestal), Universidad de Córdoba.

P. FERNÁNDEZ REBOLLO. Dpto. Ingeniería Forestal, Universidad de Córdoba.

Palabras clave: avena, decaimiento, encina, trigo, veza.

INTRODUCCIÓN

El decaimiento que afecta a encinas y alcornoques en las dehesas del sur de la Península Ibérica está ocasionando importantes pérdidas ecológicas y económicas, habiéndose estimado la pérdida media anual de productividad en España por este motivo en más de 1 millón de euros, con una depreciación media de las explotaciones que supera el 20% del valor inicial (COMISIÓN DE AGRICULTURA Y MEDIO AMBIENTE DEL SENADO, 2010). La principal enfermedad aso-

ciada al decaimiento es la podredumbre radical causada por el oomiceto *Phytophthora cinnamomi* (BRASIER, 1996; SÁNCHEZ *et al.*, 2000; 2006). Este patógeno resulta difícil de controlar, debido a su capacidad para invadir el perfil del suelo hasta grandes profundidades, su rápida dispersión en suelos mal drenados o encharcados y su amplio rango de huéspedes (ERWIN y RIBEIRO, 1996). La mayor parte de las plantas susceptibles a *P. cinnamomi* son especies leñosas, sin embargo también es capaz de infectar las raíces de algunas herbáceas del género *Lu-*

pinus (ERWIN y RIBEIRO, 1996; SERRANO *et al.*, 2009a).

Las dehesas son explotaciones agrosilvo-pastorales en las que la ganadería constituye la principal producción, dependiendo la alimentación del ganado en gran medida, de los pastos naturales y del arbolado (generalmente especies del género *Quercus*). Sin embargo, la existencia de períodos de bache alimenticio en las dehesas, fundamentalmente durante el verano y a principios del otoño, lleva a la implantación de cultivos forrajeros de secano que bien pueden ser aprovechados para pastoreo en dichos períodos, o ser segados y conservados para su posterior utilización. Los cultivos forrajeros más utilizados en las dehesas andaluzas son la avena, el trigo y, en menor medida, la cebada, junto con la siembra mixta de veza-avena y el altramuz amarillo (tremosilla), este último para su consumo directo por el ganado durante el verano una vez agostado (CERA, 1986; COSTA *et al.*, 2006).

Se han descrito numerosos patógenos que pueden causar podredumbres radicales en trigo, como *Gaeumannomyces graminis*, *Fusarium graminearum* y *Bipolaris* spp., que ocasionan un debilitamiento y marchitez general de la planta (WIESE, 1987; MURRAY *et al.*, 2009). *Rhizoctonia solani* y *Pythium* spp. dan lugar a podredumbres radicales y damping-off (WIESE, 1987; MURRAY *et al.*, 2009). Según LARSSON y GERHARDSON (1990), *Phytophthora cryptogea* causa podredumbre radical y muerte de plántulas en trigo y síntomas leves de enfermedad en avena. Por otra parte, el número de enfermedades descritas para las leguminosas comúnmente sembradas en las dehesas es bastante reducido. La veza es muy susceptible a plantas parásitas de la raíz del género *Orobancha* (*O. aegyptiaca* y *O. crenata*) (GOLDWASSER *et al.*, 2000) y en Francia se ha descrito como huésped de *Aphanomyces euteiches*, oomiceto causante de podredumbre radical (WICKER *et al.*, 2001). *Rhizoctonia* spp. pueden causar podredumbre radical en plantas de altramuz (ALLEN y LENNÉ, 1998). En las dehesas españolas se

han registrado importantes daños en plantas de altramuz debidos a la podredumbre radical causada por *P. cinnamomi* (SERRANO *et al.*, 2009a; 2009b). Además, en Nueva Zelanda se han encontrado especies de *Phytophthora* (*P. cryptogea*, *P. gonapodyides* y *P. megasperma*), *Pythium* (*P. irregulare*, *P. rostratum* y *P. ultimum*) y *Fusarium* causando podredumbres radicales en cebada y en *Lupinus multiflorum*, pero sin ocasionar daños significativos (BRAITHWAITE *et al.*, 1998).

De acuerdo con estudios previos, que demuestran la susceptibilidad del altramuz amarillo a *P. cinnamomi* (SERRANO *et al.*, 2009a) y desaconsejan su siembra en dehesas por estimular la multiplicación del patógeno (SERRANO *et al.*, 2009b), el objetivo que plantea el presente trabajo es la evaluación de la susceptibilidad a *P. cinnamomi* de las principales herbáceas cultivadas en la dehesa andaluza (trigo, avena y veza), comparándola con la susceptibilidad de la tremosilla, y estudiando su posible influencia en el ciclo de patogénesis del microorganismo y por lo tanto, en su capacidad de infección del arbolado de la dehesa.

MATERIAL Y MÉTODOS

Material fúngico y material vegetal utilizado en los ensayos

En todos los ensayos se utilizó el aislado de *P. cinnamomi* PE90 (SÁNCHEZ *et al.*, 2003), aislado de raíz de encina y procedente de la colección fúngica del Departamento de Agronomía de la Universidad de Córdoba.

Para evaluar la susceptibilidad a *P. cinnamomi* de los cultivos herbáceos sembrados habitualmente en las dehesas andaluzas, se seleccionaron semillas de avena (*Avena sativa* L.), trigo (*Triticum aestivum* L. cv. Cracklin), veza (*Vicia sativa* L. cv. Borda DA-4), y cuatro cultivares de altramuz amarillo (*Lupinus luteus* L.): Paris, Cardiga, Nacional y Juno, huéspedes conocidos de *P. cinnamomi* (SERRANO *et al.*, 2009a; 2009b).

Las plantas se obtuvieron a partir de semillas comerciales. Las semillas se desinfectaron superficialmente mediante inmersión en hipoclorito sódico al 10%, durante 2 min para las semillas de altramuz, 1 min para las de veza y 5 s las de trigo y avena. Posteriormente se lavaron con agua destilada estéril y las semillas de las leguminosas se incubaron en cámara húmeda a $20 \pm 2^\circ \text{C}$ hasta la emergencia de las radículas. Durante 5 y 3 días, respectivamente, las semillas de altramuz y veza se mantuvieron sobre una rejilla en el interior de cámaras húmedas, formadas por recipientes de plástico cerrados herméticamente con un 100% de humedad en su interior (CAETANO, 2007).

Evaluación de la susceptibilidad de distintas herbáceas a *P. cinnamomi*

Para evaluar la susceptibilidad de las distintas especies y cultivares seleccionados a la infección radical por *P. cinnamomi*, las semillas de trigo y avena y las semillas pregerminadas de altramuz y veza se sembraron en bandejas de plástico desinfectadas con hipoclorito sódico al 10% conteniendo turba húmeda, manteniendo una temperatura de $20 \pm 2^\circ \text{C}$. Todas las bandejas se regaron hasta capacidad de campo y hasta la emergencia de las primeras hojas. Finalmente, a los 10 (altramuz), 7 (veza) y 5 días (trigo y avena), las plantas obtenidas de cada herbácea fueron trasplantadas a bandejas de plástico desinfectadas conteniendo 7 l de sustrato turba:arena (1:1 vol.) infestado con el patógeno, siguiendo la metodología descrita en SÁNCHEZ *et al.* (2000). La infestación del sustrato se realizó con una suspensión acuosa de clamidosporas de *P. cinnamomi* con una concentración de 500 clamidosporas*ml⁻¹ de suelo.

Para cada especie y cultivar se preparó una bandeja con 30 plantas (repeticiones) cada una. Durante el ensayo las bandejas se mantuvieron en cámara de cultivo con un período luz/oscuridad de 12 h, con una temperatura diurna de $24 \pm 2^\circ \text{C}$ y nocturna de $18 \pm 2^\circ \text{C}$, manteniendo el sustrato húmedo,

regando según necesidad hasta capacidad de campo. A las 2 semanas del comienzo del ensayo, se cogieron muestras de raíz de seis plantas de cada una de las herbáceas para aislar al patógeno mediante la siembra de éstas en el medio de cultivo selectivo para *Phytophthora* NARPH (ROMERO *et al.*, 2007). Se prepararon tres placas por cada planta y se incubaron a 22°C en oscuridad durante 3-4 días. Al cabo de este tiempo, las colonias obtenidas se identificaron mediante la observación al microscopio invertido de las estructuras características de *P. cinnamomi*, micelio botrioso e hinchazones hifales (ERWIN y RIBEIRO, 1996) y se contabilizaron. A partir del primer aislamiento positivo en raíz de cualquier especie y cultivar (expresado como porcentaje de raíz infectada respecto de la raíz total muestreada), las muestras se cogieron semanalmente. Además, se constató la presencia/ausencia de síntomas de podredumbre radical en las distintas plantas: amarillez, marchitez, defoliación (síntomas aéreos) o la presencia de lesiones radicales.

Efecto de las herbáceas en la producción de zoosporas de *P. cinnamomi*

La capacidad de las diferentes especies y cultivares para estimular la producción de zoosporas de *P. cinnamomi* se evaluó mediante experimentos de infección *in vitro*. Para ello, se transfirieron discos de agar de 6 mm de diámetro procedentes del margen de colonias de *P. cinnamomi* creciendo en el medio CA (DHINGRA y SINCLAR, 1995), a vasos de vidrio transparente (250 ml de volumen) estériles que contenían en su base 35 ml de medio PA (Agar-Guisante) al 20% (TRIONE, 1974). Todos los vasos se incubaron durante 3 días en oscuridad a 22°C . Pasado este tiempo se vertieron en cada vaso 125 ml de una solución salina estéril MSS (CHEN y ZENTMEYER, 1970) para estimular la formación de esporangios. Se transfirieron 4-6 plantas de las distintas herbáceas (trigo, avena, veza y altramuz cv. Juno) a cada

vaso, previamente producidas en cámaras húmedas durante 7 días según se detalla en el apartado anterior. Para estos ensayos las semillas de trigo y avena se germinaron también en cámara húmeda. Las plántulas obtenidas se sujetaron en un disco de poliuretano estéril de 40 mm de grosor que hacía a su vez de tapadera del vaso (Figura 1). Se prepararon seis vasos (repeticiones) para cada herbácea ensayada (24-36 plantas) más otros seis vasos sin plantas (testigos). Todos los vasos se incubaron en oscuridad a 22° C durante 50 h, tiempo necesario para la germinación de los esporangios de *P. cinnamomi* (SERRANO *et al.*, 2011). Transcurrido este tiempo, se estimó la producción de zoosporas mediante conteo en cámara Neubauer de alícuotas de la solución salina. Los valores obtenidos se refirieron a los correspondientes testigos sin planta y se expresaron como cantidad referida a la unidad (tanto por uno) de estimulación (o en su caso, inhibición) de la producción de zoosporas.

Al término del experimento se realizaron cortes histológicos de las raicillas de las plantas mediante microtomo y se tiñeron con una solución acuosa de azul de toluidina al 0,05% para su observación al

microscopio con el objeto de verificar la presencia de *P. cinnamomi* infectando las raíces.

Efecto de la veza y el altramuz amarillo sobre la densidad y viabilidad de clamidosporas de *P. cinnamomi* en suelo y cuantificación de los síntomas de la enfermedad radical

Se ha evaluado el efecto de la veza y el altramuz amarillo cv. Juno sobre la densidad de inóculo viable de *P. cinnamomi* en suelo, comparándose además el grado de susceptibilidad relativo de las dos especies a la infección radical.

Para ello se obtuvieron plantas de igual forma que el primer experimento, y se transplantaron a bandejas que contenían 8 l de turba previamente infestada con una suspensión acuosa de clamidosporas de *P. cinnamomi* (SÁNCHEZ *et al.*, 2000) a una concentración de 1000 clamidosporas*ml⁻¹ de suelo. Para cada especie de planta se prepararon tres bandejas (repeticiones) con 20 plantas en cada una de ellas, sus correspondientes testigos (3 bandejas) sembrados en sustrato no infestado, más otras tres ban-

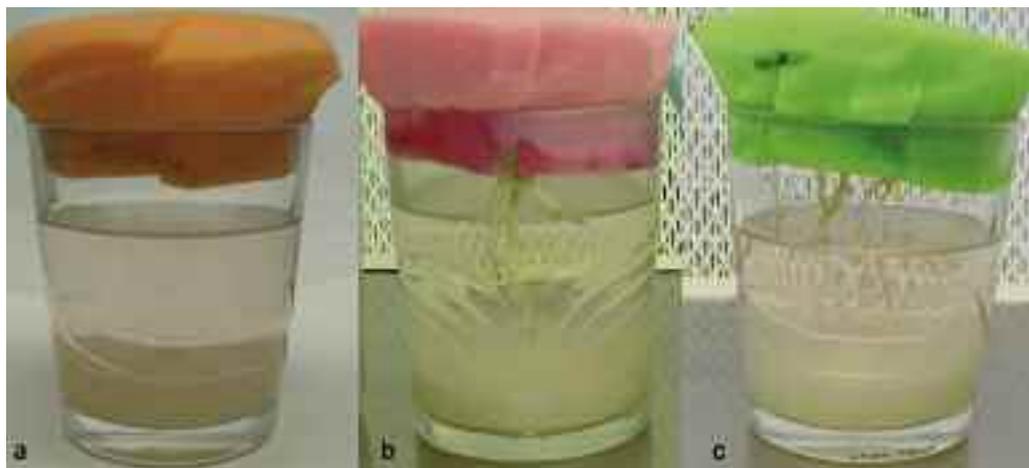


Figura 1. Estimulación o inhibición de la producción de zoosporas de *P. cinnamomi* en presencia de raicillas de herbáceas en el medio de incubación. a) Testigo sin plantas, b) vaso con raíces de altramuz, c) vaso con raíces de veza

dejas testigo con sustrato infestado y sin plantas. Todas las bandejas se incubaron en cámara de crecimiento con 12 h luz/oscuridad y 20-24° C, y se humedeció el sustrato mediante la adición de agua del grifo hasta capacidad de campo. Estas condiciones se mantuvieron hasta el final del experimento, que duró 5 semanas

Semanalmente se tomaron muestras de suelo en las cuales se evaluó la supervivencia de las clamidosporas. Se extrajeron columnas de suelo utilizando un tubo estéril de 2,5 cm de diámetro (50 ml de volumen aproximadamente). Cada muestra de suelo se secó al aire y se tamizó (2 mm de tamaño de poro). Posteriormente las muestras se procesaron mediante la extensión de alícuotas de 1 ml de una suspensión de 10 g de suelo en 100 ml de Agar-Agua estéril al 0,2%, en placas de Petri conteniendo el medio NARPH (ROMERO *et al.*, 2007). Se prepararon 20 placas para cada muestra de suelo. Las placas se incubaron a 22° C en oscuridad durante 24 h y posteriormente se lavó la superficie de cada placa con agua estéril, eliminando la mezcla suelo-agar-agua. Las placas se incubaron otras 48 h a 22° C en oscuridad y las colonias obtenidas se identificaron mediante observación al microscopio invertido de las estructuras características de *P. cinnamomi* (micelio botrioso e hinchazones hifales, ERWIN y RIBEIRO, 1996) y se contabilizaron. Los resultados se expresaron como $\text{ufc} \cdot \text{g}^{-1}$ (unidades formadoras de colonia por gramo de suelo seco). Para el análisis estadístico de los datos, los valores obtenidos se transformaron según la expresión $(\text{ufc} \cdot \text{g}^{-1})^{1/2}$ y se les aplicó un análisis de varianza, comparando los valores medios mediante el test LSD de Fisher para $P < 0,05$ (STEEL y TORRIE, 1985).

Al término del ensayo se evaluó la severidad de síntomas foliares y radicales mediante una escala 0-4 según el porcentaje de hojas amarillas o marchitas y el porcentaje de podredumbre radical (0 = 0-10% de tejido sintomático, 1 = 11-33%, 2 = 34-66%, 3 = más del 67%, 4 = parte aérea o radical

muerta) (SÁNCHEZ *et al.*, 2000; 2004). Además se midió la longitud de las plantas de veza sembradas en sustrato infestado y no infestado. Los datos obtenidos se analizaron mediante un ANOVA y los valores medios se compararon entre sí y con los testigos mediante el test LSD de Fisher (STEEL y TORRIE, 1985) para $P < 0,05$.

Finalmente, las raicillas de las plantas crecidas en suelo infestado y no infestado se lavaron al chorro de agua y se sembraron en placas conteniendo el medio NARPH para el reaislamiento del patógeno inoculado.

RESULTADOS

Evaluación de la susceptibilidad de distintas herbáceas a *P. cinnamomi*

A partir de la segunda semana de incubación comenzaron a observarse los síntomas aéreos de la enfermedad (amarillez y marchitez) en los cuatro cultivares de altramuz, los cuales se fueron intensificando a lo largo del tiempo hasta la semana 5, en la que las plantas de altramuz aparecían completamente marchitas. Estos síntomas no se observaron en ninguna de las otras herbáceas, incluyendo las plantas de veza. A nivel radical se observaron resultados similares. A partir de la segunda semana se apreciaban lesiones necróticas en las raíces de los cultivares de altramuz que no se hicieron patentes en el resto de especies vegetales, hasta su completa necrosis en la semana 5. En el Cuadro 1 aparecen los porcentajes de aislamiento de *P. cinnamomi* de la raíz de las distintas herbáceas muestreadas a lo largo de las 6 semanas que duró el ensayo. En el primer muestreo (semana 2) ya se obtiene aislamiento positivo de *P. cinnamomi* para los cultivares de altramuz, que se mantendrá hasta la muerte de las plantas (semana 5). A partir del segundo muestreo (semana 4) se aisló al patógeno también de las raíces de veza. En ningún momento se aisló *P. cinnamomi* de las raíces del trigo o la avena.

Cuadro 1. Valores de aislamiento de *P. cinnamomi* a partir de muestras de raíz de las distintas herbáceas creciendo en suelo infestado por el patógeno a lo largo del experimento. Los datos corresponden al porcentaje de segmentos de raíz que dieron lugar a una colonia de *P. cinnamomi* con respecto al número total de segmentos de raíz sembrados en el medio NARPH

Cultivo	Tiempo (semanas)				
	2	3	4	5	6
Trigo	0	–	0	–	0
Avena	0	–	0	–	0
Veza	0	–	22,2	16,7	22,2
Altramuz					
cv. Paris	33,3	22,2	33,3	33,3	–
cv. Cardiga	88,9	16,7	16,7	44,4	–
cv. Nacional	33,3	0	27,8	16,7	–
cv. Juno	1,1	25	16,7	–	–

Efecto de las herbáceas en la producción de zoosporas de *P. cinnamomi*

Los valores obtenidos, expresados en tanto por uno de estimulación o inhibición de la producción de zoosporas, aparecen en la Figura 2.

El altramuz es capaz de estimular la producción de zoosporas de *P. cinnamomi* con

un factor de estimulación muy elevado (0,8), frente a la veza que no alcanza el 0,05. El trigo y la avena no difirieron del testigo, presentando valores ligeramente negativos.

En los cortes histológicos se observó que la estructura celular de la raíz del altramuz aparece muy desorganizada, prácticamente desintegrada, y *P. cinnamomi* alcanza un importante grado de coloniza-

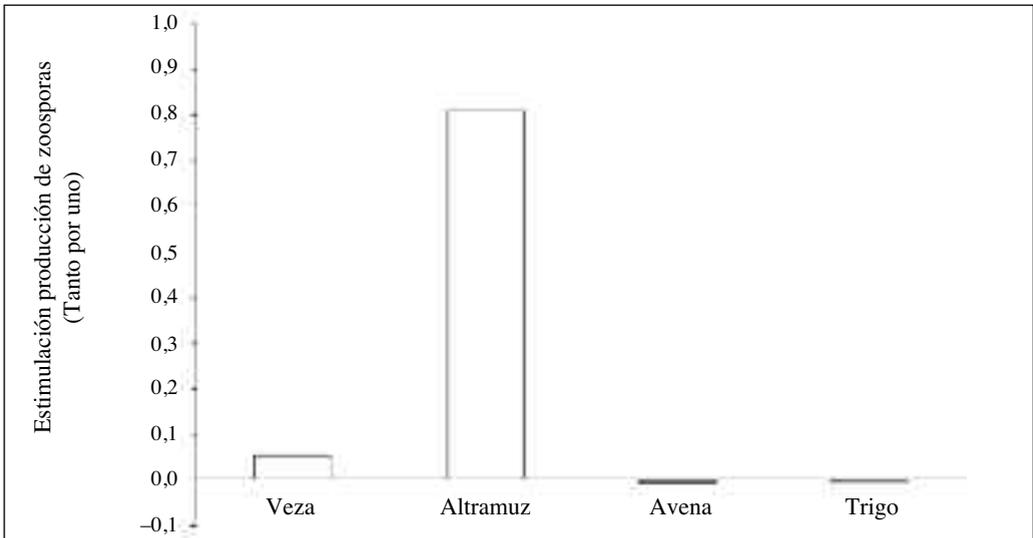


Figura 2. Cuantificación de la estimulación o inhibición de la producción de zoosporas de *P. cinnamomi* en presencia de raicillas de herbáceas en el medio de incubación, expresado en tanto por uno respecto al testigo sin plantas

ción, apareciendo gran cantidad de hifas con hinchazones y clamidosporas (Figura 3a). Por el contrario, la raíz de veza mostró una estructura celular poco alterada, con un grado de colonización por *P. cin-*

namomi elevado. Las hifas del patógeno ocupaban prácticamente todos los espacios intercelulares (Figura 3b), pero no se observó la presencia de hinchazones hifales ni clamidosporas.

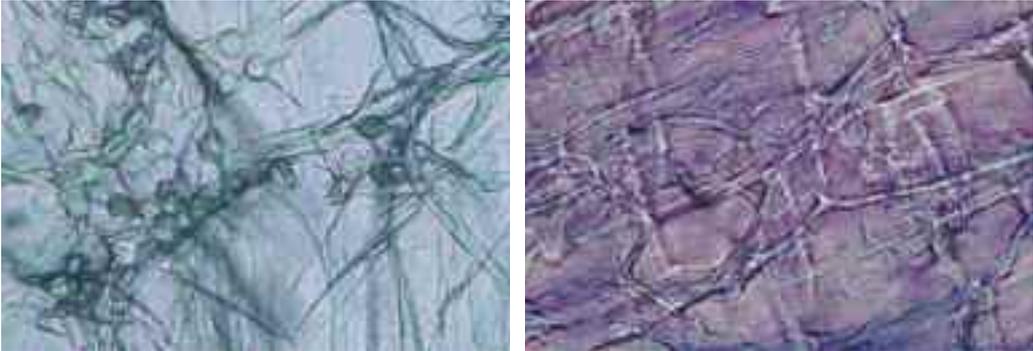


Figura 3. Corte longitudinal de raíz de altramuz (a) y veza (b) infectadas por *P. cinnamomi*.

Efecto de la veza y el altramuz amarillo sobre la densidad y viabilidad de clamidosporas de *P. cinnamomi* en suelo y cuantificación de los síntomas de la enfermedad radical

La densidad de clamidosporas viables en el suelo infestado a lo largo del tiempo aparece en la Figura 4. La evolución de la densidad de clamidosporas a lo largo del tiempo sigue la misma dinámica en los suelos testigo (sin plantas) y en los suelos sembrados con veza y altramuz, aunque con valores de densidad, en general, significativamente más elevados desde la segunda semana hasta el final del experimento, en el suelo sembrado con altramuz que en el sembrado con veza y el testigo sin plantas, que no difirieron entre sí. En la semana 3 se produjo un incremento significativo en la densidad de clamidosporas viables con respecto al comienzo del experimento (semana 0) para todos los tratamientos, pero sólo se mantuvo en el tiempo en las bandejas sembradas con altramuz, mientras que en las sembradas con veza y en las testigo estos valores vol-

vieron a los niveles iniciales. A las 5 semanas, la densidad de clamidosporas viables en el suelo testigo y el sembrado con veza no difiere de la densidad inicial (semana 0), mientras que en el suelo sembrado con altramuz esta densidad aumentó significativamente con respecto a la semana 0.

Cinco semanas después del comienzo del experimento, entre el 90 y el 100% de las plantas de altramuz habían muerto. Las plantas de veza presentaban síntomas de enfermedad con una severidad leve: en la parte aérea de las plantas se produjo principalmente falta de crecimiento, junto con una ligera amarillez y desecación de algunas hojas y en la parte radical aparecieron algunas lesiones parduzcas y/o menor desarrollo radical con respecto a las plantas que crecieron en suelo no infestado por el patógeno. En ningún caso se observaron estos síntomas en las plantas de veza y altramuz que crecieron en sustrato libre de *P. cinnamomi*.

Los valores medios de severidad de síntomas aéreos aparecen representados en la Figura 5a. Los altramuces crecidos en sustrato infestado presentan una severidad de sínto-

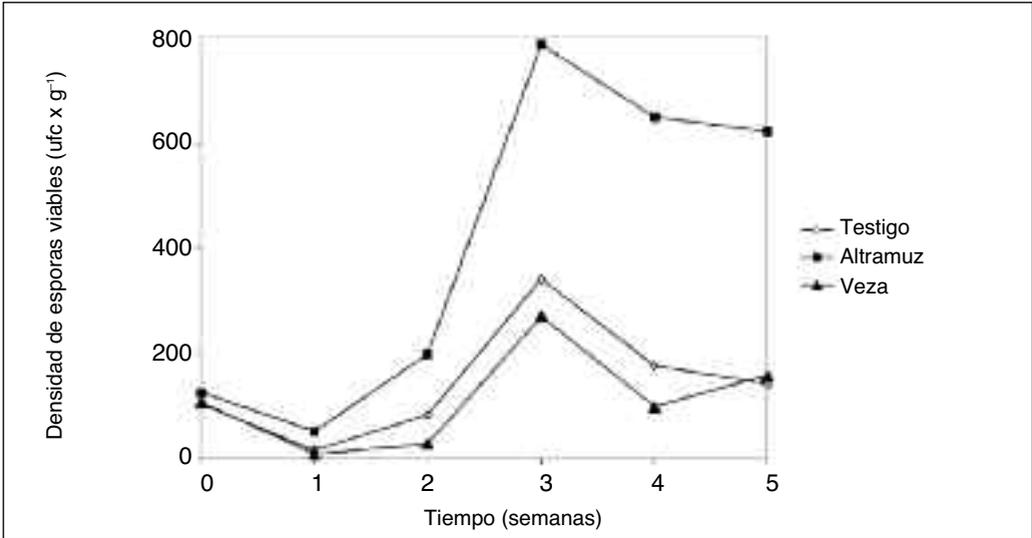


Figura 4. Valores medios de densidad de clamidosporas viables en suelo infestado y sembrado con veza, altramuz o no sembrado (testigo) a lo largo del tiempo

mas significativamente más elevada que las plantas crecidas en sustrato libre de *P. cinnamomi*. Estas diferencias no se observan para la veza infectada, cuya severidad de síntomas aéreos no difiere ni de la veza ni del altramuz testigo.

En cuanto a la severidad de síntomas radicales (Figura 5b) no se observaron diferencias significativas entre las plantas de

altramuz y veza crecidas en sustrato no infestado (testigos). Además, para cada especie, su severidad de síntomas es significativamente menor que cuando crecen en sustratos infestados. En cuanto a las plantas sembradas en suelo infestado, para el altramuz la severidad de síntomas radicales es significativamente más elevada que para la veza.

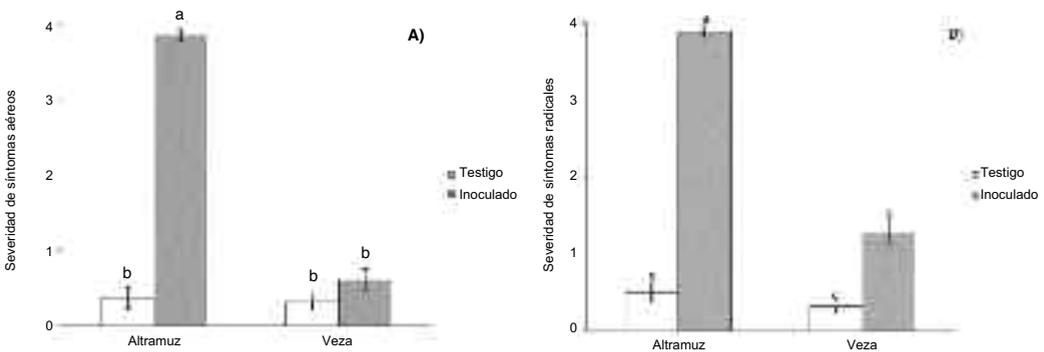


Figura 5. Severidad media de síntomas y error estándar en plantas de altramuz y veza creciendo en presencia o ausencia de *P. cinnamomi* tras 5 semanas de incubación a 20-24° C. a) Severidad de síntomas aéreos. b) Severidad de síntomas radicales. 0 = 0-10% de tejido sintomático, 1 = 11-33%, 2 = 34-66%, 3 = más del 67%, 4 = parte aérea o radical muerta. Letras distintas indican diferencias significativas según el test de Fisher para P<0,05

Se observó una disminución en el crecimiento de las plantas de veza cuando están en sustrato infestado con respecto de la veza testigo, como se observa en la Figura 6. La longitud media de los tallos de las plantas de veza creciendo en sustrato libre del patógeno es significativamente mayor que la de las plantas sembradas en suelo infestado.

Phytophthora cinnamomi se reaisló de todas las muestras de raicillas sintomáticas

(muertas en el caso del altramuz y con presencia de lesiones en el caso de la veza) procedentes de las plantas que crecieron en sustrato infestado. La frecuencia de reaislamiento, expresada como porcentaje de segmentos de raíz que dieron lugar a una colonia de *P. cinnamomi* en NARPH fue del 71% para la veza y del 85% para el altramuz. En ningún caso se reaisló el patógeno de las raicillas de las plantas testigo.

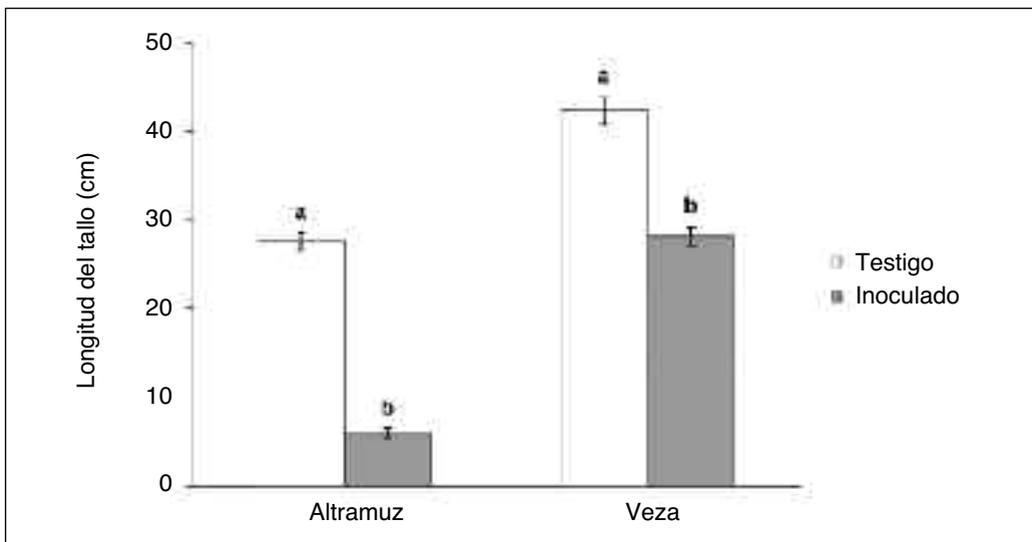


Figura 6. Longitud media del tallo y error estándar de las plantas de altramuz y veza creciendo en suelo no infestado (Testigo) o infestado con *P. cinnamomi* tras 5 semanas de incubación a 20-24°C. Para cada especie de planta, letras distintas indican diferencias significativas según el test de Fisher para $P < 0,05$

DISCUSIÓN

Al contrario que en el caso del altramuz amarillo (SERRANO *et al.*, 2009a), no parece haber indicios que hagan sospechar que otros cultivos habituales en la dehesa (trigo, avena y veza) estén sufriendo algún tipo de podredumbre radical que apunte a que podrían ser huéspedes de *P. cinnamomi*, principal agente causal de la muerte de encinas y alcornoques en Andalucía (SÁNCHEZ *et al.*, 2006). De hecho, nuestras propias observaciones indican que, con la excepción del al-

tramuz, el resto de cultivos no presenta ningún tipo de síntoma visible ni se tiene noticia de la existencia de focos de enfermedad que afecte a estos cultivos en las dehesas andaluzas. Sin embargo, según estudios realizados por SÁNCHEZ-MÁRQUEZ *et al.* (2011) numerosas gramíneas silvestres son huéspedes asintomáticos de distintos hongos patógenos. Para la Verticilosis del olivo y el algodónero causado por *Verticillium dahliae*, se ha demostrado que el patógeno puede colonizar las raíces de diversas gramíneas cultivadas como avena, cebada, maíz, sorgo y

trigo y también de numerosas malas hierbas (*Bromus* spp., *Hordeum murinum*, *Aster squamatus*, *Avena sterilis*, *Echinochloa crus-galli*, *Echallium elaterium*, etc.) (PEGG y BRADY, 2002; CABEZA y BEJARANO, 2010) que pueden actuar como huéspedes asintomáticos del patógeno, y por lo tanto influir en la epidemiología de la enfermedad favoreciendo la multiplicación del patógeno.

Los resultados obtenidos en el presente trabajo muestran que el trigo y la avena no son huéspedes de *P. cinnamomi*: no se han observado síntomas aéreos ni radicales en plantas de trigo y avena creciendo en sustrato infestado, en ningún caso se ha aislado al microorganismo de las raíces de estas plantas y además, no sólo no estimulan la producción de zoosporas de *P. cinnamomi*, sino que la inhiben ligeramente. Una situación similar se da con otras especies del género: *P. cryptogea*, *P. gonapodyides* y *P. megasperma*, que no resultan patógenas para el trigo ni la avena (BRAITHWAITE *et al.*, 1998). Sin embargo, según LARSSON y GERHARDSON (1990), *P. cryptogea* causa enfermedad en trigo y avena en Suecia.

En base a los resultados obtenidos, podemos concluir que el cultivo de estos cereales en las dehesas no influye en la epidemiología de la enfermedad radical de los *Quercus*, al no favorecer la multiplicación del patógeno, ni potenciar la dispersión de sus propágulos.

En el caso de la veza, la severidad media de los síntomas aéreos registrada en las plantas crecidas en sustrato infestado no difiere de las plantas crecidas en sustrato sin infestar y, aunque sí se apreciaron lesiones radicales, no alcanzan los niveles de severidad de las plantas infectadas de altramuz, pudiéndose describir como síntomas leves. Este hecho, junto con el aislamiento positivo del microorganismo de las raíces de las plantas de veza crecidas en sustrato infestado, nos permiten describir a esta leguminosa como huésped de *P. cinnamomi*, si bien el microorganismo se muestra como un patógeno muy débil. De hecho, el principal síntoma observado en la veza es el menor crecimiento de las plantas sembradas en suelos

infestados, mientras que en el caso del altramuz amarillo, su trasplante a suelo infestado con el patógeno en las mismas condiciones, dio lugar a una mortalidad media del 95% a las 5 semanas del trasplante. Este carácter de *P. cinnamomi* como patógeno débil de la veza justificaría por qué no se observan focos de esta leguminosa con síntomas de podredumbre radical en campo, como sí ocurre para el altramuz amarillo (SERRANO *et al.*, 2009a; 2009b). Resultados similares observan RODRÍGUEZ-MORCILLO *et al.* (2000; 2002) en el patosistema *V. dahliae*-olivo y *V. dahliae*-algodón, donde este hongo actúa como patógeno débil de cultivos de ajo, cebolla y colza, reduciendo ligeramente el crecimiento de estas plantas, de las que también se aisló al patógeno. Cabe destacar que los exudados radicales de la veza no estimulan la producción de zoosporas infectivas de *P. cinnamomi*, ni tampoco influyen en la viabilidad de las clamidosporas del patógeno en suelo, lo que no ocurre con el altramuz amarillo, que incrementa la producción de zoosporas y además produce un aumento significativo en la densidad de clamidosporas viables en el suelo, como ya se demostró en SERRANO *et al.* (2009b).

Como conclusión final, la veza puede ser una leguminosa alternativa al altramuz amarillo para su cultivo en dehesas afectadas por la podredumbre radical causada por *P. cinnamomi* (SERRANO *et al.*, 2009a; 2009b), ya que aunque el patógeno puede infectar la raíz de la veza, no es capaz de multiplicarse en ella ni tampoco sus exudados radicales estimulan la producción de esporas infectivas en el suelo infestado. Igualmente, el trigo y la avena podrían ser cultivados en dehesas afectadas por la podredumbre radical, ya que como se ha demostrado, ni son susceptibles a la infección por *P. cinnamomi* ni influyen en la epidemiología de la enfermedad.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado por el Ministerio de Ciencia e Innovación (pro-

yecto AGL2009-00530) y la Consejería de Agricultura y Pesca de la Junta de Andalucía. Los autores quieren también agradecer

la colaboración de Ramón Leal por el suministro de las semillas de trigo, veza y avena.

ABSTRACT

SERRANO, M. S., P. FERNÁNDEZ REBOLLO, M. E. SÁNCHEZ. 2011. Susceptibility to *Phytophthora cinnamomi* of herbaceous crops common in rangelands and its influence on *Quercus* root rot. *Bol. San. Veg. Plagas*, **37**: 251-262.

Susceptibility of four common crops to *Phytophthora cinnamomi*, causal agent of root rot affecting Holm and Cork oaks in rangelands, has been checked. Wheat, oat, vetch, and yellow lupin, known host of *P. cinnamomi*, were evaluated by artificial inoculations with the pathogen. Positive isolations from lupin (symptomatic) and vetch (asymptomatic) roots were obtained, but never from wheat or oat (asymptomatic). The effect of the four crops in *P. cinnamomi* zoospore production was evaluated by *in vitro* infections. Lupins were able to stimulate zoospore production, in contrast with vetch, wheat and oat. *Phytophthora cinnamomi* colonized lupin and vetch roots, but hyphal swellings or chlamydospores were observed only in lupin roots. Vetch did not significantly increased chlamydospore density or viability in the soil, opposite than lupin.

Vetch plants growing in infested soil showed weak foliar and root symptom severities, significantly lower than infected lupin plants. The low susceptibility of vetch to *P. cinnamomi* suggests that this crop can be considered as an alternative to lupin in rangelands affected by *Quercus* root rot, together with wheat and oat, which did not influence the epidemiology of the disease.

Keywords: Decline, Holm oak, oat, vetch, wheat.

REFERENCIAS

- ALLEN, D. J., LENNÉ, J. M. (eds). 1998. *The Pathology of Food and Pasture Legumes*. CAB International, Wallingford, UK.
- BRAITHWAITE, M., ALEXANDER, B. J. R., ADAMS, R. L. M. 1998. Nationwide survey of pests and diseases of cereal and grass seed crops in New Zealand. 2. Fungi and Bacteria. *Proceedings of 51st New Zealand Plant Protection Conference*, **51**: 51-59.
- BRASIER, C. M. 1996. *Phytophthora cinnamomi* and oak decline in southern Europe. Environmental constraints including climate change. *Ann. Sci. For.*, **53**: 347-358.
- CABEZA, E., BEJARANO, J. 2010. Influencia de las cubiertas vegetales sobre la epidemiología y control de las enfermedades del olivo. En: *Aspectos agronómicos y medioambientales de la agricultura de conservación*. Eumedia-Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino, Madrid: 165-175.
- CAETANO, P. C. L. 2007. *Envolvimento de Phytophthora cinnamomi no declínio de Quercus suber e Q. rotundifolia: estudo da influência de fatores bióticos e abióticos na progressão da doença. Possibilidades de controlo químico do declínio*. Tesis doctoral. Faculdade de Engenharia de Recursos Naturais, Universidade do Algarve. Faro, Portugal.
- CERA, F. 1986. *El altramuz amarillo ("tramusilla") su cultivo y aprovechamiento en el Andévalo onubense*. Monografías nº 3. Dirección General de Investigación y Extensión Agraria. Consejería de Agricultura y Pesca, Junta de Andalucía.
- CHEN, D. W., ZENTMYER, G. A. 1970. Production of sporangia by *Phytophthora cinnamomi* in axenic culture. *Mycologia*, **62**: 397-402.
- COMISIÓN DE AGRICULTURA Y MEDIO AMBIENTE DEL SENADO. 2010. *Informe de la ponencia del Senado sobre la protección del ecosistema de la dehesa*.
- COSTA, J. C., MARTÍN, A., FERNÁNDEZ, P., ESTIRADO, M. 2006. *Dehesas de Andalucía. Caracterización ambiental*. Consejería de Medio Ambiente, Junta de Andalucía. Sevilla.
- DHINGRA, O. D., SINCLAR, J. B. 1995. *Basic plant pathology methods*. CRC Press, Boca Raton, FL.
- ERWIN, D. C., RIBEIRO, O. K. 1996. *Phytophthora diseases worldwide*. APS Press, St. Paul, MN.
- GOLDWASSER, Y., PLKHINE, D., LJEIFIELD, Y., ZAMSKI, E., RUBIN, B. 2000. The differential susceptibility of vetch (*Vicia* spp.) to *Orobanche aegyptiaca*: Anatomical studies. *Ann. Bot.*, **85**: 257-262.
- LARSSON, M., GERHANDSON, B. 1990. Isolates of *Phytophthora cryptogea* pathogenic to wheat and some other crop plants. *J. Phytopathol.*, **129** (4): 303-315.
- MURRAY, T. D., PARRY, D. W., CATTILIN, N. D. 2009. *A Colour Handbook Diseases of small grain cereals crops*. Manson Publishing, London, UK.
- PEGG, G. F., BRADY, B. L. 2002. *Verticillium wilts*. CAB International, UK.

- RODRÍGUEZ MORCILLO, V., BEJARANO ALCÁZAR, J., JIMÉNEZ DÍAZ, R. M. 2000. Importancia de especies cultivadas en la supervivencia de patotipos de *Verticillium dahliae* que infectan algodonero y olivo en Andalucía. X Congreso Nacional de la Sociedad Española de Fitopatología. Valencia. España.
- RODRÍGUEZ MORCILLO, V., BEJARANO ALCÁZAR, J., JIMÉNEZ DÍAZ, R. M. 2002. Gama de plantas huésped de los patotipos de *Verticillium dahliae* que infectan algodonero y olivo en Andalucía. XI Congreso Nacional de la Sociedad Española de Fitopatología. Almería. España.
- ROMERO, M. A., SÁNCHEZ, J. E., JIMÉNEZ, J. J., BELHARI, L., TRAPERO, A., LEFORT, F., SÁNCHEZ, M. E. 2007. New *Pythium* taxa causing root rot on Mediterranean *Quercus* species in southwest Spain and Portugal. *J. Phytopathol.*, **155**: 289-295.
- SÁNCHEZ, M. E., CAETANO, P., FERRAZ, J., TRAPERO, A. 2000. El decaimiento y muerte de encinas en tres dehesas de la provincia de Huelva. *Bol. San. Veg. Plagas*, **26**: 447-464.
- SÁNCHEZ, M. E., SÁNCHEZ, J. E., NAVARRO, R. M., FERNÁNDEZ, P., TRAPERO, A. 2003. Incidencia de la podredumbre radical causada por *Phytophthora cinnamomi* en masas de *Quercus* en Andalucía. *Bol. San. Veg. Plagas*, **29**: 87-108.
- SÁNCHEZ, M. E., ANDICOBERRY, S., TRAPERO, A. 2004. Patogenicidad de *Phytophthora* spp. causantes de podredumbre radical de *Quercus ilex* ssp. *ballota* en viveros forestales. *Bol. San. Veg. Plagas*, **30**: 239-255.
- SÁNCHEZ, M. E., CAETANO, P., ROMERO, M. A., NAVARRO, R. M., TRAPERO, A. 2006. Phytophthora root rot as the main factor of oak decline in southern Spain. En: *Progress in Research on Phytophthora Diseases of Forest Trees*. Brasier C, Jung T, Oßwald W (Eds). Forest Research, Farnham, UK: 149-154.
- SÁNCHEZ-MÁRQUEZ, S., BILLS, G. F., HERRERO, N., ZABALGOGEAZCOA, I. 2011. Non-systemic fungal endophytes of grasses. *Fungal Ecol.* (en prensa, doi:10.1016/j.funeco.2010.12.001)
- SERRANO, M. S., FERNÁNDEZ REBOLLO, P., CARBONERO, M. D., TRAPERO, A., SÁNCHEZ, M. E. 2009a. La tremosilla (*Lupinus luteus*): un nuevo huésped de *Phytophthora cinnamomi* en las dehesas de Andalucía occidental. *Bol. San. Veg. Plagas*, **35**: 75-87.
- SERRANO, M. S., SÁNCHEZ, M. E., DE VITA, P., CARBONERO, M. D., TRAPERO, A., FERNÁNDEZ, P. 2009b. Influencia del cultivo de *Lupinus luteus* en la podredumbre radical de las encinas en dehesas. *Bol. San. Veg. Plagas*, **35**: 481-490.
- SERRANO, M. S., DE VITA, P., FERNÁNDEZ-REBOLLO, P., SÁNCHEZ, M. E. 2011. Control de la podredumbre radical de las encinas mediante fertilizantes inorgánicos II: Efecto *in vitro* del Ca y el K en la capacidad infectiva de *Phytophthora cinnamomi*. *Bol. San. Veg. Plagas*, **37** (1): 109-118.
- STEEL, R. G. D., TORRIE, J.H. 1985. *Bioestadística: principios y procedimientos*. Mcgraw-Hill, Bogotá.
- TRIONE, E. J. 1974. Sporulation and germination of *Phytophthora lateralis*. *Phytopathology*, **64**: 1531-1533.
- WICKER, E., HULLÉ, M., ROUXEL, F. 2001. Pathogenic characteristics of isolates of *Aphanomyces euteiches* from pea in France. *Plant Pathol.*, **50**: 433-442.
- WIESE, M. V. 1987. *Compendium of wheat diseases* (2nd edition). APS Press, St Paul, MN.

(Recepción: 14 julio 2011)

(Aceptación: 16 septiembre 2011)

Glifosato: 35 años de empleo y retos para el futuro

J. COSTA VILAMAJÓ, C. NOVILLO ALMENDROS, A. ÁLVAREZ SABORIDO

En este artículo se revisan las características que han permitido el crecimiento en España de las aplicaciones de glifosato durante los últimos 35 años, hasta convertirse hoy en uno de los herbicidas de mayor empleo. Los beneficios contrastados (ahorro de tiempo, reducción de la erosión, eficiencia productiva y mitigación de las emisiones de CO₂) y la seguridad de su aplicación en múltiples situaciones, aconsejan la continuidad de su empleo dentro de un uso integrado para ayudar a frenar el calentamiento global y ayudar a la lucha contra especies invasoras. La mayor frecuencia de empleo derivada de sus beneficios, aconseja para el futuro una gestión responsable de las aplicaciones de glifosato, tanto en pre-siembra de cultivos herbáceos, como en aplicaciones dirigidas en cultivos leñosos o zonas sin cultivos, como potencialmente en tratamientos sobre jóvenes plantas de variedades modificadas genéticamente para tolerancia a este herbicida. Esta gestión responsable debe incluir medidas para prevenir y/o gestionar el riesgo de malezas resistentes, el uso de las mejores tecnologías de aplicación para limitar la presencia del herbicida a las zonas tratadas, y un exquisito cumplimiento de las regulaciones, acompañado de una comunicación correcta de los resultados.

J. COSTA VILAMAJÓ, C. NOVILLO ALMENDROS, A. ÁLVAREZ SABORIDO. Monsanto Agricultura España, S.L. Avda. de Burgos, 17, 10^º. 28036 Madrid. jaimedcosta@monsanto.com, conchinovillo@monsanto.com, antonio.a.saborido@monsanto.com

Palabras clave: aplicación, agricultura, sostenibilidad, transgénicos, variedades MG.

INTRODUCCIÓN

Desde su descubrimiento y desarrollo como herbicida por Monsanto a principios de la década de los 70, el glifosato (N-fosfometil glicina) se ha convertido en el herbicida de mayor empleo a escala global, manteniendo esta posición a los 35 años de las primeras autorizaciones en España y muchos otros países. La principal razón para este éxito ha sido su excelente eficacia contra un amplio espectro de malezas que, junto a la inactivación en contacto con el suelo (seguida de biodegradación), ha permitido su empleo en los cultivos y situaciones más diver-

sas, siempre que en el momento de la aplicación la pulverización del herbicida no alcance las hojas o partes sensibles del cultivo.

Esta flexibilidad de empleo, permitió el 24 de julio de 1974 la primera autorización en España del herbicida Roundup^{®(1)} para “tratamientos herbicidas en cultivos leñosos de más de 3-4 años, en aplicaciones dirigidas al suelo y terrenos sin cultivo” que posteriormente fue ampliada a “cultivos varios, en pre-siembra o en postemergencia cuando tengan una altura suficiente para efectuar tratamiento entre líneas con pantalla localizadora” y otros usos menores. Es obvio que, con este marco de aplicación tan amplio,

(1) Roundup es una marca registrada de Monsanto.

había grandes posibilidades de aumentar la utilidad del producto mejorando equipos y formas de aplicación, a menudo acompañados del desarrollo y autorización de formulaciones optimizadas para cada situación. Así, se desarrollaron boquillas para pulverización hidráulica en bajo volumen, pulverizadores centrífugos de ultra bajo volumen (UBV) con gotas de tamaño controlado (“máquinas de pilas”), aplicadores por contacto con materiales impregnados, y formulaciones optimizadas para aplicaciones en bajo volumen, para tratamientos con dosis de materia activa inferior a 1 kg/ha, con el mayor respeto para la fauna acuícola, o mezclas con otras materias activas para reducir el riesgo de aparición de malezas difíciles o resistentes. La materia activa es el anión glifosato, y como el glifosato ácido es poco soluble en agua, para una aplicación más fácil se ha presentado en forma de sales amónica, isopropilamina, sódica, potásica o trimetil sulfónica.

El espectro de malas hierbas controlables con glifosato es muy amplio, con pocas especies como *Berberis*, *Hedera*, *Equisetum*, *Ilex* y *Potamogeton* que no son controladas con las dosis máximas autorizadas de 3,6 kg/ha. Con esta dosis máxima pueden controlarse malezas o matorrales perennes de los géneros *Acacia*, *Agropyron*, *Agrostis*, *Alnus*, *Arrhenatherum*, *Arum*, *Arundo*, *Brachypodium*, *Carex*, *Cirsium*, *Cistus*, *Cynodon*, *Cyperus*, *Dactylis*, *Eichornia*, *Erica*, *Festuca*, *Genista*, *Holcus*, *Hyparrhenia*, *Juncus*, *Lavandula*, *Panicum*, *Paspalum*, *Phragmites*, *Populus*, *Prunus*, *Pteridium*, *Quercus*, *Rosa*, *Rubus*, *Sorbus*, *Sorghum*, *Thypha*, *Ulex* y otras. La dosis de 2,16 kg/ha es suficiente para controlar malezas de géneros anuales como *Agrostemma*, *Alopecurus*, *Amaranthus*, *Anacyclus*, *Anagallis*, *Anchusa*, *Anthemis*, *Apera*, *Apium*, *Atriplex*, *Avena*, *Bidens*, *Bromus*, *Calendula*, *Capselfa*, *Cardamine*, *Cardaria*, *Cerastium*, *Chenopodium*, *Chrysanthemum*, *Conyza**, *Crepis*, *Datura*, *Digitaria*, *Diplotaxis*, *Echinochloa*, *Eleusine*, *Erodium*, *Euphorbia*, *Fedia*, *Fumaria*, *Galeopsis*, *Galinsoga*, *Ga-*

lium, *Helminthia*, *Hordeum*, *Lactuca*, *Lamium*, *Lolium**, *Malva*, *Matricaria*, *Mercurialis*, *Papaver*, *Phalaris*, *Poa*, *Portulaca*, *Ranunculus*, *Raphanus*, *Senecio*, *Setaria*, *Silene*, *Silybum*, *Sinapis*, *Sisymbrium*, *Sonchus*, *Stellaria*, *Tagetes*, *Tragus*, *Tribulus*, *Urochloa*, *Urtica*, *Veronica*, *Vicia*, *Xanthium* y otras. Se han indicado con asterisco los dos géneros para los que se han encontrado en España algunos biotipos que se han vuelto resistentes a las dosis indicadas.

Las formulaciones en las que glifosato está combinado con otras materias activas pretenden combinar varios mecanismos de acción herbicida en el mismo producto, reducir costes de aplicación, acelerar la aparición de los síntomas y reducir el riesgo de cambios de flora a especies difíciles, o mitigar el riesgo de desarrollo de resistencias. Actualmente hay mezclas autorizadas de glifosato con:

- amitrol
- diflufenican
- MCPA
- oxadiazon
- oxifluorfen
- piraflufen-etil
- terbutilazina

El uso de diferentes formulaciones herbicidas de glifosato ha seguido aumentando



Figura 1. La introducción del glifosato facilitó el control de malezas perennes como cañota, grama y otras



Figura 2. Aplicación de glifosato en UBV con gotas de tamaño controlado



Figura 3. Aplicación en pulverización centrífuga sin diluir

durante los últimos 10-15 años por las siguientes razones:

- Mayor competencia entre fabricantes, con la consecuencia de precios más asequibles para los agricultores, aunque a menudo la asistencia técnica ha caído como víctima colateral de la extrema competitividad.
- Desaparición –especialmente en la Unión Europea (UE)– de importantes herbicidas alternativos (paraquat, simazina, etc.) que no han podido superar las crecientes exigencias para los productos fitosanitarios.
- Desarrollo global del cultivo de variedades (soja, maíz, algodón, colza, etc.) modificadas genéticamente para tolerar aplicaciones sobre el cultivo en sus primeras fases de desarrollo, con una superficie global superior a 100 millones de ha en 2010 (James, 2010). Estas variedades han sido autorizadas para importación y consumo, pero aún no están autorizadas para cultivo en la UE.

A pesar de estos éxitos, las circunstancias han cambiado mucho en 35 años, y el uso futuro de este importante herbicida deberá hacer frente a importantes desafíos como:

- Drástica reducción de la proporción e influencia de la población agraria –que recibe y entiende los beneficios directos

de los herbicidas– al pasar del 22% en 1974 al 3,5% en 2010. Aumento en el número y superficie ocupada por malezas que antes eran controladas por este herbicida y que después del uso continuado del mismo se confirman como resistentes a glifosato. Aunque las resistencias a este herbicida han tardado más en aparecer que para otros productos - 21 años después de la primera comercialización-, los seis biotipos de *Conyza* y *Lolium* detectados en España (www.weedscience.org) sugieren que lo más probable es que aumenten los problemas en el futuro, como así ha sucedido en EE.UU., Brasil y Argentina.

- Dificultades para el cultivo en la UE de variedades de maíz, algodón, remolacha y otros cultivos tolerantes a glifosato, lo cual elimina opciones para un control de malezas resistentes o difíciles en los cultivos citados. Las autorizaciones para cultivo en la UE desde 1998 se han reducido a una patata para uso industrial que no se cultiva en España. Implementación en nuestro país de la Directiva para el uso sostenible de fitosanitarios, con nuevas exigencias para el empleo correcto de los productos, bajo el control de las autoridades del Estado y de las Comunidades Autónomas.

En este artículo, pretendemos revisar algunos de los beneficios alcanzados y abor-

dar los nuevos desafíos, con la experiencia de los primeros 35 años de empleo de glifosato en diferentes países, y bajo el nuevo marco social y regulatorio, que definirá su empleo a partir de ahora.

Para poder exponer los datos de este artículo, nos hemos basado en los artículos y revisiones más relevantes publicadas desde 1980 citados en la lista de referencias, así como la información directa o a través de distribuidores y agricultores, obtenida durante los últimos 35 años.

Los datos sobre precios relativos del herbicida frente a mano de obra y gasóleo se basan en: a) para la mano de obra, datos oficiales sobre salario mínimo interprofesional; b) para el gasóleo: datos medios publicados para cada período considerado; c) para el herbicida: valores medios aproximados para el precio del producto a nivel del agricultor. La variabilidad del precio para los herbicidas se explica porque la venta suele ser realizada a través de distribuidores o cooperativas, (que pueden modificarlos en función de su asignación de costes) y las leyes antimonopolio impiden fijar los precios finales. El precio de un producto no es la cantidad que intenta recibir el vendedor, sino el valor pagado finalmente por el que adquiere el producto.

Para poder exponer las afirmaciones o recomendaciones expuestas más adelante, además de la experiencia durante más de tres décadas de uso en España, se han tenido en cuenta los resultados obtenidos en condiciones agronómicas comparables de otros países, así como las regulaciones y normativas aplicables a partir de 2011.

EVOLUCIÓN HISTÓRICA

Oportunidad del empleo del glifosato desde el punto de vista económico y social

La producción agraria ha sufrido importantes cambios en España durante los últimos 35 años, pues la población activa agraria ha pasado del 22% en 1974 al 3,5% en la

actualidad (datos del Ministerio de Agricultura, ahora integrado en el Ministerio de Medio ambiente, y Medio Rural y Marino), satisfaciendo las crecientes necesidades de una población que ha crecido desde unos 34 millones de personas en 1974 a unos 47 millones en 2010. Esto ha sido posible gracias a una creciente especialización, que en el caso del control de malas hierbas se ha conseguido sustituyendo labores mecánicas, o penosas escardas manuales, por aplicaciones de herbicidas.

El control de las malezas es una actividad imprescindible en la mayoría de los cultivos pues, incluso en áreas avanzadas como la Europa Occidental, su presencia implica unas pérdidas de cosecha del 8,8% que llegarían al 34% si no fueran controladas (OERKE, 2006). Estas pérdidas implican el encarecimiento de cada unidad producida y una menor capacidad de producción e ingresos, por lo que la decisión de controlar las malas hierbas es casi generalizada para la inmensa mayoría de los agricultores, que tienen en cuenta todas las opciones disponibles.

En el caso de las plantaciones de cítricos en el Levante español, las dificultades de mecanización en parcelas pequeñas con altas densidades de árboles llevaron a la adopción de programas basados en tratamientos con glifosato, frente a las labores mecánicas o tratamientos con otros herbicidas. Este cambio permitía reducir la mano de obra de 82 horas/ha con labores de cava y rotovator mediante motocultores a tan sólo 33 horas/ha con tratamientos de glifosato aplicados con pulverizadores centrífugos, con una reducción del 33% en el coste económico (GÓMEZ DE BARREDA, 1981). Esta reducción en el número de horas es también muy importante al permitir una mayor flexibilidad del agricultor con otros puestos de trabajo, y ofrece una mayor seguridad al requerir menos tiempo, en operaciones con menor peligro.

El ahorro de tiempo ha sido también uno de los beneficios más importantes ofrecidos en cultivos como avellano, frutales de hueso y pepita, u otros cultivos leñosos, siendo

destacable la mayor compatibilidad del uso de herbicidas con la presencia de las redes de distribución del riego por goteo que tanto han contribuido a la eficiencia del riego en nuestro país.

En cultivos leñosos de secano, como el olivar, la disponibilidad de un herbicida eficaz como glifosato hizo posible la adopción a gran escala de técnicas de no laboreo en combinación con herbicidas de efecto residual como simazina, reduciendo la erosión y ofreciendo aumentos de producción cercanos al 20% (PASTOR y otros, 1997) al suprimir el daño a las raíces superficiales provocado por las labores mecánicas. Al ser la recolección una de las operaciones más costosas de este cultivo, es también destacable la utilidad de las aplicaciones de glifosato sobre malezas en desarrollo después de las lluvias de otoño, pues con las aplicaciones recomendadas –no extrapolables a otras materias activas– se mantiene la calidad del aceite y se reduce el coste de la recolección para las aceitunas caídas sobre el suelo (VALERA Y COSTA, 1990). La compactación del suelo desnudo en la calle del cultivo, sin embargo, daba lugar a tasas de

escorrentía y erosión que hicieron aconsejable el desarrollo de cubiertas vegetales (PASTOR, 1990).

La decisión de emplear un herbicida como glifosato en lugar de recurrir a escardas manuales o mecanizadas es, finalmente, una cuestión económica, que ha cambiado considerablemente desde su introducción en 1974 hasta la actualidad. Tras una etapa inicial con altos costes unitarios del herbicida, asociados con un volumen de fabricación relativamente pequeño, y de importantes inversiones en comunicación y desarrollo de nuevas aplicaciones, a partir de 1985 se constataron importantes descensos en el precio del producto, mientras que los costes alternativos de mano de obra y combustible han crecido fuertemente como puede apreciarse en la Figura 4. Aunque esta materia activa no estaba protegida por una patente de producto, sólo implantada a partir de la incorporación de España a la Comunidad Económica Europea, la comercialización de versiones genéricas de este herbicida en 1979 y especialmente a partir de 1984, obligó a las mejoras antes citadas para defender su lugar en el mercado.

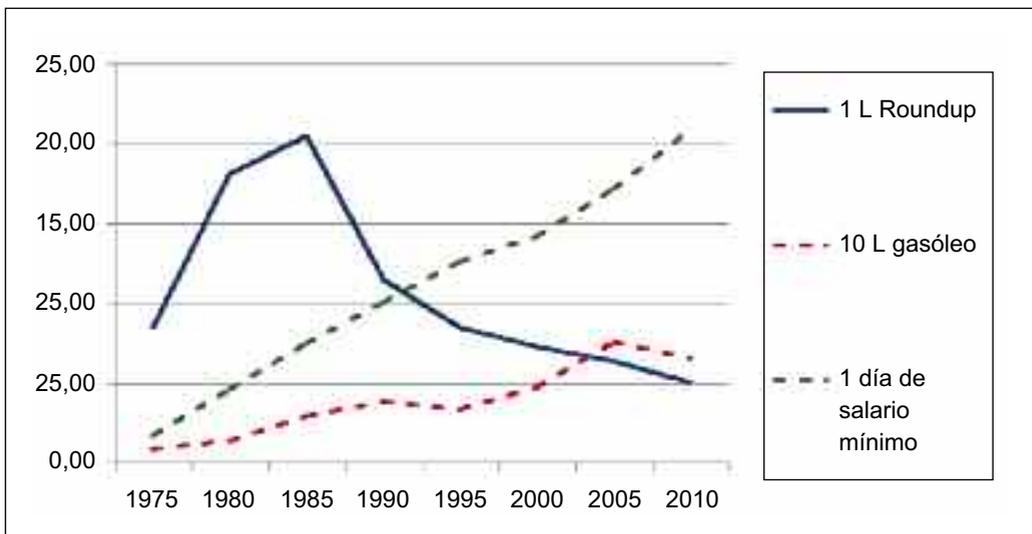


Figura 4. Evolución comparativa aproximada en España para los costes de gasóleo y mano de obra a precios corrientes en euros frente al precio del herbicida Roundup®

Pocos productos manufacturados pueden encontrarse hoy a un precio más económico que hace 35 años en precios corrientes.

Oportunidad del empleo de glifosato desde el punto de vista medioambiental

La agricultura de conservación, que comprende técnicas como la siembra directa o el mínimo laboreo en cultivos herbáceos y las cubiertas vegetales en cultivos leñosos como el olivar, consiste en suprimir o reducir las labores mecánicas de preparación del suelo, de forma que su superficie quede cubierta al menos en un 30% por rastrojos o restos vegetales (GARCÍA TORRES y otros, 2003). Esto se consigue gracias a la disponibilidad de modernos equipos de siembra que dejan la semilla cubierta de suelo en tales condiciones, y a herbicidas como glifosato, que pueden controlar las malezas y rebrotes del cultivo anterior sin comprometer la viabilidad de la nueva siembra. La presencia de los restos vegetales en superficie amortigua el impacto de las gotas de lluvia o riego, actuando como trampa de agua (GIRÁLDEZ, 1997) y reduciendo el riesgo de erosión y lento empobrecimientos de los suelos desnudos y labrados (SWCS, 1994, PASTOR y otros 1997, GARCÍA TORRES y otros, 2003). El respeto a la integridad de las capas superiores del suelo implica mayores poblaciones de lombrices, hormigas, aves y otros

tipos de fauna que nidifica o tiene su hábitat en el suelo (BELMONTE, 1993, CASTRO y otros 1996, TEBRÜGGE, 2003, RODRÍGUEZ y otros, 2006, BARAIBAR y otros, 2009), gracias a su conservación en condiciones más naturales que no alteran su estratificación (JEFFERY y otros, 2010).

La agricultura de conservación ofrece dos importantes beneficios en la contribución de la agricultura para mitigar el cambio climático. Uno es la reducción en el consumo de gasóleo necesario para las labores alternativas, que puede llegar a 32-41 l/ha y mejora la productividad energética (toneladas de cosecha obtenidas por unidad de energía) (SWCS, 1994, HERNANZ y SÁNCHEZ-GIRÓN, 1997, GIL y otros, 2009), especialmente cuando la agricultura de conservación se combina con la rotación de cultivos. El segundo es que la oxidación más lenta de los restos vegetales que permanecen sobre el suelo conduce a un aumento en la materia orgánica hasta niveles más cercanos a los encontrados en las tierras sin roturar, y aumenta el carbono retenido en ella, que en los primeros años puede llegar a una inmovilización de 770 kg por ha y año (AEAC/SV, 2010). Estos beneficios pueden ser de suma importancia en la contribución de la agricultura para la mitigación del cambio climático, mejorando la eficiencia de las producciones para obtener alimentos o fibras y optimizando la producción de biocombustibles.



Figura 5. Siembra directa de maíz en rastrojo de cebada

Seguridad de las aplicaciones, de acuerdo con la Regulación Europea

El mecanismo de acción del glifosato consiste en el bloqueo de una enzima que se encuentra en las plantas pero no en animales, y su baja peligrosidad para mamíferos ha sido reconocida por las autoridades españolas responsables del Registro de Productos Fitosanitarios, por los expertos de la Organización Mundial de la Salud (WHO, 1994), y también ha sido recogido en los datos de la monografía que ha aceptado a esta materia activa en el Anexo I del Registro europeo de

acuerdo con la Directiva 91/414/CEE (Comisión Europea, 2002).

Desde 1942, la comercialización de un producto fitosanitario en España requiere la inscripción previa en el Registro Oficial de Productos Fitosanitarios. La primera autorización para la primera formulación de glifosato en 1974 incluía la clasificación en la Categoría B(AA) que en 1978 fue modificada a la Categoría A(AA), de acuerdo con los datos más completos disponibles para la materia activa (SACHER, 1978, ATKINSON, 1985). Las dos últimas letras reflejaban el riesgo de las aplicaciones para la fauna terrestre o acuática, respectivamente (A=bajo, B=mediano, C=alto), aspecto en el que las autoridades de nuestro país fueron pioneras cuando la sensibilidad por el medio ambiente era muy distinta a la actual.

Posteriormente, la legislación española sobre residuos fue aproximándose a la vigente en otros países europeos y los límites máximos de residuos (en realidad tolerancias para la presencia de trazas de materia activa) para frutas y otros productos vegetales eran establecidos caso por caso, con un razonamiento científico. La legislación española también adoptó con el Real Decreto 1423 de 1982 la bajísima tolerancia de 0,1 microgramos/litro, para la presencia en aguas potables o subterráneas de cualquier producto fitosanitario, independientemente de su peligrosidad. Esta escasa tolerancia, ha sido exigida posteriormente también a los productos de la degradación de una sustancia activa con posible significación toxicológica en la regulación Europea, y ha constituido una de las causas para la prohibición del uso de importantes herbicidas que siguen siendo utilizados en otros continentes.

La Directiva 91/414/CEE, vigente en la Unión Europea desde 1993 para los nuevos productos fitosanitarios, armonizó la regulación para autorización de productos fitosanitarios en la UE. De acuerdo con los principios uniformes, en el momento de la autorización se exige garantizar que, cuando los productos fitosanitarios se utilicen adecuadamente para los fines previstos en su eti-

queta, sean lo suficientemente eficaces y no tengan efectos inaceptables sobre los vegetales o productos vegetales, ni efectos inaceptables sobre el medio ambiente en general, ni, en particular, un efecto nocivo sobre la salud humana o animal, o en las aguas subterráneas. Estas condiciones, han sido exigidas a todas las materias activas como el glifosato, que han superado la revisión para inclusión en el Anejo I de la Directiva 91/414/CEE y a cada una de sus formulaciones.

La peligrosidad de cada formulación herbicida es determinada por los expertos del Ministerio de Sanidad de acuerdo con los resultados de los estudios realizados con la materia activa y la propia formulación. Esta evaluación se concreta en frases y pictogramas de riesgo que tienen que aparecer en la etiqueta para alertar al usuario de los peligros más importantes, y consejos de prudencia para que se realice un uso adecuado del producto. Pero conviene recordar que:

Riesgo = Peligro x Exposición.

Dado que el glifosato tiene un perfil toxicológico relativamente favorable, se da la paradoja de que algunos productos formulados (como los autorizados con números de registro nº 16.948, 16.252 y 22.959) no precisan la inclusión de pictogramas indicativos de riesgo del producto cuando se presentan en envases llenos, pero estos envases se convierten en residuos peligrosos cuando están vacíos, como consecuencia de la aplicación indiscriminada del Real Decreto 952/1997, que ha complicado el cumplimiento con la Ley 11/1997 de envases y residuos de envases.

Otra de las consecuencias de la Directiva 91/414/CEE ha sido la necesidad de evaluar la seguridad durante la exposición de los aplicadores en los usos recomendados, lo que puede dar lugar a medidas adicionales para mitigación de riesgos. La exposición es calculada de acuerdo con diferentes modelos de exposición (UK POEM, etc.), con base en las cantidades de producto aplicadas

y formas de aplicación. Como en algunos casos los modelos de exposición sobrevaloran la cantidad absorbida por los aplicadores, ha sido necesario complementarlos con estudios de exposición en condiciones reales realizados de acuerdo con Buenas Prácticas de Laboratorio (ACQUAVELLA y otros, 2004) para la aceptación de los usos propuestos.

Beneficios de un uso integrado para frenar el calentamiento global y para preservar la biodiversidad frente a especies invasoras

Con un herbicida que puede ser aplicado sin problemas para personas y medio ambiente, y unas condiciones socioeconómicas que favorecen su empleo, es aconsejable valorar su uso integrado en las mejores prácticas agronómicas para contribuir a unos resultados más eficientes y sostenibles. Así, se han comprobado beneficios para la biodiversidad en aplicaciones controladas de una formulación de glifosato con baja peligrosidad para la fauna acuícola para el control de

especies invasoras en el Parque Natural de l'Albufera de València (DIES JAMBRINO y FERNÁNDEZ ANERO, 1997).

Las reducciones en el consumo de gasóleo al sustituir las labores por tratamientos con glifosato son importantes, pues en la moderna olivicultura se consigue reducir de 12 a 3 los litros de gasóleo empleados en las labores necesarias para producir 100 kg de aceituna de almazara (basado en datos de PASTOR, 1990 y 1991) y con la agricultura de conservación en cultivos herbáceos las necesidades de gasóleo se reducen entre 32 y 41 l/ha (GIL y otros, 2009). Teniendo en cuenta la energía obtenida con la cosecha y la consumida en todos los factores de producción, la Asociación Española de Agricultura de Conservación, en documento publicado por el Instituto para la Diversificación y Ahorro de la Energía (Ministerio de Industria, Turismo y Comercio) ha concluido que la productividad energética máxima se consigue tras siembra directa con herbicidas o con mínimo laboreo (GIL y otros, 2009).

La eficiencia es considerada un avance positivo en la industria, el transporte y los

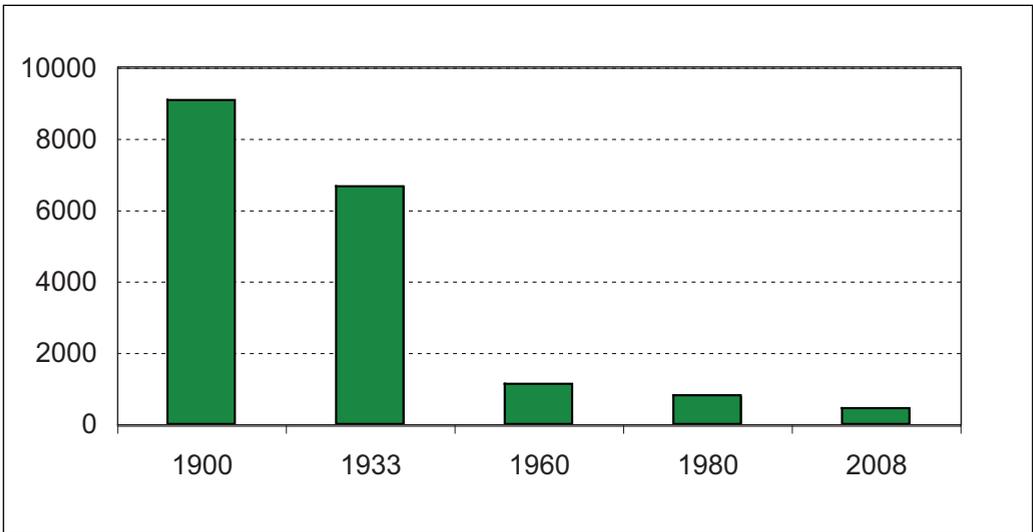


Figura 6. Superficie media de olivar en m², necesaria para producir 100 kg de aceituna de almazara en España (según datos de Trueba y Villauriz, 2000, y Anuario de Estadística del MARM, 2009)

servicios, pero cuando se habla de “agricultura productivista” a menudo es de forma peyorativa. Aunque el mérito debe ser compartido con otros importantes avances agronómicos (mejora vegetal, densidad de plantación, riegos, fertilización, fitosanitarios, etc.) la disponibilidad de herbicidas basados en glifosato ha facilitado en olivar la adopción de nuevos sistemas de manejo del suelo que han contribuido a la impresionante mejora en la eficiencia reflejada en la Figura 6.

La mejora en la eficiencia productiva, acompañada del respeto al medio ambiente, es esencial para conservar la biodiversidad, pues reduce la superficie de suelo ocupada para obtener cada unidad de alimento, fibra o biocombustible, reduciendo la presión para roturar los espacios naturales que albergan la mayor variedad de organismos potencialmente útiles. Sin embargo se sigue roturando cada vez más a nivel mundial, pues la población no para de crecer y exige mejor alimentación, por lo que es urgente mejorar la eficiencia productiva en todos los países.

REFLEXIONES Y RECOMENDACIONES

El abaratamiento relativo de las aplicaciones de glifosato frente a la mano de obra y el gasóleo explica su importante crecimiento en España y a nivel global, añadiendo razones económicas a los beneficios agronómicos y medioambientales de la reducción en el laboreo y las escardas manuales. Para mantener estos beneficios y promover un uso sostenible del glifosato en el nuevo marco regulatorio Europeo proponemos:

Gestión responsable de las aplicaciones

Si la Directiva 91/414/CEE vela para que los productos fitosanitarios sean seguros cuando se utilicen adecuadamente, es obvio que gran parte de la responsabilidad de su empleo depende de que los aplicadores res-

peten escrupulosamente las condiciones que figuran en la etiqueta autorizada. Así, los usuarios están obligados a seguir las normas de aplicación para cada herbicida, de forma similar a la obligación de los conductores de coches que están obligados a seguir las normas de circulación. Y cuando ocurren infracciones, los posibles expedientes o sanciones tendrían que recaer sólo sobre los posibles desaprensivos, para que los operadores juiciosos no sean injustamente penalizados.

El éxito del glifosato ha significado una evolución en España desde la comercialización de un sólo formulado autorizado en 1974 hasta unos 114 herbicidas autorizados con esta materia activa en febrero de 2011. Las características y condiciones de empleo de esta amplia gama de herbicidas no tienen por qué coincidir, pero persiste la obligación de que cada uno sea aplicado de acuerdo con la etiqueta autorizada. Para ello, es aconsejable que tanto el fabricante como los operadores de la cadena de distribución acompañen la venta del herbicida con medidas de formación adecuadas para que el aplicador final use el producto correctamente. Esta tarea se llevó a cabo razonablemente en las primeras décadas del desarrollo de las primeras formulaciones de glifosato, pero en estos momentos los fabricantes se enfrentan al doble desafío de:

- Asegurar que el uso final del herbicida sea acorde con las crecientes exigencias regulatorias (Directiva 91/414/CEE y Reglamento CE nº 1107/2009), la Directiva 2009/128/CE sobre uso sostenible de fitosanitarios, y la Directiva marco de aguas 2000/60/CE, entre otras.
- Disponer de recursos suficientes para la gestión responsable del producto, en un marco de enorme competencia y márgenes económicos reducidos para formulados de glifosato (ver Figura 4).

La administración juega también un papel importante en este proceso, actualmente a nivel central durante el proceso de autorización de los formulados y a nivel autonómico

con recomendaciones de empleo o inspecciones ajustadas a las diferentes Comunidades Autónomas. La industria de productos fitosanitarios ha realizado importantes esfuerzos para optimizar la eficacia herbicida, pero cuando se consiguieron formulaciones que permitían reducir la cantidad de materia activa (SALTO y otros, 1989), apenas fueron reconocidas en un contexto que buscaba la optimización del uso de fitosanitarios.

Desde Monsanto, pensamos que la gestión responsable para un herbicida como glifosato no debe limitarse al lanzamiento comercial del

producto, sino que su desarrollo posterior debe ir acompañado con recomendaciones apropiadas, llegando hasta la fase de cancelación si fuera necesaria para alguna formulación. Para ello las recomendaciones de empleo y clarificación de las frases que aparecen en la etiqueta se transmiten a través de la correspondiente red de distribuidores, acompañadas de artículos impresos y páginas de Internet como: <http://www.weedresistancemanagement.com>, www.egeis-toolbox.org (conjuntamente con otras empresas), y <http://www.monsanto.es> (sección sobre productos Monsanto).



Figura 7. Resumen de las medidas de gestión responsable más importantes para Roundup® Energy Pro (Registro 22.959)

Gestión responsable frente a los casos de resistencias

Se considera que una mala hierba ha desarrollado resistencia a un herbicida cuando antes era bien controlada con las dosis autorizadas, pero con el paso del tiempo escapa al control del producto. Este fenómeno no es nuevo, ocurre con la mayoría de herbicidas y fitosanitarios tras aplicaciones reiteradas de la misma materia activa, y por tanto no es

exclusivo del glifosato ni de su empleo sobre plantas modificadas genéticamente que lo toleran. En España ya se han detectado y comprobado casos de resistencia en ciertos biotipos de *Lolium* (FERNÁNDEZ-ANERO y otros, 2005) y *Conyza* (URBANO, 2005, DE PRADO, 2010). El seguimiento a nivel mundial de los casos de resistencia es posible gracias a las páginas de Internet actualizadas por Ian Heap en www.weedscience.org de las que hemos extraído la siguiente figura.

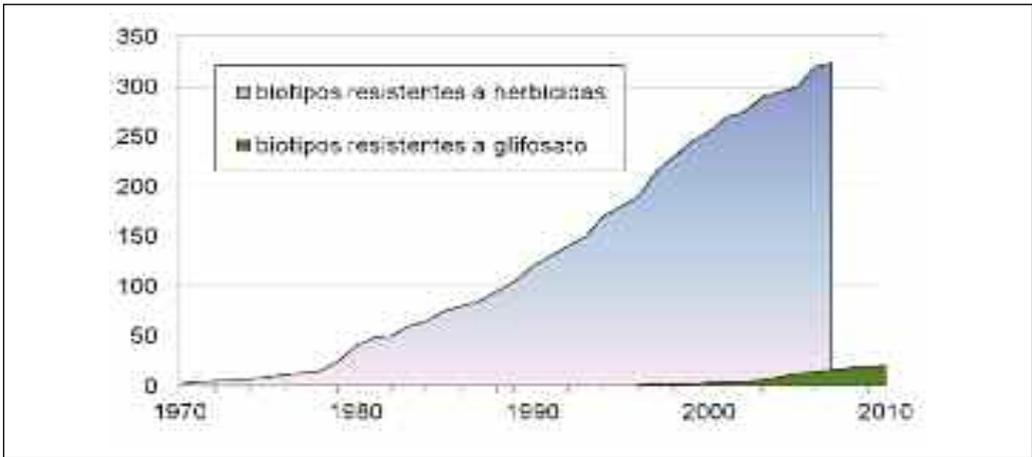


Figura 8. Aparición global de biotipos resistentes a glifosato y a otros herbicidas (según datos de I. Heap en www.weedscience.org)

Para España, en las páginas www.weedscience.org se dan por confirmados casos de biotipos resistentes en *Lolium rigidum* (2004), *Lolium multiflorum* (2006), *Conyza bonariensis* (2004), *Conyza canadensis* (2006), y *Conyza sumatrensis* (2009). La prevalencia de biotipos resistentes a glifosato está relacionada con la aplicación reiterada de esta materia activa y parece estar asociada a algunas desventajas biológicas competitivas, tanto en *Lolium* (PRESTON y otros, 2009), como en *Conyza* (VALLE y URBANO, 2007).

Para la gestión correcta de las posibles resistencias a glifosato, conviene tener en cuenta los siguientes aspectos:

- La detección de una resistencia a un herbicida no implica ningún efecto adverso para el medio ambiente, pues no conduce a efectos adversos para ningún organismo y es una prueba de la robustez de muchos ecosistemas. No obstante, la resistencia a un herbicida es un acontecimiento indeseable, pues reduce el valor del producto para el fabricante, para los distribuidores, y para el agricultor. El daño económico producido justifica tanto las estrategias de preven-

ción para evitar su aparición como las estrategias de gestión para reducir al mínimo su impacto, y la elección de la alternativa más adecuada debe corresponder al propio agricultor que compra el herbicida.

- Los factores asociados a las malezas que han desarrollado resistencia a glifosato son: aplicación reiterada y frecuente de esta materia activa, ausencia de rotaciones, supresión del laboreo y control incompleto de las malas hierbas presentes. Como la diseminación de malezas resistentes a glifosato es afortunadamente más lenta que la de plagas o enfermedades resistentes a otros fitosanitarios, una estrategia de gestión es aplicar las dosis de herbicida necesarias para un control completo de las hierbas indeseables. En el caso de que se observen rodales con malezas que han escapado al control, las áreas con estos biotipos deben ser gestionadas adecuadamente -antes de que las hierbas produzcan semillas-, usando otros tipos de herbicidas autorizados o mediante labores o prácticas culturales.
- Una circunstancia que está favoreciendo la aparición de malezas resistentes a gli-

fosato y a la vez dificulta su gestión es la reducción en el número de herbicidas alternativos disponibles, pues el paraquat era una buena solución a los primeros casos observados en vallico. Además de las labores superficiales

donde sean posibles, detallamos a continuación las materias activas alternativas que –cuando estén autorizadas en el cultivo implicado– pueden ayudar a controlar los biotipos resistentes de *Lolium* o *Conyza*.

<i>Lolium</i> (vallico, margall)	Materias activas alternativas
Pre-siembra de cultivos herbáceos	Cletodim, cicloxidim, glufosinato y quizalofop-p-etil
Aplicaciones dirigidas en cultivos leñosos	Amitrol, flazasulfuron, glufosinato, quizalofop-p-etil y cicloxidim (vid)
<i>Conyza</i> (pinet)	Materias activas alternativas
Pre-siembra de cultivos herbáceos	Fluroxipir, glufosinato, MCPA
Aplicaciones dirigidas en cultivos leñosos	Amitrol, flazasulfuron, fluroxipir, MCPA y glufosinato amónico

En cualquier caso, es deseable una gestión responsable de las aplicaciones por parte de todas las empresas implicadas en su comercialización, pues el glifosato se ha considerado menos peligroso que muchos de los herbicidas a los que reemplaza desde el punto de vista toxicológico y medioambiental (CERDEIRA y DUKE, 2006). En Holanda se ha detectado la presencia de trazas de AMPA (ácido amino metil fosfónico y metabolito de glifosato) en aguas superficiales, pero la procedencia de esta sustancia parece estar relacionada con el metabolismo de detergentes y otros aditivos fosfonados que llegan al agua en mayores cantidades⁽²⁾.

Uso sostenible de las formulaciones de glifosato en la próxima década

Es de prever que durante los próximos años confluyan tres circunstancias que aconsejan una máxima atención para el buen uso de este herbicida, pues: a) no se anticipan razones para que el número de formulaciones autorizadas o la importancia de su empleo se reduzca sustancialmente, y es esperable una máxima atención a su empleo por

los expertos y autoridades; b) se está implementando de forma gradual la Directiva 2009/128/CE que establece un marco para un uso sostenible de plaguicidas, con el fin de reducir sus riesgos (ORODEA, 2008; COSIALLS y otros, 2010); y c) a partir de 2014, toda la agricultura europea deberá seguir los principios de la producción integrada.

De acuerdo con el Real Decreto 1201/2002 que regula la producción integrada de productos agrícolas, se definen como producción integrada los sistemas agrícolas de obtención de vegetales que utilizan al máximo los recursos y los mecanismos de producción naturales y aseguran a largo plazo una agricultura sostenible, introduciendo en ella métodos mecánicos, biológicos y químicos de control, y otras técnicas que compatibilicen las exigencias de la sociedad, la protección del medio ambiente y la productividad agrícola. Para el control de malas hierbas, este Decreto da preferencia a los medios mecánicos, biológicos o aquellos que ofrezcan el menor riesgo de emisiones de CO₂, condición que se cumple cuando la aplicación de un herbicida como glifosato en agricultura de conservación evita emisiones superiores asociadas a las labores (Gil y

⁽²⁾ http://www.egeis.org/home/glyph_info/ampa_report_summaries.html?m=s2s3

otros, 2009). Las tres circunstancias descritas al principio de este apartado requieren la máxima atención de empresas, distribuidores y agricultores o aplicadores, en aspectos como:

1. **Máximo respeto a las regulaciones.**

Dado que la imagen de los fitosanitarios es cuestionada por aquellos que ignoran las estrictas condiciones impuestas para su aprobación, es esencial actuar correctamente, pero también muy importante que este cumplimiento se transmita al resto de la sociedad. Entre otros, destacamos:

- Completar la formación exigida para distribuidores y aplicadores. Es un logro que sólo en Cataluña ya hay más de 36.000 personas que disponen de carnets de aplicador de fitosanitarios (COSIALS y otros, 2010), y tendrá que completarse en otras zonas, incluyendo la formación exigida a los distribuidores y operadores comerciales de productos fitosanitarios.
- Inscribir en cada Comunidad Autónoma antes del 15 de julio de 2011 todos los equipos arrastrados o suspendidos para la aplicación de herbicidas (Real Decreto 1013/2009), y no descuidar las revisiones posteriores, pues las boquillas y otros componentes pueden haberse desgastado y necesitar cambios. La inscripción debe realizarse en los Registros Oficiales de Maquinaria Agrícola (ROMA) de los Servicios Provinciales de Agricultura y Alimentación⁽³⁾.
- Anotar, y conservar durante 2 años, el registro de las plagas y malas hierbas tratadas para cada parcela, fechas de aplicación, y el producto empleado con su número de Registro (Orden APA/326/2007). Para no

ver reducidas las ayudas relacionadas con la condicionalidad, también hay que conservar durante dos años las facturas de adquisición del producto, o contratos con las empresas de tratamientos (TABERNER, 2010).

- Llevar a cabo las aplicaciones sin descuidar ninguna norma de seguridad personal, pues un uso descuidado de la maquinaria podría convertir en irrelevante el alto grado de seguridad obtenido con las mejores formulaciones de glifosato.
- Enjuagar con agua limpia el equipo utilizado en lugares donde el líquido caiga en áreas con suelo mullido, o cubiertas de vegetación o restos vegetales (cerca de las parcelas tratadas), para evitar que los residuos del herbicida lleguen a corrientes de agua superficial.
- Gestión responsable de los envases vacíos y restos de envases, procurando agotar su contenido en las aplicaciones autorizadas, depositando los envases de las empresas acogidas al programa SIGFITO en los lugares de recogida debidamente establecidos. Si el envase no muestra el anagrama de SIGFITO tendrá que ser devuelto al proveedor o a otro gestor autorizado.

La adaptación de los agricultores a las enormes posibilidades de las comunicaciones por Internet y el archivo electrónico de datos en ordenadores personales puede facilitar estas operaciones y convertirlas en una práctica tan cotidiana como lo es ya el empleo de teléfonos celulares.

- ### 2. **Aplicar el herbicida sólo donde haga falta.** Es imprescindible respetar todas y cada una de las recomendaciones de la etiqueta, siguiendo las buenas prácticas agrícolas descritas en la Figura 7.

⁽³⁾ http://www.aragon.es/estaticos/GobiernoAragon/Departamentos/AgriculturaAlimentacion/Documentos/docs2/Areas/Sanidad_Vegetal/Proteccion_Vegetal/Publicaciones/7_FITOSANITARIOMARZOABRIL2011.pdf

Puesto que la eficacia de algunas formulaciones de glifosato es igual o mayor cuando se reduce el volumen de caldo empleado, la deriva de pulverización hacia aguas o cultivos vecinos puede ser fácilmente evitada tratando

en días sin viento, manteniendo una presión inferior a 2,5 atmósferas y/o empleando boquillas anti-deriva. Una pequeña muestra no exhaustiva de tipos de boquillas disponibles para ellos:

Fabricante	Boquillas para tratamientos a baja presión o antideriva
www.albuz.saint-gobain.com	AVI 8001, AVI 11001 (para barras), MVI (espejo)
www.delavanagspray.com	RF Flatspray, Raindrop Ultra Plus, RA Hollow cone
www.hardi.es	Minidrift
www.lechler.de	ID 90-01, IDK 120-01, LU 90-01(para barras)
www.teejet.com	DG Teejet, XR Teejet (barras), Turbo Floodjet (Espejo)

El interés de esta materia activa para una gestión integrada de malas hierbas se deriva de características como:

- Inactivación en contacto con el suelo, seguida de biodegradación de los residuos inertes. Por ello su aplicación no interfiere en las rotaciones de cultivos, siempre deseables para una mejor sanidad del cultivo.
- Menor alteración que con labores mecánicas alternativas del hábitat de las especies no objetivo que nidifican en el suelo (aves, lombrices, artrópodos, etc.)
- Compatibilidad con las siegas y labores mecánicas cuando tienen justificación más allá del control de malezas. Una vez que han transcurrido 24 – 48 h desde que las hierbas han sido tratadas con glifosato, las labores pueden aplicarse sin reducir el control herbicida.
- Facilitan el control de la erosión al dejar sobre el suelo los restos de cultivos (rastros) y de las malezas tratadas.
- Contribuyen a mitigar las emisiones de CO₂, tanto por controlar la vegetación con menor consumo de gasóleo (GIL y otros, 2009) como por permitir una oxidación más lenta de los restos vegetales en ausencia de

labores, de forma que la acumulación de materia orgánica se comporta como un sumidero de carbono.

3. Gestión responsable de las aplicaciones sobre variedades Roundup Ready® (modificadas genéticamente para tolerancia a glifosato)

Son variedades mejoradas que incorporan en su ADN ciertas secuencias genéticas que representan una pequeñísima proporción del germoplasma de la planta, pero cuya presencia le confiere la capacidad de tolerar la aplicación del glifosato sobre plantas del cultivo, en sus primeras fases de desarrollo. Esta tolerancia se consigue gracias a la producción por la propia planta de trazas de una proteína (CP-4 EPSPS) funcionalmente similar a la producida por plantas convencionales, pero que no es inactivada por la aplicación del herbicida (COSTA y otros, 2007). La excelente tolerancia del cultivo MG (modificado genéticamente) a este herbicida de amplio espectro simplifica las operaciones del agricultor, en superficies que en 2010 alcanzaron más de 100 millones de hectáreas sembradas en EE.UU., Brasil, Argentina, Canadá, Sudáfrica y otros países.

La autorización para el cultivo de una modificación genética requiere que

los riesgos para el medio ambiente del cultivo propuesto no sean superiores a los de las variedades convencionales. En el caso de los maíces NK603, por ejemplo, esta evaluación de riesgo liderada por España, requiere que las condiciones de empleo del herbicida autorizado para este uso eviten efectos potencialmente adversos para el medio ambiente como 1) cambios de flora hacia una menor biodiversidad agraria, 2) evolución de resistencia a herbicidas, y 3) efectos sobre las comunidades microbianas (EFSA, 2009).

Por ello, además de emplear y seguir la etiqueta de una formulación de glifosato autorizada específicamente sobre maíces tolerantes a glifosato –para que luego no se presenten problemas de residuos, eficacia, selectividad, o efectos indeseables para el medio ambiente- es imperativo seguir las indicaciones distribuidas con las semillas derivadas de la modificación genética NK603 que incluirán:

– Recomendaciones para prevenir en el cultivo de maíz tolerante la apari-

ción de hierbas resistentes a glifosato, por ejemplo mediante programas que limiten la aplicación de glifosato y alternando su empleo con el de otros herbicidas o técnicas culturales. Si a pesar de estas recomendaciones se observara resistencia a glifosato en alguna especie, deberá comunicarse al fabricante del herbicida y al proveedor de la semilla, no utilizando de nuevo estas variedades en las parcelas afectadas mientras persista el problema.

- Recomendaciones de coexistencia, similares a las difundidas actualmente para maíces MG protegidos contra taladros⁽⁴⁾, para que el cultivo de estas variedades no obligue al etiquetado de maíces vecinos convencionales o ecológicos.
- Requisitos de trazabilidad y etiquetado, para cumplimiento del Reglamento CE 1830/2003, que incluyen la comunicación por escrito a los compradores del grano, para que los productos finales lleguen correctamente etiquetados y los consumidores puedan elegir.

ABSTRACT

COSTA, J., NOVILLO, C., ÁLVAREZ-SABORIDO, A. 2011. Glyphosate: 35 years of use and challenges for the future. *Bol. San. Veg. Plagas*, 37: 263-279.

In this paper, the characteristics of glyphosate, which in the last 35 years have allowed the growth of its use to become one of the major herbicides in Spain, are reviewed. The proven benefits (time savings, erosion control, production efficiency and mitigation of CO₂ emissions) and safety of applications in multiple situations, support the continued use within integrated crop production systems which help to mitigate the climate change and helping in the control of invasive species. The higher use frequency, derived from its benefits, advises for the future a proper stewardship of glyphosate applications, including pre plant applications in annual crops, directed applications in woody crops and potential applications over the top of young plants of glyphosate tolerant, genetically modified varieties. The stewardship required must include actions to prevent and/or manage the risk of glyphosate resistant weeds, the use of best application technologies to limit the herbicide presence to sprayed areas, and an exquisite adherence to regulations, jointly with a proper results communication.

Key words: Application, agriculture, sustainability, transgenic, GM varieties.

⁽⁴⁾ http://www.anove.es/docs/maizbt_2011.pdf

REFERENCIAS

- ACQUAVELLA, J. F., ALEXANDER, B. H., MANDEL, J. S., GUSTIN, C., BAKER, B., CHAPMAN, P., BLEEKE, M. 2004. Glyphosate Biomonitoring for Farmers and Their Families: Results from the Farm Family Exposure Study. *Environmental Health Perspectives*, **112**: 321-326.
- AEAC/SV. 2010. El Proyecto LIFE + Agricarbon: una iniciativa para el cuidado del medio ambiente desde el sector agrario. *Agricultura de Conservación*, **15**: 18-19.
- ATKINSON, D. 1985. Toxicological properties of glyphosate-a summary. Pp. 127-150 en E. Grossbard y D. Atkinson (eds) "The herbicide glyphosate", Butterworths, London, 490 p.
- BARAIBAR, B., WESTERMAN, P. R., CARRIÓN E., RECASENS, J. 2009. Effects of tillage and irrigation in cereal fields on weed seed removal by seed predators. *Journal of Applied Ecology*, **46**: 380-387.
- BELMONTE, J. 1993. Estudio comparativo sobre la influencia del laboreo en las poblaciones de vertebrados en la campiña de Jerez. *Bol. San. Veg. Plagas*, **19**: 211-220.
- CASTRO, J., CAMPOS, P. PASTOR, M. 1996. Influencia de los sistemas de cultivo empleados en olivar y girasol sobre la composición de la fauna de artrópodos en el suelo. *Bol. San. Veg. Plagas*, **22**: 557-570.
- CERDEIRA, A. L., DUKE, S. O. 2006. The current status and environmental impacts of glyphosate-resistant crops: A review. *Journal of Environmental Quality*, **35**: 1633-1658.
- COMISIÓN EUROPEA. 2002. Review report for the active substance glyphosate. SANCO 6511/VI/99-final. 56 p.
http://ec.europa.eu/food/plant/protection/evaluation/existactive/list1_glyphosate_en.pdf
- COSIALLS, J.R., FORNER, A., NOLLA, A. 2010. La Directiva 2009/128/CE, que establece un marco para conseguir un uso sostenible de los plaguicidas. *Dossier Tècnic*, **47**: 13-16.
- COSTA, J., EULALIO, P., FERNÁNDEZ-ANERO, J., GARNETT, R., MARTÍN, C., MUELLEDER, N., NOVILLO, C., PLANCKE, M. P., PLEYSIER, A. 2007. Seguridad del herbicida Roundup Ready®, y de su empleo sobre variedades modificadas genéticamente para tolerancia a glifosato. Cuaderno Técnico, nº 6. Monsanto Agricultura España, S.L., 59 p.
- CPRH. 2011. La Resistencia de las malas hierbas a los herbicidas. Comité para la Prevención de Resistencias a Herbicidas (CPRH). Unidad de Malherbología, Servicio de Sanidad Vegetal, Lleida, 14 p.
- DIES JAMBRINO, J. I., FERNÁNDEZ-ANERO, J. 1997. Resultados en la recuperación de la biodiversidad en el Racó de l'Olla (l'Albufera de València) tras la aplicación selectiva de un herbicida de baja peligrosidad. *Boletín. Sanidad Vegetal. Plagas*, **23**: 17-37.
- EFSA. 2009. Scientific Opinion: Applications (referencias EFSA-GMO-NL-2005-22, EFSA-GMO-RX-NK603) for the placing on the market of the genetically modified glyphosate tolerant maize NK603 for cultivation, food and feed uses, import and processing and for the renewal of the authorization of maize NK603 as existing products, both under Regulation (EC) No 1829/2003 from Monsanto. *The EFSA Journal*, **1137**: 1-50.
- FERNÁNDEZ-ANERO, J., COSTA, J., PLANCKE, M. P., GARNETT, R., STARKE, M. 2005. 30 años de eficacia con Roundup. Visión general y situación en los casos de resistencia a glifosato. *Phytoma España*, **173**: 119-125.
- GARCÍA-TORRES, L., BENITES, J., MARTÍNEZ-VILELA, A., HOLGADO-CABRERA, A. 2003. Conservation Agriculture. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Netherlands, 516 p.
- GIESY, J. P., DOBSON, S., SÓLOMON, K. R. 2000. Ecotoxicological risk assessment for Roundup herbicide. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, **167**: 35-120.
- GIL, J., VEROZ, O., HERNANZ, J. L., GONZÁLEZ, E. 2009. Ahorro y eficiencia energética con agricultura de conservación. Instituto para la Diversificación y Ahorro de la Energía (IDAE), Ministerio de Industria, Turismo y Comercio, Madrid, 56 p.
- GIRÁLDEZ, J. V. 1997. Efectos de los diferentes sistemas de laboreo sobre las propiedades físicas del suelo. Pp. 13-39 en García Torres, L. y González Fernández, P. (eds) "Agricultura de conservación. Fundamentos agronómicos, medioambientales y económicos". Asociación Española de Laboreo de Conservación/Suelos Vivos, Córdoba, 372 p.
- GÓMEZ DE BARREDA, D. 1981. La escarda química en los agrios. Cuaderno INIA nº 10. Instituto Nacional de Investigaciones Agrarias, Ministerio de Agricultura y Pesca, Madrid 155 p.
- GROSSBARD, E., ATKINSON, D. (Eds.). 1985. The herbicide glyphosate. Butterworths, London, 490 p.
- HERNANZ, J. L., SÁNCHEZ-GIRÓN, V. 1997. Utilización de la energía en diversos sistemas de laboreo. Pp. 243-257 en García Torres, L. y González Fernández, P. (eds) "Agricultura de conservación. Fundamentos agronómicos, medioambientales y económicos". Asociación Española de Laboreo de Conservación/Suelos Vivos, Córdoba, 372 p.
- JAMES, C. 2010. Situación mundial de la comercialización de cultivos biotecnológicos / MG en 2010. Resumen Ejecutivo nº 42. ISAAA, Ithaca, New York, 26 p.
- JEFFERY, S., GARDI, C., JONES, A., MONTANARELLA, L., MARMO, L., MIKO, L., RITZ, K., PERES, G., RÖMBKE, J., VAN DER PUTTEN, W. H. (eds). 2010. European Atlas of Soil Biodiversity. European Commission, Publications Office of the EU, 130 p.
- MUÑOZ, A., LÓPEZ-PIÑEIRO, A., RAMÍREZ, M. 2007. Soil quality attributes of conservation management regimes in a semi-arid region of south western Spain. *Soil & Tillage Research*, **95**: 255-265.
- OERKE, E-C. 2006. Crop losses to pests. *Journal of Agricultural Science* **144**: 31-43.
- ORDÓÑEZ, R., R. CARBONELL, P. GONZÁLEZ, VEROZ, O., 2008. Efecto de las operaciones agrícolas sobre las emisiones de CO₂ a la atmósfera. *Agricultura de Conservación*, **10**: 40-44.
- ORDEA, L.F. 2008. Directiva de uso sostenible de los plaguicidas. *Phytoma España*, **203**: 19-22.

- PASTOR, M. 1990-91. El no laboreo y otros sistemas de laboreo reducido en el cultivo del olivar. *OLIVAE*, **34**: 18-30 y **35**: 35-49.
- PASTOR, M., CASTRO, J., VEGA, V., HUMANES, M^a. D. 1997. Sistemas de manejo del suelo. Pp. 189-228 en D. BARRANCO, D. FERNÁNDEZ-ESCOBAR y L. RALLO (eds) "El cultivo del olivo". Ediciones Mundi-Prensa, Madrid, 605 p.
- PARK, J. R., MCFARLANE, I., PHIPPS, R. H., CEDDIA, G. 2011. The role of transgenic crops in sustainable development. *Plant Biotechnology Journal*, **9**: 2-21.
- PRESTON, P., WAKELIN, A. M., DOLMAN, F. C., BOSTAMAM, Y., BOUTSALIS, P. 2009. A decade of glyphosate-resistant *Lolium* around the World: mechanisms, genes, fitness, and agronomic management. *Weed Science*, **57**: 435-441.
- RODRÍGUEZ, E., FERNÁNDEZ-ANERO, F. J., RUIZ, P., CAMPOS, M. 2006. Soil arthropod abundance under conventional and no tillage in a Mediterranean climate. *Soil & Tillage Research*, **85**: 229-233.
- SACHER, R. 1978. Safety of Roundup in the environment. Pp- 3-23 en "Roundup Seminar. Paper", Madrid, 57 p.
- SALTO, T., COSTA, J., GARCÍA-BAUDÍN, J. M^a. 1989. Eficacia a corto plazo de una nueva formulación de glifosato. *Proc. 4 EWRS Mediterranean Symposium 1989. Tomo I*: 174-178.
- SWCS. 1994. White Paper. Farming for a better environment. Soil and Water Conservation Society, Ankeny, Iowa, 67 p.
- TABERNER, A. 2010. Obligacions dels agricultors quant a la utilització dels productes fitosanitaris i la seva implicació en la condicionalitat dels ajuts. *Dossier Tècnic*, **47**: 21-23.
- TEBRÜGGE, F. 2003. No-Tillage visions – Protection of soil, water and climate and influence on management and farm income. Pp. 327-340 in "Conservation Agriculture", Ed by GARCÍA-TORRES *et al.*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Netherlands, 516 p.
- TRUEBA, D., VILLLAURIZ, A. 2000. Evolución y desarrollo de los cultivos agrarios en España durante el siglo XX. *PHYTOMA España*, **119**: 66-70.
- URBANO. 2005. Manejo de poblaciones de *Conyza bonariensis* resistentes a glifosato. *Phytoma España*, **173**: 114-118.
- VALERA, A., COSTA, J. 1990. Seguridad de StingTM SE en olivar. Tratamientos herbicidas con presencia de aceitunas sobre el suelo. *Actas Reunión 1990 de la Sociedad Española de Malherbología*: 225-230.
- VALLE, J., URBANO, J. M. 2007. Estudio de la herencia de la Resistencia a glifosato en *Conyza bonariensis*. *Congreso 2007 de la Sociedad Española de Malherbología*: 355-358.
- WHO. 1994. Environmental Health Criteria No. 159. Glyphosate. World Health Organization, International Programme of Chemical Safety (IPCS), Geneva, 123 p.
- WHO. 1997. Rolling Revision of WHO Guidelines for Drinking-Water Quality. WHO, Geneva, 23 p.
- VON WITZKE, H., NOLEPPA, S. 2010. EU agricultural production and trade: Can more efficiency prevent increasing "land-grabbing" outside of Europe? Research Report, Humboldt University, Berlin, 40 p.

(Recepción: 9 marzo 2011)

(Aceptación: 7 noviembre 2011)

Distribuição volumétrica e diâmetro de gotas produzidas por pontas de pulverização com indução de ar na aplicação de herbicida com e sem adjuvantes

A. F. BARRÊTO, L. L. COSTA, J. C. JANINI, M. DA COSTA FERREIRA, G. DE NOBREGA ROMANI

Objetivou-se avaliar o espectro de gotas e o padrão de distribuição volumétrica de caldas herbicida com e sem o uso de dois adjuvantes comerciais (organo siliconado e óleo vegetal) aplicados com duas pontas de pulverização com indução de ar (AI e TTI 110 015) (TEEJET TECHNOLOGIES, 2008). Foi tomado como parâmetros na avaliação do espectro de gotas, Diâmetro mediano volumétrico (DMV), coeficiente de uniformidade (COEF) e porcentagem de gotas menores ou iguais a 100 µm, para tal utilizou-se de um medidor de partículas a laser. Para a confecção do perfil de distribuição das pontas com indução de ar, utilizou-se de uma mesa de distribuição com provetas graduadas, procedeu-se ainda o cálculo do coeficiente de variação para as pontas. Os resultados obtidos para o espectro de gotas foram comparados pelo teste F e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. A adição de adjuvantes na calda herbicida proporcionou maiores gotas, ocasionando menores gotas sujeitas a deriva, o que foi constatado pelo maior valor de DMV e menor porcentagem de gotas sujeitas a deriva, essas características foram evidenciadas nas caldas contendo o adjuvante óleo vegetal aplicadas com a ponta TTI. A distribuição volumétrica das caldas de aplicação de ambas as pontas foram favorecidas, destacando-se a adição do adjuvante organo siliconado na calda.

A. F. BARRÊTO, L. L. COSTA, J. C. JANINI, M. DA COSTA FERREIRA, G. DE NOBREGA ROMANI. Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV- UNESP Jaboticabal). Via de Acesso Professor Paulo Donato Castellane, s/n, zona rural, 14884-900, Jaboticabal, SP, Brasil. Departamento de Fitossanidade. E-mail: afbagro@yahoo.com.br, liliancosta@yahoo.com.br, mdacosta@fcav.unesp.br.

Palavras - chave: tecnologia de aplicação, surfatante, DMV.

INTRODUÇÃO

A ocorrência das plantas daninhas é um dos principais problemas fitossanitários, pois a produtividade das culturas sofre interferência direta através da competição por água, luz e nutrientes (LORENZI, 2000; DEUBER, 2003). Geralmente são eficientemente controladas por meio de aplicações de herbicidas, com custo financeiro inferior aos sistemas de controle físico e mecânico (DEUBER, 2003).

Nas pulverizações de herbicida, se realizada sem critério pode ocorrer a formação

de deriva, cuja consequência é a perda da eficiência do tratamento e aumento da contaminação ambiental. Desta forma, o estudo e desenvolvimento de novas tecnologias de aplicação tornam-se indispensáveis para a obtenção de melhores índices de eficiência de controle, que estão diretamente relacionados com a qualidade da aplicação (BAUER, RAETANO, 2000; BAUER, PEREIRA, 2005).

O uso de adjuvantes e pontas de pulverização com indução de ar tem sido importantes para a aplicação de produtos fitossanitários quanto à redução da deriva, por interfe-

rir diretamente no espectro de gotas e na distribuição volumétrica na barra de pulverização (FERREIRA, 2010). A utilização de pontas de pulverização com indução de ar possibilita realizar aplicações em condições climáticas menos propícias e desempenhar altas velocidades de deslocamento do conjunto trator-pulverizador na aplicação de herbicidas (BAUER, RAETANO, 2004; BAUER *et al.* 2006).

Várias pesquisas que avaliam os efeitos de adjuvantes demonstraram que o grupo químico e a dosagem dos adjuvantes também interferem nas propriedades físico-químicas das caldas de pulverização (IOST, 2008; QUEIROZ *et al.*, 2008; FERREIRA, 2010), além de reduzir em alguns casos a quantidade de produto no preparo da calda (DOURADO NETO *et al.*, 2004).

O uso de adjuvantes no preparo das caldas com herbicidas e aplicadas com pontas de pulverização com indução de ar podem proporcionar melhor uniformidade no espectro de gotas reduzindo a porcentagem de gotas sujeitas à deriva além de distribuir a calda de maneira mais uniforme na faixa de pulverização.

Com base no exposto, objetivou-se com esse trabalho, avaliar o perfil de distribuição volumétrica, determinar o espectro de gotas produzidas por pontas de pulverização hidráulica de jato plano com indução de ar AI 110015 e TTI 110015, utilizando-se calda contendo herbicida com e sem a adição de adjuvantes.

MATERIAL E MÉTODOS

Avaliação do espectro de gotas de pontas de pulverização AI e TTI 110 015

O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Análise do Tamanho de Partículas - LAPAR do Departamento de Fitossanidade da Universidade Estadual Paulista, UNESP, Câmpus de Jaboticabal, SP, durante o período compreendido entre os meses de outubro a novembro de 2009.

Nas avaliações do espectro de gotas produzidas pelas pontas e caldas foram determinados de forma direta num instrumento medidor de tamanho de partículas em tempo real Modelo Malvern Mastersizer, versão 2.19, que foi ajustado para avaliar gotas de 0,5 a 900 μm , (lente 300 mm). Foi utilizado um exaustor tipo coifa sobre a região do equipamento onde são emitidas as gotas para retirar as partículas que ficam suspensas no ar podendo resultar em duplas medidas ou podendo se depositar sobre a lente do aparelho.

Preparou-se 4L de calda para cada tratamento distribuídos da seguinte maneira: C1: água + herbicida (diuron + hexazinona, Volcano agro ciências); C2: água + herbicida (diuron + hexazinona) + 0,1% do organo siliconado (Silwett L-77 Ag - Momentive) e C3: água + herbicida (diuron + hexazinona) + 1% de óleo vegetal (Veget Oil, Oxiquímica Agrociência, Ltda.). Foram utilizados três exemplares de cada modelo de ponta de jato plano com indução de ar Teejet AI 110 015 (TEEJET TECHNOLOGIES, 2008) e Teejet TTI 110 015 (TEEJET TECHNOLOGIES, 2008). Esses modelos de pontas são utilizados para aplicação de herbicidas, com espectro de gotas de muito grossa a extremamente grossa de acordo com seu fabricante.

Cada ponta hidráulica foi instalada a 40 cm do feixe de laser. Para manter a pressão constante de 400 kPa, utilizou-se o ar comprimido contido em reservatório e controlado por um regulador de pressão de precisão. Com a finalidade de analisar o jato produzido pela ponta foi utilizado um oscilador que faz com que o jato de calda atravesse transversalmente o feixe de laser durante a leitura pelo aparelho.

A análise foi repetida três vezes em cada um dos exemplares utilizados. Em seguida, foram feitas médias entre os valores encontrados. As condições ambientais observadas foram monitoradas, temperatura: 20°- 25°C, umidade relativa 30-40 % e ausência de ventos.

Foi determinado diâmetro mediano volumétrico (DMV); porcentagem do volume

aplicado cujas gotas possuem diâmetro inferior ou igual a $100\mu\text{m}$ (% gotas $\leq 100\mu\text{m}$) e o coeficiente de uniformidade (COEF). O coeficiente de uniformidade foi obtido na planilha de resultados expressa pelo programa específico do analisador de partícula.

Os valores obtidos de DMV, porcentagem de gotas menores ou iguais a $100\mu\text{m}$, e o coeficiente de uniformidade foram submetidos ao Teste F e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade.

Distribuição volumétrica de pontas de pulverização AI e TTI 110 015

O experimento foi realizado no Departamento de Fitossanidade da FCAV/UNESP, Câmpus de Jaboticabal, SP, no mesmo período das avaliações do espectro de gotas. Para as avaliações da distribuição volumétrica utilizou-se mesa de deposição para pontas de pulverização hidráulica, constituída de uma chapa de metal corrugado em 67 canaletas dispostas em formato “V” distantes 2,5 cm entre si, totalizando 167,5 cm de largura por 100 cm de comprimento. As canaletas possuem uma inclinação de 15° de modo que o volume pulverizado depositado em cada canaleta é escoado a tubos coletores graduados e numerados, correspondentes às respectivas canaletas.

Cada exemplar de ponta com indução de ar (AI e TTI) foi instalada isoladamente a uma altura de 50 cm em relação à superfície da mesa, de modo que o jato fosse pulverizado verticalmente (FAO, 1998). Após a instalação da ponta, iniciou-se a pulverização com pressão constante de 400 kPa e com as caldas previamente preparadas de forma semelhante as utilizadas na análise do espectro de gotas, permanecendo até que o fluxo do líquido estabilizasse.

Posteriormente quantificou-se a calda de cada um dos exemplares analisados através da coleta do líquido pulverizado, em provetas graduadas e numeradas de 100 mL, inseridas logo abaixo das canaletas, de modo que todo o volume pulverizado fosse coleta-

do por período de tempo fixo de 30 segundos, o que foi convertido para L min^{-1} .

Com base nos volumes médios coletados nas três repetições de cada tratamento, foi determinado o perfil de distribuição volumétrica em planilha eletrônica (Microsoft Excel®). Ainda foi determinada a uniformidade de distribuição ao longo da faixa aplicada avaliada com o cálculo do coeficiente de variação (FAO, 1998), para pontas espaçadas em 50 cm e a uma altura de 50 cm.

O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado, distribuído em esquema fatorial 3×2 (3 caldas de aplicação e 2 pontas de pulverização) com três repetições. Os tratamentos foram o resultado da combinação das caldas de aplicação (C1 = água + herbicida sem adjuvante, C2 = água + herbicida + 0,1% de organo siliconado e C3 = água + herbicida + 1% de óleo vegetal com 2 pontas de pulverização de energia hidráulica de jato plano com indução de ar (AI 110 015 e TTI 110 015). Os resultados obtidos foram apresentados graficamente através do coeficiente de variação apresentados por cada modelo de ponta.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Avaliação do espectro de gotas de pontas de pulverização AI e TTI 110 015

Na Tabela 1 observou-se efeito significativo para os fatores independentes para a interação entre pontas e preparo de caldas, nos parâmetros DMV e (% gotas $\leq 100\mu\text{m}$), observa-se que não ocorreu diferença entre a uniformidade de gotas entre os tratamentos, evidenciado pelo coeficiente de uniformidade.

Verificou-se na Tabela 2 que as pontas TTI apresentaram o maior DMV e a menor porcentagem de gotas sujeiras a deriva, diferindo-se estatisticamente da ponta AI. Os resultados observados no presente trabalho devem-se ao maior DMV produzido pelas pontas com indução de ar nessa faixa de pressão. Diversos estudos têm sido realiza-

Tabela 1. Teste F para diâmetro mediano volumétrico (DMV), coeficiente de uniformidade (COEF) e percentual de gotas menores ou iguais a 100 µm, Jaboticabal, SP, 2009

	DMV	COEF	% gotas ≤100 µm
Pontas	70,76**	2,35 ^{NS}	40,07**
Preparo de calda	5,37*	1,66 ^{NS}	6,75**
Pontas x Preparo de caldas	5,04*	0,72 ^{NS}	5,01*
Coefficiente de Variação	6,75	14,30	30,81

** e * Significativo pelo teste F, a 1% e 5 % de probabilidade, respectivamente; NS - não significativo.

dos, constatando-se que essas pontas podem aumentar o diâmetro mediano volumétrico (DMV) das gotas aspergidas e proporcionar maior cobertura (CUNHA, SILVA JÚNIOR, 2010); obter maior uniformidade com baixa porcentagem de gotas sujeitas a deriva (VIANA *et al.*, 2010), além de possibilitar realizar aplicações em condições climáticas menos propícias e com maior velocidades de deslocamento do conjunto trator-pulverizador (BAUER *et al.* 2006).

Quanto ao preparo de calda observou-se que a calda preparada com o herbicida + óleo vegetal proporcionou o maior DMV diferindo-se estatisticamente dos demais preparos de calda, o que evidenciou aumento do tamanho da gota pela adição desse adjuvante (Tabela 2). Os resultados obtidos nesse trabalho corroboram com os resultados encontrados por IOST (2008) que ob-

servou maior DMV em caldas com adição de adjuvantes, o mesmo autor relata que esse efeito se deve pela quebra da tensão superficial da água, que promove um desarranjo das moléculas de água que tendem a permanecer unidas na ausência desses surfactantes.

Observou-se ainda que a calda com óleo vegetal proporcionou a menor porcentagem de gotas sujeitas a deriva (1,84%) diferindo das caldas preparadas com o adjuvante orgânico siliconado. Resultados semelhantes foram encontrados por CAMARA *et al.* (2008), que ao avaliarem o espectro de gotas de pontas XR 110 03 (TEEJET TECHNOLOGIES, 2008) com a adição de adjuvante concluiu ocorreu o aumento do DMV com a adição de adjuvantes e que quanto maior o DMV menor é a porcentagem de gotas sujeitas a deriva.

Tabela 2. Resultados médios de diâmetro mediano volumétrico (DMV), coeficiente de uniformidade (COEF) e porcentagem de gotas ≤100 µm, Jaboticabal, SP, 2009

	DMV	COEF	% gotas ≤100 µm
Pontas			
AI	575,12 b	1,82	3,72 a
TTI	726,03 a	1,66	1,60 b
Dms	37,67	0,21	0,70
Preparo de calda			
Calda sem adjuvantes	627,01 b	1,71	3,33 ab
Herbicida + Silwett 77 Ag	632,69 b	1,64	2,82 a
Herbicida + Veget Oil	692,02 a	1,86	1,84 b
Dms	56,08	0,31	1,04

Herbicida = Diuron + hexazinone. Médias seguidas da mesma letra não diferem significativamente entre si, pelo teste de Tukey 5%. Dms - diferença mínima significativa.

É importante ressaltar que os modelos avaliados se enquadram na categoria de gotas extremamente grossas com suscetibilidade baixa à deriva, quando comparados à maioria dos modelos de gotas maciças (TEEJET TECHNOLOGIES, 2008, 2006).

As pontas TTI proporcionaram o maior DMV em todos os preparos de calda diferindo-se estatisticamente das pontas AI, essas mesmas pontas proporcionaram à menor porcentagem de gotas suscetíveis a deriva, independente do uso de adjuvantes ou com a adição do orgânico siliconado como se observa na Tabela 3.

Tabela 3. Resultados médios para a interação entre pontas e preparo de calda para os parâmetros, diâmetro mediano volumétrico e porcentagem de gotas menores ou iguais a 100 µm, Jaboticabal, SP, 2010

Pontas vs Preparo de calda	(DMV)		
	Calda sem adjuvantes	Herbicida+ Silwett	Herbicida+ Veget Oil
AI	511,25 B	576,78 B	637,33 B
TTI	742,77 A	688,78 A	746,70 A
Dms	65,25	65,25	65,25
Pontas vs Preparo de calda	(% gotas ≤100 µm)		
AI	3,80 A	3,80 A	2,30 A
TTI	1,85 B	1,85 B	1,38 A
Dms	1,22	1,22	1,22

Médias seguidas da mesma letra não diferem significativamente entre si, pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Dms - diferença mínima significativa.

Distribuição volumétrica de pontas de pulverização AI e TTI 110 015

Na Figura 1 verifica-se o perfil da distribuição volumétrica da ponta TTI 110 015, utilizado na aplicação com e sem adição de adjuvantes, trabalhando isoladamente a 50 cm de altura em uma pressão de 280 kpa.

Quando não se utiliza adjuvantes ou com a adição do adjuvante Silwett L-77 Ag, os espaçamentos que implicam em coeficientes de variação (CV) próximos a 10 % foram na faixa de 65 a 80 cm. Com a adição do Veget oil, a distribuição será uniforme até o espaçamento de 86,13cm. (Figura 1, Tabela 4).

De acordo com LANGENAKENS (1999), um coeficiente de variação da distribuição volumétrica superficial abaixo de 10% indica uniformidade satisfatória. Na Europa, em

condições de laboratório, para a pressão e altura estabelecidas pelo fabricante como ideais para cada ponta, o coeficiente de variação deve ser inferior a 7%. Para as demais pressões e alturas especificadas pelo fabricante como passíveis de uso, não deve exceder a 9% (ECS, 1997).

PERECIN *et al.* (1998) sugeriram para experimentos conduzidos em laboratórios deve-se considerar o CV de no máximo de 10%, uma vez que, em condições de campo, tais valores tendem a aumentar, quer pelas condições climáticas inerentes por ocasião da aplicação, quer pelos movimentos desordenados da barra de pulverização, conforme enfatizado por NATION (1982).

Na distribuição volumétrica com a ponta AI 110 015 (Figura 2) com e sem adjuvante também se pode confirmar que o adjuvante

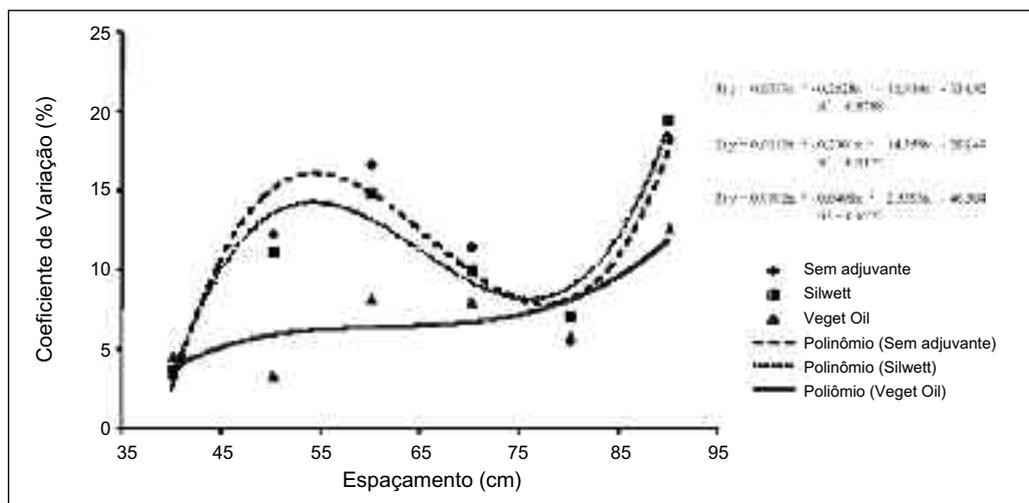


Figura 1. Perfis de distribuição volumétrica (Coeficiente de variação *versus* espaçamento) da ponta hidráulica de jato plano com indução de ar TTI 110 015

Tabela 4. Coeficiente de variação para as pontas de pulverização com indução de ar AI e TTI, com diferentes espaçamentos

Espaçamento entre pontas (cm)	Coeficiente de variação (%) para as pontas					
	AI 110 015			TTI 110 015		
	SA	Silwett	Veget Oil	SA	Silwett	Veget Oil
30	8,31	8,72	7,48	–	–	–
40	11,24	9,92	7,35	3,31	3,81	4,58
50	20,60	19,87	7,15	12,36	11,25	3,37
60	17,57	18,10	12,28	16,74	14,97	8,21
70	6,10	6,60	9,83	11,56	10,14	7,99
80	–	–	–	5,55	7,07	5,82
90	–	–	–	18,27	19,55	12,61

SA = Sem adjuvante.

apresentou uma distribuição mais uniforme e semelhante à calda sem adjuvante, sendo que a distância ideal entre essas pontas que permite uma distribuição mais uniforme encontra-se na faixa de 60 a 75 cm, (Figura 2, Tabela 4). Com a adição do óleo vegetal, a distribuição tem melhor uniformização na faixa de espaçamento entre 55 e 60 cm (Figura 2, Tabela 5). Com a adição do óleo ve-

getal verifica-se menor distribuição da calda em relação aos demais preparos. MATUO *et al.* 2001 recomenda que a instalação de pontas que apresentam padrão descontínuo em barras de pulverização, a necessidade de sobreposição consecutiva entre os jatos pulverizados.

Os produtos comumente denominados de espalhantes adesivos são adicionados a

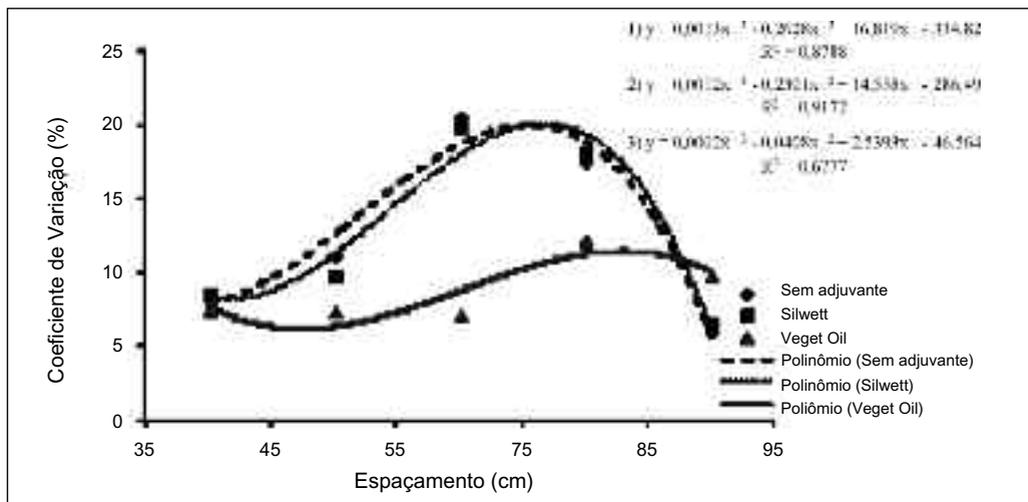


Figura 2. Perfis de distribuição volumétrica (Coeficiente de variação versus espaçamento) da ponta hidráulica de jato plano com indução de ar AI 110 015

calda de pulverização com o objetivo de reduzir a tensão superficial da água e aumentar o espalhamento da calda sobre a superfície tratada, o que possibilita diminuir o es-

paçamento dos bicos na barra de pulverização em função das diferentes pressões de trabalho (FERNANDES *et al.* 2007; CUNHA, RUAS, 2006).

RESUMEN

BARRÊTO, A. F., L. L. COSTA, J. C. JANINI, M. DA COSTA FERREIRA, G. DE NOBREGA ROMANI. 2011. Distribución del volumen y el diámetro de las gotas producidas por las boquillas de pulverización con inducción de aire en la aplicación de herbicidas con y sin adyuvantes. *Bol. San. Veg. Plagas*, 37: 281-289.

El objetivo fue evaluar el espectro de gotas y el patrón de distribución volumétrica del caldo herbicida con y sin el uso de dos comerciales adyuvantes (órgano silicón y óleo vegetal) aplicado con dos boquillas con inducción de aire (AI y TTI 110 015). Se tomaron como parámetros para evaluar el espectro de gotas, diámetro de volumen medio (DMV), coeficiente de uniformidad (COEF) y el porcentaje de las gotas de menor o igual a 100 micras, para ello se utilizó un medidor de partículas con láser. Para obtener el perfil de distribución de la boquilla con inducción de aire se utilizó una tabla de distribución con cilindros graduados y se llevó a cabo a través del cálculo del coeficiente de variación de las boquillas. Los resultados para el espectro de gotas se compararon mediante la prueba F y las medias con la prueba de Tukey al 5% de probabilidad. La adición de adyuvantes a la solución del herbicida proporciona gotas más grandes, lo que produce gotas más pequeñas propensas a la deriva, lo cual fue corroborado por el valor más alto de DMV y el porcentaje de gotas de menos propenso a la deriva, estas características fueron evidentes en la solución del aerosol que contiene el adyuvante óleo vegetal aplicado con la boquilla TTI. El volumen de distribución del caldo en la aplicación de las dos boquillas se vio favorecido, en especial con la adición de adyuvante silicón.

Palabras clave: tecnología de aplicación, surfactante, DMV.

ABSTRACT

BARRÊTO, A. F., L. L. COSTA, J. C. JANINI, M. DA COSTA FERREIRA, G. DE NOBREGA ROMANI. 2011. Distribution volume and diameter of droplets produced by spray nozzles with air induction in the herbicide application with and without adjuvants. *Bol. San. Veg. Plagas*, **37**: 281-289.

The objective was to evaluate the droplet spectrum and volumetric distribution pattern of the herbicide sprayed with and without the use of two adjuvants commercial (organ silicone and vegetable oil) applied with two nozzles with air induction (AI and TTI 110015). The droplet spectrum, volume median diameter (DMV), uniformity coefficient (COEF) and percentage of droplets smaller than or equal to 100 µm were taken as parameters evaluated, using a particle meter laser analyser. Was a table of distribution with graduated cylinders was used to make the distribution profile of the tip with air induction and, the coefficient of variation for the tips was calculated. The results for the droplet spectrum were compared by F test and the mean averages were compared by Tukey test at 5% probability. The addition of adjuvants in the herbicide spray solution provided larger droplets, resulting in smaller drift prone droplets, which was corroborated by the higher value of DMV and percentage of drift prone droplets, these characteristics were evident in the spray solution containing the adjuvant vegetable oil applied with TTI tip. The distribution volume of sprayed herbicide in the application of both nozzles were favored, with the addition of adjuvant organ silicone.

Key words: Application technology, surfactant, DMV.

REFERÊNCIAS

- BAUER, F. C., PEREIRA, F. A. R. 2005. Fitossanidade e produção agrícola. In: BAUER, F. C., VARGAS JÚNIOR, F. M. (Coord.) *Produção e gestão agroindustrial*. Campo Grande: Editora Uniderp, pp. 23-48.
- BAUER, F. C., RAETANO, C. G. 2000. Assistência de ar na deposição e perdas de produtos fitossanitários em pulverizações na cultura da soja. *Scientia Agricola*, Piracicaba, SP, **57** (2): 271-276.
- BAUER, F. C., RAETANO, C. G. 2004. Distribuição volumétrica de calda produzida pelas pontas de pulverização XR, TP e TJ sob diferentes condições operacionais. *Planta Daninha*, Viçosa, **22** (2): 275-84.
- BAUER, F. C., RAETANO, C. G., PEREIRA, F. DE A. R. 2006. Padrões de distribuição volumétrica de pontas de pulverização de jato plano 11002, com e sem indução de ar, sob diferentes espaçamentos e alturas. *Engenharia Agrícola*, Jaboticabal, **26** (2): 546-551.
- CAMARA, F. T., SANTOS, J. L.; SILVA, E. A., FERREIRA; M. C. 2008. Distribuição volumétrica e espectro de gotas de bicos hidráulicos de jato plano de faixa expandida XR 11003. *Engenharia Agrícola*, Jaboticabal, **28** (4): 740-749.
- CUNHA, J. P. A. R., DA, SILVA JÚNIOR, A. D. DA S. 2010. Volumes de calda e pontas de pulverização no controle químico de *Spodoptera frugiperda* na cultura do sorgo forrageiro. *Engenharia Agrícola*, Jaboticabal SP, **30** (4): 692-699.
- CUNHA, J. P. A. R., RUAS, R. A. A. 2006. Uniformidade de distribuição volumétrica de pontas de pulverização de jato plano duplo com indução de ar. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, Brasília, **36** (1): 61-66.
- DEUBER, R. Métodos de manejo de plantas daninhas. In: DEUBER, R. *Ciência das plantas infestantes: fundamentos*. Jaboticabal: FUNEP. 2003, 2ed. Cap. IV, pp. 106-148.
- DOURADO NETO, D. D., DARIO, G. J. A., BONNECAR-RÉRE, R. A. G., MARTIN, T. N., MANFRON, P. A., CRESPO, P. E. N., FAGAN, E. B. 2004. Controle de plantas infestantes em semeadura direta com a adição de adjuvante ao herbicida glyphosate. *Revista da Faculdade de Zootecnia, Veterinária e Agronomia*. Uruguaiana, **11** (1): 53-61.
- ECS- European Committee for Standardization - Agricultural and forestry machinery - Sprayers and liquid fertilizer distributors - Environmental protection - Part 2: Low crop sprayers. CEN, Brussels, 17 p., 1997. (EN 12761-2).
- FAO. FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. 1998. *Agricultural pesticide sprayers*. Rome, **2** (1): 62.
- FERNANDES, A. P., PARREIRA, R. S. FERREIRA. M. C., ROMANI, G. N., 2007. Caracterização do perfil de deposição e do diâmetro de gotas e otimização do espaçamento entre bicos na barra de pulverização. *Engenharia Agrícola*, Jaboticabal, **27** (3): 728-733.
- FERREIRA, M. C. 2010. Padrão do jato aspergido, arraste e distribuição de gotas em função da adição de adjuvantes à calda e à pressão de trabalho com diferentes pontas de pulverização de energia hidráulica. 73p. Tese (Livre Docente em Tratamento Fitossanitário) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.
- IOST, C. A. R. 2008. *Efeito de adjuvantes nas propriedades físico-químicas da água e na redução de deriva em pulverizações sobre diferentes espécies de plantas daninhas*. 63f. Dissertação de Mestrado em

- Agronomia (Proteção de Plantas) - Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP, 2008.
- LANGENAKENS, J. 1999. Spraying nozzles: usability limits. American Society of Agricultural Engineers, St. Joseph, p. 9 (ASAE Paper n.99-1027).
- LORENZI, H. 2000. *Manual de identificação e controle de plantas infestantes: plantio direto e convencional*. 5ed. Nova Odessa: São Paulo.
- MATUO, T., PIO, L. C., RAMOS, H. H., FERREIRA, L. R. 2001. *Tecnologia de aplicação e equipamentos*. In: CURSO DE ESPECIALIZAÇÃO POR TUTORIA A DISTÂNCIA - PROTEÇÃO DE PLANTAS, Brasília, 71 p.
- NATION, H. J. 1982. The dynamic behaviour of field sprayer booms. *Journal of Agricultural Engineering Research*, London, **36** (1): 61-70.
- PERECIN, D., PERESSIN, V. A., MATUO, T., BRAZ, B. A., PIO, L. C. 1998. Padrões de distribuição obtidos com bicos TF-VS4, TJ60-11006 e TQ15006 em mesa de prova. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, **33** (2): 175-182.
- QUEIROZ, A. A., MARTINS, J. A. S., CUNHA, J. P. A. R. DA. 2008. Adjuvantes e qualidade da água na aplicação de agrotóxicos. *Bioscience Journal*, Uberlândia, MG, **24** (4): 8-19.
- TEEJET TECHNOLOGIES, 2008. **Catálogo 50 A-P**. Wheaton, 192 p.
- VIANA, R. G., FERREIRA, L. R., FERREIRA, M. C., TEIXEIRA, M. M., ROSELL, J. R., TUFFI SANTOS, L. D., MACHADO, A. F. L. 2010. Distribuição volumétrica e espectro de gotas de pontas de pulverização de baixa deriva. *Planta Daninha*, Viçosa, MG, **28** (2): 439-446.

(Recepción: 14 abril 2011)

(Aceptación: 11 octubre 2011)

SUMARIO DEL VOL. 37 (2)

ENTOMOLOGÍA

- R. PÉREZ-OTERO, J. P. MANSILLA, P. BORRAJO, F. RUIZ. COMUNICACIÓN. Primera cita en la península ibérica de *Blastopsylla occidentalis* Taylor (Homoptera: Psyllidae) 139
- P. MARTÍNEZ-ZURIMENDI, E. ROSA Y CUBO, M. DOMÍNGUEZ-DOMÍNGUEZ. Defoliadores importantes del quejigo (*Quercus faginea* Lamck.) en Castilla y León (ESPAÑA) 145
- F. J. VILLAESCUSA, S. SANJUÁN, M. C. CEBRIÁN, A. ALFARO-FERNÁNDEZ, M. I. FONT, J. C. FERRÁNDIZ, A. HERMOSO DE MENDOZA. Prospección de posibles vectores (Hemiptera: Cicadellidae, Aphididae y Psylloidea) de patógenos en apio y zanahoria 163
- M. F. A. PEREIRA, R. DOS S. BORGES, E. E. B. MENDES, L. C. TOSCANO, R. F. O. DE MORAES Flutuação populacional de *Deois flavopicta* (Stal, 1854) em pastagem de *Brachiaria decumbens* 173
- M. L. INÁCIO, J. HENRIQUES, L. GUERRA-GUIMARÃES, H. GIL AZINHEIRA, A. LIMA, E. SOUSA. *Platypus cylindrus* Fab. (Coleoptera: Platypodidae) transports *Biscogniauxia mediterranea*, agent of cork oak charcoal canker 181
- B. ZACHÉ, R. R. DACOSTA, C. F. WILCKEN. Diferentes densidades de *Trichospilus diatreae* (Hymenoptera: Eulophidae) e seu desenvolvimento sobre pupas de *Thyrinteina arnobia* (Lepidoptera:Geometridae) 187

PATOLOGÍA

- M. GARCÍA, M. DE CARA, L. GÁLVEZ, C. IGLESIAS, L. VARES, D. PALMERO. Especificidad parasitaria de aislados de *Fusarium proliferatum* (Matsushima) Nirenberg sobre especies del género *Allium* 195
- J. GÓMEZ, J. M^a MELERO. Patogenia de *Pythium aphanidermatum* y *Pythium* spp. sobre plántulas de pepino: I Influencia del cultivar y del sustrato en la gravedad de la enfermedad 207
- J. GÓMEZ, J. M^a MELERO. Patogenia de *Pythium aphanidermatum* sobre plantas adultas de pepino en cultivo sin suelo: II Influencia de algunos factores del cultivo en la enfermedad 225
- M. S. SERRANO, P. FERNÁNDEZ REBOLLO, M. E. SÁNCHEZ. Susceptibilidad a *Phytophthora cinnamomi* de cultivos herbáceos habituales en dehesas y su influencia en la podredumbre radical de los Quercus 251

MALHERBOLOGÍA

- J. COSTA VILAMAJÓ, C. NOVILLO ALMENDROS, A. ÁLVAREZ SABORIDO. Glifosato: 35 años de empleo y retos para el futuro 263
- A. F. BARRÊTO, L. L. COSTA, J. C. JANINI, G. DE NOBREGA ROMANI, M. DA COSTA FERREIRA. Distribuição volumétrica e diâmetro de gotas produzidas por pontas de pulverização com indução de ar, na aplicação de herbicida com e sem adjuvantes 281



GOBIERNO
DE ESPAÑA

MINISTERIO
DE MEDIO AMBIENTE
Y MEDIO RURAL Y MARINO