

PLAGAS



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 MAGRAMA
Paseo Infanta Isabel, 1
28014 MADRID (España)
Fax: 91 347 57 22
e-mail: mcruzpf@magrama.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@magrama.es
aduranco@magrama.es

El pago se efectuará mediante:

- Talón nominativo cruzado a: SGT –Publicaciones– MAGRAMA.
- 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.

NUESTRA PORTADA



Morfología de colonias en medio PDA de diez de las *Phytophthora* SPP. aisladas
Morfología de los esporangios de las especies de *Phytophthora*

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 dactilogrifiarse 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 rótulos 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 figura 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@magrama.es



VOLUMEN 38
Adenda al núm. 1
2012

DIRECTOR

Valentín Almansa

DIRECTOR ADJUNTO

José Antonio González

REDACTOR JEFE

José M.ª Cobos

CONSEJO DE REDACCIÓN

Jesús Avilla

Tomás Cabello

Mariano Cambra

Pedro del Estal

José García-Jiménez

Alfredo Lacasa

M.ª Milagros López

Alfonso Navas

Julio C. Tello

Carlos Zaragoza

EDITOR

Ministerio de Agricultura,

Alimentación y Medio Ambiente

Secretaría General Técnica

Centro de Publicaciones

ISSN: 0213-691-0

NIPO: 280-12-071-8

Depósito Legal: M-2975-1976

Imprime: Sociedad Anónima

de Fotocomposición

SUMARIO

ENTOMOLOGÍA

- R. LÓPEZ, J. E. ARAYA, L. SAZO. Colectas de Syrphidae (Diptera) en alfalfa en Colina, Región Metropolitana, Chile, y clave de identificación de seis especies de *Allograpta* 3
- A. R. MACHI, G. J. MORAES, V. ARTHUR, R. V. ARAÚJO. Control biológico do ácaro rajado (*Tetranychus urticae* Koch) em morangueiro, utilizando o ácaro predador *Phytoseiulus fragariae* Denmark & Schicha (Acari: Tetranychidae, Phytoseiidae) 17
- L. E. R. PANNUTI, L. S. MARCHI, E. L. L. BALDIN. Use of vegetable powders as alternative to control of *Callosobruchus maculatus* 33
- E. S. SOUZA, E. L. L. BALDIN, T. L. M. FANELLA. Desenvolvimento de *Nezara viridula* (L., 1758) (Hemiptera: Pentatomidae) em genótipos de soja 41
- J. QUINTO, A. PINEDA, J. M. MICHELENA, M. A. MARCOS-GARCÍA. Dinámica poblacional de parasitoides Aphidiinae (Braconidae, Hymenoptera) en cultivos de pimiento de invernadero 51
- A. HERMOSO DE MENDOZA, R. ESTEVE, J. M. LLORENS, J. M. MICHELENA. Evolución global y por colonias de los pulgones (Hemiptera, Aphididae) y sus enemigos naturales en clementinos y limoneros valencianos 61
- M. MIÑARRO, S. KREITER. Fitoseidos en los viñedos de la denominación Vino de Calidad de Cangas (Asturias) 73
- V. CASTRO, J. E. ARAYA. Clave de identificación de huevos, larvas y pupas de *Allograpta* (Diptera: Syrphidae) comunes en la zona central de Chile 83
- R. M.ª SAELICES, A. LÓPEZ, F. AMOR, P. BENGOCHEA, M.ª M. FERNÁNDEZ, A. GARZÓN, I. MORALES, E. VELÁZQUEZ, P. MEDINA, Á. ADÁN, P. DEL ESTAL, E. VIÑUELA, F. BUDIA. Ecotoxicidad de insecticidas de uso frecuente en el cultivo del tomate, en el enemigo natural *Trichogramma achaeae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) 95
- D. GALLEGO, F. J. SÁNCHEZ-GARCÍA, H. MAS, M. T. CAMPO, J. L. LENCINA. Estudio de la capacidad de vuelo a larga distancia de *Monochamus galloprovincialis* (OLIVIER 1795). (Coleoptera: Cerambycidae) en un mosaico agro-forestal 109
- M. NAYA, A. AGUADO. Seguimiento de *Leptoglossus occidentalis* Heidemann durante la anualidad 2011 en el Centro Nacional de Recursos Genéticos Forestales "Alaquàs" - Valencia. 125

PATOLOGÍA

- F. J. GEA, M. C. LAINEZ, M. J. NAVARRO. Eficacia de diferentes fungicidas en el control de la mole húmeda del champiñón (agente causal: *Mycogone pernicioso*)..... 133
- A. PÉREZ-SIERRA, B. MORA-SALA, M. LEÓN, J. GARCÍA-JIMÉNEZ, P. ABAD-CAMPOS. Enfermedades causadas por *Phytophthora* en viveros de plantas ornamentales 143
- T. CORCOBADO, M. A. DELGADO, E. CUBERA, A. PÉREZ, E. JUÁREZ, G. MORENO, A. SOLLA. Dinámica de la humedad del suelo bajo encinas decaídas y no decaídas en focos de *Phytophthora cinnamomi* 157

Colectas de Syrphidae (Diptera) en alfalfa en Colina, Región Metropolitana, Chile, y clave de identificación de seis especies de *Allograpta*

R. LÓPEZ, J. E. ARAYA, L. SAZO

Se colectaron sírfidos dos veces por semana en un campo de alfalfa sin tratamientos insecticidas en Colina, Región Metropolitana, Santiago, Chile, desde octubre de 2002 hasta marzo de 2003. Los adultos se llevaron a cilindros de acetato sobre maceteros con una planta de haba (*Vicia faba* L.) en su interior y se alimentaron con solución de miel al 5% en tapas plásticas con un trozo de tela amarilla, instaladas a una altura media de las plantas. Otras plantas se usaron para criar pulgones (*Acyrtosiphon pisum* Harris) y alimentar las larvas en placas Petri para obtener adultos. Éstos se observaron bajo lupa estereoscópica, lo que permitió desarrollar una clave dicotómica en base a caracteres morfológicos en la cabeza y manchas en el dorso abdominal. Este material se comparó con material clasificado en colecciones nacionales, lo que permitió identificar 8 especies de sírfidos, todos de la subfamilia Syrphinae, que concentra la mayoría de los sírfidos depredadores de áfidos, con los géneros *Allograpta*, *Toxomerus* y *Carposcalis* (*Melanostoma*). De *Allograpta* se obtuvieron *A. hortensis* (Philippi), *A. pulchra* (Shannon) y *A. exotica* (Wiedemann). *Toxomerus* estuvo presente con *T. octogittatus* (Saqnniche) y *T. calceolatus* (Macquart). De *Carposcalis* se encontraron *C. edwardsi* Bouvier y otras especies que se identificaron preliminarmente entre *C. punctulata* Wulp, *C. chalconotum* (Philippi) y *C. fenestrata* (Macquart). Con *Allograpta*, el material obtenido más abundante, se desarrolló una clave taxonómica dicotómica de las especies colectadas, con fotografías y dibujos de los caracteres utilizados para la determinación.

R. LÓPEZ, J. E. ARAYA, L. SAZO. Departamento de Sanidad Vegetal, Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de Chile, Casilla 1004, Santiago, Chile. Correo electrónico: jaimearaya@yahoo.com

Palabras clave: *Carposcalis*, mosca abeja, sírfido, *Toxomerus*.

INTRODUCCIÓN

La familia Syrphidae comprende 3 subfamilias, 180 géneros y 6.000 especies (VOCKEROTH y THOMPSON, 1987). En Chile existen 116 especies, agrupadas en 55 géneros (ETCHEVERRY, 1963). Los adultos consumen néctar y polen de muchas flores, y las larvas son depredadoras de muchos artrópodos, principalmente pulgones (CHAMBERS y ADAMS, 1986).

La biología de las especies chilenas ha sido muy poco estudiada, pero destacan el Catálo-

go de Dípteros de Chile de STUARDO (1946), descripciones morfológicas, trabajos de distribución geográfica y algunas pequeñas claves a nivel de géneros y algunas especies (SHANNON, 1927; SHANNON y AUBERTIN, 1933; PINO, 1962; ETCHEVERRY, 1963).

Los sírfidos tienen importancia como agentes de control biológico de pulgones, y pueden detener su crecimiento poblacional y reducir sus densidades a niveles subeconómicos, sobre todo de especies plaga importantes (ADAMS *et al.*, 1987). Según

CHAMBERS y ADAMS (1986), las larvas de sírfidos pueden detener el aumento de población de áfidos hasta en 67%. WEEMS (2000) estima que poblaciones densas de larvas de *Allograpta obliqua* (Say) pueden controlar poblaciones de áfidos en 70-100%, y MILLER (1929) y WEEMS (2000) indican que una larva de *A. obliqua* puede consumir 34 áfidos por día. CURRAN (1920) y WEEMS (2000) estiman un consumo promedio de 17 áfidos por día, con un total de 265 áfidos devorados durante el estado larvario. En *Scaeva pyrastris* (L.), BUGG (1992) determinó un consumo de 500 áfidos durante el estado larvario. En ausencia de áfidos y otras presas, algunas larvas de sírfidos pueden ocupar otros substratos alimentarios en las plantas, principalmente polen, e.g. *Carpocallis* (*Melanostoma*) spp., *A. obliqua* (SCHNEIDER, 1969; BUGG, 1992) y *Toxomerus* spp. (COLE y SCHLINGER, 1969; BUGG, 1992).

Sin embargo, las colonias de áfidos pueden aumentar nuevamente cuando los sírfidos pasan al estado de pupa (CHAMBERS y ADAMS, 1986), o después de aplicaciones de plaguicidas para controlar áfidos en cebada que también los afectan, como observó CARRILLO (1973) en las larvas de *Allograpta pulchra* (Shannon), que se encontraron en el 20% de los tallos del testigo sin tratar. Según MAHR *et al.* (1995), la interacción de los sírfidos con las poblaciones de áfidos en cultivos comerciales extensos no ha sido estudiada.

La identificación y evaluación de los sírfidos como controladores biológicos es importante en el diseño de estrategias de manejo integrado de áfidos y otras plagas. Por ello, y dado el escaso conocimiento de los sírfidos en sistemas agrícolas en Chile, se hizo un estudio para determinar las especies de sírfidos presentes en un cultivo de alfalfa mediante colectas periódicas, y se desarrolló una clave de las especies de *Allograpta* colectadas, un género frecuente en muestreos preliminares, y del que se cuenta con holotipos identificados en diversas colecciones.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se colectaron sírfidos dos veces por semana en un cultivo orgánico de alfalfa de 3 años de 1,5 ha en la Parcela Santa Elena, Colina, Santiago, desde octubre de 2002 hasta marzo de 2003. Los adultos se identificaron y fotografiaron en el Departamento de Sanidad Vegetal, Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de Chile, La Pintana, Santiago. Durante la temporada hubo cuatro cortes de forraje, que disminuyeron drásticamente las colectas (LÓPEZ, 2008).

Determinación de las especies de sírfidos en la alfalfa. Para las colectas se hicieron 10 pasadas de red entomológica estándar en las ramillas superiores, donde se concentran los áfidos y también las larvas de sírfidos, entre las 10'00 y 13'00 horas, período de mayor actividad para muchos artrópodos y especialmente para insectos voladores como los sírfidos, cambiando de sitio cada día de colecta. Se obtuvieron así brotes de alfalfa y malezas, además de artrópodos en diversos estados de desarrollo, material que se llevó en frío en bolsas de polietileno en cajas térmicas al laboratorio, donde se examinaron, separando los sírfidos adultos, sus larvas y pupas.

Las larvas se llevaron a cilindros de acetato sobre tuestos con una planta de haba (*Vicia faba* L.) infestada con el áfido *Acyrtosiphon pisum* Harris, de manera de aumentar el número de sírfidos. Las pupas se llevaron a placas Petri para su crianza. Algunos sírfidos adultos que sufrieron daño durante la colecta se eliminaron por su incapacidad de alimentarse y aparearse, aunque igualmente se clasificaron.

Los áfidos de las crianzas se usaron tanto para alimentar las larvas de sírfidos en placas Petri como para estimular a los adultos del díptero a poner huevos cerca de las colonias. Cada varios días se sembraron nuevas plantas de haba, para desarrollar una crianza secuencial de pulgones a temperatura y humedad ambiente (15 - 27°C y 40 - 60% HR), y sin regulación del fotoperíodo.

Los sírfidos adultos colectados se alimentaron con solución de miel al 5% en tapas

plásticas que se ubicaron a una altura media de las plantas. Estas tapas tenían un trozo de tela amarilla, pues los adultos son atraídos preferentemente por flores de ese color. Los folíolos con huevos se sacaron para llevarlos a placas Petri e incubarlos, agregando papel filtro humedecido para evitar su deshidratación y mantener la turgencia de las hojas. El exceso de humedad y la proliferación de hongos se evitaron reemplazando el papel cada dos días.

Las larvas colectadas se pusieron sobre folíolos de haba en placas Petri individuales con papel filtro humedecido en el fondo para evitar su deshidratación y demorar el marchitamiento de los folíolos. A estas larvas se les proporcionaron 40 áfidos por día como alimento, más del consumo diario indicado por WEEMS (2000).

Las pupas colectadas u originadas desde larvas criadas se pusieron en placas Petri sobre papel filtro humedecido (n = 3 pupas por placa). Los adultos emergentes se llevaron a las macetas, y se les proporcionó el alimento indicado, hasta completar su ciclo.

Con el material colectado o proveniente de la crianza, los ejemplares se clasificaron como huevos, larvas, pupas y muertos.

Las colectas se separaron en base a la clave de géneros de sírfidos de MCALPINE (VOCKEROTH y THOMPSON, 1987), por comparación con material de referencia en el Laboratorio de Entomología de la Universidad Católica de Valparaíso, el que revisó hace algún tiempo el especialista Dr. F. Christian Thompson. Los sírfidos capturados, junto con los estados de desarrollo, días de captura y fechas de los cortes de la alfalfa se presentan más adelante.

Elaboración de clave taxonómica del género Allograpta. Las observaciones de los adultos bajo lupa estereoscópica permitieron desarrollar una clave dicotómica en base a caracteres morfológicos. Primero se hicieron dibujos de los adultos en vista dorsal del cuerpo completo, y cabeza en vistas frontal y lateral; las proporciones entre las estructuras se mantuvieron utilizando un aparato de dibujo, un factor muy importante para deter-

minar caracteres que podrían diferenciar las especies encontradas. Los ejemplares se fotografiaron también con una cámara digital instalada sobre la lupa, lo que permitió acentuar caracteres determinantes para su clasificación, mediante el programa computacional Adobe Photoshop.

Las colectas se compararon con material clasificado en colecciones de Universidades e Instituciones, incluyendo el Laboratorio de Entomología del Museo Nacional de Historia Natural, el Laboratorio de Entomología de la Universidad Católica de Valparaíso y el Laboratorio de Entomología de la Universidad Metropolitana de Ciencias de la Educación.

La clave esta diseñada tanto para machos como hembras. El dimorfismo sexual es evidente sólo en los ojos holópticos de los machos y dicópticos de las hembras, carácter que no se utilizó para separar las especies dentro de la clave.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Análisis de las capturas efectuadas

La sistemática de sírfidos se ha estudiado en Chile a partir de publicaciones sobre la fauna nacional de dípteros que incluyen una cantidad significativa de especies. SHANNON (1927) hizo las primeras descripciones de sírfidos en el trabajo "A review of the South American two-winged flies of the family Syrphidae". Luego, SHANNON y AUBERTIN (1933) presentaron la morfología de algunos sírfidos, y pequeñas claves de géneros y especies en el fascículo "Diptera of Patagonia and South Chile". En el "Catálogo de los dípteros de Chile", STUARDO (1946) presentó un catastro de las especies presentes en el país, y ETCHEVERRY (1963) compiló descripciones morfológicas originales de los sírfidos identificados y determinados para Chile, además de su sinonimia y distribución.

La familia Syrphidae se divide en las subfamilias Syrphinae; Microdontinae y Eristalinae. Syrphinae agrupa los géneros

más comunes con larvas que depredan áfidos y otros hemípteros plaga, y también larvas pequeñas de coleópteros, lepidópteros, trips, etc., como *Allograpta*, *Carposcalis* (*Melanostoma*), *Syrphus* y *Toxomerus* (VOCKEROTH y THOMPSON, 1987; MAHR *et al.*, 1995). *Carposcalis* y *Syrphus* se encuentran en todo el mundo, mientras *Allograpta* y *Toxomerus* sólo están presentes en el Nuevo Mundo (SHANNON y AUBERTIN, 1933).

Por comparación con especímenes en colecciones, en la alfalfa se capturaron 8 especies de sírfidos adultos (LÓPEZ, 2008), todos de la subfamilia Syrphinae, que concentra la mayoría de los sírfidos depredadores de áfidos, con los géneros *Allograpta*, *Toxomerus* y *Carposcalis* (*Melanostoma*).

Allograpta tiene distribución principalmente circumtropical (VOCKEROTH y THOMPSON, 1987) en Norte y Sudamérica, aunque recientemente se han identificado nuevas especies en Australia, lo que amplía la distribución de este género en el mundo (CARVER y THOMPSON, 2003), el que agrupa sírfidos pequeños, muy abundantes en los lugares donde prosperan. *Allograpta* se identifica del resto de Syrphinae en que las inserciones antenales están separadas por cerca de dos veces el largo del escapo. Además, sus integrantes pueden identificarse por su metaesterno con pilosidad abundante

(VOCKEROTH y THOMPSON, 1987). Algunos autores identifican las especies según las manchas en el abdomen (SHANNON y AUBERTIN, 1933), pero otros consideran que estas manchas no son determinantes, pues pueden perderse en individuos sometidos tanto a humedad excesiva, como a compuestos como el cianuro en frascos letales, lo que hace difícil su identificación.

En nuestro estudio, *Allograpta* estuvo representado por 17 capturas de *A. hortensis* (Philippi), 6 de *A. pulchra* (Shannon) y 2 de *A. exotica* (Wiedemann). *Toxomerus* estuvo presente con 5 capturas c.u. de *T. octogittatus* (Saqqniche) y *T. calceolatus* (Macquart). El tercer género colectado fue *Carposcalis*, con tres especies que se clasificaron como *Carposcalis* A, con 5 capturas, *Carposcalis* B, con 6 capturas y *C. edwardsi* Bouvier con 4 capturas. La observación de los ejemplares no permitió determinar con certeza las especies de *Carposcalis* A y B, las que se encuentran entre *C. punctulata* Wulp, *C. chalconata* (Phillipi) y *C. fenestrata* (Macquart), todas determinadas por Thompson en la colección del Laboratorio de Entomología de la UCV. Las fotografías de los adultos de *Allograpta* colectados y obtenidos de la crianza se presentan junto con la clave morfológica. Los sírfidos obtenidos se presentan en las Figuras 1-5 a continuación:



Figura 1. *Toxomerus octogittatus*



Figura 2. *Toxomerus calceolatus*



Figura 3. *Carposcalis* A



Figura 4. *Carposcalis* B



Figura 5. *Carposcalis edwardsi*

Se colectaron dos larvas (Figura 6), una de las cuales murió y la otra dio origen a *A. pulchra*. Se encontraron también cinco pupas, una de las cuales dio origen a *A. pulchra* y otra a *C. edwardsi*. De las otras, una no llegó a adulto y dos estaban parasitadas

(Figura 7), y de ellas se obtuvo un adulto de himenóptero parasitoide (Figura 8). La diferencia de aberturas dejadas entre la emergencia de un adulto y un parasitoide permite diferenciar qué pupas sufrieron su acción.



Figura 6. Larva de sirfido sobre folíolo de alfalfa



Figura 7. Pupa de sirfido parasitada



Figura 8. Parasitoide emergido desde pupa de sirfido

Las especies de *Allograpta* más abundantes en Chile son *A. pulchra* y *A. hortensis*. Esta última se ha descrito en Chile desde la Serena a Magallanes, y en Argentina en la provincia de Neuquén. Los adultos de ambas especies se encuentran fácilmente visitando flores de cultivos y malezas. *A. pulchra* también ocurre con abundancia en gran parte de Chile. En el Norte Grande se encuentra *A. piurana* (Shannon), especie que se describió en base a material colectado en Piura, Perú, y que en Chile se ha encontrado en la I Región, en los valles de Azapa y Lluta (ETCHEVERRY, 1963), y también algunos ejemplares en el Valle del Limarí, IV Región. En el Archipiélago Juan Fernández, *A. robinsoniana* Enderlein es una especie endémica, que a diferencia de las otras en el género, tiene manchas anaranjadas en el abdomen. En esas islas se puede encontrar a *A. exotica*, especie que también se encuentra en el continente, desde Chile a Brasil, Ecuador, Paraguay y toda la región neotropical, hasta los EE.UU. (ETCHEVERRY, 1963). Esta especie probablemente fue introducida accidentalmente al archipiélago (VOCKEROTH y THOMPSON, 1987). *Allograpta (Fazia) bullaephora* Shannon se distribuye en casi todo Chile, mientras que *A. (F.) macquarti* (Blanchard), muy parecida a *A. bullaephora*, se ha encontrado en Argentina y Chile, donde se ha descrito entre La Serena y Castro. Tanto *A. bullaephora* como *A. macquarti* se encuentran sólo en la parte sur de Sudamérica (SHANNON y AUBERTIN, 1933). Otra especie, que se colectó en 1943 en Santiago, es *A. harlequina* (Hull), de la que no se conocen otras colectas en Chile. *Allograpta schoenemanni* Enderlein se ha encontrado en Cauquenes, pero probablemente no se han hecho nuevas capturas (ETCHEVERRY, 1963).

Registro de las capturas

Los primeros sírfidos adultos se obtuvieron el 7 de octubre (Figura 9). Las capturas por día aumentaron gradualmente hasta 6 ejemplares en diversos estados de desarrollo

(larvas, pupas y adultos), y se mantuvieron en niveles de 4 y 5 capturas por día. El primer corte de la alfalfa del 4 de noviembre interrumpió las capturas durante una semana, hasta que comenzaron a reaparecer adultos el 11 de noviembre. Estas capturas post corte variaron entre 1 y 3 ejemplares por día, hasta el segundo corte el 6 de diciembre, al que le siguió un período nuevamente sin capturas. Esta situación se mantuvo hasta mediados de diciembre, cuando nuevamente comenzaron las colectas, pero sólo 1 ó 2 ejemplares por captura. Después del tercer corte del 3 de enero hubo una ausencia absoluta de sírfidos en el sector, y el corte cuatro, del 24 de enero (pleno verano en el hemisferio sur), mantuvo esta situación hasta mediados de febrero, cuando hubo una sola captura; desde fines de febrero hasta principios de abril hubo colectas irregulares.

El haber colectado especies de sírfidos adultos en la alfalfa no significa que todas ellas cumplan su ciclo biológico en ese cultivo. De las capturas se puede deducir que las especies que cumplen su ciclo completo en alfalfa son *Allograpta pulchra* y *Carposcalis edwardsi*, ya que las larvas y pupas se obtuvieron en el cultivo y se desarrollaron hasta la emergencia de adultos. No hay certeza que las otras especies, a pesar que se criaron desde huevos hasta adultos, cumplan su ciclo en el cultivo, ya que algunos individuos no llegaron a adultos y otros se criaron en hojas de haba, lo que podría afectar la postura de huevos con respecto a la alfalfa, por factores intrínsecos del vegetal (arquitectura de la planta, tricomas, disposición de las hojas, etc.). A esto se suma la presencia de malezas, que pueden haber sido atractivas para estos dípteros, aunque éstas fueron disminuyendo a medida que se hicieron los cortes de la alfalfa, especialmente después del segundo. Todo este conjunto de factores hace difícil determinar la real importancia de la alfalfa como cultivo donde se desarrollen los ciclos biológicos de los sírfidos.

La fragmentación del hábitat deprime considerablemente las poblaciones de in-

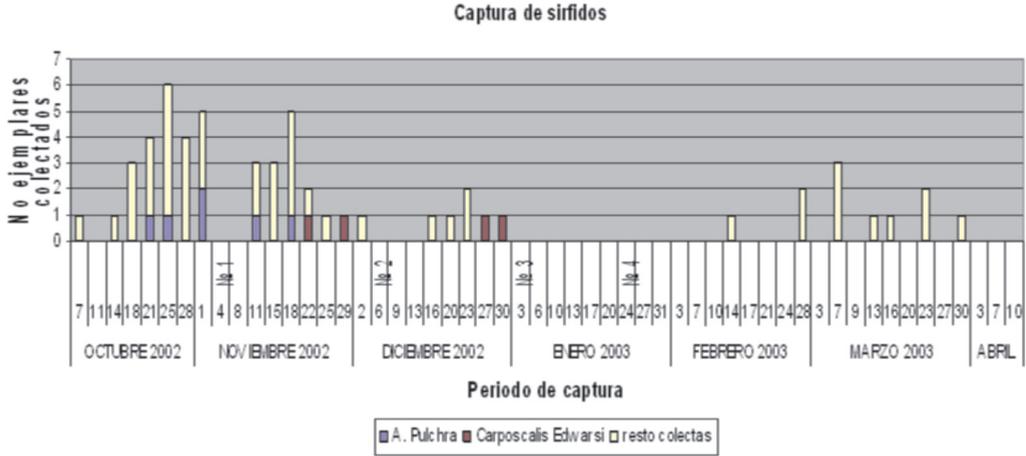


Figura 9. Captura de las dos especies de sírfidos más comunes y total. Los números en posición vertical corresponden a los cortes de alfalfa

sectos, por una disminución de la capacidad de supervivencia, lo que afecta la dinámica de esas poblaciones, y por pérdida de flujos energéticos entre las comunidades de organismos (GREZ y ZAVIEZO, 2002). En nuestro estudio, los cortes eliminaron toda la floración de la alfalfa, lo que llevó a los sírfidos adultos a morir por falta de alimento, y también por alguna menor protección a depredadores como aves e insectos. Al reducir también la densidad de pulgones, los cortes disminuyeron al mismo tiempo la disponibilidad de presas para las larvas, con lo que las afectaron directamente.

La captura de sírfidos adultos después del primer corte se debió probablemente a su búsqueda de sitios para poner sus huevos cerca de colonias de pulgones que se estaban formando en los brotes nuevos, ya que no habían ni ramillas de alfalfa ni malezas con flores que atrajeran a los adultos para alimentarse. Luego del segundo corte a principios de diciembre, las capturas de sírfidos ocurrieron a los 10 días, pero fueron menores. Esto se explica también porque las colonias de pulgones se desarrollan mucho en primavera y otoño, pero disminuyen en verano, lo que junto con la oferta alimenticia

que pueden ofrecer otros cultivos y malezas cercanos, disminuirían la atracción de la alfalfa para las visitas de sírfidos adultos en ese período.

Después del tercer y cuarto corte no hubo capturas de ningún estadio hasta fines de febrero. El crecimiento de la alfalfa en verano es menor, por las temperaturas máximas mayores en enero y febrero. Al mismo tiempo, las colonias de pulgones disminuyeron o fueron casi nulas. Todos estos factores pueden incidir en los resultados de las colectas en estos meses.

A pesar de haberse obtenido un ejemplar de *Allograpta macquarti* de la colección del Museo Nacional de Historia Natural, éste no se incorporó a la clave, porque su clasificación no estaba muy segura, pues su autor no era especialista en sírfidos.

Formación de la clave de especies de *Allograpta*

Al no conseguirse todas las especies presentes en Chile, esta clave está hecha sólo para seis especies de *Allograpta*: *A. bullae-phora*, *A. exotica*, *A. hortensis*, *A. piurana*, *A. pulchra* y *A. robinsoniana*. Estos ejem-

plares pertenecen a laboratorios de los museos y universidades mencionados y fueron facilitados para su observación, dibujo y obtención de imágenes. Los ejemplares no encontrados y no incorporados en esta clave son *A. harlequina*, *A. schoenemanni* y *A. macquarti*. Los resultados de las observaciones permiten conformar la siguiente clave morfológica dicotómica de las especies indicadas.

Clave de seis especies de *Allograpta* (Figura 10)

- 1 En vista lateral, la órbita posterior del ojo (1) cubre el borde occipital de la cabeza total o parcialmente (2). A la altura media de la cabeza, las distancias entre el ojo izquierdo (3), la frente (4) y el ojo derecho mantienen una proporción cercana a 1:1:1, con la frente algo más ancha . . . 2

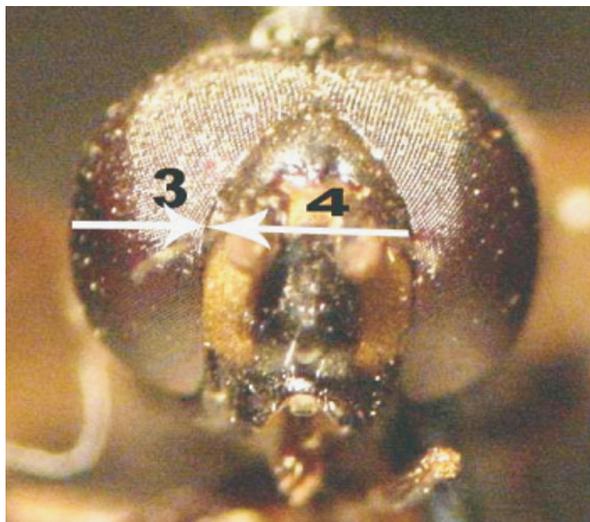
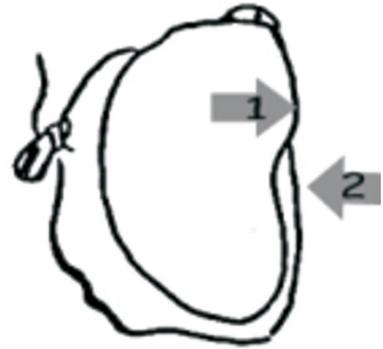
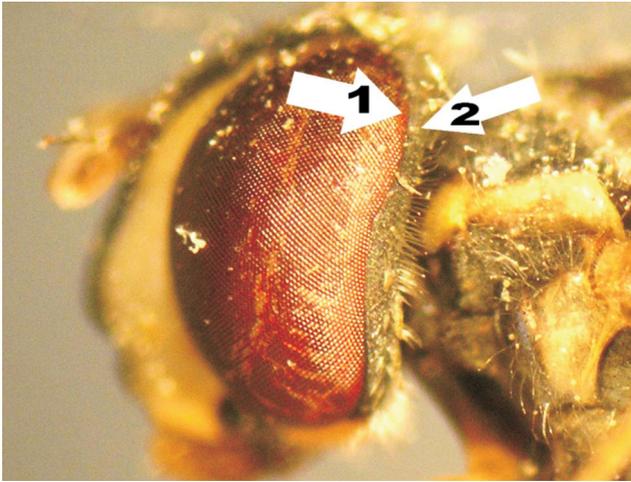


Figura 10. Vistas del borde occipital y frontal de cabeza de *Allograpta*

En vista lateral, la órbita posterior del ojo (5) no cubre total o parcialmente el borde occipital de la cabeza y deja un espacio entre ambos (6). A la altura media de la cabeza, la

frente (7) y el ojo derecho (8) mantienen una proporción aproximada de 1:2:1, con la frente prácticamente el doble de ancha. . . *Allograpta bullaephora* Shannon, 1927 (Figura 11).

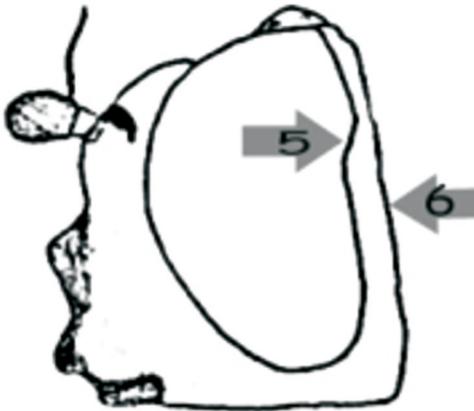
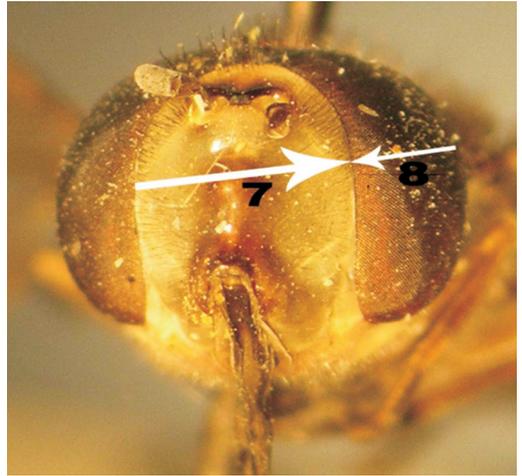
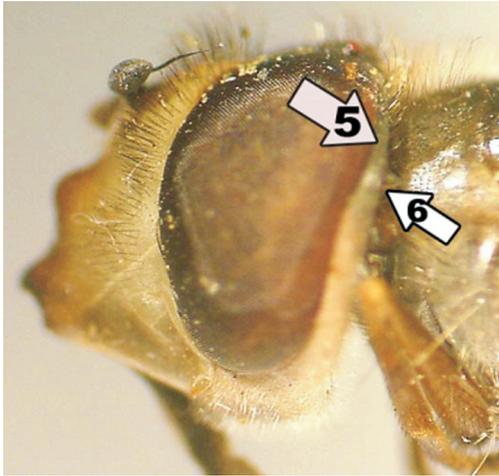


Figura 11. *Allograpta bullaephora*

2. En vista frontal, la cabeza presenta una franja negra vertical que cruza toda la frente y que circunda la base de las antenas (9) (Figura 12) 3

En vista frontal, la cabeza presenta una franja negra vertical que cruza toda la frente pero no circunda la base de las antenas y pasa sólo entre ellas (10) (Figura 13). . . . 4



Figura 12. Franja negra vertical en la frente (9) de cabeza de sírfido

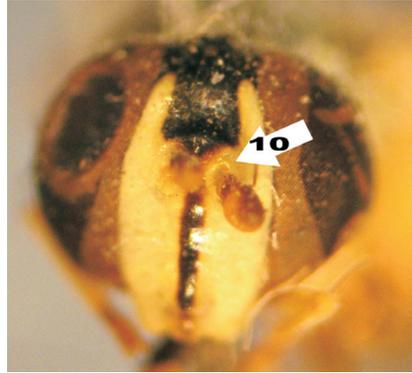


Figura 13. Vistal frontal de cabeza de *Allograpta*

En vista frontal de la cabeza aparece una mancha negra sobre la prominencia facial (11), sin tocar la base de las antenas, que se proyecta hacia el margen facial inferior y los costados

inferiores de los ojos (12) (Figura 14). Abdomen peciolado, con el extremo distal más grueso que la parte media *Allograpta robinsoniana* Enderlein 1940.

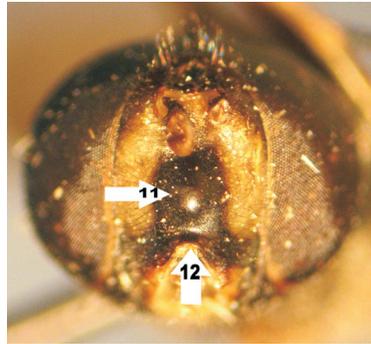
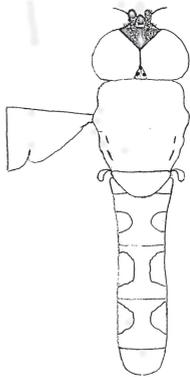


Figura 14. *Allograpta robinsoniana*

3. Abdomen con manchas amarillas ovoides dos veces el largo en relación al ancho, que se ubican en forma diagonal, en un ángulo mayor a 45° con respecto al eje

longitudinal del abdomen. En algunos casos, las manchas se llegan a tocar en sus extremos (Figura 15) . . . *Allograpta hortensis* (Philippi) 1865.



Figura 15. *Allograpta hortensis*

- Bandas amarillas que cruzan longitudinalmente el tergo del tórax (13). Escutelo con banda negra transversal (14). Manchas anaranjadas ovoides en el abdomen, aproximadamente tres veces más largas que anchas,

que se ubican en forma diagonal, en un ángulo menor a 45° con respecto al eje longitudinal del abdomen, nunca tocando sus extremos (15) (Figura 16) *Allograpta piurana* Shannon 1927.

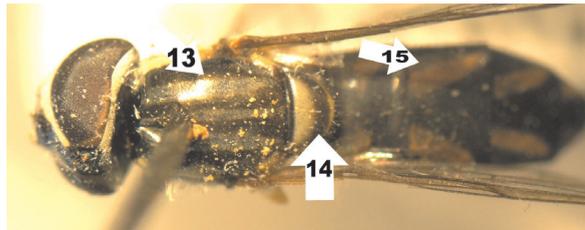


Figura 16. *Allograpta piurana*

4. Manchas amarillas que varían aproximadamente 3-5 veces el largo respecto al ancho, ubicadas en los tergitos abdominales 4.º y

5.º, en disposición paralela al su eje longitudinal (16) (Figura 17) *Allograpta exotica* (Wiedeman) 1830.

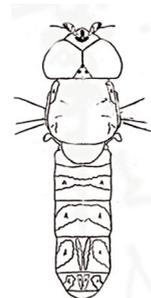


Figura 17. *Allograpta exotica*

Sin manchas amarillas en los tergitos abdominales 4.º y 5.º en disposición paralela a su

eje longitudinal (Figura 18) ... *Allograpta pulchra* Shannon 1927.

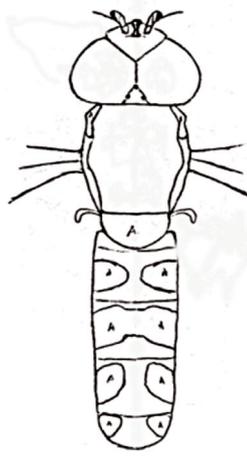


Figura 18. *Allograpta pulchra*

En conclusión, se encontraron 8 especies de sírfidos afidófagos en la alfalfa, lo que revela el atractivo de esta planta como fuente de alimento tanto para estados adultos sobre las flores como para larvas sobre áfidos en el follaje. La presencia de malezas con flores y néctar puede haber incidido en la atracción de los sírfidos adultos hacia el cultivo.

El análisis de las capturas de sírfidos en la alfalfa y la distribución de áfidos indica cierta sincronización del desarrollo entre ambas poblaciones, aunque los cortes periódicos del follaje afectaron severamente esta relación.

El método de crianza permitió manipular las larvas y podría permitir criarlas a mayor

nivel para estudios de control biológico. No obstante, falta determinar las condiciones que faciliten mantener los huevos y larvas en almacenamiento durante periodos prolongados.

La clave de seis especies de *Allograpta* en base a caracteres taxonómicos amplios permitirá clasificar de forma precisa los ejemplares presentes en éste u otros cultivos, así como en huertos frutales donde son visitantes frecuentes. El conocimiento de las especies facilitará en el futuro abrir nuevas áreas de producción y comercialización de enemigos naturales de pulgones, para su uso en el control de estas plagas agrícolas.

ABSTRACT

LÓPEZ, R., J. E. ARAYA, L. SAZO. 2012. Hover flies (Diptera: Syrphidae) collected in alfalfa in Colina, Metropolitan Region, Chile, and key for identification of six species of *Allograpta*. *Bol. San. Veg. Plagas*, **38**: 3-15.

Hover flies were collected twice a week in an alfalfa field without insecticide treatments in Colina, Metropolitan Region, Santiago, Chile, from October 2002 through March 2003. The adults were taken to potted faba bean (*Vicia faba* L.) plants covered with acetate cylinders and were fed with 5% honey solution on plastic caps with a piece of yellow cloth placed at medium plant height. Other plants were used to rear *Acyrtosiphon pisum* Harris aphids to feed hover fly larvae on Petri dishes to obtain adults.

These were observed under stereoscopic magnification, which allowed to develop a dichotomic key based on morphological characters on the head and dorsal spots in the abdomen. This material was compared with specimens classified in national collections, yielding 8 species of hover flies, all in the subfamily Syrphinae, which concentrates most of hover flies preying on aphids, with the genera *Allograpta*, *Toxomerus*, and *Carposcalis* (*Melanostoma*). From *Allograpta* were obtained *A. hortensis* (Philippi), *A. pulchra* (Shannon), and *A. exotica* (Wiedemann). *Toxomerus* was present with *T. octogittatus* (Saquniche) and *T. calceolatus* (Macquart). From *Carposcalis* were found *C. edwardsi* Bouvier and other species that were identified preliminarily between *C. punctulata* Wulp, *C. chalconotum* (Philippi), and *C. fenestrata* (Macquart). With the material obtained from *Allograpta*, the most abundant, a dichotomic key for taxonomical determination was developed, with photographs and drawings of the characters used in the determination.

Key words: *Carposcalis*, hover fly, syrphid fly, *Toxomerus*.

REFERENCIAS

ADAMS, T. H. L., CHAMBERS, R. J., DIXON, A. F. G. 1987. Quantification of the impact of the hoverfly, *Metasyrphus corollae* on the cereal aphid, *Sitobion avenae*, in winter wheat: laboratory rates of kill. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **43** (2): 153-157.

BUGG, R. L. 1992. *Habitat manipulation to enhance the effectiveness of aphidophagous hover flies (Diptera: Syrphidae)*. Sustainable Agric. Res. & Educ. Progr., Univ. California. Rev. 27 nov. 2002, en: <http://www.sarep.ucdavis.edu/NEWSLTR/v5n2/sa-11.htm>

CARRILLO, R. 1973. Efecto de diversos insecticidas sistémicos en el combate del pulgón verde pálido (*Metopolophium dirhodum*) (Walker) en cebada (*Hordeum vulgare* L.). *Agro Sur (Valdivia, Chile)*, **1** (2): 51-56.

CARVER, M., THOMPSON, F. C. 2003. Two new species of Syrphidae (Diptera) from Australia. *Studia Dipterologica*, **10**: 37-41.

CHAMBERS, R., ADAMS, T. 1986. Quantification of the impact of hoverflies (Diptera: Syrphidae) on cereal aphids in winter wheat: An analysis of field populations. *J. Appl. Ecol.*, **23**: 895-904.

COLE, E. R., SCHLINGER, E. I. 1969. *The flies of western North America*. University of California Press, Berkeley, CA.

CURRAN, C. H. 1920. Observations on the more common aphidophagous syrphid flies (Dipt.). *Canadian Entomologist*, **53**: 53-55.

ETCHEVERRY, M. 1963. Descripciones originales, sinonimia y distribución geográfica de las especies de la familia Syrphidae (Diptera) de Chile. *Publicaciones del Centro de Estudios Entomológicos de la Universidad de Chile, Santiago*, 143 p.

GREZ, A., ZAVIEZO, T. 2002. Efectos inmediatos de la fragmentación del hábitat sobre la abundancia de insectos en alfalfa. *Ciencia e Investigación Agraria*, **29** (1): 29-34.

LÓPEZ, R. 2008. *Desarrollo de una clave y determinación de los sirfidos asociados a un cultivo de alfalfa en Colina, Región Metropolitana*. Mem. Ing. Agr., Fac. Cs. Agronómicas, Univ. de Chile, 47 p.

MAHR, S. E. R., MAHR, D. L., WYMAN, J. A. 1995. Biological control of insect pests of cabbage and other crucifers. *Coop. Ext. North Central Regional Publication*, **471**, 54 p.

MILLER, R. L. 1929. A contribution to the biology and control of the green citrus aphid, *Aphis spiraecola* Patch. *Florida Agricultural Experiment Station Technical Bulletin*, **203**: 431-476.

PINO, G. 1962. Estudio de algunos caracteres morfológicos de nueve especies de Syrphidae chilenos de diferentes géneros (Diptera). *Centro de Estudios Entomológicos*, **4**: 45-58.

SCHNEIDER, E. 1969. Bionomics and physiology of aphidophagous Syrphidae, *Annual Review of Entomology*, **14**: 103-123.

SHANNON, R. C. 1927. A review of the South American two winged flies of the family Syrphidae, *Proceedings of the United States National Museum*, **70** (9): 24-26.

SHANNON, R. C., AUBERTIN, D. 1933. Diptera of Patagonia and South Chile, *British Mus. Nat. Hist. Part VI*, **3**: 120-170.

STUARDO, C. 1946. *Catálogo de los dípteros de Chile*, Ministerio de Agricultura. Imprenta Universitaria, Santiago, 256 p.

VOCKEROTH, J. R., THOMPSON, F. C. 1987. Syrphidae. Chapter 52: 713-743 in: MCALPINE, J. F. (ed.), *Manual of the Nearctic Diptera, Vol. 2. Res. Branch, Agric. Canada, Monogr.*, **28**: 667-1332.

WEEMS, H. V. 2000. A hover fly: *Allograpta obliqua* (Say) (Insecta: Diptera: Syrphidae), *University of Florida Publication*, EENY-185. Rev. 23 nov. 2002, en: http://creatures.ifas.ufl.edu/beneficial/hover_fly.htm

(Recepción: 10 noviembre 2008)
(Aceptación: 14 diciembre 2011)

Controle biológico do ácaro rajado (*Tetranychus urticae* Koch) em morangueiro, utilizando o ácaro predador *Phytoseiulus fragariae* Denmark & Schicha (Acari: Tetranychidae, Phytoseiidae)

A. R. MACHI, R. V. ARAÚJO, G. J. MORAES, V. ARTHUR

Tetranychus urticae Koch, é uma das principais pragas do morangueiro (*Fragaria* × *ananassa* Duchesne), no Brasil, e o controle biológico aplicado mediante liberação de ácaros predadores da família Phytoseiidae, é uma estratégia viável. O objetivo do estudo foi testar a eficiência de *Phytoseiulus fragariae* Denmark & Schicha para o controle de *T. urticae* em morangueiros. Inicialmente foram feitos estudos de capacidade predatória do predador em laboratório com placas de petri contendo folhas de feijão de porco, *Canavalia ensiformis* (L.), e outros com folíolos de morangueiro para saber se esse seria um hospedeiro favorável ou não ao desenvolvimento do predador; na segunda parte do estudo foram utilizadas seis casas teladas situadas na Fazenda Areão/ESALQ - USP, Piracicaba-SP. No interior dessas, 600 vasos de morangueiro foram distribuídos em cada casa telada de forma homogênea. Para infestação, cinco fêmeas adultas de ácaro rajado foram transferidas para cada pedaço de folha de (Feijão de Porco) Em seguida, transferiu-se um pedaço dessa folha infestada para cada planta de morangueiro das seis casas teladas. Dez dias após a liberação do ácaro-rajado, cinco fêmeas adultas de *P. fragariae* foram transferidas e liberadas em três casas teladas contendo plantas de morangueiro, totalizando três repetições. O tratamento onde não houve liberação do predador foi nomeado como “tratamento I”, e o tratamento em que estes foram liberados “tratamento II”. Semanalmente, estimou-se a densidade populacional de cada espécie de ácaros encontrada, a porcentagem de folíolos e o nível de dano do ácaro rajado no morangueiro. No geral nas duas primeiras repetições, não foi possível observar diferença entre os níveis populacionais do ácaro rajado entre as plantas em que *P. fragariae* não foi liberado (tratamento I) e aquelas em que o predador foi liberado (tratamento II). No entanto, nas três repetições a média da somatória dos níveis populacionais do ácaro rajado do início até o final do experimento foi sempre maior no tratamento I que no tratamento II (176 e 98; 153 e 96; e 238 e 119, da primeira a terceira repetição). Outras espécies de ácaros que ocorreram espontaneamente em ambos os tratamentos foram identificadas, e as de maiores frequências nas avaliações semanais foram *Neoseiulus californicus* e *Phytoseiulus macropilis*, nenhuma delas tendo influenciado nos resultados do experimento. De acordo, com os resultados, nas três últimas semanas do experimento, a média da somatória dos níveis de danos das folhas amostradas foi sempre maior nas três repetições do tratamento I. Os resultados indicam que *P. fragariae* é um agente de controle biológico promissor contra o ácaro rajado.

A. R. MACHI. USP, CEP: 13.400-911 São Paulo-SP - Brasil., e-mail: rica_machi@hotmail.com

R. V. ARAÚJO, V. ARTHUR. CENA/USP, Av. Centenário, 303 - Piracicaba - CEP: 13400-970 - São Paulo - Brasil

G. J. MORAES. ESALQ/USP, Av. Pádua dias, 11 - Piracicaba - CEP: 13418-900 - São Paulo - Brasil.

Palavras chave: casa telada, ácaros fitófagos.

INTRODUÇÃO

Os problemas fitossanitários na cultura do morangueiro (*Fragaria* × *ananassa*), assim como em outras olerícolas, são de difícil controle, necessitando o seu constante monitoramento. O controle feito por métodos químicos é dificultado pelo fato de as colheitas do morangueiro serem realizadas diariamente e de os frutos serem consumidos *in natura*. Daí a necessidade de se aplicarem acaricidas com curto período de carência e baixa toxicidade para que não ocorra resistência (FADINI *et al.*, 2000).

No Brasil, o ácaro rajado ocorre durante todo o ciclo da cultura, mais especialmente durante a época de frutificação e colheita, sendo que, dependendo da elevação dos níveis populacionais, o período de colheita pode ser abreviado de dois a três meses (CALZA & SUPPLY F.º N. 1967).

As injúrias causadas à planta pelos ácaros são provocadas pela perfuração das células da epiderme inferior das folhas, podendo também atacar os frutos quando estes estão verdes. Os ácaros alimentam-se do conteúdo intracelular das folhas, causando a morte das células atacadas e, em consequência, o aparecimento de manchas ou áreas descoradas.

Em altas densidades, os ácaros podem reduzir a taxa fotossintética das plantas de morangueiro por causarem danos às células do mesófilo foliar e o fechamento dos estômatos, acarretando redução no número e no peso dos frutos produzidos (FADINI *et al.*, 2000).

A partir do final da década de 50, os ácaros fitoseídeos passaram a ser extensivamente reconhecidos como eficientes predadores de ácaros fitófagos (MCMURTRY *et al.*, 1970). Projetos conduzidos em diferentes países, incluindo o Brasil, demonstram a importância do uso prático de inimigos naturais para o controle de alguns dos mais importantes ácaros-praga (MORAES & FLECHTMANN, 2008).

Atualmente o controle de *T. urticae* em morango tem sido feito em nível comercial com o uso de algumas espécies de fitoseíde-

os, especialmente de *Phytoseiulus persimilis*. Alguns trabalhos sobre este tema têm sido conduzidos no Brasil com resultados altamente positivos (FADINI *et al.*, 2000).

Os predadores estudados até o momento em nosso país foram: *Phytoseiulus macropilis*, por GARCIA (1992) e WATANABE *et al.* (1994); *Neoseiulus idaeus*, por WATANABE *et al.* (1994); e *N. californicus*, por SATO *et al.* (2007) e BELLINI *et al.* (2006).

O objetivo deste trabalho foi explorar a eficiência do controle biológico sobre *T. urticae*, utilizando o ácaro predador *Phytoseiulus fragariae* DENMARK & SCHICHA como alternativa no cultivo do morango em cultivos protegidos.

MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção e manutenção das criações de ácaros

A colônia de *T. urticae* foi iniciada com espécimes mantidos por aproximadamente dois anos em plantas de Feijão de Porco, *C. ensiformis* em Piracicaba. Esta colônia foi estabelecida na mesma espécie de planta hospedeira e mantida em uma gaiola (100 × 100 × 120 cm) em laboratório. Uma parede lateral e a parede superior da gaiola eram cobertas com vidro e as outras três paredes laterais, com um tecido de organdi.

Estas plantas foram infestadas com o ácaro rajado e periodicamente substituídas por plantas novas, para manter a criação daquele ácaro. A população de *P. fragariae* originou-se de espécimes coletados em Uruguaiana-RS, em março de 2005. Esta população foi criada e multiplicada em bandejas plásticas de 20 × 15 × 7 cm contendo em seu interior uma placa de substrato artificial (*Paviflex*®) circundada por algodão hidrófilo sobre um pedaço de espuma umedecida (para evitar a fuga dos ácaros). Folhas contendo todos os estágios de desenvolvimento de ácaro rajado foram oferecidas diariamente aos predadores.

Teste de eficiência de *P. fragariae* em morangueiro nas casas teladas

Este teste consistiu na avaliação comportamental do predador em campo sendo conduzido em seis casas teladas ($3,0 \times 6,0 \times 1,6$ m) situadas na Fazenda Areão, ESALQ/USP, Piracicaba - SP. No interior dessas, cada vaso continha um morangueiro, *Fragaria* \times *ananssa*; estes foram distribuídos de forma regular, com duas fileiras de vinte e cinco vasos em cada uma das periferias, totalizando cinquenta vasos em cada casa telada.

A irrigação foi feita por gotejamento e automaticamente através de um sistema elétrico que provia diariamente 350 mL de água às plantas às 9 e às 17h. Mensalmente, as plantas foram adubadas com adubo granulado (formulação $20 \times 13 \times 20$) dissolvido em água na concentração de 0,1 kg/L. Cada planta recebeu 15 mL da solução em cada data de adubação. Para a infestação das plantas do morangueiro, cinco fêmeas adultas de ácaro rajado foram transferidas com pincel de ponta fina para cada pedaço de folha de *C. ensiformis* (Feijão de Porco) e colocados em uma bandeja para o transporte dos ácaros até o local do experimento. Em seguida, transferiu-se um pedaço dessa folha infestada com o ácaro rajado, para cada planta das seis casas teladas onde estavam as plantas de morangueiro.

Dez dias após a liberação do ácaro rajado, três fêmeas adultas de *P. fragariae* foram transferidas com um pincel de ponta fina em tubos de ependorfs. Esses ácaros foram levados até as casas teladas, onde de forma homogênea, foram liberados um por um nas plantas de cada uma das três casas teladas; este tratamento foi referido como “tratamento II”; as plantas em que estes predadores não foram liberados corresponderam ao tratamento referido como “tratamento I”.

Um dia antes da primeira liberação dos predadores e semanalmente a partir de então, foram tomadas amostras de folíolos para estimar a densidade populacional de cada espécie de ácaro encontrada, incluindo os contaminantes.

Foram realizadas 18 amostragens, cada uma consistindo de 50 folíolos de cada planta do vaso em que, os morangueiros foram plantados (um por planta). Os folíolos foram postos individualmente em sacos de papel e conduzidos ao laboratório para avaliação em microscópio estereoscópico da densidade populacional de cada espécie de ácaros. Todos os estágios dos ácaros foram contados em até 48 horas após a coleta dos folíolos, sendo que para os fitoseídeos, foram montadas lâminas para posterior identificação. A partir dos dados obtidos, calculou-se para cada amostragem a média de ácaros por folíolo, a porcentagem de folíolos em que cada espécie foi encontrada e o total acumulado de *T. urticae* por folíolo durante as avaliações (somatório do número absoluto de ácaros contados em cada avaliação).

Foi avaliado também semanalmente o nível de dano causado por *T. urticae* à cultura no bloco de plantas em que os predadores foram liberados e naquele em que estes não foram liberados, através da observação de 50 plantas em cada casa telada. As plantas foram classificadas segundo a metodologia utilizada por DAGHINI (2006), na escala de 0 a 6, sendo cada valor correspondente à ocorrência de: 0- nenhum dano aparente; 1- poucas pontuações cloróticas; 2- moderadas pontuações cloróticas; 3- muitas pontuações cloróticas; 4- leve bronzeamento das folhas; 5- elevado bronzeamento e 6- morte da planta. As médias de campo foram avaliadas estatisticamente através do teste de Tukey a 5%.

Efeito da planta hospedeira na oviposição de *P. fragariae*

Nesta parte do estudo, avaliou-se o efeito da planta hospedeira na taxa de oviposição de *P. fragariae*, visando identificar se os morangueiros utilizados no experimento poderiam, ou não ser adequados para a reprodução deste predador. A unidade experimental consistiu de folíolos de feijão-de-porco (utilizado aqui como controle, uma vez que

o predador é criado em laboratório com folíolos de feijão-de-porco infestados com o ácaro rajado) e folíolos de morangos coletados das casas teladas onde realizaram-se o experimento descrito no item 2.1. Os folíolos foram depositados com a face abaxial voltada para cima sobre um pedaço de espuma umedecida com água destilada e mantida no interior de caixas plásticas semelhantes às descritas anteriormente, para manutenção das colônias-estoque dos ácaros predadores. Foram em seguida circundados por algodão hidrófilo para retardar o seu ressecamento e evitar a fuga dos ácaros.

Vinte fêmeas adultas de *T. urticae* obtidas da criação-estoque foram transferidas com pincel de ponta fina para cada folíolo de feijão-de-porco para que ovipositassem; 24 horas depois, uma fêmea adulta de *P. fragariae* foi adicionada a cada folíolo. Quando se avaliou como planta hospedeira o morangueiro, foram utilizados folíolos já infestados e com grande densidade de ácaro rajado obtidos das casas teladas. Não houve necessidade de adicionar mais alimento (*T. urticae*) às unidades experimentais no decorrer do experimento.

As unidades experimentais foram mantidas em B.O.D. a 25°C ± 1, 70% ± 10 U.R. e 12 horas de fotofase e avaliadas diariamente durante 5 dias para contagem e remoção dos ovos do predador. Foram realizadas 10 repetições para cada espécie de planta. As taxas médias de oviposição diária foram comparadas no programa NTIA/EMBRAPA através do teste *T* de Student ao nível de 5% de significância.

Predação inter e intra-específica de *N. californicus* e *P. fragariae* em morangueiro

A população de *N. californicus* foi iniciada com espécimes mantidos por aproximadamente dois anos em plantas de feijão-de-porco infestadas com *T. urticae* em

Piracicaba. Cada unidade experimental consistiu de um disco de folha de morangueiro (aproximadamente 1,2 cm de diâmetro) colocado sobre um disco de papel de filtro de mesmo tamanho em um recipiente plástico de 1,5 cm de diâmetro e 1,5 cm de altura. Três tratamentos foram utilizados: I - uma combinação de 3 ovos, 3 larvas e 3 protoninfas de uma das espécies de fitoseídeos; II - a mesma combinação dos diferentes estágios do fitoseídeo selecionado +10 larvas ou protoninfas de *T. urticae*; III - a mesma combinação dos diferentes estágios do fitoseídeo selecionado + 30 larvas ou protoninfas de *T. urticae*. Em cada unidade experimental foi colocada uma fêmea grávida da outra espécie de fitoseídeo (teste de predação inter-específica) ou uma fêmea grávida da mesma espécie de fitoseídeo (teste de predação intra-específica). Este procedimento foi empregado para cada uma das espécies de fitoseídeos funcionando como presa (ovos/larvas/protoninfas) ou como predador (fêmea grávida).

As unidades experimentais contendo os ácaros foram mantidas em B.O.D. a 25 ± 1°C, 70% ± 10 U.R. e 12 horas de fotofase e examinadas diariamente durante 5 dias para contagem e reposição dos ácaros consumidos. As médias do total diário de imaturos consumidos em cada tratamento foram analisadas em teste bifatorial pelo programa NTIA/EMBRAPA, sendo os valores de predação (*x*) transformados para raiz de (*x* + 0,5).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Efeito da planta hospedeira na oviposição de *P. fragariae*

A taxa média de oviposição diária de *P. fragariae* alimentado com o ácaro rajado em morangueiro 2,6 ± 0,2 foi significativamente maior (*p* = 0,0056 e *CV* = 0,20) do que quando este foi alimentado com o ácaro rajado em feijão-de-porco (2,0 ± 0,2).

Predação inter e intra-específica de *N. californicus* e *P. fragariae*

Nos 2 níveis menores de disponibilidade de *T. urticae*, o número de imaturos de *P. fragariae* predados por adultos de *N. californicus*

foi significativamente maior que o número de imaturos de *N. californicus* predados por adultos de *P. fragariae*. No maior nível de disponibilidade de *T. urticae*, não foi observada diferença significativa entre a predação das espécies (Tabela 1).

Tabela 1. Média diária (± DP) do total de fitoseídeos imaturos atacados nas diferentes combinações de predadores e nos diferentes tratamentos, sendo: NC = fêmeas grávidas de *N. californicus*; nc = imaturos de *N. californicus*; PF = fêmeas grávidas de *P. fragariae*; pf = imaturos de *P. fragariae*

Tratamentos	Combinação de fitoseídeos			
	NC+pf	PF+nc	Nc+nc	Pf+pf
Ausência de <i>T. urticae</i>	1,1±0,1A ^a	0,6±0,1B ^a	0,2±0,1C ^a	0,4±0,1BC ^a
10 larvas/protoninfas de <i>T. urticae</i>	0,6±0,1A ^b	0,4±0,1B ^b	0,0±0,0C ^b	0,0±0,1C ^b
30 larvas/protoninfas de <i>T. urticae</i>	0,2±0,1A ^c	0,1±0,0AB ^c	0,0±0,0B ^b	0,0±0,0B ^b

* Médias seguidas por letras diferentes diferem estatisticamente (bifatorial; p < 0,05 e CV = 14). Letras maiúsculas comparam médias na mesma linha; letras minúsculas comparam médias na mesma coluna.

* DP = Desvio Padrão.

Quando os imaturos e os adultos pertenciam à mesma espécie, a predação foi muito reduzida ou totalmente ausente havendo imaturos de *T. urticae* disponíveis na unidade experimental, independentemente de sua densidade. Na ausência de *T. urticae* a predação intra-específica de imaturos, ainda que muito baixa, foi observada, não havendo entretanto diferença significativa entre as espécies de fitoseídeos. Ao serem associados imaturos de *P. fragariae* e adultos de *N. californicus*, a predação de larvas foi significativamente maior que a predação ovos ou protoninfas quando *T. urticae* estava ausente na unidade experimental ou à densidade de 10 larvas ou protoninfas em cada unidade. A predação maior de larvas em relação à predação de ovos ou protoninfas também ocorreu quando imaturos de *N. californicus* ou *P. fragariae* foram oferecidos à fêmeas adultas de *P. fragariae* e não havia *T. urticae* nas unidades experimentais.

Teste de eficiência de *P. fragariae* em morangueiro nas casas teladas

1. Padrões de flutuação

Considerando todas as repetições ao mesmo tempo

Considerando todas as repetições ao mesmo tempo, a primeira avaliação, realizada antes da liberação dos predadores nas casas teladas e dez dias após a liberação do ácaro rajado nestas mesmas, indicou que este último quando muito já havia infestado cerca de 70% dos folíolos no tratamento I e cerca de 96% dos folíolos, no tratamento II. Todas as médias do presente trabalho serão apresentadas nas tabelas 2-3 e 4-5 respectivamente.

Tabela 2. Médias (\pm DP) do total de ácaros presentes nas casas teladas do tratamento controle em níveis de porcentagem

Níveis percentuais			
Casas teladas	<i>T. urticae</i>	<i>P. macropilis</i>	<i>N. californicus</i>
1	29.0 \pm 14.5 ^a	8.55 \pm 7.5 ^a	2.66 \pm 1.5 ^a
2	30.6 \pm 13.5 ^a	7.55 \pm 6.0 ^a	2.11 \pm 1.8 ^a
3	31.0 \pm 16.5 ^a	7.66 \pm 8.5 ^a	2.44 \pm 2.6 ^a

* Médias seguidas por letras diferentes nas colunas diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5%.

* DP = Desvio Padrão.

Tabela 3. Médias (\pm DP) do total de ácaros presentes nas casas teladas do tratamento liberação em níveis de porcentagem.

Níveis percentuais			
Casas teladas	<i>T. urticae</i>	<i>P. fragariae</i>	<i>N. californicus</i>
4	27.2 \pm 18.0 ^b	13.1 \pm 6.0 ^a	2.66 \pm 1.5 ^a
5	81.2 \pm 12.0 ^a	12.6 \pm 2.0 ^a	2.11 \pm 1.8 ^a
6	64.2 \pm 11.0 ^a	4.11 \pm 4.4 ^b	2.44 \pm 2.6 ^a

* Médias seguidas por letras diferentes nas colunas diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5%.

* DP = Desvio Padrão.

Tabela 4. Médias (\pm DP) do total de ácaros presentes nas casas teladas do tratamento controle em níveis populacionais

Densidades populacionais			
Casas teladas	<i>T. urticae</i>	<i>P. macropilis</i>	<i>N. californicus</i>
1	13.2 \pm 8.0 ^a	0.2 \pm 0.1 ^a	0.0 \pm 0.0 ^a
2	9.90 \pm 4.0 ^b	0.1 \pm 0.05 ^b	0.0 \pm 0.0 ^a
3	14.8 \pm 5.0 ^a	0.0 \pm 0.0 ^b	0.1 \pm 0.05 ^b

* Médias seguidas por letras diferentes nas colunas diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5%.

* DP = Desvio Padrão.

Tabela 5. Médias (\pm DP) do total de ácaros presentes nas casas teladas do tratamento liberação em níveis populacionais

Densidades populacionais			
Casas teladas	<i>T. urticae</i>	<i>P. fragariae</i>	<i>N. californicus</i>
4	10.5 \pm 3.7 ^a	0.6 \pm 0.2 ^a	0.2 \pm 0.05 ^a
5	8.20 \pm 3.2 ^b	0.4 \pm 0.1 ^b	0.0 \pm 0.0 ^b
6	11.2 \pm 3.7 ^a	0.6 \pm 0.15 ^a	0.0 \pm 0.0 ^b

* Médias seguidas por letras diferentes nas colunas diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5%.

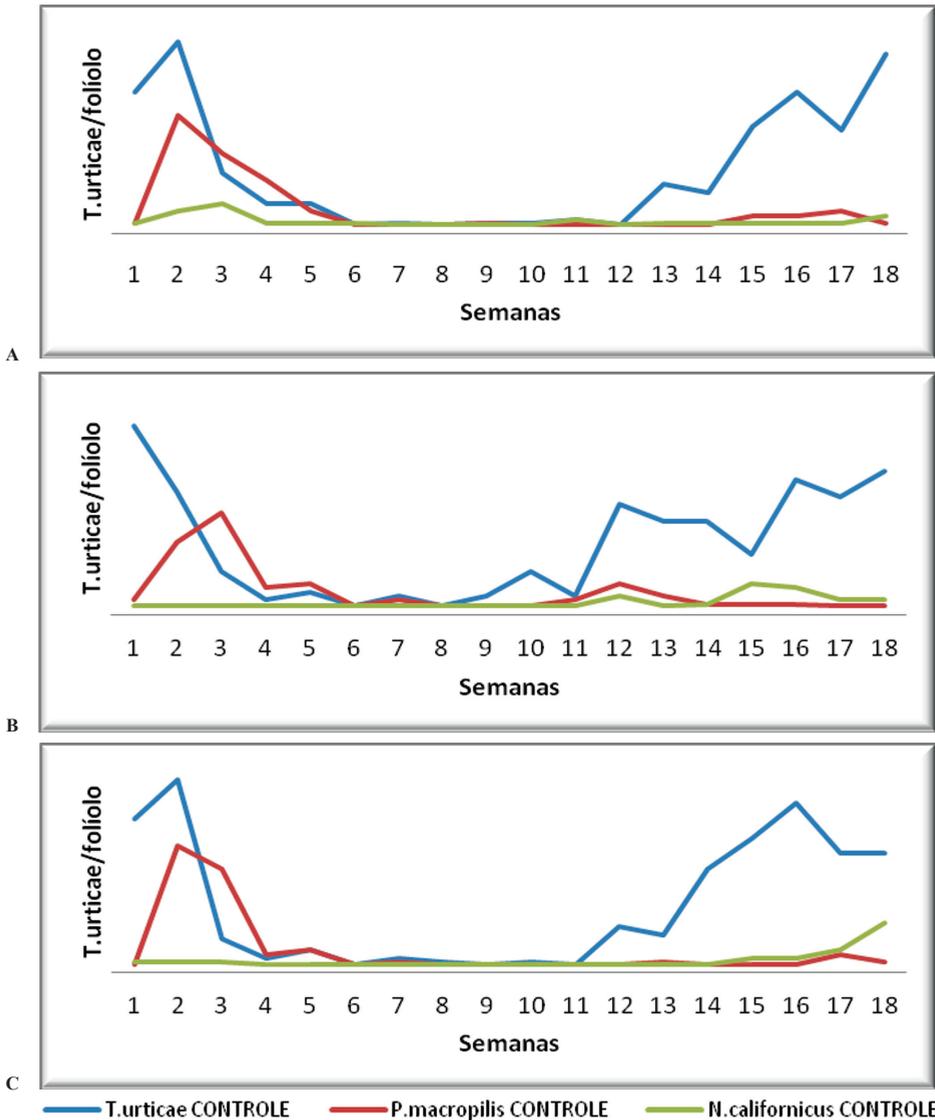
* DP = Desvio Padrão.

2. *Proporções de folíolos com ácaros*

Nas três repetições do tratamento I, a proporção de folíolos com ácaro rajado atingiu um pico na primeira e na segunda semana após sua liberação (Figuras 1 A-C).

Em seguida, a proporção de folíolos atacados reduziu muito, chegando a níveis próximos de zero, permanecendo assim até a décima segunda ou décima terceira semana.

A partir de então, a proporção de folíolos atacados aumentou muito, atingindo níveis muito elevados nas duas ou três últimas semanas da avaliação. Embora nenhum predador tenha sido liberado neste tratamento, observou-se a ocorrência dos fitoseídeos predadores *P. macropilis* e *N. californicus* embora num número relativamente baixo de folíolos nas três repetições, exceto na terceira semana quando, na segunda repetição, os



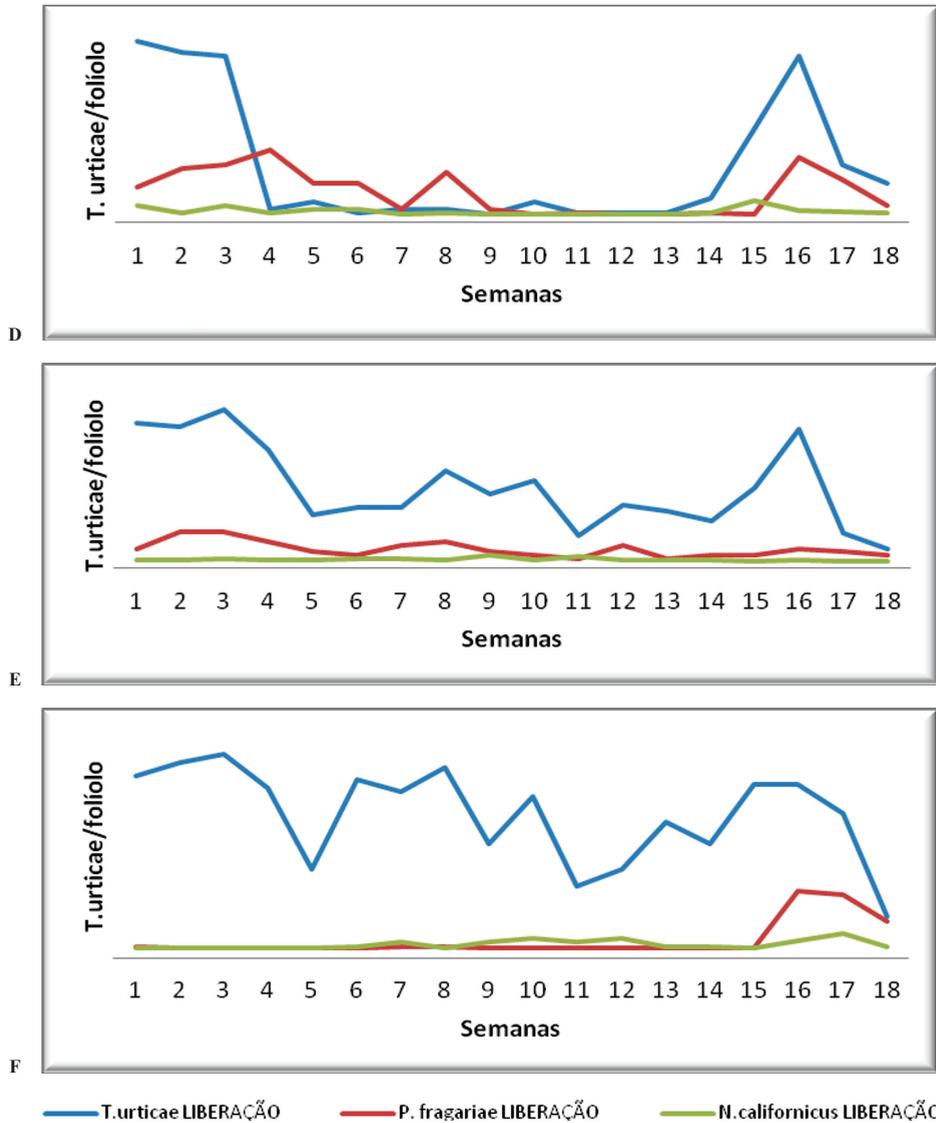


Figura 1. Porcentagens de folíolos infestados com ácaros durante o experimento. Tratamento I (sem liberação de *P. fragariae*): A, B e C (repetições 1, 2 e 3, respectivamente); tratamento II (com liberação de *P. fragariae*): D, E e F (repetições 1, 2 e 3, respectivamente)

predadores foram encontrados em mais de 40% dos folíolos examinados.

No tratamento II, os padrões de flutuação da proporção de folíolos com ácaro rajado variaram bastante entre as repetições (Figuras 1 D-F).

Na primeira repetição, o padrão observado foi semelhante ao que se relatou para a segunda repetição do tratamento I, embora os níveis mais elevados tenham ocorrido no início e no final do experimento, as proporções de folíolos atacados estiveram

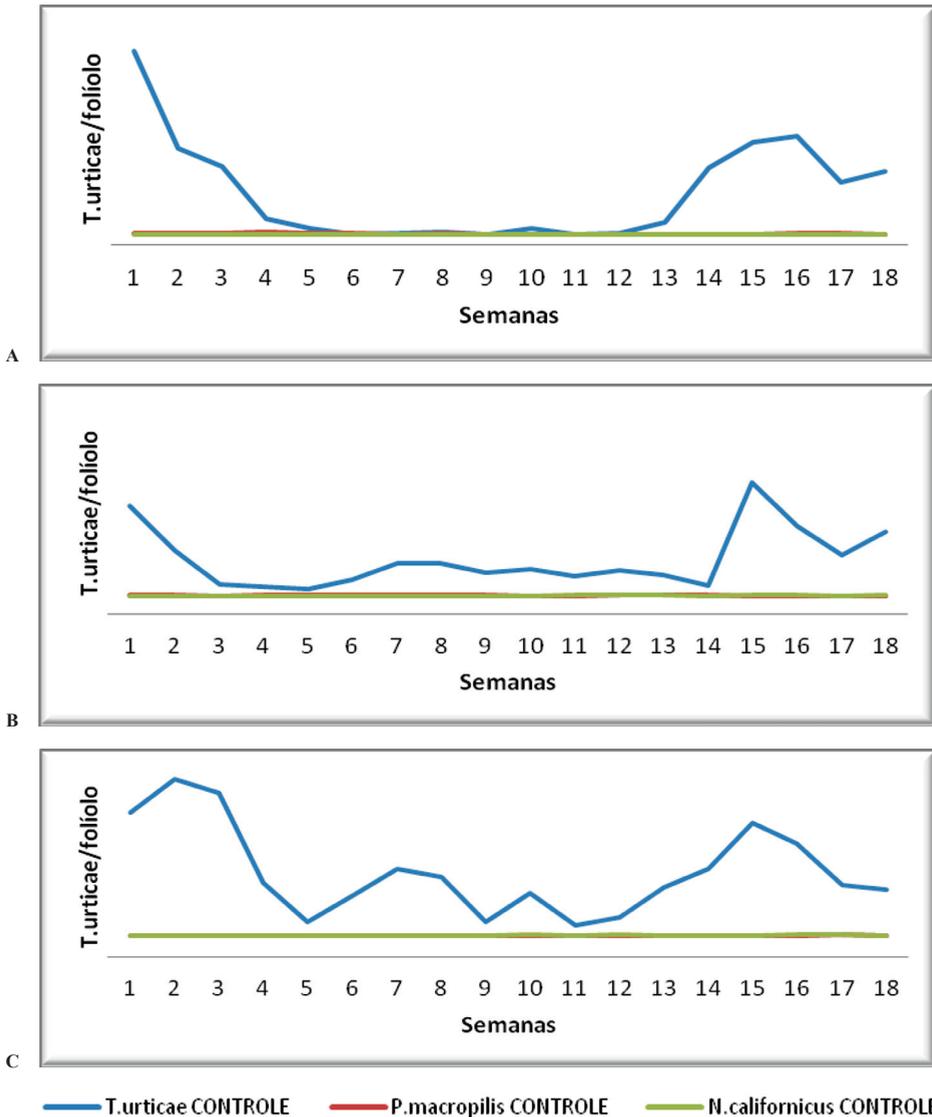
relativamente elevadas entre aqueles dois períodos.

Na terceira repetição, as proporções de folíolos atacados estiveram em níveis elevadas. Como *P. fragariae* foi liberado neste tratamento, observou-se a ocorrência desta espécie para além das identificadas no tratamento I, isto é *P. macropilis* e *N. californicus* nas três repetições. Neste caso, *P. fragariae* foi encontrado nos folíolos do

morangueiro durante a maior parte do experimento em níveis elevados.

3. Níveis populacionais

Em relação ao tratamento I, o nível populacional médio do ácaro rajado seguiu um padrão de flutuação semelhante ao que se relatou para a proporção de folíolos atacados (Figuras 2 A-C).



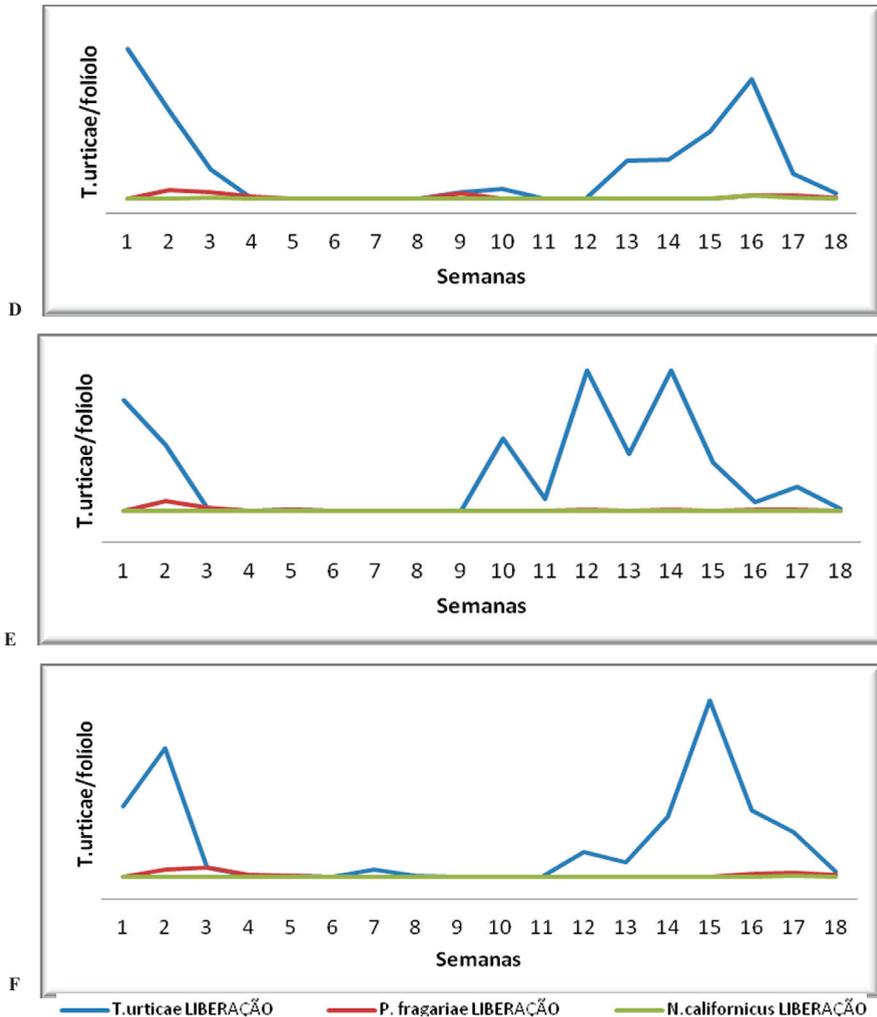


Figura 2. Densidade populacional dos ácaros durante o experimento. Tratamento I (sem liberação de *P. fragariae*): A, B e C (repetições 1, 2 e 3, respectivamente); tratamento II (com liberação de *P. fragariae*): D, E e F (repetições 1, 2 e 3, respectivamente)

Assim, níveis populacionais mais elevados foram observados no início e no final do experimento, sendo os níveis baixos entre estes dois períodos. Níveis mais elevados de predadores foram encontrados nas primeiras semanas da primeira repetição, chegando a quase 1,0 predador por folíolo; no entanto, os níveis de ocorrência de predadores foram muito reduzidos a partir daí. Esse fato foi observado em todas as repeti-

ções deste tratamento. Nas outras repetições, os níveis de ocorrência de predadores foram sempre baixos (menos de 0,4 predadores por folíolo).

Em relação ao tratamento II, apesar da diferença entre as repetições no que se refere à proporção de folíolos atacados, a flutuação dos níveis populacional médio do ácaro rajado seguiu um padrão bastante uniforme (Figuras 2 D-F).

Este padrão foi semelhante ao que se relatou para o tratamento I em relação à proporção de folíolos atacados e ao nível populacional do ácaro rajado, ou seja, os níveis mais elevados foram observados no início e no final do experimento, sendo estes bastante reduzidos entre aqueles dois períodos.

Nas três repetições deste tratamento, níveis relativamente elevados de predadores foram observados nas primeiras semanas do experimento (próximo de 2,0 predadores por folíolo).

Níveis relativamente elevados (próximos de 0,7 predadores por folíolo) também foram observados nas últimas semanas na primeira e na terceira repetições. Na segunda repetição, o nível populacional dos predadores permaneceu baixo, provavelmente em função do baixo nível populacional do ácaro rajado. Os níveis mais elevados do predador nas primeiras semanas das três repetições ocorreram logo após a liberação do predador (realizada logo após a primeira avaliação).

De forma semelhante, os níveis mais elevados de predadores na primeira e na terceira repetições ocorreram logo após a segunda liberação do predador (realizada logo após a décima quinta avaliação). No geral quando se compararam ambos os tratamentos, os níveis populacionais do ácaro rajado das três repetições do tratamento II (liberação), foram visualmente menores que no tratamento I (controle).

De forma congruente com os resultados apresentados no parágrafo anterior, a somatória dos níveis de danos das folhas amstradas foi quase sempre notoriamente maior nas plantas do tratamento I nas 3 repetições (Figura 3 A-C).

4. Diferenças entre os níveis populacionais do ácaro rajado nos distintos tratamentos

Nas primeiras e segundas repetições, não foi visualmente muito evidente a diferença entre os níveis populacionais do ácaro rajado

entre as plantas em que *P. fragariae* não havia sido liberado (tratamento I) e aquelas em que aquele predador havia sido liberado (tratamento II). Na terceira repetição, o nível populacional do ácaro rajado esteve quase sempre visivelmente mais baixo nas plantas em que *P. fragariae* havia sido liberado. No entanto, a somatória dos níveis populacionais médios do ácaro rajado da primeira avaliação realizada após a primeira liberação do predador (semana 2) até o final do experimento foi sempre maior no tratamento I que no tratamento II (176 e 98; 153 e 96; e 238 e 119, da primeira a terceira repetição).

A drástica redução do número de *P. fragariae* nas plantas de morango após duas semanas de sua liberação inicial poderia corresponder à sua mortalidade ou movimentação para fora da casa telada em que o trabalho foi realizado. Entretanto, nenhuma pulverização de defensivos foi aplicada após o início do experimento, e também elimina-se a possibilidade de efeito químico direto ou residual sobre *P. fragariae*. Parece muito pouco provável que a aplicação de abamectina 25 dias antes da primeira liberação do predador e 48 dias antes da segunda tivesse resultado na mortalidade deste, tendo em vista que o seu nível populacional aumentou nas 2 semanas após a liberação inicial, somente reduzindo-se a partir da terceira semana. A movimentação deste predador para fora da casa telada também não seria esperada, tendo em vista a presença constante de elevada densidade do ácaro rajado nestas plantas, a menos que o morangueiro se constituísse em um hospedeiro desfavorável para o desenvolvimento de *P. fragariae*, contrariando os resultados obtidos por Fraga (1996). Outro fator que poderia ter afetado o desempenho de *P. fragariae* seria a interação deste predador com *N. californicus*, que apareceu espontaneamente nos morangueiros.

Os resultados também poderiam ter sido mais expressivos se os níveis do ácaro rajado tivessem sido maiores ao longo do experimento, e também se não houvesse a ocorrência espontânea de ácaros predadores nas plantas em que *P. fragariae* foi liberado.

N. californicus é um ácaro predador, reconhecido como um bom agente de controle de *T. urticae* (EASTERBROOK *et al.*, 2001, BELLINI *et al.*, 2006, RHODES & LIBURD 2006, SATO *et al.*, 2007).

WATANABE *et al.* (1994) testaram a viabilidade do emprego das espécies *Neoseiulus idaeus* (Denmark & Muma) e *Phytoseiulus*

macropilis (Banks) em morangueiro, em campo. Os autores verificaram que nas parcelas em que os predadores foram liberados, a população de *T. urticae* foi significativamente reduzida.

VASCONCELOS (2006) realizou estudos em laboratório, para avaliar o desenvolvimento de *P. fragariae* alimentado com os ácaros

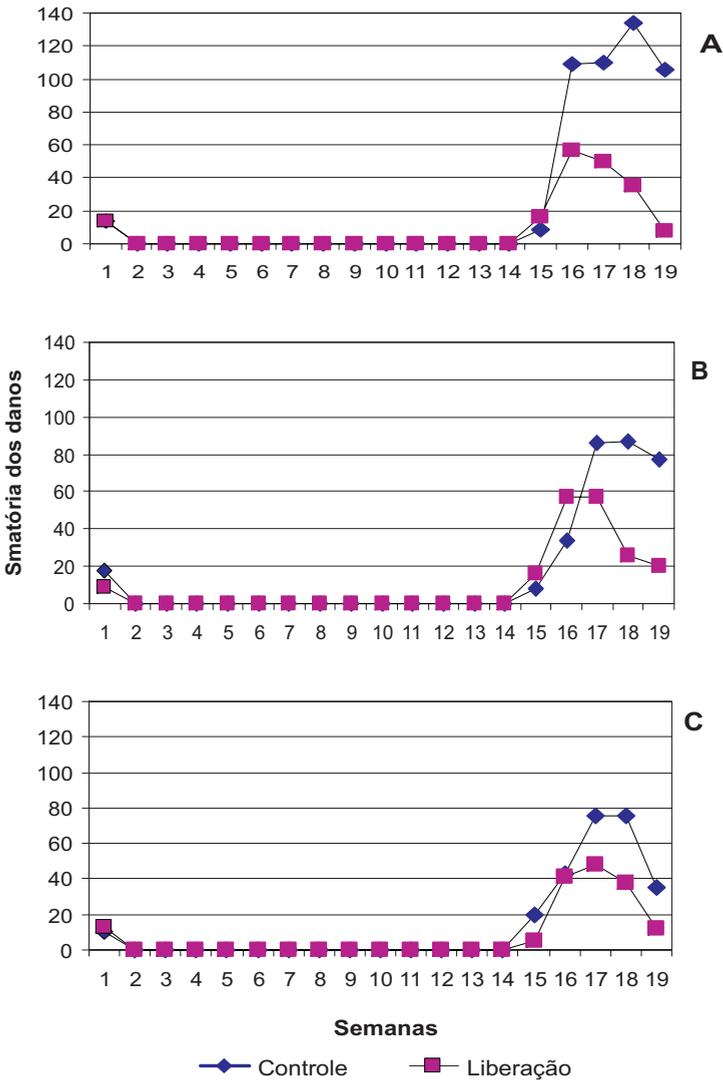


Figura 3. Nível do dano de ácaros rajado durante o experimento. Tratamento I (controle) e Tratamento II (Liberação) A, B, C (Repetições 1, 2, 3, 4, 5, 6, respectivamente)

fitófagos *Tetranychus evansi* (Baker & Pritchard) e *T. urticae*. O citado autor encontrou um ótimo desempenho biológico deste predador sobre o ácaro rajado, evidenciando assim a possibilidade da utilização do mes-

mo no controle biológico deste ácaro fitófago. Diante das considerações anteriores, *P. fragariae* tem potencial para ser utilizado no controle biológico de *T. urticae* em morangueiros.

RESUMEN

MACHI, A. R., R. V. ARAÚJO, G. J. MORAES, V. ARTHUR. 2012. Controle biológico de la araña roja (*Tetranychus urticae* Koch) en la fresa con el ácaro depredador *Phytoseiulus fragariae* Denmark & Schicha. *Bol. San. Veg. Plagas*, **38**: 17-31.

Tetranychus urticae Koch es una plaga importante de fresa (*Fragaria* × *ananassa* Duchesne) en Brasil. El control biológico mediante la liberación de ácaros depredadores de la familia Phytoseiidae se considera una estrategia viable. El estudio tuvo como objetivo comprobar la eficacia de *Phytoseiulus fragariae* Denmark y Schicha para el control de *T. urticae* en fresa. Inicialmente, se realizaron estudios de la capacidad depredadora de los depredadores sobre hojas de *Canavalia ensiformis*, y fresa en placas de Petri. En la segunda parte del estudio, se utilizaron seis umbráculos en la Granja Grava / ESALQ - USP, Piracicaba-SP. En cada uno, se distribuyeron homogéneamente 600 macetas de fresas. Para la infestación, se transfirieron cinco hembras adultas de araña hoja a una hoja de *C. ensiformis*. Diez días después de la liberación de la araña roja, se transferidas cinco hembras adultas de *P. fragariae* en la mitad de las plantas de cada una de las tres repeticiones. El tratamiento en que no se liberaron depredadores se denominó Tratamiento I, y en el que se liberaron, Tratamiento II. Semanalmente, se estimó la población de cada especie de ácaros encontrados, la proporción de hojas atacadas y los niveles de daño de la araña roja. En tres repeticiones del tratamiento I, hubo un aumento en la proporción de daños en las hojas en la primera o segunda semana después de su liberación. Después, disminuyó la proporción de hojas atacadas, llegando a cerca de cero y así permaneció hasta la semana doce o trece, cuando la proporción de hojas atacadas aumentó de forma rápida, alcanzando niveles muy altos en dos o tres últimas semanas de evaluación. En general, en las dos primeras repeticiones, no era visualmente evidente la diferencia entre los niveles de población de ácaros entre las plantas en la que *P. fragariae* no había sido liberado (Tratamiento I) y aquellas en las que sí o había sido (Tratamiento II). Sin embargo, la suma de los niveles de población promedio de ácaros desde el principio hasta el final del experimento fue siempre mayor en el Tratamiento I que en el Tratamiento II). En ambos tratamientos, se detectó la presencia de otros fitoseidos: *Neoseiulus californicus* y *Phytoseiulus macropilis*, pero sin diferencias entre tratamientos. Los resultados sugirió que *P. fragariae* es un agente prometedor de control biológico contra la araña roja.

Palabras clave: umbráculo, ácaros fitófagos.

ABSTRACT

MACHI, A. R., R. V. ARAÚJO, G. J. MORAES, V. ARTHUR. 2012. Biological control of the two-spotted mite (*Tetranychus urticae* Koch) in strawberry using the predatory mite *Phytoseiulus fragariae* Denmark & Schicha. *Bol. San. Veg. Plagas*, **38**: 17-31.

Tetranychus urticae Koch is a major pest of strawberry (*Fragaria* × *ananassa* Duchesne) in Brazil, and the biological control through the release of predatory mites of the Phytoseiidae family is a viable strategy. The study aimed to test the efficiency of *Phytoseiulus fragariae* Denmark & Schicha to control *T. urticae* in strawberry. At first, there was an evaluation of the predatory capacity of the predator in laboratory, through petri dishes containing leaves of jack bean, *Canavalia ensiformis*, and also leaflets from strawberry, in order to determine the ideal host for the development of the predator. In the second part of the study six screened greenhouses located in the "Areião" Farm / ESALQ - USP, Piracicaba-SP were used. Within these, 600 pots of strawberry were

distributed homogeneously in each screened greenhouse. For infestation, five two-spotted mite adult females were transferred to each leaf piece of *C. ensiformis* then the infested leaf pieces were homogeneously distributed among the strawberry pots in the six screened greenhouses. Ten days after the release of the two-spotted mites, five adult females of *P. fragariae* were released, one by one, on half of the plants of each of the three replicates. The treatment where the predator was not released refers to treatment I, and treatment where they were released refers to treatment II. The population of each species of mites found, the percentage of infested leaves, and damage levels of the two-spotted mite were observed weekly. In three replicates of treatment I, the proportion of leaflets with two-spotted mites reached its peak in the first or second week after the release of mites. Then, the proportion of leaves attacked was greatly reduced, reaching close to zero and remained so until the twelfth or thirteenth week, when the proportion of leaves attacked increased, reaching very high levels in two or three weeks of evaluation. In general, in the first two replicates, there was not a visually obvious difference between the two-spotted mite population levels among the plants on which *P. fragariae* had not been released (treatment I) and those on which one predator had been released (treatment II). However, in three replicates, the sum of average population levels of mites from the beginning to the end of the experiment was always higher in treatment I than in treatment II (176 and 98, 153 and 96, and 238 and 119, from first to third replicate). The spontaneous occurrence of other mites in both treatments was identified, and those more frequent in the weekly ratings were *Neoseiulus californicus* and *Phytoseiulus macropilis*; both had little influence on the results of the experiment, and there was no difference in relation to the treatments. In accordance with the results above, in three weeks of the experiment, the sum of the damage levels of the sampled leaves was always higher in treatment I in the 3 replicates. The results suggested that *P. fragariae* is a promising biological control agent in protected cultivation against the two-spotted mite in strawberry.

Key words: screened greenhouse, phytophagous mites.

REFERÊNCIAS

- BELLINI, M. R., ARAUJO R. V., BALLAMINUT J. C. C., BERTI FILHO E., MORAES G. J. 2006. Perspectivas para o controle biológico do ácaro rajado em gérberas. In: *Anais do I Simpósio Brasileiro de Acarologia*, Viçosa-MG, 188 p.
- CALZA, R., SUPPLY F. N 1967. Estudos sobre o "ácaro do morangueiro" *Tetranychus telarius* (L.). *O Biológico*, 137-143 p.
- DAGHINI, S. 2006. Biological control of the two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) with phytoseiid predators (Acari: Phytoseiidae). Dissertação de mestrado. Agrocampus-Rennes. Montpellier, França.
- EASTERBROOK, M. A., FITZGERALD, J. D., SOLOMON, M.G. 2001. Biological control of strawberry tarsonemid mite *Phytonemus pallidus* and two - spotted spider mite *Tetranychus urticae* on strawberry in the UK using species of *Neoseiulus* (*Amblyseius*) (Acari: Phytoseiidae). *Experimental and Applied Acarology*, **25**: 25-36.
- FADINI, M. A. M., PALLINI, A., VENZON, M. 2000. Controle de ácaros em sistema de produção integrada de morango. *Ciência Rural*, Santa Maria, 1271-1277 p.
- GARCIA, I. P. 1992. Estudos com *Phytoseiulus macropilis* (Banks, 1905) (Acari: Phytoseiidae) para o manejo de *Tetranychus urticae* (Koch., 1836) (Acari: Tetranychidae) na cultura do morangueiro (*Fragaria* spp.). 1992. 64 p. *Dissertação (Mestrado)*, UNESP, Botucatu.
- HELLE, W., SABELIS, M. W. (Eds). 1985. Spider mites: their biology, natural enemies and control. Amsterdam: Elsevier, 405 p.
- MCMURTRY, J. A., HUFFAKER, C. B., VAN DEN VRIE, M.V. 1970. Ecology of tetranychid mites and their natural enemies: A review. I. Tetranychid enemies: their biological characters and the impact of spray. *Hilgardia*, Berkeley, **2**: 331-390 p.
- MORAES, G. J., FLECHTMANN, C. H. W. 2008. Manual de acarologia. Acarologia básica e ácaros de plantas cultivadas no Brasil. Holos. Ribeirão Preto, 2008, 288 p.
- RHODES E. M., LIBURD, O. E. 2006. Evaluation of Predatory Mites and Acramite for Control of Twospotted Spider Mites in Strawberries in North-Central Florida. *J. Econ. Entomol.*, **99**: 1291-1298.
- SATO, M. E., SUPPLY FILHO N. FILHO., M. F. DE, TAKEMATSU. 1994. Resistência do ácaro rajado *Tetranychus urticae* (Koch, 1836) (Acari: Tetranychidae) a diversos acaricidas em morangueiro (*Fragaria* sp.) nos municípios de Atibaia-SP e Piedade-SP. *Ecossistema*, **19**: 40-46.
- SATO, M. E., SILVA, M. Z. D., MIGUEL, F. D. S., MATTIOLI, A. L., RAGA, A. 2007. Management of *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) in strawberry fields with *Neoseiulus californicus* (Acari: Phytoseiidae) and acaricides. *Experimental and Applied Acarology*, **42**: 107-120.

VASCONCELOS, G. J. N. 2006. Eficiência dos ácaros predadores *Phytoseiulus fragariae* e *Neoseiulus californicus* (Acari: Phytoseiidae) no controle de *Tetranychus evansi* e *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) em *Lycopersicon esculentum* e *Solanum americanum*. 81 p. Dissertação (Mestrado em Ciências). Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz". Piracicaba, 2006.

WATANABE, M. A., MORAES, G. J. DE, GASTALDO JR., I., NICOLELLA, G. 1994. Controle biológico do ácaro rajado com ácaros predadores fitoseídeos (Acari: Tetranychidae, Phytoseiidae) em culturas de pepino e morango. *Scientia Agricola*, **51**: 75-81.

(Recepción: 10 septiembre 2010)
(Aceptación: 7 febrero 2012)

Use of vegetable powders as alternative to control of *Callosobruchus maculatus*

L. E. R. PANNUTI, L. S. MARCHI, E. L. L. BALDIN

The weevil *Callosobruchus maculatus* Fabr. (Coleoptera: Bruchidae), is the most important pest in stored cowpea, it requires the use of control methods. The chemical control of cowpea weevil is one of the most commonly used methods nowadays, nevertheless, their repeated can bring about number of problems, encouraging the use of alternative controls methods. This work evaluate the effects of eleven vegetal species powder on individuals of weevils in laboratory conditions. Six non-sexed adults of cowpea weevil were kept for seven days in plots containing 0.3g of the powders of each treatment mixed to 10g of cowpea beans. The trials were set up in a completely randomized design, with six replicates per treatment. After 20 days of infestation, oviposition was evaluated and emerged adults were counted. After that, the dry weight of the insects, the weight of the consumed grains and the development period from egg to adult were evaluated. The powders of *Chenopodium ambrosioides* L. and *Piper nigrum* L. reduced both oviposition and adult emergence of *C. maculatus*, revealing great possibility as an alternative insect control.

L. E. R. PANNUTI, L. S. MARCHI, E. L. L. BALDIN. FCA/UNESP Botucatu -Department of Plant Production / Plant Protection. Mailbox 237, Zip Code: 18610-307, Botucatu, SP, Brazil. e-mail: lerpannuti@fca.unesp.br

Key words: cowpea weevil, botanical pesticides, vegetable powder.

INTRODUCTION

Cowpea beans, *Vigna unguiculata* L. Walp., were introduced in Brazil in the 16th century in Bahia State by Portuguese settlers. This legume occupies 60% of the total area cultivated with beans in the Northeast region of Brazil (ANDRADE JÚNIOR *et al.*, 2007), serving as a staple food for low-income populations (LIMA *et al.*, 2011). They are currently grown throughout the country and have substantial social and economical value, in addition to its great agricultural potential (FREIRE FILHO *et al.*, 2005).

Callosobruchus maculatus Fabr. (Coleoptera: Bruchidae) is a cosmopolitan field-to-store pest ranked as the principal post-har-

vest pest of several pulses including cowpea and chickpea (*Cicer arietinum* L.). The adults lay their eggs on the seeds in the storage; larval feeding in the cotyledons causes substantial quantitative and qualitative losses (OGUNWOLU & ODUNLAMI, 1996, PAS-CUAL-VILLALOBOS & BALLESTA-ACOSTA, 2003, ALMEIDA *et al.*, 2005, PEREIRA *et al.*, 2008). Its attack starts in the field, but it is intensified in the storage phase, which may lead to total loss of the grains after five months of infestation (MESSINA & RENWICK, 1985, MBATA, 1993). Over 90% of the insect damage to cowpea seeds is caused by *C. maculatus* (CASWELL, 1981).

The chemical control of cowpea weevil through the fumigation of grains has been

one of the most commonly used methods up to this moment (HASAN & REICHMUTH, 2004). Although effective, their repeated use has disrupted biological equilibrium and led to develop of resistance against important insecticides including phosphine (LORINI, 2003). Furthermore, many synthetic insecticides have undesirable effects on non-target organisms and foster environmental and human health concerns (BHUPINDER *et al.*, 2003). These aspects have triggered the studies of alternative approaches to pest control, with the use of vegetable origin pesticides (ALMEIDA *et al.*, 2004, TAVARES & VENDRAMIM, 2005).

Studies concerning plants applied with powder, aqueous and organic extracts, and oils, have increased significantly in pest management (BRITO *et al.*, 2006). These substances may cause mortality, repellence, oviposition inhibition and also contribute to the alteration of the biological development of the insects (BOEKE *et al.*, 2004, KETOH *et al.*, 2005). In addition, such formulations can show advantage like significant efficiency, fast degradation and low toxicity level to the people applying it (SOUSA *et al.*, 2005).

Therefore, the present research has the objective to evaluate the effects of powders of different species and vegetable structures concerning biological aspects of *C. maculatus*.

MATERIAL AND METHODS

The research was carried out in the LARESPI (Laboratory of Plant Resistance to Insects and Pesticide Plants) of the Department of Plant Production - Crop Protection of FCA/UNESP in Botucatu, during the year of 2010.

Laboratory Insect Colony *C. Maculatus*

A laboratory insect rearing-stock of *C. maculatus* was kept inside climatic cham-

bers type B.O.D. ($T = 25 \pm 2^\circ\text{C}$; R.H. = $70 \pm 10\%$; 12:12-L:D) during the experiment.

One-liter transparent glass containers (10.0 cm in diameter \times 13.0 cm long) were used in the rearing of the insects, sealed on the upper part with a screwable lid, in which a round opening (6.0 cm in diameter) was made, where a screen (30 mesh) was adapted promoting internal ventilation. 0.3 kg of freshly picked cowpea-beans were placed in each flask (Paulistinha genotype). They were then infested with approximately 300 adults of *C. maculatus*. Every 30 days, the emerged adults were removed from these containers and used to start the infestations in new containers.

Collection of vegetable species

Eleven treatments started from the following species were prepared: *Coriandrum sativum* L. (leaves), *Ruta graveolens* L. (leaves + stems), *Trichilia pallida* Sw. (leaves), *T. pallida* Sw. (stems), *Azadirachta indica* A. Juss. (leaves), *A. indica* A. Juss. (almonds), *Tagetes erecta* L. (leaves + stems), *Corymbia citriodora* Hook. (leaves), *Mentha pulegium* L. (leaves), *Piper nigrum* L. (seeds) and *Chenopodium ambrosioides* L. (leaves + stems).

After the collection in the field (January to March, 2010), the vegetable structures were transferred to green-house, where they were maintained for about four to six days (depending of plant species) for drying with air circulating at 40°C . The dry materials were then ground in knife mills in order to obtain the respective powders (BALDIN *et al.*, 2009). The powder of each plant structure was stored in plastic containers and tightly sealed for up to three months. Apart from *A. indica* and *T. pallida* species, from ESALQ/USP, all the other vegetable structures were obtained at FCA/UNESP in Botucatu City, where collection was always carried out in the morning.

Bioassays

For the bioassays, each part was made of 10 g of cowpea-bean grains, mixed to 0.3 g of the respective powders, according to MAZZONETTO & VENDRAMIM (2003) and BALDIN *et al.* (2009). The weight of grains and powders were done using an analytical balance (0,0001 g) and subsequently placed in plastic recipients (4.0 cm in diameter × 5.0 cm long), sealed on the upper part with a screwable lid. Firstly it was added the grains and then the powders were placed in recipients. One week before the test setup, the containers were screened each day and the hatched insects were separated into different containers, according with the day, ensuring the same age.

Six replicates were performed in a completely randomized design. The experimental plots were infested with six adults (non-sexed) of *C. maculatus* (48 h of age) for a period of seven days, after which the insects were removed. According to Brito *et al.* (2006), the sex ratio of *C. maculatus* is presented in 1:1, being dispensable to determine the sex before infestation. Twenty days after infestation, the total number of eggs per recipient was counted, using magnifying glass Ramsor model LL-24. It was released 20 days to ensure the oviposition period ended and did not occur the eggs hatch, then it was obtained the percentage of viable eggs and the oviposition preference index (BALDIN *et al.*, 2009), through the following formula: $OPI = [(T-S)/(T+S)] \times 100$, where T represents the number of eggs counted in the evaluated treatment (powder) and S represents the number of eggs counted in the witness standard (without powder). The index ranged between 100 (very stimulating), zero (to neutral), up to -100 (total deterrence). The classification was determined based on the comparison of the mean of the eggs treated to the witness standard mean, taking into consideration the mean standard deviation error of the assay for their differentiation.

Twenty days after initial infestation, the experimental plots started to be evaluated daily in order to determine the number of emerged adults, the development period (egg - adult), dry weight of insects and the weight of consumed grains. For the determination of the development period, it was considered the interval between the egg stage and adult emergence.

Recently-emerged adults of cowpea weevils were kept in small glass flasks (2.2 cm × 5.0 cm) and immediately placed in a freezer in order to rapidly interrupt the vital cycle, thus avoiding weight loss and maintaining them in perfect conservation state. At the end of the emergences, these flasks were opened and placed in greenhouses at 45°C for 48 h to determine the dry weight of the insects. The consumption of bean grains by the weevil larvae was determined by comparing the dry weight of the infested experimental plots to the dry weight of the non-infested experimental plots.

All the parameters obtained underwent variability analyses, where the means were compared by using the Tukey test ($P \leq 0,05$). The data related to the number of eggs and emerged adults were transformed in $(x + 0,5)^{1/2}$; the data related to the percentage of viable eggs were transformed in $\arcsin [(x + 0,5)/100]^{1/2}$; other data were not transformed. In the data presented were used non-transformed values. The statistic software Stat Plus 2007 was used.

RESULTS AND DISCUSSION

The grains impregnated to the powders of *C. ambrosioides* (F+R) (64.33 eggs) and *P. nigrum* (S) (52.83 eggs) were less oviposited by *C. maculatus* when compared to the other treatments, which suggests the volatilization of the components that affected negatively the oviposition of the cowpea weevil (Table 1).

Table 1. Means (\pm SE) of number of eggs and percentage of viable eggs of *C. maculatus* in cowpea-grains impregnated with powders of different vegetable species

Treatments ¹	N.º of eggs ²	Percentage of viable eggs ³
<i>Coriandrum sativum</i> (L)	195.50 \pm 19.32 a	87.67 \pm 1.45 c
<i>Ruta graveolens</i> (L+ST)	188.33 \pm 12.12 a	94.97 \pm 0.74 ab
<i>Trichilia pallida</i> (L)	172.67 \pm 14.33 a	91.48 \pm 1.05 abc
<i>Azadirachta indica</i> (L)	172.50 \pm 24.71 a	92.03 \pm 1.34 abc
<i>Tagetes erecta</i> (L+ST)	169.33 \pm 34.47 a	91.02 \pm 0.82 bc
<i>Corymbia citriodora</i> (L)	167.83 \pm 18.38 a	90.93 \pm 1.26 bc
<i>Trichilia pallida</i> (ST)	152.67 \pm 12.96 a	94.12 \pm 1.12 ab
<i>Mentha pulegium</i> (L)	149.83 \pm 11.22 a	93.12 \pm 0.50 abc
Control	147.33 \pm 12.21 a	92.83 \pm 0.95 abc
<i>Azadirachta indica</i> (A)	135.50 \pm 6.26 a	91.23 \pm 1.79 abc
<i>Chenopodium ambrosioides</i> (L+ST)	64.33 \pm 4.98 b	91.83 \pm 0.85 abc
<i>Piper nigrum</i> (S)	52.83 \pm 5.64 b	96.08 \pm 1.37 a
F	8.77*	3.44*
CV (%)	14.58	4.81

¹ Legend: A = almonds; L = leaves; ST = stems; S = seeds.

² Means within columns followed by the same letter are not significantly different by Tukey test ($P \leq 0.05$). Data transformed in $(x + 0.5)^{1/2}$.

³ Means within columns followed by the same letter are not significantly different by Tukey test ($P \leq 0.05$). Data transformed in arcsen $[(x + 0.5)/100]^{1/2}$.

Similar results were found by BALDIN *et al.* (2008), where *C. ambrosioides* reduced significantly the number of eggs deposited by adults of *Zabrotes subfasciatus* Bohemann, 1833, with powders in the concentration of 30.000 ppm w/w, in research carried out with common beans. In addition, it observed that the concentration used by the same authors for *Z. subfasciatus*, MAZZONETTO & VENDRAMIM (2003) and BALDIN *et al.* (2009) for *A. obtectus* proved to be efficient to use in tests with *C. maculatus*.

The grains mixed to the powder of *C. sativum* (L) were more oviposited (195.50 eggs) by *C. maculatus*, contrasting with the results of BALDIN *et al.* (2009), where this treatment stood out among the ones that reduced most the oviposition of *Acanthoscelides obtectus* Say, 1831 in common beans, using the same concentration of the powders. It is possible that vegetable powder affects weevil species differently, which may justify the variations observed in treatments with *C. sativum* (L). Moreover, the

fact that the mixture of the volatiles of the powders with that of the grains (common beans and cowpea beans) may produce behavioral variations in the weevils should be taken into account.

The viability of the eggs varied between 87.67 and 96.08%, being higher in *P. nigrum* (S) and lower in *C. sativum* (L), *C. citriodora* (L) and *T. erecta* (L+ST). Based on the oviposition preference index (Figure 1), the treatments with *C. ambrosioides* (L+ST) and *P. nigrum* (S) were classified as deterrents to insect oviposition when compared to the control. On the other hand, *C. sativum* (L), *R. graveolens* (L+ST) and *T. pallida* (L) stimulated the oviposition of weevils, whereas the others were considered neutral.

The treatments with *C. ambrosioides* (L+ST) and *P. nigrum* (S) also showed low means for the emergence of weevil adults (Table 2), which may suggest a larvicidal activity over *C. maculatus*. However, the means of larval viability for all treatments were around 90%, without significant differ-

ences, indicating that the low emergence of adults of *C. maculatus* is a consequence of

low oviposition (Table 1), which was verified in treatments with these powders.

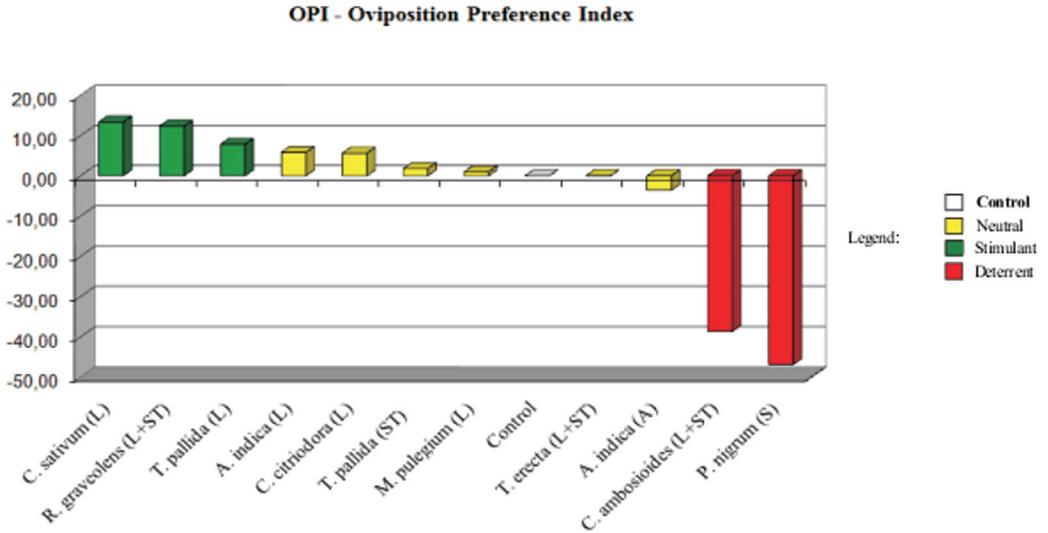


Figure 1. Index and classification of the materials concerning oviposition preference of *C. maculatus*. IPO = $[(T-P/T+P)] \times 100$; T = # of eggs in witness. IPO varies from + 100 (stimulating) to -100 (deterrence). A = almonds; L = leaves; ST = stems; S = seeds

Table 2. Means (\pm SE) of emergence, dry weight of adults and consumed weight by *C. maculatus* in cowpea-grains impregnated with powders in different vegetable species

Treatments ¹	N.º of emerged adults ²	Dry weight of adults (mg) ³	Weight of grains consumed (g) ³
<i>Ruta graveolens</i> (L+ST)	162.50 \pm 8.37 a	1.9 \pm 0.06 a	2.11 \pm 0.28 a
<i>Coriandrum sativum</i> (L)	148.83 \pm 14.23 a	1.8 \pm 0.12 a	1.90 \pm 0.41 ab
<i>Tagetes erecta</i> (L+ST)	142.00 \pm 27.15 a	1.9 \pm 0.10 a	1.86 \pm 0.87 ab
<i>Trichilia pallida</i> (L)	138.67 \pm 12.07 a	1.8 \pm 0.05 a	1.78 \pm 0.41 ab
<i>Corymbia citriodora</i> (L)	138.50 \pm 13.35 a	1.9 \pm 0.08 a	1.63 \pm 0.63 ab
<i>Azadirachta indica</i> (L)	135.33 \pm 15.24 a	1.9 \pm 0.05 a	1.64 \pm 0.61 ab
<i>Trichilia pallida</i> (ST)	134.83 \pm 10.87 a	1.8 \pm 0.13 a	1.67 \pm 0.34 ab
<i>Mentha pulegium</i> (L)	127.33 \pm 8.61 a	1.8 \pm 0.07 a	1.56 \pm 0.36 ab
Control	115.00 \pm 11.03 a	1.8 \pm 0.10 a	1.39 \pm 0.35 abc
<i>Azadirachta indica</i> (A)	109.33 \pm 7.67 ab	1.9 \pm 0.08 a	1.14 \pm 0.42 bc
<i>Chenopodium ambrosioides</i> (L+ST)	58.00 \pm 4.35 bc	2.0 \pm 0.07 a	0.56 \pm 0.18 c
<i>Piper nigrum</i> (S)	47.67 \pm 5.26 c	2.0 \pm 0.12 a	0.51 \pm 0.20 c
F	8.50*	2.47 ^{ns}	7.30*
CV (%)	13.81	4.89	31.25

¹ A = almonds; L = leaves; ST = stems; S = seeds.

² Means within columns followed by the same letter are not significantly different by Tukey test ($P \leq 0.05$). Data transformed in $(x + 0.5)^2$.

³ Means within columns followed by the same letter are not significantly different by Tukey test ($P \leq 0.05$). Original data.

TAVARES & VENDRAMIM (2005) also verified substantial reduction in the emergence of the adults of *Sitophilus zeamais* (Mots.) in maize grains impregnated with fruits and whole plants of *C. ambrosioides*, in the proportion of 0.3 g of powder 20 g⁻¹ of maize grains; according to these authors, the low emergence rate is due to high mortality level and low oviposition in weevils. Silva *et al.* (2003) also obtained favorable results in the application of *C. ambrosioides* powder in order to control of *S. zeamais*, with 100% of mortality in the concentration of 1% (w/w). Mortality tests of *C. maculatus* were not carried out in this paper and should be studied in future researches.

Low emergence of adults of *C. maculatus* in cowpea grains containing powder of *P. nigrum* seeds (Table 2) corroborates with the results of SOUSA *et al.* (2005), using 2,5% (w/w) of powder concentration, who found 100% of reduction in oviposition and emergence of adults of this weevil using this very same plant species. In studies aiming at verifying the effect of aqueous extracts from five botanic species, ALMEIDA *et al.* (2004) found that the treatment with *P. nigrum* was the most efficient, in the extract form, lead-

ing to 100% of mortality of the adults of *C. maculatus* after a ten-minute exposition.

The means of the treatments for dry weight of adults (Table 2) did not differ significantly between treatments, corroborating that the powders of the vegetable species used did not affect the development of the larvae.

The quantity of grains consumed by the insects was lower for the treatment with powders of *C. ambrosioides* (0.56 g) and *P. nigrum* (0.51 g), which is the consequence for lower quantity of emerged weevil in grains impregnated with these treatments (Table 2). In these two treatments shorter periods of development were also verified (Figure 2), with means of 32.15 and 31.25 days, respectively. Even though an increase in the susceptibility of grains by using these two powders may be suggested, probably, this reduction in the cycle is a consequence of fast mortality of weevils in the experimental plots experimental plots, which may have ended the oviposition in the first days. Considering that the grains remain under infestation up to seven days, it is possible that the superior cycle in the other materials may be a consequence of greater activity in the weevils.

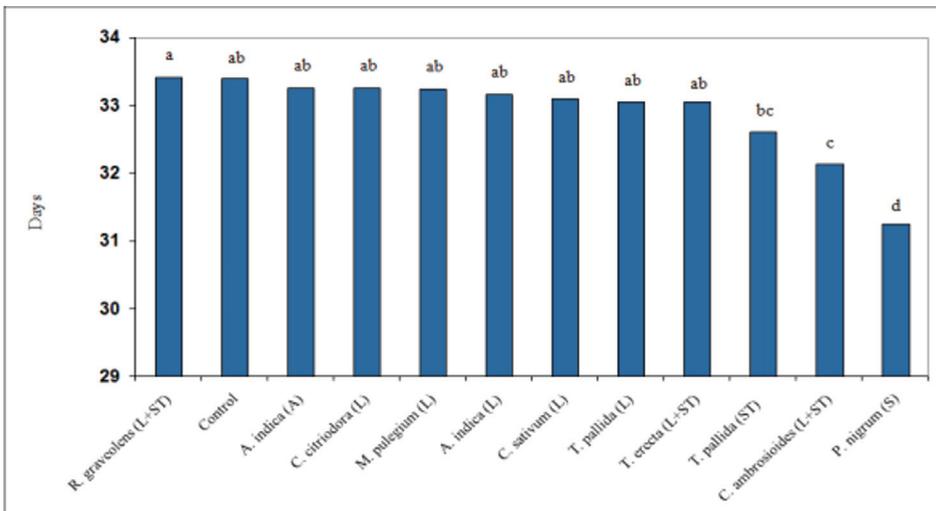


Figure 2. Mean Period (\pm SE) of development (egg-adult) of *C. maculatus* in cowpea-bean grains impregnated with powders of different vegetable species. A = almonds; L = leaves; ST = stems; S = seeds

RESUMEN

PANNUTI, L. E. R., L. S. MARCHI, E. L. L. BALDIN. 2012. Uso de polvos de origen vegetal como alternativa para el control de *Callosobruchus maculatus*. Bol. San. Veg. Plagas, **38**: 33-40.

El gorgojo *Callosobruchus maculatus* Fabr. (Coleoptera: Bruchidae) es la plaga más importante de frijoles almacenados, exigiendo el uso de métodos de control. El control químico del gorgojo es uno de los métodos más utilizado actualmente, pero su uso continuado puede causar problemas, incentivando la búsqueda de métodos de control alternativos. Este trabajo evalúa los efectos de once especies vegetales en forma de polvo sobre individuos del gorgojo en laboratorio. Se mantuvieron seis adultos no sexados del gorgojo durante siete días en recipientes que contenían 0,3 g del polvo de cada tratamiento mezclados con 10 g de frijoles. Se empleó un diseño completamente aleatorizado con seis repeticiones por tratamiento. Después de 20 días de la infestación, se evaluó la ovoposición y se inició el conteo de adultos emergidos. Posteriormente se evaluó el peso seco de los insectos, el peso de los granos consumidos y el período de desarrollo del huevo a adulto. Los polvos de *Chenopodium ambrosioides* L. y *Piper nigrum* L. redujeron la ovoposición y la emergencia de adultos de *C. maculatus*, revelando su potencial para el control alternativo del insecto.

Palabras clave: gorgojo, plantas insecticidas, polvo vegetal.

REFERENCES

- ALMEIDA, S. A., ALMEIDA, F. A. C., SANTOS, N. R., ARAÚJO, M. E. R., RODRIGUES, J. P. 2004. Atividade inseticida de extratos vegetais sobre *Callosobruchus maculatus* (Fabr., 1775) (Coleoptera: Bruchidae). *Revista Brasileira de Agrociência*, **10** (1): 67-70.
- ALMEIDA, F. A. C., ALMEIDA, S. A., SANTOS, N. R., GOMES, J. P., ARAÚJO, M. E. R. 2005. Efeito de extratos alcoólicos de plantas sobre o caruncho do feijão vigna (*Callosobruchus maculatus*). *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, **9** (4): 585-590.
- ANDRADE JÚNIOR, A. S., BARROS, A. H. C., SILVA, C. O., FREIRE FILHO, F. R. 2007. Zoneamento de risco climático para a cultura do feijão-caupi no Estado do Ceará. *Revista Ciência Agronômica*, **38** (1): 109-117.
- BALDIN, E. L. L., PEREIRA, J. M., DAL POGETTO, M. H. F. A., CHRISTOVAM, A. C., CAETANO, A. C. 2008. Efeitos de pós vegetais sobre *Zabrotes subfasciatus* Bohemann (Coleoptera: Bruchidae) em grãos de feijão armazenado. *Boletim de Sanidad Vegetal Plagas*, **34** (2): 177-185.
- BALDIN, E. L. L., PRADO, J. P. M., CHRISTOVAM, R. S., DAL POGETTO, M. H. F. A. 2009. Uso de pós de origem vegetal no controle de *Acanthoscelides obtectus* Say (Coleoptera: Bruchidae) em grãos de feijoeiro. *BioAssay*, **4**: 1-6.
- BHUPINDER, P. S., KHAMBAY, D. B., PHILIP, J. J., GEOFFREY, L. B., DEREK, W. H. 2003. Mode of action and pesticidal activity of the natural product dunnione and of some analogues. *Pest Management Science*, **59**: 174-182.
- BOEKE, S. J., BAUMGART, I. R., LOON, J. J. A. VAN, HUIS, A. VAN, DICKE, M., KOSSOU, D. K. 2004. Toxicity and repellence of African plants traditionally used for the protection of stored cowpea against *Callosobruchus maculatus*. *Journal of Stored Products Research*, **40** (4): 423-438.
- BRITO, J. P., OLIVEIRA, J. E. M., BORTOLI, S. A. 2006. Toxicidade de óleos essenciais de *Eucalyptus* spp. sobre *Callosobruchus maculatus* (Fabr., 1775) (Coleoptera: Bruchidae). *Revista de Biologia e Ciências da Terra, Campina Grande*, **6** (1): 96-103.
- CASWELL, G. H. 1981. Damage to stored cowpeas in Northern Nigeria. *Samaru Journal of Agricultural Research*, **1**: 11-19.
- FREIRE FILHO, F. R., LIMA, J. A. A., RIBEIRO V. Q. Feijão-Caupi: Avanços tecnológicos. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2005, 519 p.
- HASAN, M. M., REICHMUTH, C. H. 2004. Relative toxicity of phosphine against the bean bruchid *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Col., Bruchidae). *Journal of Applied Entomology*, **128**: 332-336.
- KETOH, G. K., KOUMAGLO, H. K., GLITHO, I. A. 2005. Inhibition of *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae) development with essential oil extracted from *Cymbopogon schoenanthus* L. Spreng. (Poaceae), and the wasp *Dinarmus basalis* (Rondani) (Hymenoptera: Pteromalidae). *Journal of Stored Products Research*, **41** (4): 363-371.
- LIMA, J. R. S., ANTONINO, A. C. D., LIRA, C. A. B. O., SOUZA, E. S., SILVA, I. F. 2011. Balanço de energia e evapotranspiração de feijão caupi sob condições de sequeiro. *Revista Ciência Agronômica*, **42** (1): 65-74.
- LORINI, I. Manual técnico para o manejo integrado de pragas de grãos de cereais armazenados. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2003, 80 p.
- MAZZONETTO, F., VENDRAMIM, J. D. 2003. Efeito de pós de origem vegetal sobre *Acanthoscelides obtectus*

- tus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae) em feijão armazenado. *Neotropical Entomology*, **32** (1): 145-149.
- MBATA, G. N. 1993. Evaluation of susceptibility of varieties of cowpea to *Callosobruchus maculatus* (F.) and *Callosobruchus subinnotatus* (Pic.) (Coleoptera: Bruchidae). *Journal of Stored Products Research*, **29**: 207-213.
- MESSINA, F. J., RENWICK, J. A. A. 1985. Resistance to *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae) in selected cowpea lines. *Environmental Entomology*, Lanham, **14**: 868-872.
- OGUNWOLU, E. O., ODUNLAMI, A. T. 1996. Suppression of seed bruchid (*Callosobruchus maculatus* (F.)) development and damage on cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) with *Zanthoxylum zanthoxyloides* (Lam.) Waterm. (Rutaceae) root bark powder when compared to neem seed powder and pirimiphos-methyl. *Crop Protection*, **19**: 603-607.
- PASCUAL-VILLALOBOS, M. J., BALLESTA-ACOSTA, M. C. 2003. Chemical variation in an *Ocimum basilicum* germplasm collection and activity of the essential oils on *Callosobruchus maculatus*. *Biochemical Systematics and Ecology*, **31**: 673-679.
- PEREIRA, A. C. R. L., OLIVEIRA, J. V., GONDIMJUNIOR, M. G. C., CÂMARA, C. A. G. 2008. Atividade inseticida de óleos essenciais e fixos sobre *Callosobruchus maculatus* (FABR., 1775) (Coleoptera: Bruchidae) em grãos de caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.]. *Ciência e Agrotecnologia*, **32**: 717-724.
- SILVA, G., LAGUNES, A., RODRÍGUEZ, J., RODRÍGUEZ, D. 2003. Evaluación de polvos vegetales solos y en mezcla con carbonato de calcio para el control de *Sitophilus zeamais* Motschulsky en maíz almacenado. *Ciencia e Investigación Agraria*, **30**: 153-160.
- SOUSA, A. H., MARACAJÁ, P. B., SILVA, R. M. A., MOURA, A. M. N., ANDRADE, W. G. 2005. Bioactivity of vegetal powders against *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae) in caupi bean and seed physiological analysis. *Revista de Biología e Ciência da Terra*, **5** (2): 1-5.
- TAVARES, M. A. G. C., VENDRAMIM, J. D. 2005. Bioatividade da Erva-de-Santa-Maria, *Chenopodium ambrosioides* L., sobre *Sitophilus zeamais* Mots. (Coleoptera: Curculionidae). *Neotropical Entomology*, **34** (2): 319-323.

(Recepción: 10 mayo 2011)

(Aceptación: 30 enero 2012)

Desenvolvimento de *Nezara viridula* (L., 1758) (Hemiptera: Pentatomidae) em genótipos de soja

E. S. SOUZA, E. L. L. BALDIN, T. L. M. FANELLA

A cultura da soja [*Glycine max* (L.)] vem sendo significativamente comprometida pelo ataque de insetos pragas. O percevejo *Nezara viridula* (L.) (Hemiptera: Pentatomidae) é apontado como umas das espécies mais prejudiciais, reduzindo a quantidade e a qualidade dos grãos produzidos e exigindo um grande número de aplicações de inseticidas nas lavouras. Embora o controle químico ainda seja o método de controle mais utilizado, o uso de genótipos resistentes pode representar uma alternativa viável no manejo do inseto, reduzindo os custos e os impactos sobre o meio ambiente. O presente trabalho avaliou o desempenho de ninfas de *N. viridula* em nove genótipos de soja sob condições de laboratório ($T = 25 \pm 2^\circ \text{C}$, U.R. = $70 \pm 10\%$ e fotoperíodo = 12 h), visando detectar possíveis mecanismos de resistência. Assim, 25 ninfas/genótipo foram acompanhadas diariamente, avaliando-se a duração e mortalidade da fase ninfal, o peso de ninfas e adultos e o período de desenvolvimento de ovo a adulto. Os dados revelaram que os genótipos 'TMG-103', 'TMG-121', 'IAC-19', 'TMG-117' e 'IAC-24' provocaram 100% de mortalidade das ninfas do percevejo, indicando alta resistência por antibiose e/ou não-preferência para alimentação. 'IAC-17' também prolongou o período ninfal indicando ocorrência de resistência. Os insetos provenientes de 'PI-227687' revelaram as menores médias de peso, também indicando a presença de resistência do tipo antibiose e/ou não-preferência para alimentação. Nossos resultados podem ser úteis aos programas de melhoramento de soja, visando o desenvolvimento de genótipos resistentes a insetos.

E. S. SOUZA, E. L. L. BALDIN, T. L. M. FANELLA. FCA/UNESP Botucatu -Department of Plant Production / Plant Protection. Mailbox 237, Zip Code: 18610-307, Botucatu, SP, Brazil. e-mail: efrainsantana2@yahoo.com.br

Palavras chave: resistência de plantas a insetos, *Glycine max*, percevejo-verde, antibiose.

INTRODUÇÃO

A soja (*Glycine max*, L.) está sujeita ao ataque de inúmeras pragas desde a germinação até a colheita, sendo consideradas pragas aqueles insetos que por sua ocorrência, causam danos econômicos significativos à cultura, diminuindo o rendimento ou a qualidade final do produto (DEGRANDE & VIVAN, 2010). Dentre os insetos reconhecidamente pragas da soja, destaca-se o percevejo *Nezara viridula* (L.) (Hemiptera, Pentatomi-

dae), sendo relatado como o mais frequente na cultura em diversas regiões do mundo (SINGH, 1973, TURNIPSEED & KOGAN, 1976, RAMIRO, 1982, TODD, 1989, PANIZZI & SLANSKI, 1985).

Ao se alimentar, este percevejo reduz o tamanho dos grãos e teor de óleo contido neles, aumentando ainda o teor proteínas e comprometendo a qualidade e o valor final da produção. Seu ataque favorece a ocorrência do fungo *Nematospora coryli* causador da doença "mancha-de-levedura" ou "man-

cha-fermento”, e a injeção de toxinas durante sua alimentação ocasiona um distúrbio fisiológico conhecido como “soja-louca” nas plantas (CORSO, 1984, VILLAS BOAS *et al.*, 1990, GALLO *et al.*, 2002, RAMIRO & MASSARIOL, 1977).

Embora muito recomendados no manejo deste percevejo, os inseticidas sintéticos podem causar desequilíbrios ao meio ambiente e eliminar insetos benéficos. Além disso, segundo alguns autores (PRABHAKER *et al.*, 1985, STANSLY & SCHUSTER, 1992, OLIVEIRA & SILVA, 1997), aplicações sucessivas de um mesmo produto químico permitem que populações do inseto desenvolvam resistência contra determinados princípios ativos. Em contrapartida o uso de materiais resistentes apresenta algumas vantagens: são de fácil acesso; reduzem os gastos de cultivo; diminuem as populações das pragas a níveis que não causam danos econômicos e não interferem no ecossistema, tornando a cultura mais lucrativa para o agricultor, além de reduzir ou substituir as aplicações de inseticidas (ROSSETTO *et al.*, 1981, LARA, 1991).

Em função dos danos e das significativas perdas de produtividade e qualidade na cultura da soja, e da necessidade do desenvolvimento de métodos de controle mais efetivos e menos agressivos ao meio-ambiente e ao homem, realizou-se este trabalho, objetivando avaliar diferentes genótipos de soja frente ao ataque de *N. viridula*, através de ensaios de desempenho biológico.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado sob condições ambientais controladas nos Laboratórios de Resistência de Plantas a Insetos e Plantas Inseticidas (LARESPI) do Departamento de Produção Vegetal / Defesa Fitossanitária da FCA-UNESP, Campus de Botucatu-SP, entre os anos de 2009 e 2010. Visando detectar possíveis mecanismos de resistência, avaliou-se o desempenho biológico do percevejo *N. viridula* nos genótipos de soja: ‘IAC-17’, ‘IAC-19’, ‘IAC-24’, ‘PI-227687’, ‘Conquista’, ‘TMG-103RR’, ‘TMG-117RR’, ‘TMG-121RR’ e ‘BRS-242RR’ (Tabela 1).

Tabela 1. Genótipos utilizados e suas respectivas genealogias

Genótipo	Genealogia / Origem
IAC-17	D72-9601-1 × IAC-8
IAC-19	D72-9601-1 × IAC-8
IAC-24	IAC80-1177 × IAC83-288
PI-227687	Okinawa, Japão
Conquista	Lo76-4484 ² × Numbaira
TMG-103RR	TMGLM-3295 × TMGLM-3324
TMG-117RR	(FT Corvina × Msoy 8888RR) × MG/BR 46
TMG-121RR	(FMT Cachara × Msoy 8080RR) × FMT Tucunaré
BRS-242RR	Embrapa 58*5x (E96-246 × Embrapa 59)

Para a obtenção das plantas, foram semeados vasos de 3 L, com duas plantas cada em casa-de-vegetação. O solo utilizado foi composto de terra, areia, esterco e substrato (Plantimax HT[®]), na proporção de 4:1:1:1 respectivamente, sendo realizada a adubação

recomendada para a cultura de acordo com RAIJ *et al.* (1997).

Os insetos utilizados nos testes foram oriundos de uma criação-estoque, conforme metodologia descrita por CORRÊA-FERREIRA (1985). Adultos também eram coletados pe-

riodicamente a campo, porém, em áreas cultivadas com genótipos diferentes dos utilizados neste trabalho, a fim de se impedir o condicionamento pré-imaginal, citado por LARA (1991). Para a alimentação dos insetos, foram fornecidos ramos com frutos de ligustro (*Ligustrum* sp.), que segundo PANIZZI & MOURÃO (1999) são mais adequados à biologia de *N. viridula* do que a soja. Eventualmente também foram fornecidos grãos maduros de soja, colados em tiras de papel filtro e dispostos aleatoriamente no interior das gaiolas de criação.

Para os ensaios de antibiose, utilizou-se cestos plásticos vazados (\emptyset de base = 60 cm de \times 70 cm altura \times \emptyset superior = 40 cm de) revestidos com *voil* para o acompanhamento da biologia das ninfas confinadas aos diferentes genótipos. Cada estrutura abrigou um genótipo de soja com uma folha de papel cartolina branco adaptada na base, visando facilitar as avaliações (exúvias caídas, ninfas presentes). Foram acondicionadas 25 ninfas de segundo estágio por gaiola (máximo 24h de idade). Utilizou-se insetos de segundo estágio pelo fato de as ninfas de *N. viridula* permanecerem agregadas até o final desta fase, alimentando-se apenas a partir do terceiro estágio, sendo que ainda no primeiro estágio, a mortalidade natural é alta, o que poderia prejudicar as avaliações biológicas.

Cada gaiola correspondeu a uma repetição, efetuando-se quatro por genótipo, num delineamento inteiramente casualizado. Estas foram acondicionadas em bancadas do laboratório e deu-se início às avaliações diárias, observando-se os seguintes parâmetros biológicos: período de duração dos estádios ninfais (N2, N3, N4 e N5); período de duração do estágio ninfal; peso de ninfas de quinto estágio e adultos, com no máximo 24 h de idade; mortalidade nos diferentes estádios ninfais; mortalidade em todo o estágio ninfal; período de desenvolvimento (ovo - adulto).

O acompanhamento do peso no quinto estágio foi realizado somente nos genótipos que propiciaram essa fase, já que alguns materiais não favoreceram o completo desenvolvimento ninfal.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e teste F, sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Os dados passaram pelo teste de homocedasticidade (Hartley), visando à necessidade de transformação, e quando necessário foram transformados em $(x+0,5)^{1/2}$ e $\text{arc sen } (x+0,5)^{1/2}$. Para análise, foi utilizado o software estatístico ESTAT 2.0 (UNESP/Jaboticabal).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 2 encontram-se os dados relacionados à duração média dos diferentes estádios ninfais e duração total do estágio ninfal de *N. viridula*, confinados em diferentes genótipos de soja. Embora os testes de antibiose tenham sido iniciados com ninfas de segundo estágio, a duração média para o primeiro estágio neste trabalho foi de 4 dias, valor próximo aos 4,2 dias obtidos por CORRÊA-FERREIRA & PANIZZI (1999).

Observa-se que o genótipo 'TMG-121' prolongou a duração dessa fase para 11,00 dias (Tabela 2), diferindo dos genótipos 'BRS-242', 'PI-226687', 'Conquista', 'IAC-17', 'IAC-24' e 'TMG-117', que apresentaram médias de duração de 5,66; 5,69; 6,09; 6,70; 7,32 e 7,73 dias respectivamente. Já os genótipos 'IAC-19' e 'TMG-103' apresentaram médias de duração intermediárias neste período. Acredita-se que a diferença na duração do segundo estágio possa estar relacionada à dispersão precoce sofrida pelas ninfas no genótipo 'TMG 121', uma vez que, segundo DEGRANDE & VIVAN (2010) as ninfas da espécie *N. viridula* possuem hábito gregário, só se dispersando a partir do terceiro estágio, fato este que pode ter influenciado o tempo de desenvolvimento deste estágio neste genótipo.

Quanto às durações do terceiro e quarto estádios ninfais (N3 e N4), observa-se que não houve diferença entre os genótipos (Tabela 2). Os genótipos 'TMG-103' e 'TMG-121' (terceiro estágio) e 'IAC-19' e 'TMG-117' (quarto estágio) provocaram 100% de

Tabela 2. Duração média (\pm EP) dos diferentes estádios ninfais e da fase ninfal de *N. viridula* confinados em diferentes genótipos de soja. T = 25 \pm 2°C; U.R. = 70 \pm 10% e fotoperíodo = 12 h.

Genótipo	Duração (dias) ¹				Fase ninfal ¹ (dias)
	N2	N3	N4	N5	
BRS-242	5,66 \pm 0,36 b	5,16 \pm 0,21 a	6,41 \pm 0,14 a	8,34 \pm 0,37 b	29,57 \pm 0,75 a
PI-227687	5,69 \pm 0,38 b	5,28 \pm 0,49 a	5,71 \pm 0,18 a	12,33 \pm 1,03 b	33,01 \pm 1,47 a
Conquista	6,09 \pm 0,46 b	6,27 \pm 0,53 a	7,50 \pm 0,20 a	11,33 \pm 0,54 b	35,19 \pm 1,21 a
IAC-17	6,70 \pm 0,69 b	5,58 \pm 0,54 a	6,51 \pm 0,44 a	17,33 \pm 1,70 a	40,12 \pm 2,37 a
IAC-24	7,32 \pm 1,08 b	6,72 \pm 1,08 a	6,75 \pm 0,92 a	*	–
TMG-117	7,73 \pm 0,46 b	5,29 \pm 0,39 a	*	–	–
IAC-19	7,97 \pm 0,82 ab	4,68 \pm 0,30 a	*	–	–
TMG-103	8,10 \pm 0,29 ab	*	–	–	–
TMG-121	11,00 \pm 0,82 a	*	–	–	–
F	6,02*	1,73 ^{ns}	1,60 ^{ns}	12,77*	0,36 ^{ns}
CV (%)	17,28	20,58	15,31	16,96	46,29

¹ Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Dados originais.

* As ninfas não passaram para o estágio seguinte.

mortalidade, sugerindo a ocorrência de resistência por antibiose/não-preferência para alimentação das ninfas. As médias de duração do quinto estágio ninfal (Tabela 2), revelam maior período para as ninfas confinadas ao genótipo 'IAC-17', diferindo dos demais genótipos. O longo período ninfal no genótipo 'IAC-17' provavelmente esteja relacionado à ocorrência de não-preferência para alimentação, que certamente retardou o desenvolvimento ninfal neste estágio.

Observando-se a duração geral do quinto estágio ninfal do percevejo *N. viridula*, nota-se claramente que, independentemente do genótipo hospedeiro, nesta fase os insetos exigem maior período para o seu desenvolvimento, condizendo com diversos autores (VILLAS BÔAS & PANIZZI, 1980, BIEHLER & MCPHERSON, 1982, PANIZZI & ROSSINI, 1987), que também observaram este comportamento para outros hemípteros. Ainda sobre a duração do quinto estágio, nota-se que não foi possível determinar a duração das ninfas confinadas ao genótipo 'IAC-24', uma vez que este genótipo também provocou a mortalidade de todas as ninfas, indicando

a ocorrência de resistência por antibiose e/ou não-preferência para alimentação.

Quanto ao período ninfal do percevejo *N. viridula* (Tabela 2), nota-se que somente os genótipos 'Conquista', 'IAC-17', 'PI-227687' e 'BRS-242' permitiram que os insetos atingissem a fase adulta, revelando-se mais adequados à biologia do inseto. Apesar de não ter sido detectada diferença entre os genótipos quanto à duração da fase ninfal, houve uma tendência de maior duração do período quando as ninfas foram submetidas ao genótipo 'IAC-17'. O maior período de duração neste genótipo sugere um menor teor de proteína nos grãos, que segundo PANIZZI (1991) está diretamente relacionado com o desenvolvimento e duração do estágio ninfal. CALHOUN *et al.* (1988) demonstraram que o menor período de desenvolvimento ninfal deste percevejo ocorreu em genótipos de soja com maior teor de proteína, defendendo a idéia de que os grãos com mais proteínas ocasionam mais rápido o peso crítico nos percevejos, que por sua vez irão desencadear os estímulos neurohormonais para o processo de muda. Os dados

referentes à duração total do período ninfal obtidos neste trabalho (Tabela 2) estão próximos aos valores médios apresentados por CORRÊA-FERRERIA & PANIZZI (1999), que constataram uma média de duração de 34,50 dias a partir dos dados de biologia de *N. viridula* divulgados nos trabalhos de VÉLEZ (1974), CIVIDANES (1992) e PANIZZI (1997).

O peso médio das ninfas de quinto estágio ninfal (N5) e adultos recém-emergidos reve-

lam que os insetos apresentaram as menores médias quando confinados aos genótipos 'PI-227687' e 'BRS-242', com 0,0446 e 0,0565g, respectivamente, sugerindo a ocorrência de antibiose e/ou não-preferência para alimentação (Tabela 3). Os genótipos 'Conquista' e 'IAC-17', não diferiram entre si, apresentando as maiores médias de peso N5. Padrão semelhante dos genótipos foi observado quanto ao peso de adultos do percevejo.

Tabela 3. **Peso médio (\pm EP) de ninfas de quinto estágio e adultos recém emergidos de *N. viridula* confinados em diferentes genótipos de soja**

Genótipo	N5 (g) ¹	Adultos (g) ¹
PI-227687	0,0446 \pm 0,001 c	0,0528 \pm 0,002 c
BRS-242	0,0565 \pm 0,003 b	0,0698 \pm 0,001 b
IAC-17	0,0592 \pm 0,001 ab	0,0690 \pm 0,001 b
Conquista	0,0635 \pm 0,001 a	0,0817 \pm 0,001 a
F	22,86*	101,50*
CV (%)	6,06	3,44

¹ Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Dados originais.

Estes dados revelam a presença de compostos anti-nutricionais ou a não-preferência para alimentação, principalmente nos genótipos 'PI-227687' e 'BRS-242'. As menores médias de peso observadas no material 'PI-227687', corroboram os dados obtidos por PIUBELLI *et al.* (2003), que destacaram os efeitos deletérios deste genótipo sobre *N. viridula*, quando comparado aos genótipos 'BR-16', 'IAC-100', 'PI-229358' e 'PI 274454', classificando-o como alimento inadequado para o desenvolvimento deste percevejo e como o genótipo mais promissor para ser usado em programas de melhoramento como fonte de resistência a percevejos.

Os dados relacionados à mortalidade ninfal (Tabela 4) indicam que os genótipos 'TMG-103' e 'TMG-121' foram os que ocasionaram as maiores médias de mortalidade no estágio N2, diferindo de 'IAC-17', 'PI-227687', 'BRS-242' e 'IAC-PL1'.

Acredita-se que a elevada mortalidade neste estágio possa estar relacionada à distância que separa o grão da parede da vagem, podendo variar de acordo com o genótipo. Segundo PANIZZI & SILVA (2009), esta característica física está diretamente relacionada com a mortalidade nos primeiros estádios de hemípteros sugadores de sementes, pois em muitos genótipos, as ninfas jovens não conseguem atingir as sementes no interior das vagens devido a um espaço de ar que os separa. Contudo, isso não foi avaliado neste trabalho.

No estágio N3, os genótipos 'TMG-103' e 'TMG-121' ocasionaram 100% de mortalidade, diferindo dos demais genótipos, com exceção do 'TMG-117', que ocasionou mortalidade intermediária neste período (Tabela 4). A dispersão ninfal no terceiro estágio, pode ter influenciado a mortalidade, pois segundo BONGERS & EGGRMANN (1971) e

Tabela 4. Mortalidade média (\pm EP) nos diferentes estádios ninfais e no período ninfal de *N. viridula* confinados em diferentes genótipos de soja

Genótipo	Mortalidade (%) ninfal ¹				Mortalidade período (%) ¹
	N2	N3	N4	N5	
IAC-17	22,0 \pm 9,0 b	9,5 \pm 2,8 b	36,4 \pm 15,0 b	82,9 \pm 8,07 a	95 \pm 1,00 ab
PI-227687	24,0 \pm 9,4 b	36,3 \pm 13,1 b	49,6 \pm 11,0 b	80,2 \pm 2,19 ab	96 \pm 1,63 ab
BRS-242	28,0 \pm 8,0 b	28,1 \pm 17,0 b	45,5 \pm 16,1 b	66,8 \pm 14,98 b	80 \pm 14,88 b
Conquista	49,0 \pm 11,8 ab	31,8 \pm 5,3 b	69,5 \pm 11,6 ab	59,7 \pm 3,54 b	95 \pm 2,52 ab
TMG-117	55,0 \pm 9,4 ab	62,0 \pm 6,4 ab	100,0 \pm 0,0 a	–	100 \pm 0,00 a
IAC-19	60,2 \pm 16,0 ab	45,8 \pm 22,9 b	100,0 \pm 0,0 a	–	100 \pm 0,00 a
IAC-24	75,0 \pm 5,9 ab	41,7 \pm 14,7 b	100,0 \pm 0,0 a	–	100 \pm 0,00 a
TMG-103	82,0 \pm 12,9 a	100,0 \pm 0,0 a	–	–	100 \pm 0,00 a
TMG-121	94,0 \pm 2,3 a	100,0 \pm 0,0 a	–	–	100 \pm 0,00 a
F	6,24*	6,75*	11,04*	5,73*	3,48*
CV (%)	30,21	41,05	23,45	18,40	9,42

¹ Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Dados originais; para análise os dados foram transformados em $\arcsin(x+0,5)^{1/2}$.

DERR & ORD (1979), ambos citados por PANIZZI (1991), o hábito gregário favorece o uso da saliva pelos hemípteros na alimentação. Sendo assim, é possível que os genótipos que ocasionaram a maior mortalidade em N3 também tenham ocasionado uma desuniformidade na duração do estágio anterior, levando ao abandono das ninfas N2 pelas ninfas N3 e prejudicando diretamente o desenvolvimento destas no próximo estágio (N3). Isso fortalece a idéia de que o gregarismo é uma adaptação para a alimentação, tendo um efeito positivo na sobrevivência das fases iniciais. Em N4, os genótipos 'IAC-19', 'IAC-24' e 'TMG-117' também ocasionaram 100% de mortalidade ninfal.

A mortalidade no período ninfal (Tabela 4), revela que a maioria dos materiais desfavorecem o completo desenvolvimento do percevejo nesta fase, com destaque para os genótipos 'IAC-19', 'IAC-24', 'TMG-103', 'TMG-117' e 'TMG-121' que provocaram 100% de mortalidade, impedindo a emergência de adultos. Estes dados indicam a ocorrência de antibiose e/ou não preferência para alimentação nestes genótipos frente às ninfas de *N. viridula*, acreditando-se na existência de compostos anti-nutricionais e/ou presença

de compostos secundários ou aleloquímicos, que segundo PANIZZI (1991), faz com que as ninfas e os adultos de *N. viridula* apresentem um desempenho variável.

Apesar de ocasionar 80% de mortalidade das ninfas, 'BRS-242' foi o genótipo mais adequado em comparação aos demais.

Os períodos de desenvolvimento (ovo - adulto) nos diferentes genótipos de soja encontram-se representados na Figura 1. Para a obtenção dos dados representados nesta figura, adotou-se a média do período de incubação médio apresentada por CORRÊA-FERREIRA & PANIZZI (1999), que é de 6,80 dias para *N. viridula*. Somente os genótipos 'IAC-17', 'Conquista', 'PI-227687' e 'BRS-242' permitiram que as ninfas atingissem a fase adulta, sendo que 'IAC-17' apresentou a maior média de duração (46,62) indicando a expressão de resistência do tipo não-preferência para alimentação. 'BRS-242' foi o que mais favoreceu o desenvolvimento do percevejo, com um período de ovo a adulto de 36,37 dias. Estes dados sugerem suscetibilidade a este genótipo, pois entende-se que este material favorece maior número de gerações por ano de *N. viridula*, ocasionando assim, ataques mais intensos às lavouras.

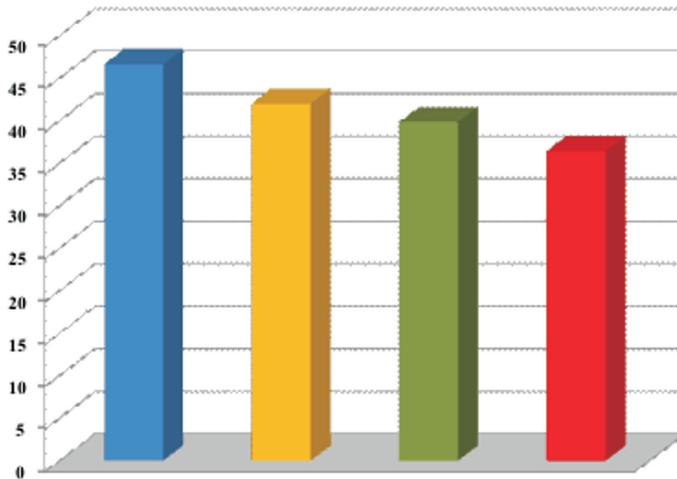


Figura 1. Período médio de desenvolvimento (dias) de *N. viridula* desde a fase de ovo até a fase adulta em diferentes genótipos de soja

Uma análise geral dos resultados obtidos permite concluir que quando confinado aos genótipos ‘TMG-103’, ‘TMG-121’, ‘IAC-19’, ‘TMG-117’, ‘IAC-24’ e ‘Conquista’ o percevejo *N. viridula* não completa o seu desenvolvi-

mento. Conclui-se também que o genótipo ‘IAC-17’ prolonga o período ninfal desta espécie de percevejo. ‘PI-227687’ ocasiona menores ganhos de peso em ninfas e adultos de *N. viridula*, originando insetos de tamanho reduzido.

RESUMEN

SOUZA, E. S., E. L. L. BALDIN, T. L. M. FANELLA. 2012. Desarrollo de *Nezara viridula* (L. 1758) (Hemiptera: Pentatomidae) en genotipos de soja. *Bol. San. Veg. Plagas*, **38**: 41-49.

Los cultivos de soja [*Glycine max* (L.)] han sido significativamente comprometidos por diferentes plagas. El chinche *Nezara viridula* (L.) (Hemiptera: Pentatomidae) es una de las más perjudiciales, reduciendo la cantidad y calidad del grano y requiriendo un gran número de aplicaciones de insecticidas para su control. Aunque el control químico es uno de los métodos más usados, el empleo de cultivares resistentes puede representar una alternativa viable en el manejo de este insecto, reduciendo costos e impactos indeseables en el ambiente. En este estudio se evaluó el desarrollo de ninfas de *N. viridula* en nueve genotipos de soja en condiciones de laboratorio (T = 25 ± 2°C, HR = 70 ± 10% y fotoperíodo = 12 h), con el objetivo de detectar posibles mecanismos de resistencia. Para ello, 25 ninfas/genotipo fueron monitoreadas diariamente evaluando la duración de los estados ninfales y la mortalidad, el peso de las ninfas y adultos, y el período de desarrollo de huevo a adulto. Los resultados revelaron que los genotipos ‘TMG-103’, ‘TMG-121’, ‘IAC-19’, ‘TMG-117’, y ‘IAC-24’ causaron una mortalidad del 100% en las ninfas, indicando altos niveles de antibiosis y/o no preferencia por el alimento. ‘IAC-17’ también prolongó el período ninfal, indicando la existencia de resistencia. Los insectos criados en ‘PI-227687’ pesaron menos, indicando de la existencia de antibiosis y/o no preferencia por el alimento. Los resultados pueden ser útiles para programas de mejora de soja enfocados a la obtención de cultivares resistentes.

Palabras clave: resistencia a insectos, *Glycine max*, chinche, antibiosis.

ABSTRACT

SOUZA, E. S., E. L. L. BALDIN, T. L. M. FANELLA. 2012. Development of *Nezara viridula* (L., 1758) (Hemiptera: Pentatomidae) in soybean genotypes. *Bol. San. Veg. Plagas*, **38**: 41-49.

The soybean [*Glycine max* (L.)] has been significantly compromised by the attack of insect pests. The stink bug *Nezara viridula* (L.) (Hemiptera: Pentatomidae) is pointed as one of the most damaging species, reducing the quantity and quality of grain produced and requiring a large number of applications of insecticides in crops. Although chemical control is still the most widely used method of control, the use of resistant genotypes may represent a viable alternative in the management of this insect, reducing costs and impacts on the environment. This study evaluated the performance of nymphs of *N. viridula* in nine soybean genotypes under laboratory conditions ($T = 25 \pm 2^\circ\text{C}$, $\text{RH} = 70 \pm 10\%$ and photoperiod = 12 h), aiming to detect possible resistance mechanisms. Thus, 25 nymphs/genotype were monitored daily by assessing the duration and mortality of the nymphal stage, the weight of nymphs and adults and the developmental period from egg to adult. The data revealed that the genotypes 'TMG-103', 'TMG-121, IAC-19', 'TMG-117', and 'IAC-24' caused 100% mortality of nymphs, indicating high levels of antibiosis and/or feeding non-preference expression. 'IAC-17' also prolonged the nymphal period, indicating the occurrence of resistance. The insects from 'PI-227687' showed the lowest average weight, also indicating the occurrence of antibiosis and/or feeding non-preference. Our results may be useful for soybean breeding programs focusing on development of genotypes resistant to insects.

Key words: Host plant resistance, *Glycine max*, Southern green stink bug, antibiosis.

REFERÊNCIAS

- BIEHLER, J. A., MCPHERSON, J. E. 1982. Life history and laboratory rearing of *Galgupha ovalis* (Hemiptera: Corimelaenidae), with descriptions of immature stages. *Annals of the Entomological Society of America*, **75**: 465-470.
- BOGERS, J., EGGERMANN, W. 1971. Der einfluss des subsozialverhaltens der spezialisierten samensanger *Oncopeltus fasciatus* Dall. und *Dysdercus fasciatus* Sing. auf ihre ernahrung. *Oecologia*, **6**: 293-302.
- CALHOUN, D. S., FUNDERBURK, J. E., TEARE, I. D. 1988. Soybean seed crude protein and oil levels in relation to weight, developmental time, and survival of southern green stink bug (Hemiptera: Pentatomidae). *Environmental Entomology*, **17**: 727-729.
- CIVIDANES, F. J. 1992. *Determinação das exigências térmicas de Nezara viridula* (L., 1758), *Piezodorus guildinii* (West., 1837) e *Euschistus heros* (Fabr., 1758) (Heteroptera: Pentatomidae) visando o seu zoneamento climático. 50f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - USP/ESALQ, Piracicaba.
- CORSO, I. C. 1984. Constatação do agente causal da mancha-de-levedura em percevejos que atacam a soja no Paraná. In: SEMINÁRIO NACIONAL DE PESQUISA DE SOJA. EMBRAPA-CNPS. *Anais*, **3**: 152-157.
- CORRÊA-FERREIRA, B. S. 1985. Criação massal do percevejo verde *Nezara viridula* (L.). Londrina: EMBRAPA/CNPSo, (Documentos, 11). 16 p.
- CORRÊA-FERREIRA, B.S., PANIZZI, A.R. 1999. Percevejos da soja e seu manejo. Londrina: Embrapa-CNP-So, - Circular Técnica 24, 45 p.
- DEGRANDE, P. E., VIVAN, L. M. 2010. Pragas da soja. In: CAJU, J., YUYAMA, M. M., SUZUKI, S., CAMACHO, S. A. *Boletim de Pesquisa de Soja*. Rondonópolis: Fundação MT, **14**, 418 p.
- DERR, L. A., ORD, J. K. 1979. Feeding preference of a tropical seed-feeding insect: na analysis of the distribution of insects and seeds in the field. In: ORD, J. K., PATIL, G. A., TAILLIE, C. *Statistical Distribution in Ecological Work*. Maryland: International Crop, 387-400.
- GALLO, D., NAKANO, O., SILVEIRA NETO, S., CARVALHO, R. P. L., BATISTA, 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., OMOTO, C. 2002. Entomologia agrícola. Piracicaba: FEALQ, 920 p.
- LARA, F. M. 1991. Princípios de resistência de plantas a insetos. São Paulo: Ícone, 336 p.
- OLIVEIRA, M. R. V., SILVA, O. L. R. 1997. Prevenção e controle da mosca-branca *Bemisia argentifolii* (Hemiptera: Aleyrodidae). Brasília: MAPA, Departamento de Defesa e Inspeção Vegetal (Alerta Fitossanitário, 1), 16 p.
- PANIZZI, A. R. 1991. Ecologia nutricional de insetos sugadores de sementes. In: PANIZZI, A. R., PARRA, J. R. P. Ecologia nutricional de insetos e suas impli-

- cações no manejo de pragas. Brasília: Manole, 253-287.
- PANIZZI, A. R. 1997. Wild hosts of pentatomids: ecological significance and role in their pest status on crops. *Annual Review of Entomology*, **42**: 99-122.
- PANIZZI, A. R., MOURÃO, A. P. M. 1999. Mating, ovipositional rhythm and fecundity of *Nezara viridula* (L.) (Heteroptera: Pentatomidae) fed on privet, *Ligustrum lucidum* Thumb., and soybean, *Glycine max* (L.) Merrill Fruits. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, **28**: 35-40.
- PANIZZI, A. R.; ROSSINI, M. C. 1987. Impacto de várias leguminosas na biologia de ninfas de *Nezara viridula* (Hemiptera: Pentatomidae). *Revista Brasileira de Biologia*, **47**: 507-512.
- PANIZZI, A. R., SILVA, F. A. C. 2009. Insetos sugadores de sementes (Heteroptera). In: PANIZZI, A. R., PARRA, J. R. P. Bioecologia e nutrição de insetos. Brasília: Embrapa, 465-522.
- PANIZZI, A. R., SLANSKI, F. JR. 1985. Review of phytophagous pentatomids (Hemiptera: Pentatomidae) associated with soybean in the Americas. *Florida Entomologist*, **68**: 184-214.
- PIUBELLI, G. C., HOFFMANN-CAMPO, C. B., ARRUDA, I. C., LARA, F. M. 2003. Nymphal development, lipid content, growth and weight gain of *Nezara viridula* (L.) (Heteroptera: Pentatomidae) fed on soybean genotypes. *Neotropical Entomology*, **32**: 127-132.
- PRABHAKER, N., COUDRIET, D. L., MEYER-DRIK, D. E. 1985. Insecticide resistance in the sweetpotato-whitefly *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae). *Journal of Economic Entomology*, **78**: 748-752.
- RAIJ, B., CANTARELLA, H., QUAGGIO, J. A., FURLANI, A. M. C. 1997. Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo. Campinas: Instituto Agronômico-Fundação IAC, Boletim Técnico 100, 285 p.
- RAMIRO, Z. A. 1982. A soja no Brasil central. Campinas: Fundação Cargil, 215-243.
- RAMIRO, Z. A., MASSARIOL, A. A. 1977. Manejo de insetos na cultura da soja. In: A soja no Brasil Central, Campinas: Fundação Cargil, 141-155.
- ROSSETTO, C. J., NAGAI, V., IGUE, T., ROSSETO, D., MIRANDA, M. A. C. 1981. Preferência de alimentação de adultos de *Diabrotica speciosa* (Germar) e *Cerotoma arcuata* (Oliv.) em variedades de soja. *Bragantia*, **40**: 179-183.
- SINGH, Z. 1973. Southern green sting bug and its relationship to soybeans. Metropolitan Book Co. (PVT.) LTD. Delhi 6 (Índia), 105 p.
- STANSLY, P. A., SCHUSTER, D. J. 1992. The sweetpotato whitefly and integrated pest management of tomato. In: VAVRINA, C. S. (Ed.), Proceedings, Florida Tomato Institute vegetal Crops Special Series. University of Florida, 54-74.
- TODD, J. W. 1989. Ecology and behavior of *Nezara viridula*. *Annual Review Entomology*, **34**: 273-292.
- TURNIPSEED, S. G., KOGAN, M. 1976. Soybean Entomology. *Annual Review Entomology*, **21**: 247-281.
- VÉLEZ, J. R. 1974. Observaciones sobre la biología de la chinche verde, *Nezara viridula* (L.), en el valle del fuerte sin. *Folia Entomologica Mexicana*, **28**: 5-12.
- VILLAS BÔAS, G. L., PANIZZI, A. R. 1980. Biologia de *Euchistus heros* (Fabricius, 1798). *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, **9**: 105-113.
- VILLAS-BÔAS, G. L., GAZZONI, D. L., OLIVEIRA, M. C. N. DE, PEREIRA, N. P., ROESSING, A. C., FRANÇA NETO, J. B., HENNING, A. 1990. Efeito de diferentes populações de percevejos sobre o rendimento e seus componentes, características agrônômicas e qualidade de sementes de soja. Boletim de Pesquisa 1. Londrina: Embrapa-CNPSo, 43 p.

(Recepción: 26 octubre 2011)

(Aceptación: 17 enero 2012)

Dinámica poblacional de parasitoides Aphidiinae (Braconidae, Hymenoptera) en cultivos de pimiento de invernadero

J. QUINTO, A. PINEDA, J. M. MICHELENA, M. A. MARCOS-GARCÍA

Se ha estudiado la composición de especies y dinámica poblacional de parasitoides de pulgón en invernaderos de pimiento (*Capsicum annuum*) del sureste de España durante dos años. Se utilizaron trampas Malaise modificadas para evaluar las poblaciones de afidiinos en el interior y exterior de los invernaderos, abarcando dos ciclos del cultivo de pimiento. Las principales especies dentro y fuera de los invernaderos fueron *Aphidius matricariae* (Haliday), *Aphidius colemani* Viereck, *Aphidius ervi* Haliday y *Praon volucre* (Haliday). Los afidiinos aparecen en el interior de los invernaderos a mediados de marzo y permanecen hasta mediados de junio. Las trampas Malaise modificadas representan una herramienta para estimar adecuadamente las poblaciones de afidiinos adultos en el interior de los invernaderos. La especie autóctona *A. matricariae* fue la especie más abundante, a pesar de las introducciones periódicas de otras especies de afidiinos. Este trabajo pone de relevancia la importancia de utilizar especies autóctonas de enemigos naturales en el control de plagas.

J. QUINTO, A. PINEDA, M. A. MARCOS-GARCÍA. Centro Iberoamericano de la Biodiversidad CIBIO, Universidad de Alicante. Carretera de San Vicente del Raspeig s/n, 03690 ESPAÑA javier.qnt@gmail.com
A. PINEDA. Laboratory of Entomology, Wageningen University, HOLANDA
J. M. MICHELENA. Instituto Cavanilles, Universidad de Valencia, ESPAÑA

Palabras clave: control natural, control biológico, afidiinos, cultivos mediterráneos, pulgones.

INTRODUCCIÓN

Los afidiinos (Aphidiinae, Braconidae, Hymenoptera) son himenópteros solitarios de pequeño tamaño, endoparásitos koinobiontes específicos de pulgones (Hemiptera, Aphididae) (MICHELENA *et al.*, 2004). La subfamilia de los afidiinos presenta una distribución mundial acorde con la de sus hospedadores y engloba alrededor de 50 géneros representados a escala mundial por más de 400 especies (SMITH y KAMBHAMPATI, 2000). La preferencia de huésped y la capacidad de adaptación a las condiciones climáticas son algunos de los limitantes del área de distribución de muchas especies (STARÝ *et al.*, 1988, PONS *et al.*, 2004) y por lo

tanto, también de su empleo en el control biológico. La especificidad de los parasitoides afidiinos los convierte en eficaces controladores naturales de plagas de pulgones en diversos cultivos de importancia económica (NÚÑEZ-PÉREZ, 1992; SCHMIDT *et al.*, 2003; BREWER y ELLIOT, 2004; MICHELENA *et al.*, 2004). Algunas especies han sido introducidas en diversas partes del mundo como estrategia de control biológico (TANIGOSHI *et al.*, 1995; HALBERT *et al.*, 1996).

Aunque la diversidad natural de afidiinos ha sido estudiada en diferentes cultivos de la Comunidad Valenciana (MICHELENA y OLTRA, 1987; MICHELENA y GONZÁLEZ, 1987; GONZÁLEZ y MICHELENA, 1987; MICHELENA

et al., 1994; SUAY y MICHELENA, 1998; QUINTO *et al.*, 2010a; QUINTO *et al.*, 2010b; SÁNCHEZ *et al.*, 2010), hasta el momento no se ha contemplado la utilización de especies autóctonas en programas de control biológico e integrado de áreas agrícolas mediterráneas.

El sureste ibérico alberga un 15% de la superficie mundial destinada a cultivos de invernadero (COTEC, 2009), donde el pimiento *Capsicum annum* Linnaeus, 1753 (Solanaaceae) es uno de los principales cultivos. Los pulgones desarrollan las plagas de mayor repercusión económica (RAMAKERS, 2004), siendo *Myzus persicae* Sulzer, *Aulacorthum solani* (Kaltenbach), *Aphis gossypii* Glover y *Macrosiphum euphorbiae* (Thomas) las especies que originan las mayores pérdidas (PINEDA, 2008d). El control biológico de pulgones en invernaderos de pimiento se realiza principalmente liberando himenópteros parasitoides: *Aphidius colemani* Viereck (Aphidiinae, Braconidae) contra *M. persicae* y *A. gossypii*, o *Aphidius ervi* Haliday y *Aphelinus abdominalis* Dalman (Aphelinidae) contra *A. solani* y *M. euphorbiae* (PINEDA, 2008d).

El área Íbero-Mediterránea presenta una rica diversidad de parasitoides afidiinos asociados a cultivos de pimiento bajo plástico (QUINTO *et al.*, 2010b), así como a las plantas adventicias y otros cultivos periféricos al agrosistema (QUINTO *et al.*, 2010a). El conocimiento del complejo de enemigos naturales auxiliares de los agrosistemas, así como de aquellas especies que tienen la capacidad de entrar y permanecer en los invernaderos, es una información valiosa para su aplicación en estrategias de control biológico e integrado. Las poblaciones de estas especies varían geográficamente y en ecosistemas mediterráneos también a lo largo del año, por lo que es necesario realizar estudios adaptados a cada tipo de cultivo y prolongados en el tiempo de modo que abarquen los periodos de ataque de las plagas a lo largo de todo el ciclo del cultivo.

En el presente trabajo estudiamos la diversidad y niveles poblacionales de afidiinos en cultivos de pimiento en invernadero del sureste ibérico, evaluando las diferen-

cias en la riqueza, abundancia y dinámica poblacional en el interior y exterior de dichos invernaderos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Área de estudio. El estudio fue llevado a cabo en invernaderos de pimiento bajo sistemas de producción integrada, ubicados en cuatro localidades de Pilar de la Horadada (Alicante) distanciadas entre sí por más de un kilómetro (Figura 1). Esta zona del sureste ibérico presenta un mosaico de cultivos formado por pequeñas extensiones de citricolas y hortícolas, al aire libre o en invernadero, configurando un agrosistema heterogéneo.

En cada localidad se seleccionaron dos invernaderos del “tipo Almería”, con una superficie de 1.000-4.000m², situados en una matriz similar de cultivos hortícolas y citricolas manejados mediante prácticas agrícolas tradicionales. Estos invernaderos presentan un deficiente aislamiento, lo que permite la entrada natural y establecimiento de las plagas del cultivo de pimiento, así como de sus enemigos naturales desde el exterior (QUINTO *et al.*, 2010b).

Muestreo. Para evaluar la diversidad y dinámica poblacional del conjunto de especies de afidiinos se utilizaron trampas Malaise modificadas (PLATT *et al.* 1999) (Figura 2). Esta trampa se compone de un esqueleto de aluminio recubierto por una malla blanca con un soporte en su parte superior que sujeta un bote recolector de insectos de 100 ml. (Figura 2).

El menor tamaño respecto de la trampa Malaise convencional permite su utilización en cultivos de invernaderos, donde el espacio es un limitante. Esta trampa está diseñada para la captura y evaluación de insectos buenos voladores, como dípteros e himenópteros, y su eficacia ya ha sido probada con éxito en el estudio de sírfidos afidófagos en este tipo de cultivos (PINEDA y MARCOS-GARCÍA, 2008c).

En cada localidad se colocaron tres trampas, dos en el interior del invernadero, sepa-



Figura 1. Fotografía aérea de los invernaderos seleccionados en el área de estudio. Los invernaderos seleccionados aparecen intercalados en el mosaico de cultivos tradicionales típico de esta zona agrícola del sureste español

radas entre sí por una distancia mínima de diez metros (confeccionando los gráficos a partir de los valores promedio), y una en el exterior. El muestreo se realizó de marzo a junio durante 2006 y 2009, correspondiendo con el periodo de máxima actividad de enemigos naturales en invernadero (SÁNCHEZ *et al.*, 2010), recogiendo las muestras semanalmente, y abarcado así dos ciclos de cultivo de pimiento.

Identificación del material. Las capturas semanales se llevaron al laboratorio, donde se procedió a la separación, montaje e identificación de las especies de parasitoides afidiinos. Para identificar el material se utilizaron las claves de FERRIÈRE (1965), STARÝ (1976), HAYAT (1983), PENNACHIO (1989) y ÖLMEZ *et al.* (2003).

El material se encuentra depositado en la Colección Entomológica de la Universidad de Alicante (CEUA).

RESULTADOS

Aspectos faunísticos. Se capturó un total de 2.952 afidiinos (Tabla 1). En 2006 se colectaron 613 afidiinos, 444 individuos en el exterior y 169 individuos en el interior de los invernaderos. En 2009 fueron registrados 2.339 afidiinos, 2.064 individuos en el exterior y 275 en el interior de los invernaderos.

La comunidad de afidiinos está compuesta por 16 especies, 10 de las cuales se capturaron tanto en el exterior como en el interior de los invernaderos. No existe ninguna especie exclusiva del interior de los invernaderos.

La especie de áfido plaga dominante en 2006 fue *Myzus persicae*, y en 2009 *Macrosiphum euphorbiae*.

Aspectos fenológicos. Los afidiinos se capturan en el exterior de los invernaderos desde mediados de marzo a mediados de



Figura 2. Trampa Malaise modificada situada en los cultivos de la periferia de los invernaderos estudiados.
Foto: J. QUINTO

Tabla 1. Número de capturas para las especies de parasitoides afidiinos dentro y fuera de los invernaderos de pimiento en los años 2006 y 2009

ESPECIE	ABUNDANCIA			
	2006		2009	
	FUERA	DENTRO	FUERA	DENTRO
<i>Adialytus salicaphis</i> (Fitch, 1855)	0	0	1	0
<i>Aphidius colemani</i> Viereck, 1912	77	79	193	48
<i>Aphidius ervi</i> Haliday, 1834	20	1	488	46
<i>Aphidius funebris</i> Mackauer, 1961	37	2	0	0
<i>Aphidius matricariae</i> Haliday, 1834	107	85	212	114
<i>Aphidius rhopalosiphum</i> De Stefani-Pérez, 1902	55	0	0	0
<i>Aphidius sonchi</i> Marshall, 1896	11	0	0	0
<i>Aphidius uzbekistanicus</i> Luzhetski, 1960	25	0	0	0
<i>Diaretiella rapae</i> (Mc'Intosh, 1855)	38	0	28	1
<i>Ephedrus persicae</i> Froggatt, 1904	10	0	0	0
<i>Lysiphlebus fabarum</i> (Marshall, 1896)	13	0	597	4
<i>Lysiphlebus testaceipes</i> (Cresson, 1880)	2	0	233	7
<i>Praon abjectum</i> (Haliday, 1833)	1	1	1	1
<i>Praon volucre</i> (Haliday, 1833)	45	1	215	40
<i>Praon yomenae</i> Takada, 1968	0	0	6	0
<i>Trioxys angellicae</i> (Haliday, 1833)	3	0	90	14

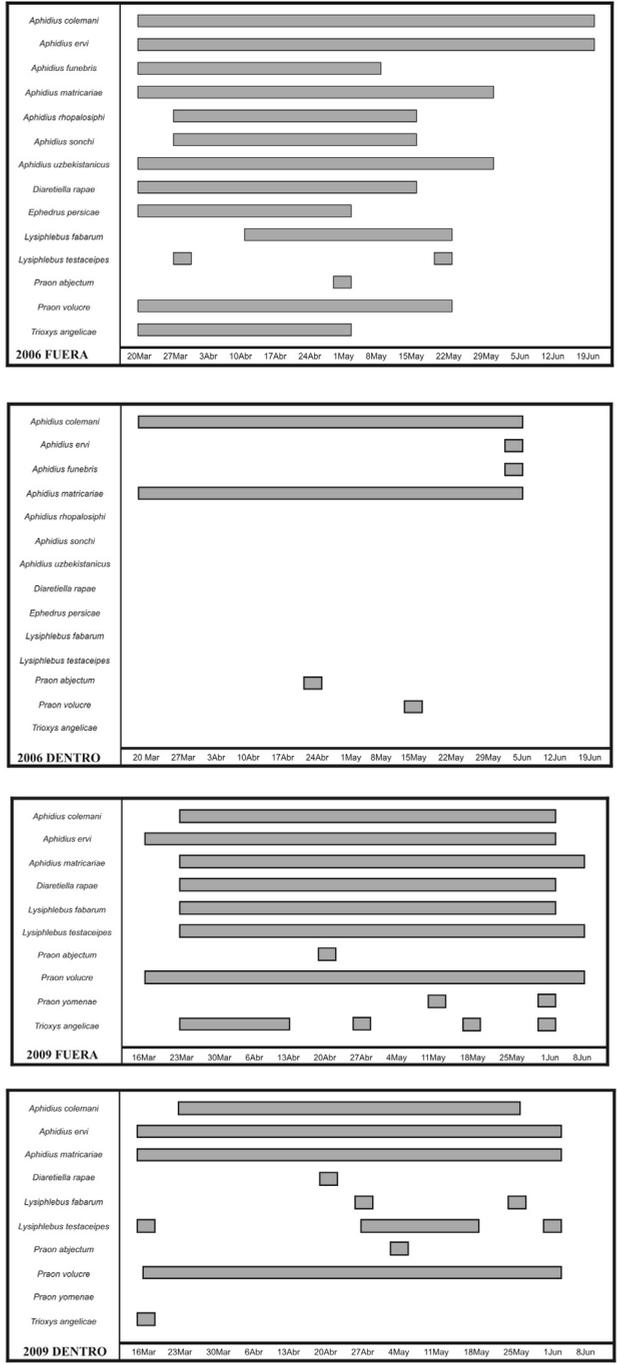


Figura 3. Diagramas fenológicos para el conjunto de especies de afidiinos capturadas dentro y fuera de los invernaderos a lo largo de los ciclos de cultivo de pimienta de 2006 y 2009

junio (Figura 3). En 2006 las especies de afidiinos mayoritarias fueron *Aphidius matricariae* y *A. colemani*, cuyas poblaciones se mantuvieron a lo largo del periodo de estudio. En 2009 las especies mayoritariamente capturadas fueron en orden decreciente: *Lysiphlebus fabarum*, *A. ervi*, *L. testaceipes*, *Praon volucre*, *A. matricariae* y *A. colemani*.

Las especies más capturadas en el interior de los invernaderos fueron *A. colemani*, *A. matricariae* (2006 y 2009), *A. ervi* y *P. volucre* (2009), cuyas poblaciones evolucionaron desde principios de marzo a principios de junio.

La evolución de las capturas de las principales especies de parasitoides afidiinos dentro y fuera de los invernaderos se muestra en la Figura 4.

En 2006, *A. matricariae* fue la especie más abundante tanto dentro como fuera de los invernaderos. *A. colemani* y *A. matricariae* fueron capturadas en el interior de los invernaderos del 20 de marzo-12 de junio, alcanzando los mayores niveles de capturas desde el 20 de marzo al 10 de abril y presentando ambas especies su pico a primeros de abril. En el exterior de los invernaderos las capturas de estas dos especies presentan ciclos que se solapan en el tiempo, presentando picos alternados.

En 2009, *A. matricariae* fue nuevamente la especie más abundante en el interior de los invernaderos, seguida de *A. colemani*. Sin embargo, *A. ervi* y *P. volucre* también alcanzaron una elevada abundancia. *A. matricariae* y *A. ervi* se capturaron en el interior de los invernaderos desde principios de marzo, mientras que *A. colemani* y *P. volucre* a finales de marzo. Todas las especies presentan niveles de capturas muy bajos a partir de junio. Las capturas de *P. volucre*-*A. ervi* evolucionan de forma similar dentro y fuera de los invernaderos, ocurriendo lo mismo con las de *A. colemani*-*A. matricariae*. Además, se apreciaron dos picos: del 30-marzo al 20-abril, dominando exclusivamente *Aphidius matricariae*; y del 11-mayo al 25-mayo, dominando *P. volucre* y *A. ervi*.

DISCUSIÓN

Este trabajo demuestra que en el área estudiada existe una elevada riqueza de parasitoides afidiinos en los agrosistemas periféricos a los invernaderos de pimiento, que potencialmente constituye una base muy importante para el control natural de pulgones en el interior de invernaderos mediterráneos. No obstante, hay especies que siendo relativamente abundantes en el exterior (como las especies del género *Lysiphlebus* o algunas especies de *Aphidius*), se capturan en muy bajos niveles o no se capturan en el interior, debido a la ausencia de las especies de áfidos hospedadores a los que parasitan. Los resultados basados en capturas de ejemplares adultos, están apoyados por resultados recientes sobre la incidencia del parasitismo de pulgones en invernaderos de pimiento (MICHELENA *et al.*, 2004; SÁNCHEZ *et al.*, 2010). Este trabajo demuestra una vez más el beneficio que representa el carácter semi-abierto de los invernaderos mediterráneos por permitir la entrada de los enemigos naturales (PINEDA y MARCOS-GARCÍA 2008a, c; SÁNCHEZ *et al.*, 2010).

La especie de parasitoide *A. matricariae* fue la más abundante en el interior de los invernaderos en los dos años de muestreo. Dado que *A. matricariae* forma parte de nuestra fauna auxiliar y que sus poblaciones se mantienen a lo largo del tiempo del cultivo dentro y fuera de los invernaderos, es de esperar que mediante la potenciación de sus niveles poblacionales en agrosistemas mediterráneos, se obtengan mejores resultados que con la suelta de *A. colemani*. Por otro lado, en 2009 *A. ervi* y *P. volucre* mantienen altos sus niveles de captura en el interior del invernadero al final del cultivo (incluso con abundancias superiores a las obtenidas en el exterior) y junto con *A. matricariae*, ejercen una acción complementaria en el control de áfidos a lo largo del ciclo del cultivo. La integración de diversas estrategias para potenciar las poblaciones de dichas especies podría ayudar en el control de tales plagas, ya que su carácter autóctono y su capacidad de colonización, permanencia

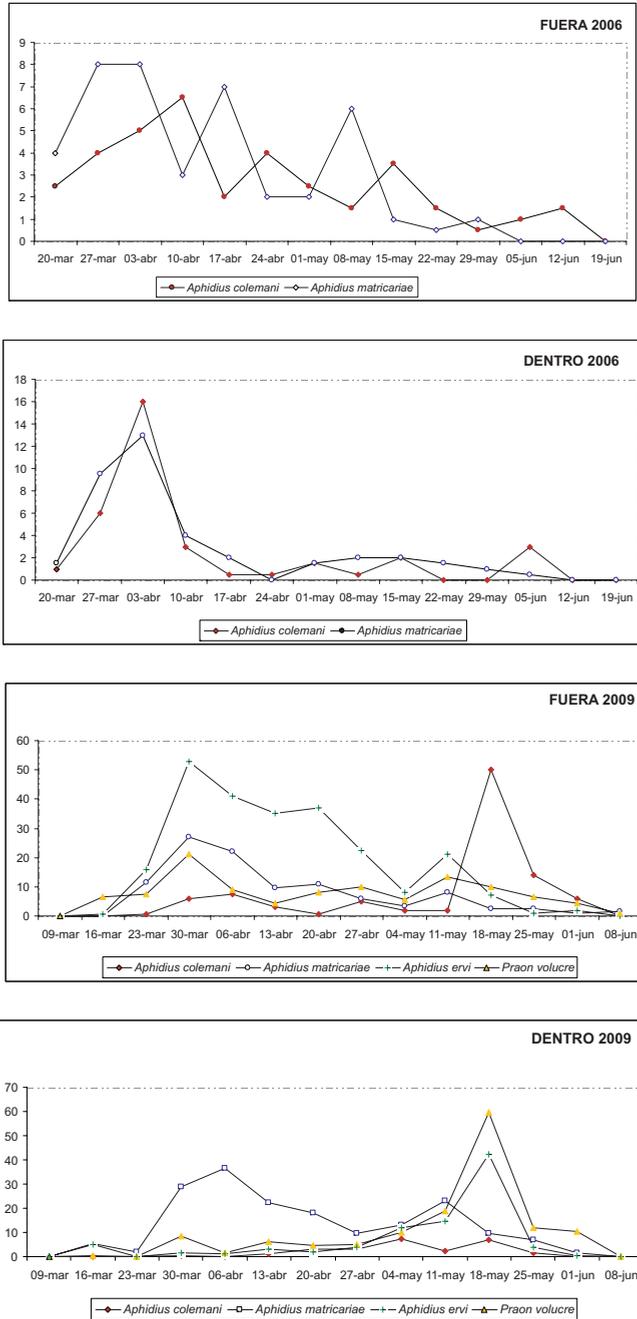


Figura 4. Evolución de las capturas de las principales especies de afidiinos dentro y fuera de los invernaderos en los años 2006 y 2009. Se utilizaron los valores promedio para las capturas de las dos trampas Malaise en el interior de los invernaderos y para las cuatro localidades de estudio

y parasitismo, indican que están mejor adaptadas a la alta temperatura y humedad del interior de los invernaderos.

Las poblaciones de estas especies de parasitoides que participan en el Control Natural, se desarrollan sobre áfidos que se encuentran en la vegetación asociada a los cultivos intercalados entre los invernaderos (SÁNCHEZ *et al.*, 2010). Esto enfatiza la importancia del mantenimiento de los cultivos tradicionales al aire libre por ser un foco de potenciación del control natural, siempre y cuando se mantengan prácticas agrícolas compatibles con los insectos auxiliares.

En el 2006, al inicio de la infestación de áfidos (mediados de abril), tanto *A. colemani* como *A. matricariae* alcanzan sus máximos de capturas, de acuerdo con la evolución de los niveles poblacionales de la especie dominante de áfido plaga *Myzus persicae*. Así pues, dentro del invernadero estas dos especies pueden potencialmente ejercer un buen control de *M. persicae* en el cultivo. En el 2009, las capturas de *A. matricariae* dentro del invernadero se mantuvieron altas desde el inicio hasta el final del cultivo, mientras que fueron menores para *A. colemani* a lo largo del ciclo del cultivo. Estos resultados indican que las sueltas de *A. colemani* no se establecen suficientemente, sugiriendo que son menos eficaces que *A. matricariae* en el control de las plagas de áfidos en agrosistemas mediterráneos. La mayor abundancia de *A. ervi* y *P. volucre* en 2009 dentro del invernadero puede deberse a la predominancia de la especie de áfido plaga *Macrosiphum euphorbiae* a lo largo del ciclo de cultivo, ya que es parasitada preferentemente por estas especies (PONS y STARY, 2003; SÁNCHEZ *et al.*, 2010).

La elevada abundancia que alcanzan las especies de afidiinos de marzo a abril es una característica muy importante hasta ahora nunca observada en el control de plagas de áfidos en estos agrosistemas. Los afidiinos son capaces de alcanzar altos niveles poblacionales cuando los sírfidos (Diptera: Syrphidae), uno de los principales depredadores afidófagos, presentan sus menores niveles poblacio-

nales en el interior de los invernaderos (PINEDA y MARCOS-GARCÍA, 2008c). Los elevados niveles poblacionales de estas especies de afidiinos en las primeras fases de la infestación por los áfidos, los convierte en nuevos candidatos a considerar para el control integrado de tales plagas en las fases tempranas del cultivo en invernaderos mediterráneos.

Los resultados para las capturas efectuadas con trampas Malaise modificadas revelan que se mantienen las proporciones de las principales especies de parasitoides dentro y fuera de los invernaderos, tanto de las presencias y abundancias de las especies, como la proporción relativa entre ellas. Este resultado es de gran importancia, ya que demuestra que mediante el uso de este tipo de trampas indirectas colocadas sólo en el exterior de los invernaderos, se puede obtener una información válida y con poco esfuerzo de muestreo sobre la abundancia de las principales especies de afidiinos dentro de los invernaderos sin afectar negativamente sus efectivos poblacionales.

Para las especies de afidiinos bien representadas en el interior de los invernaderos, podrían utilizarse estrategias que aumenten su tiempo de permanencia en el interior, como es el uso de recursos florales o la potenciación de sus poblaciones mediante el uso de las "banker plants". Estos métodos ya han sido probados con éxito en la atracción de sírfidos afidófagos hacia el interior de invernaderos mediterráneos (PINEDA y MARCOS-GARCÍA, 2008a, PINEDA y MARCOS-GARCÍA, 2008b).

El presente estudio pone de manifiesto la importancia y necesidad de conservar el mosaico de cultivos y el conjunto de prácticas tradicionales que los mantienen, de los que dependen las poblaciones de los mejores controladores de las plagas, los enemigos naturales autóctonos.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos la colaboración y la confianza que los agricultores Ginés Vera, Gregorio Ros, Mariano Ros, y Felipe Baños depositaron en nosotros y en nuestro trabajo.

ABSTRACT

QUINTO, J., A. PINEDA, J. M. MICHELENA, M. A. MARCOS-GARCÍA. 2012. Population dynamic of Aphidiinae (Braconidae, Hymenoptera) parasitoids in sweet-pepper crops in greenhouses. *Bol. San. Veg. Plagas*, **38**: 51-60.

This study shows the species composition and population dynamics of aphid parasitoids have been studied in sweet pepper (*Capsicum annuum*) greenhouses in Southeast Spain during two years. Modified Malaise traps were used to evaluate afidiin populations both inside and outside greenhouses, covering two cycles of sweet pepper culture. The main species inside and outside greenhouses were *Aphidius matricariae* (Haliday), *Aphidius colemani* Viereck, *Aphidius ervi* Haliday and *Praon volucre* (Haliday). Afidiins are present inside greenhouses around the middle of March to the end of June. Modified Malaise traps represent a tool to properly estimate adult afidiin populations inside greenhouses. The native *Aphidius matricariae* was the most abundant species, despite the periodic releases of other species. This work remarks the importance of using native natural enemies in pest management.

Key words: natural control, biological control, aphidiins, Mediterranean crops, aphids.

REFERENCIAS

- BREWER, M. J., ELLIOTT, N. C. 2004. Biological control of cereal aphids in North America and mediating effects of host plants and habitat manipulations. *Annu. Rev. Entomol.*, **49**: 219-242.
- FERRIERE, C. 1965. Hymenoptera Aphelinidae d'Europe et du bassin méditerranéen. *Faune de l'Europe*, 1. Centre National de la Recherche Scientifique, 1 pp. 206 pp.
- GONZÁLEZ, P., MICHELENA J. M. 1987. Relaciones parasitoide-pulgón (Hym., Aphidiidae; Hom., Aphidiidae) en la provincia de Alicante. *Bol. Asoc. Esp. Ent.*, **11**: 249-258.
- HALBERT, S. E., JOHNSON, J. B., GRAVES, P. L., MARSH, P. M., NELSON, D. 1996. *Aphidius uzbekistanicus* (Hymenoptera: Aphidiidae) established in Idaho. *Pan-Pac. Entomol.*, **2**: 13-46.
- HAYAT, M. 1983. The genera of Aphelinidae (Hymenoptera) of the world. *Systematic Entomology*, **8**: 63-102.
- MICHELENA, J. M., GONZÁLEZ, P. 1987. Contribución al conocimiento de la familia Aphidiidae (Hymenoptera). I *Aphidius* Nees. *Eos*, **63**: 115-131.
- MICHELENA, J. M., GONZÁLEZ, P., SOLER, E. 2004. Parasitoides afidiinos (Hymenoptera, Braconidae, Aphidiinae) de pulgones de cultivos agrícolas en la Comunidad Valenciana. *Bol. San. Veg. Plagas*, **30**: 317-326.
- MICHELENA, J. M., SANCHÍS, A., GONZÁLEZ, P. 1994. Afidiinos sobre pulgones de frutales de la Comunidad Valenciana. *Bol. San. Veg. Plagas*, **20**: 465-470.
- MICHELENA, J. M., OLTRA, M. T. 1987. Contribución al conocimiento de los *Aphidiidae* (Hym.) en España: II. Géneros *Ephedrus*, *Praon*, *Adialytus*, *Lysiphlebus*, *Diaeretiella*, *Lipolexis*, *Trioxys*. *Boln. Asoc. Esp. Ent.*, **11**: 61-68.
- NÚÑEZ-PÉREZ, E. 1992. Bases para el desarrollo del control integrado de los pulgones (Homoptera, Aphidiidae) de los cultivos de la provincia de León. Universidad de León, Secretariado de Publicaciones. 7 pp. y 4 microfichas.
- ÖLMEZ, S., ULUSOY, M. R. 2003. A Survey of Aphid Parasitoids (Hymenoptera: Braconidae: Aphidiinae) in Diyarbakir, Turkey. *Phytoparasitica*, **31** (5): 524-528.
- PENNACHIO, F. 1989. The Italian species of the genus *Aphidius* Nees (Hymenoptera, Braconidae, Aphidiinae). *Boll. Lab. Ent. Agr. Filippo Silvestri*, **46**: 75-106.
- PINEDA, A., MARCOS-GARCÍA, M. A. 2008a. Evaluation of several strategies to increase the residence time of *Episyrphus balteatus* (Diptera: Syrphidae) releases in sweet pepper greenhouses. *Annals of Applied Biology*, **152**: 271-276.
- PINEDA, A., MARCOS-GARCÍA, M. A. 2008b. Introducing barley as aphid reservoir in sweet-pepper greenhouses: Effect on native and released hoverflies (Diptera, Syrphidae). *European Journal of Entomology*, **105**: 531-535.
- PINEDA, A., MARCOS-GARCÍA, M. A. 2008c. Seasonal abundance of aphidophagous hoverflies (Diptera, Syrphidae) and their population levels in and outside Mediterranean sweet pepper greenhouses. *Annals of the Entomological Society of America*, **101** (2): 384-391.
- PINEDA, A. 2008d. Los sírfidos (Diptera, Syrphidae) en el control integrado de plagas de pulgón en cultivos de pimiento de invernadero. Tesis Doctoral. Universidad de Alicante, España.
- PLATT, J. O., CALDWELL, J. S., KOLK, L. T. 1999. An easily replicated, inexpensive Malaise-type trap design. *Journal of Entomological Science*, **34** (1): 154-157.
- PONS, X., LUMBIERRES, B., STARY, P. 2004. Expansión de *Lysiphlebus testaceipes* (Cresson) (Hym., Braconidae) de los cultivos de la provincia de León. Universidad de León, Secretariado de Publicaciones. 7 pp. y 4 microfichas.

- nidae, Aphidiinae) en el Noreste de la Península Ibérica. *Bol. San. Veg. Plagas*, **30**: 547-552.
- PONS, X., STARÝ, P. 2003. Spring aphid-parasitoid (Hom., Aphididae, Hym., Braconidae) associations and interactions in a Mediterranean arable crop ecosystem, including Bt maize. *Anz. Schädlingskunde / J. Pest Science*, **7**: 133-138.
- QUINTO, J., PINEDA, A., MARCOS-GARCÍA, M. A. 2010a. Control natural de plagas en cultivos Mediterráneos. *Cuadernos de Biodiversidad*, **32**: 11-15.
- QUINTO, J., PINEDA, A., MARCOS-GARCÍA, M. A. 2010b. Comunidad de enemigos naturales de plagas de hemipteros en cultivos de pimiento de invernadero del sureste ibérico. *Phytoma*, **224**: 33-36.
- RAMAKERS, P. M. J. 2004. IPM Program for sweet pepper. In Heinz, K. M., Van Driesche, R. G. & Parrella, M. P. (eds.): *Biocontrol in Protected Culture*. Ball Publishing, Batavia, pp. 439-456.
- SÁNCHEZ, J. A., LA-SPINA, M., MICHELENA, J. M., LACASA, A., HERMOSO DE MENDOZA, A. 2010. Ecology of the aphid pest of protected pepper crops and their parasitoids. *Biocontrol Science and Technology*, **21** (2): 171-188.
- SCHMIDT, M. H., LAUER, A., PURTAUF, T., THIES, C., SCHAEFER, M., TSCHARNTKE, T. 2003. Relative importance of predators and parasitoids for cereal aphid control. *Proc. R. Soc. Lond. (B). Biol. Sci.*, **270**: 1905-1909.
- SMITH, P. T., KAMBHAMPATI, S. 2000. Evolutionary transitions in behavioral and morphological traits of Aphidiinae (Hymenoptera: Braconidae), pp. 106-113.
- STARÝ, P. 1976. Aphid parasites (*Hymenoptera, Aphidiidae*) of the Mediterranean area. *Tranx. Czechosl. acad. Sci. Ser. Math. Nat. Sci.*, **86** (2): 95 pp.
- STARÝ, P., LYON, J. P., LECLANT, F. 1988. Post-colonisation host range of *Lysiphlebus testaceipes* in the Mediterranean area (Hymenoptera, Aphidiidae). *Acta Entomol. Bohemoslov.*, **85**: 1-11.
- SUAY, V. A., MICHELENA, J. M. 1998. Afidiinos (Hymenoptera: Braconidae) y relaciones pulgón-parasitoid en la provincia de Valencia, 1998. *Bol. Asoc. Esp. Ent.*, **22** (3-4): 75-90.
- TANIGOSHI, L. K., PIKE, K. S.; MILLER, R. H., MILLER, T. D., ALLISON, D. 1995. Search for, and release of parasitoids for the biological control of Russian wheat aphid in Washington State (USA). *Agric. Ecosyst. Environ.*, **52**: 25-30.

(Recepción: 29 septiembre 2011)

(Aceptación: 13 febrero 2012)

Evolución global y por colonias de los pulgones (Hemiptera, Aphididae) y sus enemigos naturales en clementinos y limoneros valencianos

A. HERMOSO DE MENDOZA, R. ESTEVE, J. M. LLORENS, J. M. MICHELENA

Entre los años 2006 y 2010, en las principales comarcas cítricas valencianas, se ha estudiado mediante conteos semanales la evolución anual de los pulgones (y la de sus enemigos naturales) que atacan a clementinos y limoneros. La prospección en clementinos se ha realizado durante 2006-2008 en tres campos de las zonas valencianas central y septentrional, estudiándose también la duración y evolución individual de numerosas colonias de pulgones, atacados o no por parasitoides y depredadores. La de limoneros se ha efectuado en 2009 y 2010 en un campo de la zona meridional.

La especie afídica predominante sobre ambos cítricos ha sido *Aphis spiraecola* Patch, acompañada en el caso de clementinos por *Aphis gossypii* Glover. Estos pulgones pueden presentar en clementinos tres máximos anuales (en primavera, verano y otoño), aunque el más constante y elevado es el de primavera, que se da en la primera quincena de mayo. En limonero sólo se observa un máximo, el de primavera, también en la primera quincena de mayo. La evolución de los enemigos naturales es paralela a la de los pulgones o con un ligero retraso.

La duración media de las colonias sobre clementino, tanto de *A. spiraecola* como de *A. gossypii*, disminuye de la primavera al verano y vuelve a aumentar en otoño: de unas 4 ó 5 semanas como media en abril-mayo pasan a durar 2 ó 3 semanas en junio-julio, y de nuevo 4 ó 5 semanas en septiembre-octubre.

En toda colonia de pulgones el estado más abundante es el de ninfa, y tanto el máximo de áfidos alados como el de enemigos naturales tienen lugar hacia el final de la duración de la colonia.

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

R. ESTEVE, J. M. LLORENS. Secció de Sanitat Vegetal, Professor Manuel Sala 2, 03003 Alacant.

J. M. MICHELENA. Institut Cavanilles de Biodiversitat i Biologia Evolutiva, Universitat de València, Apartat 2085, 46071 València.

Palabras clave: áfidos, *Aphis spiraecola*, *Aphis gossypii*, dinámica poblacional.

INTRODUCCIÓN

La fauna afídica de los cítricos españoles ha sido estudiada por diversos autores, tanto en su composición (CARRERO, 1968; MELIÀ, 1978, 1982, 1989, 2003; HERMOSO DE MENDOZA, 1982; HERMOSO DE MENDOZA *et al.*, 1986, 1997; HERMOSO DE MENDOZA y MORENO, 1989) como en su evolución (LIMÓN *et al.*,

1972; MELIÀ, 1978, 1984, 1989, 1993, 1995, 2008; HERMOSO DE MENDOZA *et al.*, 1986, 1997; HERMOSO DE MENDOZA y MORENO, 1989), y también en sus enemigos naturales, bien sean parasitoides (QUILLIS, 1930; CHALVER, 1973; MICHELENA y GONZÁLEZ, 1987; MICHELENA y OLTRA, 1987; GONZÁLEZ y MICHELENA, 1987, 1989; MICHELENA *et al.*, 1994, 2004; MICHELENA y SANCHIS, 1997;

SUAY y MICHELENA, 1997, 1998), bien depredadores (ROJO, 1995; URBANEJA *et al.*, 2005; ALVIS DÁVILA y GARCIA MARÍ, 2006), bien de ambos tipos (LLORENS, 1990; BELLIURE, 2002; SASTRE VEGA, 2007; BELLIURE *et al.*, 2008).

Parte de estos trabajos se refieren a clementino (*Citrus clementina* Hort. *ex* Tan.), que es la especie cítrica más atacada por los pulgones, pero el seguimiento conjunto de los áfidos y sus enemigos naturales en cítricos sólo ha sido estudiado puntualmente (y pocas veces en clementinos) por MELIÀ (1978) en la provincia de Castellón, por MICHELENA y SANCHIS (1997) en Pego (Alicante), y por BELLIURE y HERMOSO DE MENDOZA (2000) y SASTRE VEGA (2007) en la provincia de Valencia. Por esta razón, los autores del presente trabajo iniciaron en su día un estudio de la evolución conjunta de pulgones y sus enemigos sobre clementinos en varias localidades valencianas, cuyos primeros resultados se han publicado recientemente (HERMOSO DE MENDOZA *et al.*, 2008), pero que hasta ahora no se había completado.

Por otro lado, aún son menos los trabajos que se hayan centrado en limoneros (*Citrus limon* (L.) Burm. f.), y esta carencia es importante debido a la reciente introducción del principal vector del virus de la tristeza de los cítricos, el pulgón *Toxoptera citricida* (Kirkaldy), en el noroeste de la Península Ibérica (ILHARCO *et al.*, 2005), donde la especie cítrica dominante es el limonero, lo que aconseja estudiar la evolución de los pulgones y sus enemigos en los limoneros valencianos en previsión de la posible invasión del vector.

Además, en los trabajos previos citados se consideraba el conjunto de una parcela o de un grupo de brotes, sin llegar a estudiar la evolución individual de cada colonia afídica y sus enemigos, por lo que no se conocen las diferencias que puedan presentar estas colonias en cuanto a su composición o su duración en las distintas épocas del año.

Así pues, los objetivos de este trabajo son, en primer lugar, acabar de establecer el paradigma de la evolución temporal de pulgones y sus enemigos de manera global en los campos valencianos de clementinos y am-

pliarlo a la que presentan en limoneros y, en segundo lugar, determinar el comportamiento en clementinos de las colonias individuales de pulgones, con sus enemigos naturales, durante las diferentes épocas del año.

MATERIAL Y MÉTODOS

Tanto la evolución global como la de las colonias individuales de pulgones y sus enemigos naturales en clementino se han estudiado entre 2006 y 2008 en tres parcelas de esta especie cítrica situadas en tres localidades de las principales comarcas tricolores del centro y del norte valencianos: L'Alcúdia (La Ribera Alta) en 2006, Bétera (El Camp de Túria) en 2007 y Vila-real (La Plana Baixa) en 2008. La lista de enemigos de pulgones encontrados en ellas se ha completado con los que ha proporcionado el Plan de Vigilancia Fitosanitaria Cítrica de la Generalitat Valenciana en las prospecciones semanales que ha ido realizando sobre diversas especies cítricas durante los años 2006-2008 en 100 puntos repartidos por todas las zonas cítricas valencianas (a razón de 50 puntos cada semana, que se repetían quincenalmente). En ocasiones, las muestras contenían estados inmaduros, no identificables, de parasitoides o depredadores, por lo que se dejaban evolucionar en laboratorio hasta que emergía el adulto y se identificaba entonces la especie.

La evolución temporal de pulgones y sus enemigos en limonero se ha seguido durante 2009 y 2010 en una parcela de este cítrico localizada en Elx (en la comarca meridional valenciana del Baix Vinalopó).

La evolución global de los pulgones y sus enemigos, tanto en las tres parcelas de clementinos como en la de limoneros, se ha determinado por medio de muestreos semanales de entre 10 y 30 árboles elegidos al azar: en la copa de cada árbol se colocaba a media altura un aro de 0,25 m² sobre la periferia del follaje (en orientación obtenida alternando los distintos puntos cardinales entre los diferentes árboles) y se contaba el número de individuos que contuviese de pulgones

(separados por especies) y de enemigos naturales (separados por familias o, en su caso, por especies). Así se ha podido obtener la evolución en el tiempo del número de pulgones y de sus enemigos por m² de copa de árbol correspondiente a cada parcela.

Para determinar la evolución de pulgones y enemigos en colonias individuales de los clementinos se fueron señalando en los árboles de las parcelas de la experiencia numerosas colonias incipientes, una por una, por medio de cintas y arandelas, y semanalmente se seguía su desarrollo contando en cada colonia el número de adultos ápteros, de alados y de ninfas de cada especie afídica, así como el de cada uno de los enemigos naturales presentes. Ello ha permitido obtener la evolución temporal de cada colonia desde su inicio hasta su finalización.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las especies afídicas mayoritarias que se han observado en los clementinos han sido,

con gran diferencia con respecto al resto, *Aphis spiraecola* Patch y *Aphis gossypii* Glover, cosa habitual en los cítricos valencianos desde la década de 1970 para la primera especie y desde la de 1980 para ambas (MELIÀ, 1982, 1989; HERMOSO DE MENDOZA *et al.*, 1986, 1997; HERMOSO DE MENDOZA y MORENO, 1989). En los limoneros del sur ha predominado de manera absoluta *A. spiraecola* aunque también, pero en mucha menor cantidad, ha aparecido algo de *Toxoptera aurantii* (Boyer de Fonscolombe), especie que no se ha observado en el norte, junto con un poco de *A. gossypii*.

La Figura 1 muestra la evolución global, en cada parcela de clementinos, del número de individuos por m² de copa de árbol correspondiente a las dos especies allí encontradas, durante los tres años que se han estudiado: *A. gossypii* suele empezar predominando al principio del año, pero generalmente es superada después por *A. spiraecola*, que en conjunto es la especie dominante.

En esta misma Figura 1 se observa que en clementinos *A. spiraecola* presentó, según los datos analizados, tres máximos relativos

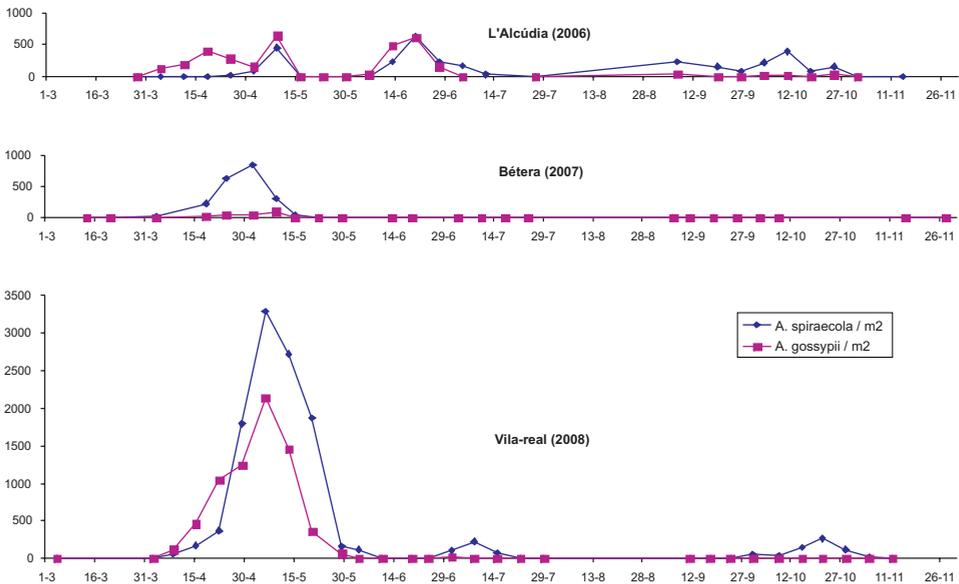


Figura 1. Evolución anual del número de pulgones por m² de copa de árbol, correspondiente a cada especie afídica, observado en tres parcelas de clementinos durante 2006-2008

anuales, uno de ellos (casi siempre el más alto y a veces el único) en la primera quincena de mayo, otro en junio-julio y el último alrededor de octubre, mientras que *A. gossypii* puede seguir un modelo semejante aunque también suele presentar los máximos de verano y de otoño inapreciables. Este comportamiento coincide en líneas generales con los dos o tres máximos anuales que señalan para los pulgones de los cítricos diversos autores (LIMÓN *et al.*, 1972; MELIÀ, 1978, 1984, 1989, 1993, 1995, 2008; HERMOSO DE MENDOZA *et al.*, 1986; HERMOSO DE MENDOZA y MORENO, 1989). Estos trabajos previos han utilizado dos tipos de muestreo para obtener los máximos anuales de pulgones de cítricos: el muestreo directo de árboles (que es el usado en el presente trabajo) y las trampas de captura de pulgones alados, y en algunos de los trabajos se han utilizado ambos métodos. La fecha del máximo de primavera aquí observada coincide con la de la mayoría de resultados obtenidos por los trabajos que se realizaron muestreando los árboles, aunque no con la de aquellos en los que se utilizaron trampas de captura de pulgones alados. Esto se debe a que el máximo de alados suele darse un par de semanas más tarde que el de todos los estadios en conjunto (MELIÀ, 1989, 1995).

Los enemigos naturales encontrados, tanto en las parcelas de clementinos de la experiencia como en las muestras aportadas por el Plan de Vigilancia Fitosanitaria Citrícola de la Generalitat Valenciana (procedentes de sus 100 puntos de muestreo de diversas especies cítricas), figuran en el Cuadro 1, junto con las especies de pulgones que se han observado siendo atacadas por cada enemigo; la mayoría de estos parasitoides y depredadores son habituales entre los enemigos de pulgones de los cítricos valencianos. La evolución temporal, para los tres años del estudio en las parcelas de clementinos, del número de individuos por m² de copa correspondiente a cada grupo de enemigos, se indica en la Figura 2, en donde se puede ver que el número de enemigos no es muy alto en comparación

con el de pulgones (de la Figura 1) y que, como es lógico, los máximos de los enemigos naturales coinciden en el tiempo, o bien se dan con un ligero retraso, con respecto a los de los pulgones. Además se observa que el enemigo natural más abundante, estando homogéneamente repartido en las parcelas, es el cecidómido *Aphidoletes aphidimyza* Rondani, mientras que en números absolutos, aunque más localizada, lo son los coccinélidos del género *Scymnus*.

En la Figura 3 se observa la evolución temporal, durante los dos años de la experiencia en la parcela de limoneros de Elx, de los pulgones y sus enemigos naturales. En este caso los áfidos solamente presentan un máximo anual, coincidente con el de primavera de los clementinos en que también ocurre durante la primera quincena de mayo. Análogamente, los enemigos naturales (que concuerdan básicamente con los encontrados sobre pulgones en los otros cítricos) son poco abundantes y tienen un máximo coincidente o ligeramente retrasado con respecto al de pulgones.

De las 148 colonias de pulgones sobre clementino cuyo estudio se ha iniciado durante los tres años de la experiencia han concluido su ciclo 81, pero sólo 37 lo han hecho de manera tan completa como para proporcionar información aprovechable. De éstas, 10 han correspondido a l'Alcúdia (en 2006), 9 a Bétera (en 2007) y 18 a Vila-real (en 2008), repartiéndose por especies afídicas en 25 de *A. spiraecola* y 12 de *A. gossypii*.

En el Cuadro 2 figura la duración de cada una de las 37 colonias completas, especificándose además la localidad, el año, el mes, la especie afídica y la presencia de enemigos naturales en cada colonia. En base a estos datos no parecen observarse diferencias de duración entre las colonias de *A. spiraecola* y las de *A. gossypii*, ni tampoco entre las que presentan enemigos y las que no, aunque esto último puede deberse a que el grado de parasitismo y depredación no ha sido excesivamente alto.

Cuadro 1. Enemigos naturales de pulgones de cítricos observados durante 2006-2008 en 3 parcelas de clementinos y en 100 puntos de muestreo de diversas especies cítricas, indicando las especies afídicas huéspedes

Especies de enemigos	Parcelas de clementinos	Puntos de muestreo	Pulgones huéspedes
ACARI TROMBIDIIDAE Allotrombium pulvinum		X	Aphis spiraeicola
HYM. APHIDIINAE Aphidius matricariae		X	Myzus persicae
Lysiphlebus testaceipes		X	Aphis gossypii
Trioxys acalephae		X	Aphis spiraeicola
Trioxys angelicae		X	Aphis spiraeicola
DIPT. CECIDOMYIIDAE Aphidoletes aphidimyza	X	X	Aphis spiraeicola Aphis gossypii
DIPT. SYRPHIDAE Eupeodes corollae	X		—
NEUR. CHRYSOPIDAE Chrysoperla carnea	X	X	Aphis spiraeicola
COL. COCCINELLIDAE Coccinella septempunctata	X	X	Aphis spiraeicola
Propylea 14-punctata	X	X	Aphis gossypii Aphis spiraeicola Macrosiphum euphorbiae
Scymnus subvillosus	X	X	Aphis gossypii Aphis spiraeicola Macrosiphum euphorbiae
Scymnus interruptus	X		Aphis spiraeicola

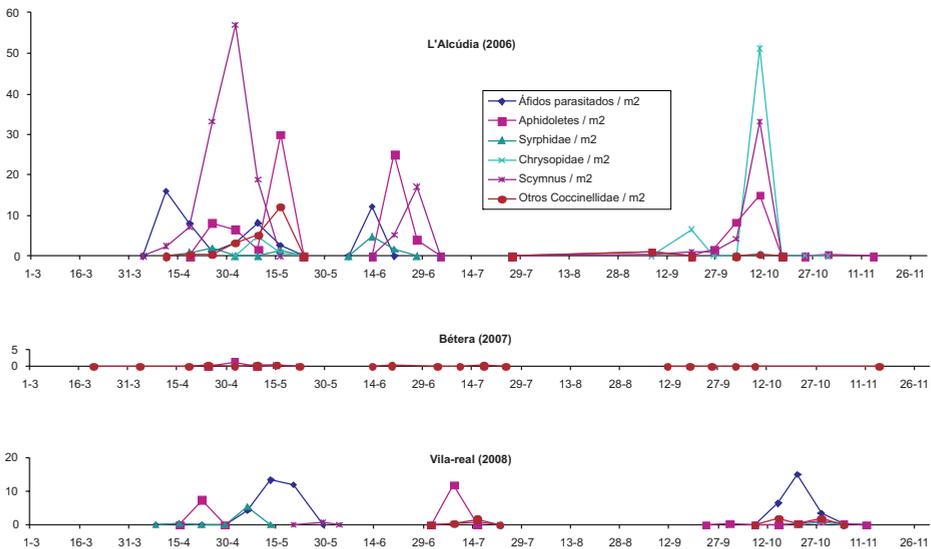


Figura 2. Evolución anual del número por m² de copa de árbol de los distintos grupos de enemigos naturales de pulgones observados en tres parcelas de clementinos durante 2006-2008

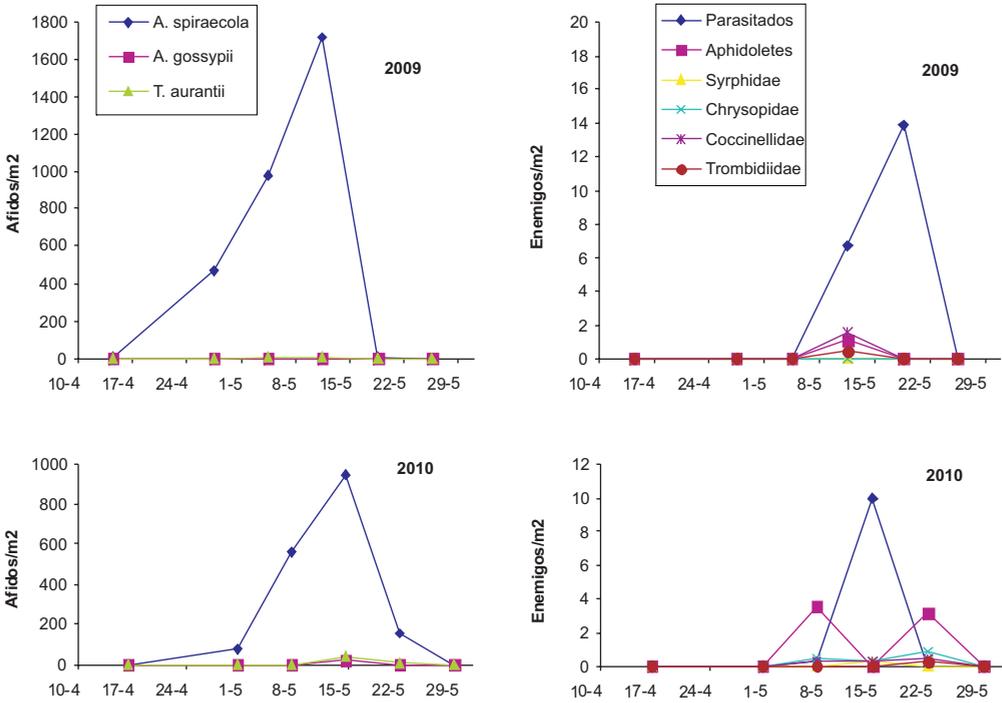


Figura 3. Evolución anual del número por m² de copa de árbol de las distintas especies afídicas y de sus enemigos naturales observados en la parcela de limoneros (Elx) durante 2009-2010

Por otro lado, en el Cuadro 2 también se observa la distinta duración de las colonias de pulgones según la época del año en que se desarrollan. En primavera (abril-mayo), duran tanto más cuanto más tempranas son: las iniciadas a primeros de abril duran más tiempo que las de mediados de abril, y éstas más que las de finales de abril; en conjunto, la duración media de las colonias de primavera está comprendida entre 4 y 5 semanas. En verano (junio-julio), las colonias duran como media de 2 a 3 semanas, y en otoño (septiembre-octubre), la duración media vuelve a ser de 4 a 5 semanas. Así pues, cuanto mayor es la temperatura menor es la duración de las colonias de pulgones, y esto se ha dado en todas las parcelas y años en que ha sido posible la comparación entre épocas.

Para observar cómo evoluciona cada colonia individual, y dado que no es factible

dibujar aquí las gráficas de las 37 colonias de desarrollo completo, se ha seleccionado una colonia representativa de cada uno de los tres años (y parcelas) estudiados. La Figura 4 plasma la evolución de una colonia de primavera en l'Alcúdia (2006), correspondiente al pulgón *Aphis gossypii* con diversos enemigos naturales. La colonia de la Figura 5, también de primavera pero en Bétera (2007), es de *Aphis spiraecola* sin enemigos. Y la Figura 6 representa una colonia de otoño en Vila-real (2008), de *Aphis spiraecola* con enemigos. En las colonias con enemigos naturales, el número de individuos de los pulgones sanos (ápteros, alados y ninfas) se ha representado a una escala diferente de la utilizada para el número de individuos de sus enemigos (pulgones parasitados, *Aphidoletes*, sírfidos, *Scymnus* y otros coccinélidos).

Cuadro 2. Duración (en semanas) de 37 colonias de pulgones con ciclo completo, en tres parcelas de clementinos durante 2006-2008, según la época del año, la especie afídica y la presencia de enemigos naturales

Localidad (año)	Meses					
	IV-V				VI-VII	IX-X
	p.IV-V	m.IV-V	f.IV-V	Total IV-V		
L'Alcúdia (2006)				As-: 3	Ag+: 3	As+: 4
				Ag+: 5	As-: 2	As+: >4
				Ag+: 3	As+: 2	As+: 3
				Ag+: 4		
			3/5 (4)	2/3	3/>4 (4)	
Bétera (2007)	As-: 5	As+: 3				
		As-: 4				
		As-: 4				
		As+: 4				
		Ag+: 4				
		As-: 3				
		As-: 4				
		Ag-: 4				
	5	3/4		3/5 (4)		
Vila-real (2008)	As+: 9	Ag+: 6	As+: 5		As+: 3	As+: 5
	As-: 7	Ag-: 5	Ag-: 4		As-: 2	
		As-: 7	As-: 5			
		As-: 6	As-: 6			
			Ag-: 3			
			Ag+: 4			
			As+: 4			
			Ag+: 4			
			As-: 6			
		7/9	5/7	3/6 (4/5)	3/9 (5/6)	2/3
Conjunto			(4/5)	(2/3)	(4/5)	

IV: abril; V: mayo; VI: junio; VII: julio; IX: septiembre; X: octubre; p: principios; m: mediados; f: finales; As: colonia de *Aphis spirae-cola*; Ag: colonia de *Aphis gossypii*; +: presencia de enemigos naturales; -: ausencia de enemigos naturales; 3/6 (4/5): intervalo de duración de las colonias (y **duración más habitual**) en semanas.

En las Figuras 4-6 se ve que el estado de ninfa es el más abundante de toda colonia de pulgones y que por ello determina la evolución general de la colonia, con un ascenso, un máximo y un declive sucesivos. También se observa que el máximo de áfidos alados se da siempre al final de la duración de la colonia, cuando el endurecimiento de la hoja o la aglomeración de individuos hacen que las ninfas den lugar a adultos dotados de alas para poder así emigrar a otros brotes tiernos

de los que alimentarse. Y también se ve en estas figuras que al empezar a proliferar los enemigos naturales comienza siempre a descender el número de pulgones, hecho ya constatado por BELLIURE y HERMOSO DE MENDOZA (2000) para *A. gossypii* y sus parasitoides (lo que les llevó a recomendar no tratar con aficidas, aunque se hubiera alcanzado el nivel de daño económico, si se observaba que empezaba a aumentar el parasitismo).

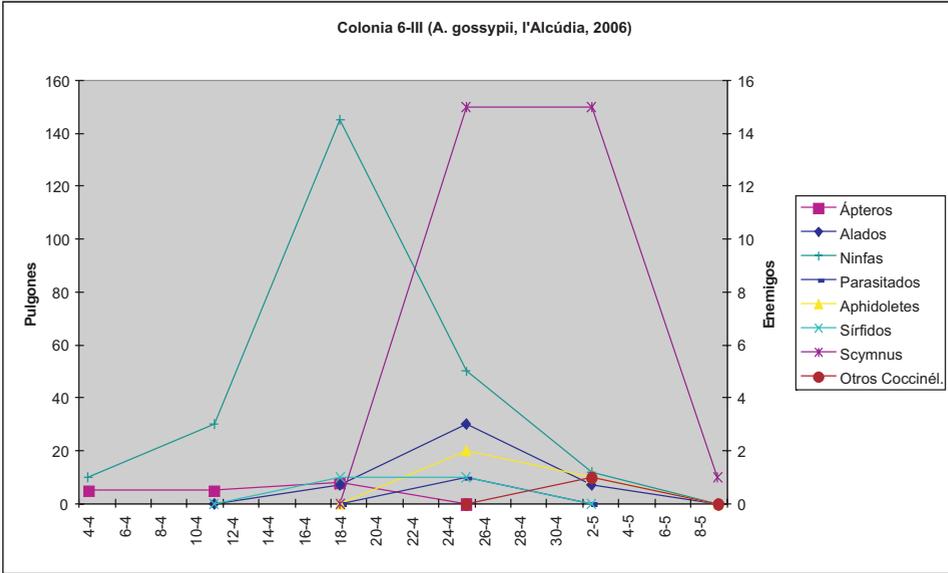


Figura 4. Evolución temporal del número de ejemplares de los distintos estadios de pulgón y de los diferentes grupos de enemigos naturales que los han atacado, en una colonia de *Aphis gossypii* en primavera de 2006 en clementino

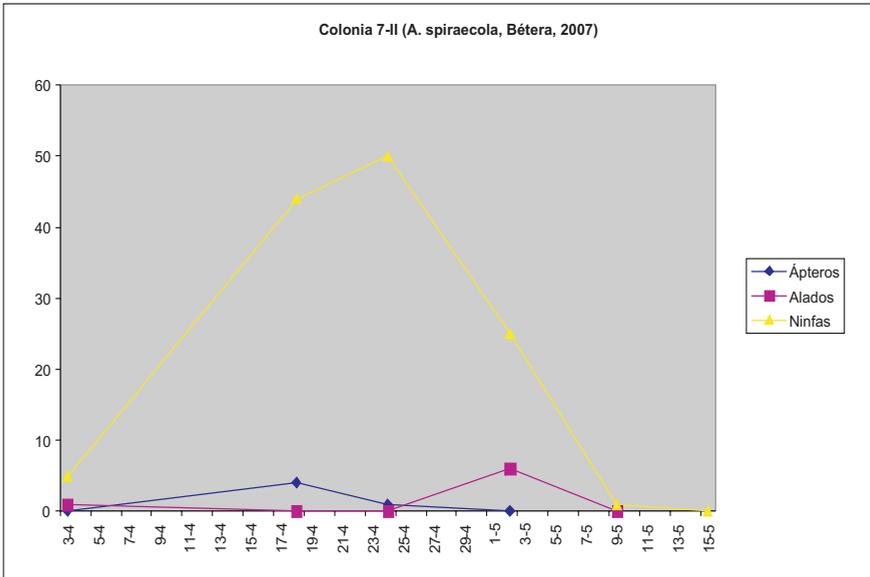


Figura 5. Evolución temporal del número de ejemplares de los distintos estadios de pulgón, en una colonia de *Aphis spiraeicola* sin enemigos naturales en primavera de 2007 en clementino

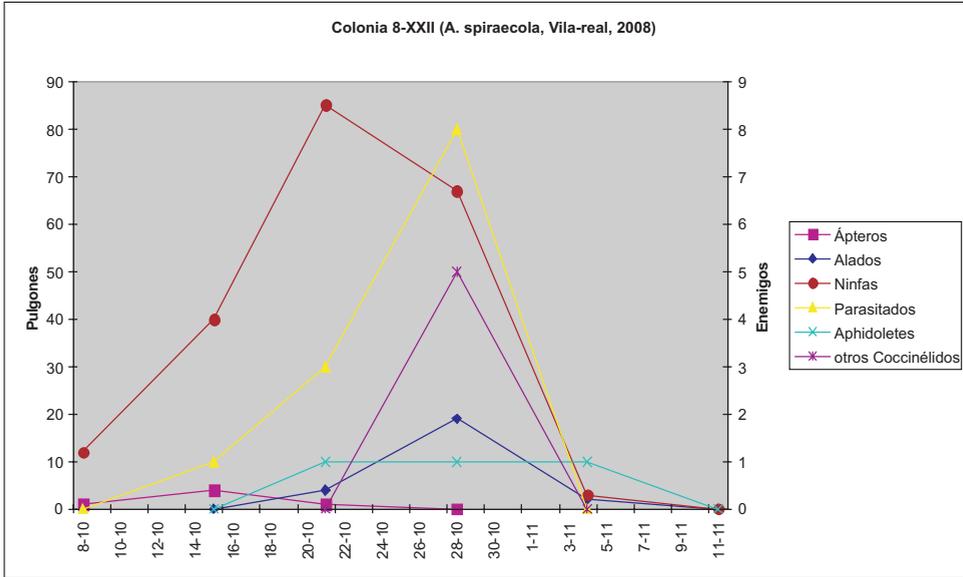


Figura 6. Evolución temporal del número de ejemplares de los distintos estadios de pulgón y de los diferentes grupos de enemigos naturales que los han atacado, en una colonia de *Aphis spiraecola* en otoño de 2008 en clementino

AGRADECIMIENTOS

Queremos expresar nuestro reconocimiento a M. Ángeles Marcos, Santos Rojo, Miguel Carles Tolrà y Arturo Goldarazena por sus identificaciones de depredadores; a Vicente Borràs, Martín Llavador y José Pascual Moner por dejarnos sus parcelas; a Fe-

rnan Garcia Marí y el personal del Plan de Vigilancia Fitosanitaria Citrícola (Generalitat Valenciana) por sus aportaciones de enemigos naturales; a Alejandro Tena por su ayuda en la representación de algunas gráficas; y al INIA (proyectos RTA2005-00095-00-00 y RTA2008-00067-C02-01) por subvencionar estas investigaciones.

ABSTRACT

HERMOSO DE MENDOZA, A., R. ESTEVE, J. M. LLORENS, J. M. MICHELENA. 2012. Evolution, as a whole and by colonies, of the aphids (Hemiptera, Aphididae) and their natural enemies on Valencian clementine and lemon trees. *Bol. San. Veg. Plagas*, **38**: 61-71.

Annual evolution of aphids and their natural enemies attacking clementine and lemon trees has been studied from 2006 to 2010 in the main Valencian citrus districts using weekly surveys. Clementine survey has been done from 2006 to 2008 in three orchards from northern and central Valencian zones, where individual duration and evolution of numerous colonies of aphids, attacked or not by parasitoids and predators, have been determined too. Lemon survey has been done from 2009 to 2010 in an orchard from the southern zone.

The predominant aphid species on both citrus has been *Aphis spiraecola* Patch, with *Aphis gossypii* Glover too in the case of clementine. These aphids can present on clementine three annual peaks (in spring, summer and autumn), being the most constant and highest the spring peak, in the first fortnight of May. On lemon, only a peak (in

spring, in the first fortnight of May too) is observed. Their natural enemies have similar, or lightly retarded, population dynamics.

The mean duration of the colonies on clementine trees, as well for *A. spiraecola* as for *A. gossypii*, decreases from spring to summer and increases in autumn again: about 4 or 5 weeks in April-May, 2 or 3 weeks in June-July, and again 4 or 5 weeks in September-October.

Nymphs are the most abundant stage of every aphid colony, and both maxima of alate aphids and natural enemies occur toward the end of the colony's time.

Key words: aphids, *Aphis spiraecola*, *Aphis gossypii*, population dynamics.

REFERENCIAS

- ALVIS DÁVILA, L., GARCIA MARÍ, F., 2006. Identificación y abundancia de artrópodos depredadores en los cultivos de cítricos valencianos. *Levante Agrícola*, **45** (380): 132-136.
- BELLIURE, B., 2002. Variables implicadas en el manejo integrado de áfidos. *Tesis doctoral*. Universidad de Valencia.
- BELLIURE, B., HERMOSO DE MENDOZA, A., 2000. Dinámica poblacional de *Aphis gossypii* (Hemiptera, Aphididae) y su parasitismo en clementinos. *Boletín de Sanidad Vegetal. Plagas*, **26**: 701-708.
- BELLIURE, B., PÉREZ, P., MARCOS, M.A., MICHELENA, J.M., HERMOSO DE MENDOZA, A., 2008. Control biológico de pulgones. En: Jacas, J. A., Urbaneja, A. (Eds.), *Control biológico de plagas agrícolas*. Phytoma España, Valencia, pp. 209-238.
- CARRERO, J. M., 1968. Primera relación sobre la fauna afídica de los agríos en España. *Boletín Informativo del Servicio de Plagas del Campo*, **54**: 6-11.
- CHALVER, R., 1973. La familia Aphidiidae (Ins. Him.) en España. *Institución Alfonso el Magnánimo*, Valencia, 312 pp.
- GONZÁLEZ, P., MICHELENA, J. M., 1987. Relaciones parasitoide-pulgón en la provincia de Alicante. *Boletín de la Asociación española de Entomología*, **11**: 249-258.
- GONZÁLEZ, P., MICHELENA, J. M., 1989. Pulgones (Homoptera, Aphididae) sobre plantas cultivadas en la provincia de Alicante. *Comunicaciones INIA. Serie Protección Vegetal*, **29**: 29 pp.
- HERMOSO DE MENDOZA, A., 1982. Pulgones (Homoptera, Aphidinea) dels cítrics del País Valencià. *Anales INIA. Serie Agrícola*, **21**: 157-174.
- HERMOSO DE MENDOZA, A., ÁLVAREZ, A., MICHELENA, J. M., GONZÁLEZ, P., CAMBRA, M., 2008. Dispersión, biología y enemigos naturales de *Toxoptera citricida* (Kirkaldy) (Hemiptera, Aphididae) en España. *Boletín de Sanidad Vegetal. Plagas*, **34**: 77-87.
- HERMOSO DE MENDOZA, A., FUERTES, C., SERRA, J., 1986. Proporciones relativas y gráficas de vuelo de pulgones (Homoptera, Aphidinea) en los cítricos españoles. *Investigación Agraria: Producción y Protección Vegetales*, **1**: 393-408.
- HERMOSO DE MENDOZA, A., MORENO, P., 1989. Cambios cuantitativos en la fauna afídica de los cítricos valencianos. *Boletín de Sanidad Vegetal. Plagas*, **15** (2) 139-142.
- HERMOSO DE MENDOZA, A., PÉREZ, E., REAL, V., 1997. Composición y evolución de la fauna afídica (Homoptera, Aphidinea) de los cítricos valencianos. *Boletín de Sanidad Vegetal. Plagas*, **23** (3): 363-375.
- ILHARCO, F. A., SOUSA-SILVA, C. R., ÁLVAREZ ÁLVAREZ, A., 2005. First report on *Toxoptera citricida* (Kirkaldy) in Spain and continental Portugal (Homoptera, Aphidoidea). *Agronomia Lusitana*, **51** (1): 19-21.
- LIMÓN, F., BLASCO, J., VICENTE, S., VERNIERE, C., 1972. Ciclos biológicos de algunas plagas y enfermedades del naranjo. *Boletín Informativo de Plagas*, **98**, 19-40.
- LLORENS, J. M., 1990. Homoptera II. Pulgones de los cítricos y su control biológico. *Pisa Ediciones*, Alicante, 170 pp.
- MELIÀ, A., 1978. Investigación del suborden Aphidinea en la provincia de Castellón sobre plantas de interés agrícola. *Tesis doctoral*. ETSIA Valencia.
- MELIÀ, A., 1982. Prospección de pulgones (Homoptera, Aphidoidea) sobre cítricos en España. *Boletín del Servicio de Plagas*, **8**: 159-168.
- MELIÀ, A., 1984. Evolución estacional de *Myzus persicae* (Sulz.) (Homoptera, Aphidoidea) en relación a los cítricos. *Boletín del Servicio de Plagas*, **10**, 223-237.
- MELIÀ, A., 1989. Utilización de trampas amarillas en el control de los pulgones (Homoptera, Aphididae) de los cítricos. *Boletín de Sanidad Vegetal. Plagas*, **15** (2): 175-185.
- MELIÀ, A., 1993. Evolución poblacional de *Toxoptera aurantii* (Boyer de Fonscolombe) (Homoptera: Aphididae) en los últimos quince años y su relación a la aparición de *Lysiphlebus testaceipes* (Cresson) (Hymenoptera: Aphidiidae). *Boletín de Sanidad Vegetal. Plagas*, **19**: 609-617.
- MELIÀ, A., 1995. Muestreo de poblaciones y actividad de vuelo de *Aphis frangulae gossypii* Glover (Homoptera, Aphididae) y otros pulgones sobre cítricos en Castellón. *Boletín de Sanidad Vegetal. Plagas*, **21**: 601-610.
- MELIÀ, A., 2003. Estudio faunístico de los pulgones (Homoptera: Aphididae) de Castellón. *Fundación Caja Castellón-Bancaja*, Castellón, 240 pp.
- MELIÀ, A., 2008. Implicaciones agrónomicas de los pulgones (Hemiptera: Aphididae) de Castellón. *Innovació digital*, Castelló, 234 pp.

- MICHELENA, J. M., GONZÁLEZ, P., 1987. Contribución al conocimiento de la familia Aphidiidae en España. I. Aphidius Nees. *Eos*, **64**: 115-131.
- MICHELENA, J. M., GONZÁLEZ, P., SOLER, E., 2004. Parasitoides afidiinos (Hymenoptera, Braconidae, Aphidiinae) de pulgones de cultivos agrícolas en la Comunidad Valenciana. *Boletín de Sanidad Vegetal. Plagas*, **30**: 317-326.
- MICHELENA, J. M., OLTRA, M. T., 1987. Contribución al conocimiento de los Aphidiidae en España. II. Géneros Ephedrus, Praon, Adialytus, Lysiphlebus, Diaretiella, Lipolexis, Trioxyx. *Boletín de la Asociación española de Entomología*, **11**: 61-68.
- MICHELENA, J. M., SANCHIS, A., 1997. Evolución del parasitismo y fauna útil sobre pulgones en una parcela de cítricos. *Boletín de Sanidad Vegetal. Plagas*, **23**: 241-255.
- MICHELENA, J. M., SANCHIS, A., GONZÁLEZ, P., 1994. Afidiinos sobre pulgones de frutales en la Comunidad Valenciana. *Boletín de Sanidad Vegetal. Plagas*, **20**: 465-470.
- QUILIS, M., 1930. Los parásitos de los pulgones. Dos nuevas especies de Aphidius. *Boletín de Patología vegetal y Entomología Agrícola*, **4**: 49-64.
- ROJO, S., 1995. Biología de los sírfidos afidófagos (Diptera, Syrphidae) presentes en cultivos hortofrutícolas mediterráneos. Implicaciones en el control biológico de pulgones (Homoptera, Aphididae). *Tesis doctoral*. Universidad de Alicante.
- SASTRE VEGA, M., 2007. Influencia del manejo de la cubierta vegetal en la población de áfidos y su fauna asociada en cítricos. *Trabajo final de carrera (Ingeniería Agrónoma)*. Universidad Miguel Hernández. EPS Orihuela.
- SUAY, V. A., MICHELENA, J. M., 1997. Dispersión de *Lysiphlebus testaceipes* (Cresson, 1880) (Hymenoptera, Braconidae, Aphidiinae) y rango de hospedadores en Valencia. *Zoologica Baetica*, **8**: 111-121.
- SUAY, V. A., MICHELENA, J. M., 1998. Afidiinos (Hymenoptera: Braconidae) y relaciones pulgón-parasitoide en la provincia de Valencia. *Boletín de la Asociación española de Entomología*, **22** (3-4): 75-90.
- URBANEJA, A., RIPOLLÉS, J. L., ABAD, R., CALVO, J., VANACLOCHA, P., TORTOSA, D., JACAS, J. A., CASTAÑERA, P., 2005. Importancia de los artrópodos depredadores de insectos y ácaros en España. *Boletín de Sanidad Vegetal. Plagas*, **31**: 209-223.

Recepción: (10 noviembre 2011)

Aceptación: (13 febrero 2012)

Fitoseidos en los viñedos de la denominación Vino de Calidad de Cangas (Asturias)

M. MIÑARRO, S. KREITER

El viñedo en Asturias se encuentra en la actualidad en fase de recuperación y modernización, procesos apoyados en gran medida por el reconocimiento de la denominación Vino de Calidad de Cangas. En ese contexto, y dado que los ácaros fitófagos pueden ser un problema fitosanitario importante en este cultivo, en 2006 y 2008 se realizó un estudio para conocer la situación de las poblaciones de los ácaros depredadores de la familia Phytoseiidae en estos viñedos. Se identificaron un total de 734 fitoseidos, que pertenecieron a dos especies: *Typhlodromus pyri* Scheuten, que fue la especie más abundante (91%), y *Phytoseius finitimus* Ribaga (9%). Ambas especies son comunes en viñedos. Se registraron importantes diferencias entre viñedos tanto en el número de individuos encontrados como en la distribución de especies. Además, hubo una segregación notable de las especies según el tipo de variedad: mientras que *T. pyri* apareció indistintamente en todas las variedades, *P. finitimus* mostró una acusada preferencia por las variedades de hojas pilosas. La abundancia de individuos dependió tanto del año como de la fecha en que se realizaron los muestreos. Se confirma la presencia de poblaciones de fitoseidos en los viñedos del Vino de Calidad de Cangas que podrían servir de base para regular de manera natural las poblaciones de ácaros fitófagos.

M. MIÑARRO. Servicio Regional de Investigación y Desarrollo Agroalimentario (SERIDA). Ctra. de Oviedo s/n. Apdo. 13. 33300 Villaviciosa. Asturias. mminarro@serida.org
S. KREITER. Montpellier SupAgro, Unité Mixte de Recherche Centre de Biologie pour la Gestion des Populations INRA/ IRD/ CIRAD/ SupAgro, Campus International de Baillarguet, CS 30016, 34988 Montpellier-sur-Lez cedex. Francia. kreiter@supagro.inra.fr

Palabras clave: *Typhlodromus pyri*, *Phytoseius finitimus*, vid, Acari, Phytoseiidae.

INTRODUCCIÓN

En la actualidad el cultivo del viñedo en Asturias se circunscribe al sudoeste de la región, donde se dan unas condiciones microclimáticas particulares (menor pluviometría y mayor insolación que el resto de la región) que favorecen el desarrollo de la vid (LOUREIRO y SUÁREZ, 2006). A mediados del siglo XIX el cultivo del viñedo ocupaba casi 5.500 ha (FEO, 1986), aunque la entrada de la filoxera, el desarrollo minero y la despoblación rural contribuyeron de un modo

decisivo a la casi desaparición del cultivo. En los últimos 20 años la viticultura asturiana ha sufrido un repunte que ha llevado a la puesta en valor del cultivo mediante la denominación “Vino de Calidad de Cangas” (BOPA, 2008). Actualmente se cultivan unas 120 ha de viñedo que se ubican en siete concejos, siendo Cangas de Narcea el más grande y el que da nombre a estos vinos. Los viñedos se encuentran en las laderas pedregosas de las montañas, generalmente de orientación sur (LOUREIRO y SUÁREZ, 2006). Son también parcelas que raramente alcanzan la hectárea,

y en las que se mezclan numerosas variedades. Un trabajo reciente encaminado a conocer los recursos genéticos de vid en Asturias

ha confirmado la presencia de, al menos, 40 variedades, varias de las cuáles son autóctonas (MORENO-SANZ *et al.*, 2011).



Figura 1. Los viñedos del Vino de Calidad de Cangas se ubican principalmente en las laderas de exposición sur

El cultivo de estos viñedos está sufriendo un proceso de modernización en el que resulta imprescindible el desarrollo de estrategias de control sostenible de plagas y enfermedades. En lo que se refiere a los ácaros, al menos seis especies producen pérdidas en los viñedos españoles: los tetránquidos *Panonychus ulmi* (Koch), *Tetranychus urticae* Koch y *Eotetranychus carpini* (Oudemans), el tenuipálpido *Brevipalpus lewisi* (McGregor) y los eriófidos *Colomerus vitis* (Pangenstecher) y *Calepitrimerus vitis* (Nalepa) (PÉREZ MORENO, 1997). El control biológico con fitoseidos (Acari: Phytoseiidae) es una estrategia alternativa al empleo de insecticidas para el manejo de ácaros. Para poder desarrollar con éxito este tipo de programas basados en el control biológico es imprescindible conocer en qué situación se encuentran las poblaciones tanto de los ácaros potencialmente dañinos como de sus depredadores (KREITER *et al.*, 2000).

Los estudios realizados para conocer las poblaciones de fitoseidos en viñedos de numerosas regiones españolas muestran una gran variación en la composición de especies (PÉREZ MORENO, 1997 y referencias; PÉREZ OTERO y MANSILLA VÁZQUEZ, 1997; PÉREZ OTERO *et al.*, 1999; DE LA IGLESIA *et al.*, 2007). Por otro lado, los estudios realizados en cultivos frutales de Asturias también demostraron que en una misma localidad existe una gran variabilidad en la composición y la estructura de las comunidades de fitoseidos según el hospedador sobre el que se desarrollen (MIÑARRO *et al.*, 2002; 2005). Esta considerable variabilidad pone de manifiesto la necesidad de realizar estudios locales sobre cultivos particulares.

Por todo ello, el objetivo de este trabajo fue la identificación de las especies de fitoseidos presentes en los viñedos de la denominación Vino de Calidad de Cangas y el estudio de su distribución espacio-temporal.

MATERIAL Y MÉTODOS

Los muestreos se llevaron a cabo durante los veranos de 2006 y 2008 en viñedos situados en las proximidades de Cangas del Narcea (43° 10' N, 6° 33' O), en el sudoeste de Asturias. En 2006 se muestrearon cinco viñedos (A, B, C, D y E) en cuatro ocasiones (1 de junio, 5 de julio, 7 de agosto y 26 de

septiembre) y en 2008, cuatro viñedos (A, C, D y E) en tres ocasiones (25 de junio, 30 de julio y 30 de septiembre). Los viñedos B, C, D y E tenían, al menos, 50 años de edad, estaban situados en laderas pedregosas y presentaban las variedades distribuidas al azar. La cobertura vegetal era muy escasa o prácticamente nula. El viñedo A era más joven, tenía las variedades distribuidas por líneas y



Figura 2. Viñedo B. Nótese la acusada pendiente que impide la mecanización de las labores



Figura 3. Detalle del viñedo E en el que se aprecia una cobertura vegetal escasa

estaba situado en un prado con una cobertura vegetal densa que era controlada por herbicidas en las líneas y mediante desbrozado en las calles. En la Tabla 1 se resumen las actuaciones fitosanitarias realizadas en cada viñedo durante los años de muestreo.

Entre las numerosas variedades plantadas en los viñedos de Cangas (MORENO-SANZ *et al.*, 2011), la variedad Mencía puede diferenciarse visualmente del resto porque el color verde de sus hojas es más claro y brillante y porque carece de pilosidad en el envés. El resto de variedades tienen abundante pilosidad y son más difíciles de diferenciar entre

sí, de manera particular cuando, como ya se comentó, en cuatro de los cinco viñedos aparecen mezcladas. Dado que resultaba factible diferenciar la variedad Mencía (lampiña) del resto (pilosas) y con el objetivo de estudiar un potencial efecto de la pilosidad de las hojas sobre los fitoseidos, se decidió que en cada viñedo y fecha de muestreo se tomarían dos muestras de hojas, una de la variedad Mencía y otra del resto de variedades. Para cada muestra se seleccionaron 15 cepas y de cada una se cogieron dos hojas de la zona media del pámpano. Cada muestra se introdujo en una bolsa de papel y éstas a su vez

Tabla 1. Actuaciones fitosanitarias en cada viñedo los dos años de muestreo

Viñedo	2006		2008	
	Fecha	Materia activa	Fecha	Materia activa
A	13 may	azufre	2 may	mancozeb
	25 may	mancozeb + metalaxil	8 may	mancozeb
	7 jun	azufre	17 may	cimoxanilo + folpet + fosetil al
	17 jun	cimoxanilo + mancozeb + azufre	30 may	cimoxanilo + folpet + fosetil al
	6 jul	iprovalicard + folpet + azufre	3 jun	mancozeb + metalaxil + azufre
	20 jul	cimoxanilo + oxiclورو cobre+ zineb + hexaconazol	14 jun	cimoxanilo + folpet + fosetil al + azufre
	28 jul	cimoxanilo + oxiclورو cobre+ zineb + captan + penconazol	28 jun	mancozeb + metalaxil + azufre
	6 ago	cimoxanilo + oxiclورو cobre+ zineb + captan + penconazol	13 jul	cimoxanilo + oxiclورو cobre+ zineb + azufre
	20 ago	oxiclورو cobre + ciprodinil + fludioxinil + azufre	29 jul	cimoxanilo + oxiclورو cobre+ zineb + azufre
	10 sep	oxiclورو cobre + ciprodinil + fludioxinil	1 ago	iprodiona
			16 ago	sulfato cuprocálcico + azufre
			6 sep	cimoxanilo + oxiclورو cobre+ zineb + iprodiona
	B	no facilitado		no facilitado
C	9-10 may	azufre	21 may	azoxystrobin
	2, 3, 7 jun	azoxystrobin + azufre	4 jun	azufre
	23, 26, 30 jun	iprovalicard + folpet + azufre	6 jun	cimoxanilo + folpet + fosetil al
	13-15, 21 jul	iprovalicard + folpet + azufre	24 jun	azoxystrobin + hexaconazol + metoxifenocida
	1,2,9 ago	cimoxanilo + oxiclورو cobre+ zineb + diclofuanida + tebuconazol	11 jul	iprovalicard + folpet + fenhexamid
	31 ago	ciprodinil + fludioxinil	1 ago	cimoxanilo + oxiclورو cobre+ fludioxinil + azufre
D	25 may	mancozeb + metalaxil + azufre	20 may	cimoxanilo + folpet + fosetil al
	1 jun	azufre	30 may	azoxystrobin + azufre
	17 jun	iprovalicard + folpet + azufre	3 jun	mancozeb + metalaxil + azufre
	20 jun	azufre	7 jun	azufre
	29 jun	azufre	18 jun	cimoxanilo + folpet + fosetil al + azufre
	7 jul	cimoxanilo + mancozeb + hexaconazol	3 jul	iprovalicard + folpet + fenhexamid + metoxifenocida
	25 jul	cimoxanilo + mancozeb + captan + penconazol	17 jul	oxiclورو cobre + azufre
	11 ago	cimoxanilo + oxiclورو cobre+ zineb + ciprodinil + fludioxinil	4 ago	oxiclورو cobre + azufre + fenhexamid + metoxifenocida
	4 sep	sulfato cuprocálcico + ciprodinil + fludioxinil	22 ago	oxiclورو cobre + azufre
			14 sep	sulfato cuprocálcico + ciprodinil + fludioxinil
E	6 may	iprovalicard + folpet	8 may	iprovalicard + folpet + azufre
	25 may	cimoxanilo + mancozeb + azufre	21 may	azufre
	31- jun	azufre	29 may	azoxystrobin + azufre
	16 jun	iprovalicard + folpet + azufre	9 jun	mancozeb + metalaxil + azufre
	6 jul	iprovalicard + folpet + azufre	17 jun	cimoxanilo + mancozeb + azufre
	20 jul	azoxystrobin + captan + penconazol	1 jul	cimoxanilo + mancozeb + azufre
	6 ago	cimoxanilo + oxiclورو cobre+ zineb	18 jul	iprovalicard + folpet + azufre
	20 ago	sulfato cuprocálcico + captan + penconazol	8 ago	cimoxanilo + azufre
	8 sep	sulfato cuprocálcico + ciprodinil + fludioxinil	21 ago	cimoxanilo + captan + penconazol
			6 sep	cimoxanilo + captan + penconazol
			18 sep	sulfato cuprocálcico + azufre + ciprodinil + fludioxinil

en una bolsa de plástico dentro de una nevera portátil. Las muestras se llevaron al laboratorio lo antes posible y se procesaron en embudos Berlese. Tras 24 horas de extracción las muestras se conservaron en etanol al 70%. Los ácaros fueron digeridos en pocillos histológicos con ácido láctico al 70%, y montados con líquido de Hoyer e identificados al microscopio.

La abundancia de fitoseidos en cada viñedo fue comparada mediante un test de Kruskal-Wallis, seguido de comparaciones dos a dos mediante pruebas de Mann-Whitney. La abundancia de cada especie de fitoseido en cada tipo de hoja (lampiña/pilosa) fue comparada mediante pruebas de Mann-Whitney.

RESULTADOS

Con la excepción de un ácaro de la familia Anystidae, todos los ácaros hallados en las muestras fueron fitoseidos. Para el total de

viñedos y fechas de muestreo se identificaron 734 fitoseidos que pertenecieron a dos especies: *Typhlodromus pyri* Scheuten y *Phytoseius finitimus* Ribaga. El número de capturas de *T. pyri* fue superior en 2006 (516) que en 2008 (152), mientras que, por el contrario, el número de *P. finitimus* aumentó de 19 en 2006 a 47 en 2008 (Figura 4). En consecuencia, la dominancia numérica de *T. pyri* bajó del 96,4% en 2006 al 76,4% en 2008. Hay que señalar que en 2006 se muestreó un viñedo más (5 frente a 4) y hubo un muestreo más (4 frente a 3). En los dos años muestreados, y agrupando las capturas de todos los viñedos, parece haber una tendencia a un mayor número de *T. pyri* al comienzo del verano, mientras que las poblaciones de *P. finitimus* parecen más estables a lo largo del periodo vegetativo (Figura 5).

El número total de fitoseidos dependió significativamente del viñedo muestreado ($\chi^2 = 29,55$; g.l. = 4; $P < 0,0001$; Figura 6),

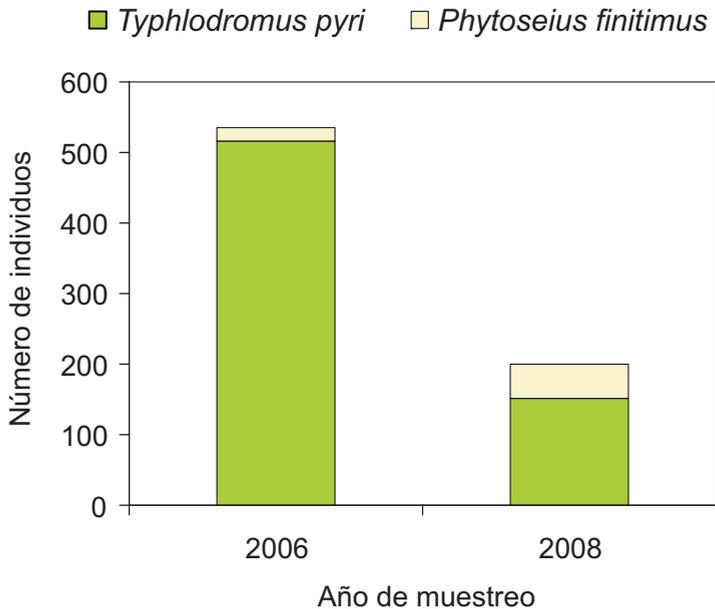


Figura 4. Número de individuos de cada especie según el año de muestreo (El número de viñedos muestreados en 2008 se redujo de cinco a cuatro y el de fechas muestreadas se de cuatro a tres)

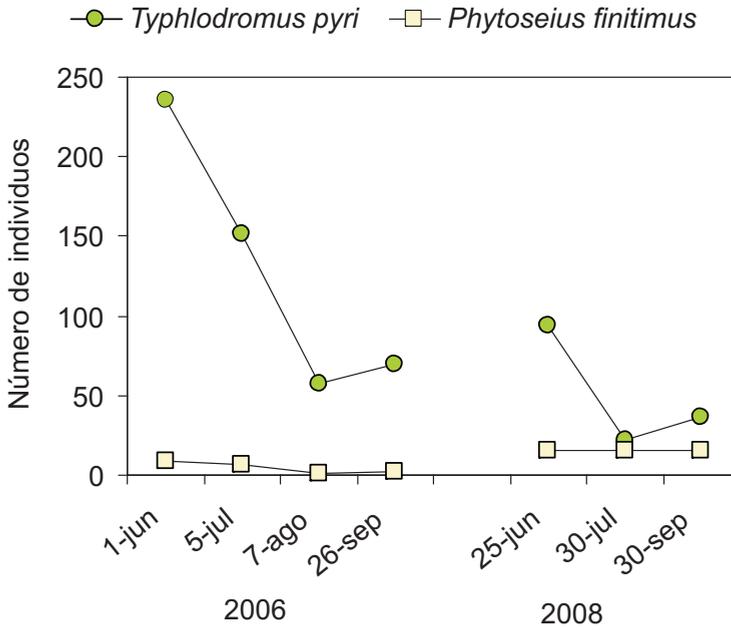


Figura 5. Número de individuos de cada especie para cada fecha de muestreo (En 2008 sólo se muestrearon cuatro de los cinco viñedos muestreados en 2006)

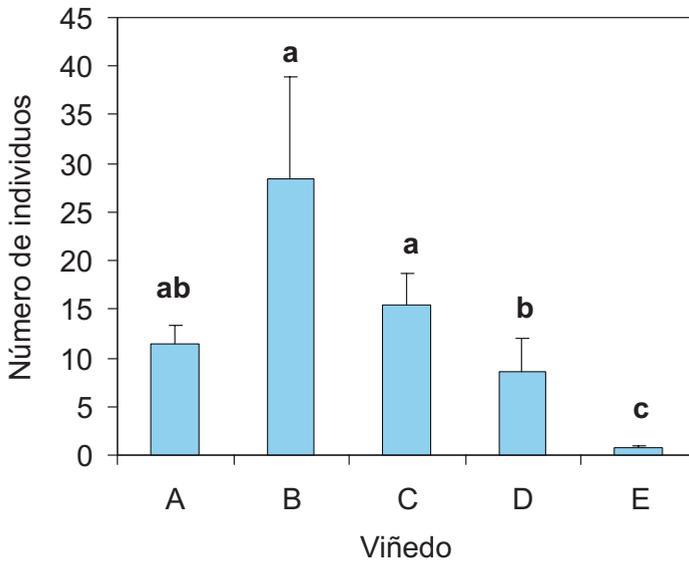


Figura 6. Número de fitoseidos (media + SE) en cada viñedo para el total de los muestreos (El viñedo B sólo fue muestreado en 2006). Columnas con la misma letra no son significativamente diferentes

con viñedos que promediaron casi 30 individuos por muestra (lo que correspondería a 1 fitoseido/ hoja) y otros que apenas llegaron a 1 individuo por muestra (0,03 fitoseido/ hoja). Además, también hubo una segregación espacial en la distribución específica: mientras que *T. pyri* fue identificado en los cinco viñedos muestreados, *P. finitimus* tan sólo fue registrado en tres, en dos de los cuáles no pasó del 3%; en el tercero, sin embargo, su presencia supuso el 37% de la muestra (Figura 7).

Typhlodromus pyri fue capturado indistintamente en la variedad lampiña y en las pilosas ($U = 479,0; P = 0,654$), mientras que *P. finitimus* mostró una preferencia muy acusada por las variedades pilosas ($U = 396,5; P = 0,01$) (Figura 8). De hecho, de los 66 individuos de esta especie, sólo uno fue capturado sobre la variedad lampiña. Considerando conjuntamente las dos especies, no hubo diferencias varietales en la abundancia de individuos ($U = 476,0; P = 0,626$).

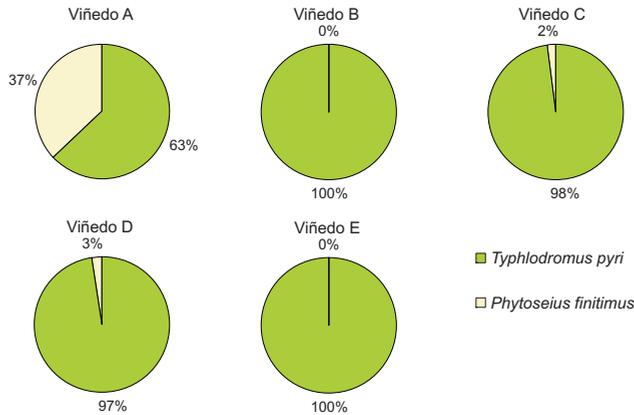


Figura 7. Proporción de capturas de cada especie de fitoseido en cada viñedo

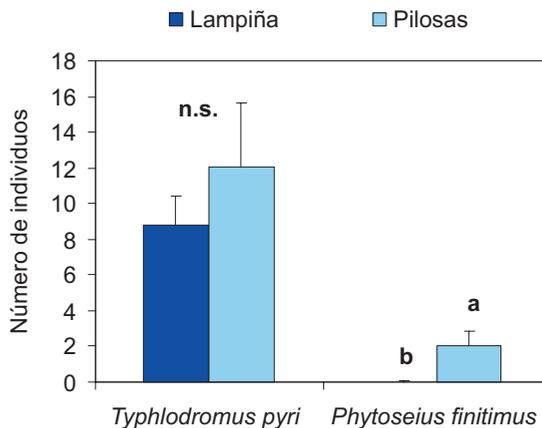


Figura 8. Número de fitoseidos (media + SE) de cada especie en función del tipo de variedad (Datos de todos los viñedos y muestreos agrupados. Para cada especie, columnas con la misma letra no son significativamente diferentes; n.s. - no significativo)

DISCUSIÓN

Los muestreos llevados a cabo durante dos años mostraron la ausencia de ácaros fitófagos y la presencia de únicamente dos especies de fitoseidos en los viñedos de la denominación Vino de Calidad de Cangas. Esta es una situación frecuente en viñedos (KREITER *et al.*, 2000; TIXIER *et al.*, 2005), donde se suelen encontrar poblaciones abundantes de fitoseidos pero pocos ácaros de otros grupos, lo que se ha relacionado muchas veces con una mayor tolerancia de los ácaros fitoseidos a los plaguicidas (KREITER *et al.*, 1998; 2000; BONAFOS *et al.*, 2007).

Las dos especies de fitoseidos encontradas están entre las más comunes en viñedos: *Typhlodromus pyri*, la especie dominante en los viñedos asturianos (91% del total; Figura 4), es también la especie dominante en viñedos de La Rioja, Tarragona y Penedés (PÉREZ MORENO, 1997), así como en viñedos europeos (KREITER *et al.*, 2000). En la Península Ibérica también ha sido citada en viñedos del Alto Ampurdán (Girona), Granada y Pontevedra (PÉREZ MORENO, 1997; PÉREZ OTERO y MANSILLA VÁZQUEZ, 1997; PÉREZ OTERO *et al.*, 1999), aunque en esas regiones no es la especie dominante. *Typhlodromus pyri* prefiere condiciones continentales u oceánicas con temperaturas suaves y condiciones húmedas a regiones demasiado secas y calurosas. En algunas regiones (por ejemplo, Pontevedra, Girona o el sur de Francia) *T. pyri* es reemplazado por *Kampimodromus aberrans* (PÉREZ MORENO, 1997; PÉREZ OTERO *et al.*, 1999; KREITER *et al.*, 2000; TIXIER *et al.*, 2000; 2005) o por la otra especie encontrada en nuestro estudio, *Phytoseius finitimus*, como ocurre en algunos viñedos italianos (DUSO y VETTORAZZO, 1999) y en Córcega (KREITER *et al.*, 2000). Esta última especie también ha sido citada en viñedos catalanes (PÉREZ MORENO, 1997).

La riqueza específica y la diversidad de fitoseidos resultaron bajas en comparación con otros estudios llevados a cabo sobre viñedo en España. Por ejemplo, en viñedos de Pontevedra se encontraron 11 especies (PÉ-

REZ OTERO y MANSILLA VÁZQUEZ, 1997; PÉREZ OTERO *et al.*, 1999) y en viñedos de La Rioja, siete (PÉREZ MORENO, 1997). También fueron bajas en comparación con muestreos realizados en Asturias sobre otros cultivos plurianuales, en los que se encontraron, por ejemplo, 12 especies en manzano o seis en castaño, cerezo o kiwi (MIÑARRO *et al.*, 2002; 2005). Sin embargo, en estos cultivos frutales el empleo de plaguicidas era muy bajo o nulo en comparación con el de este estudio (Tabla 1), lo que podría explicar parcialmente estas diferencias. Así, se sabe que *T. pyri* es una de las especies más tolerantes a fungicidas (especialmente a mancozeb: AUGER *et al.*, 2004; 2005) y también a algunos insecticidas (BONAFOS *et al.*, 2007). Otra especie abundante en viñedos, y dominante en varios frutales de Asturias (MIÑARRO *et al.* 2002; 2005) aunque ausente en nuestros muestreos, *K. aberrans*, es más sensible a plaguicidas, si bien recientemente se han encontrado poblaciones resistentes a varios insecticidas (TIRELLO *et al.*, 2012). Probablemente *P. finitimus* tenga una sensibilidad intermedia (SENTENAC *et al.*, 2002). Dado que es probable que los plaguicidas sean la presión de selección más fuerte en los viñedos muestreados, esa cierta tolerancia a plaguicidas de *T. pyri* y *P. finitimus* podría explicar su presencia en nuestro estudio y la ausencia de especies más sensibles.

Sin embargo, también se encontró una importante variación entre viñedos en la abundancia de fitoseidos (Figura 6). Estas diferencias entre parcelas son frecuentes en este y otros cultivos (PÉREZ OTERO y MANSILLA VÁZQUEZ, 1997; MIÑARRO *et al.* 2002) y están en muchos casos asociadas al empleo de plaguicidas, aunque también se pueden relacionar con la naturaleza del paisaje o a la presencia y riqueza de la vegetación arvense (MAILLOUX *et al.*, 2010; AGUILAR-FENOLLOSA *et al.*, 2011).

También se observó una segregación espacial de las especies: mientras que *T. pyri* se capturó en todos los viñedos y con independencia de la variedad, *P. finitimus* sólo

se encontró en tres de los cinco viñedos, y además casi exclusivamente en las variedades con abundante pilosidad (Figuras 7 y 8). Aparte del régimen fitosanitario, que de nuevo podría explicar diferencias entre parcelas, la presencia de una cobertura vegetal densa en el viñedo A, el único en el que *P. finitimus* apareció de manera significativa (37% del total), podría proporcionar refugio y alimento alternativo a esta especie y facilitar su pervivencia en el viñedo, como ocurre con otros fitoseidos en otras regiones y/u otros cultivos (MAILLOUX *et al.*, 2010; AGUILAR-FENOLLOSA *et al.*, 2011). Esto sería más complicado en el resto de viñedos por estar asentados sobre suelos pedregosos y prácticamente carecer de vegetación. La marcada preferencia varietal mostrada por *P. finitimus* es frecuente en otras especies de fitoseidos (DUSO y VETTORAZZO, 1999; KREITER *et al.*, 2002; 2006).

En cuanto a la estacionalidad de las poblaciones de los fitoseidos, la especie dominante fue más abundante al principio que al final del verano, tendencia que se observó los dos años de estudio (Figura 5). Respecto a la variación interanual, en los dos años de

muestreo se observaron poblaciones importantes (Figura 4), que si bien fueron mayores en 2006, hay que tener en cuenta que en 2008 se muestreó un viñedo menos y una fecha menos. Así pues, parece ser que las poblaciones de fitoseidos podrían aparecer sobre el cultivo durante todo el periodo vegetativo, aunque su abundancia pudiera oscilar entre años.

Este trabajo ha mostrado que los viñedos de la denominación de Vino de Calidad de Cangas acogen unas poblaciones de fitoseidos más o menos importantes según las parcelas y las fechas de muestreo y que podrían contribuir a controlar de manera natural los ácaros fitófagos que colonizasen dichos viñedos.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a los propietarios de los viñedos las facilidades dadas para realizar allí los muestreos y a Gabriela Fernández-Mata, Loli Loureiro y Paula Moreno su colaboración en la toma de muestras. A Loli Loureiro le agradecemos además la revisión de una versión previa del manuscrito.

ABSTRACT

MIÑARRO, M., S. KREITER. 2012. Phytoseiids in vineyards of the appellation Cangas Quality Wine (Asturias, NW Spain). *Bol. San. Veg. Plagas*, **38**: 73-82.

The vineyard of Asturias (North West of Spain) is currently under a process of recovering and modernization widely supported by the appellation "Cangas Quality Wine". As phytophagous mites are a real threat to vineyards, a study was conducted in 2006 and 2008 to determine the status of predatory mites (Acari: Phytoseiidae) in those vineyards. We identified a total of 734 phytoseiids belonging to two species: *Typhlodromus pyri* Scheuten, which was the most abundant species (91%), and *Phytoseius finitimus* Ribaga (9%). Both species are commonly found in vineyards in other regions. Both number of individuals and species distribution depended on the vineyard. There was also a remarkable segregation of species depending on the variety: *T. pyri* occurred equally in hairy and hairless varieties while *P. finitimus* showed a strong preference for varieties with hairy leaves. Phytoseiid abundance depended also on both the year and the sampling date. Our results proved the occurrence of phytoseiid mites in the "Cangas Quality Wine" vineyards that may help to the natural regulation of phytophagous mite populations.

Key words: *Typhlodromus pyri*, *Phytoseius finitimus*, vine, Acari, Phytoseiidae.

REFERENCIAS

- AGUILAR-FENOLLOSA, E., IBÁÑEZ-GUAL, M. V., PAS-CUAL-RUIZ, S., HURTADO, M., JACAS, J. A. 2011. Effect of ground-cover management on spider mites and their phytoseiid natural enemies in clementine mandarin orchards (I): bottom-up regulation mechanisms. *Biol. Control* **59**: 158-170.
- AUGER, P., KREITER, S., MATTIODA, H., DURIATTI, A. 2004. Side effects of mancozeb on *Typhlodromus pyri* in vineyards: results of multi-year field trials and a laboratory study. *Exp. Appl. Acarol.* **33**: 203-213.
- AUGER, P., BONAFOS, R., KREITER, S., DELORME, R. 2005. A genetic analysis of mancozeb resistance in *Typhlodromus pyri*. *Exp. Appl. Acarol.* **37**: 83-91.
- BONAFOS, R., SERRANO, E., AUGER, P., KREITER, S. 2007. Resistance to deltamethrin, lambda-cyhalothrin and chlorpyrifos-ethyl in some populations of *Typhlodromus pyri* Scheuten and *Amblyseius andersoni* (Chant) (Acari: Phytoseiidae) from vineyards in the south-west of France. *Crop Prot.* **26**: 169-172.
- BOPA (BOLETÍN OFICIAL DEL PRINCIPADO DE ASTURIAS). 2008. Resolución de 19 de noviembre de 2008, de la Consejería de Medio Ambiente y Desarrollo Rural, **287**, 27173-27181.
- DE LA IGLESIA, L., SANTIAGO, Y., MORENO, C. M., PÉREZ, A., PELÁEZ, H., DE PRADO, N., CEPEDA, S., FERRAGUT, F. 2007. Ácaros fitoseidos (Acari: Phytoseiidae) asociados a frutales de pepita y viñedo del Bierzo (León). *Bol. San. Veg. Plagas* **33**: 3-14.
- DUSO, C., VETTORAZZO, E. 1999. Mite population dynamics on different grape varieties with or without phytoseiid released (Acari: Phytoseiidae). *Exp. Appl. Acarol.* **23**: 741-763.
- FEO, F. 1986. El viñedo en Asturias: cultivo marginal en vías de extinción. *Bol. RIDEA* **40**: 589-610.
- KREITER, S., SENTENAC, G., BARTHES, D., AUGER, P. 1998. Toxicity of four fungicides to the predaceous mite *Typhlodromus pyri* Scheuten (Acari: Phytoseiidae). *J. Econ. Entomol.* **91**: 802-811.
- KREITER, S., TIXIER, M.-S., AUGER, P., MUCKENSTRUM, N., SENTENAC, G., DOUBLET, B., WEBER, M. 2000. Phytoseiid mites of vineyards in France. *Acarologia* **41**: 75-94.
- KREITER, S., TIXIER, M.-S., CROFT, B. A., AUGER, P., BARRET, D. 2002. Plants and leaf characteristics influencing the predaceous mite *Kampimodromus aberrans* (Acari: Phytoseiidae) in habitats surrounding vineyards. *Environ. Entomol.* **31**: 648-660.
- KREITER, S., TIXIER, M.-S., BARBAR, Z. 2006. The importance of the vegetation surrounding the agrosystems on predatory mites associated to vineyards. En: RAGUSA y TSOLAKIS (eds.). *La difesa della vite dagli artropodi dannosi*, Università di Palermo. Pp. 97-147.
- LOUREIRO, M. D., SUÁREZ, B. 2006. Recuperación de la viticultura en el Principado de Asturias. *Tecnología del Vino* **30**, marzo-abril: 34-39.
- MAILLOUX, J., LE BELLEC, F., KREITER, S., TIXIER, M.-S., DUBOIS, P. 2010. Influence of ground cover management on diversity and density of phytoseiid mites (Acari: Phytoseiidae) in Guadeloupean citrus orchards. *Exp. Appl. Acarol.* **52**: 275-290.
- MIÑARRO, M., DAPENA, E., FERRAGUT, F. 2002. Ácaros fitoseidos (Acari: Phytoseiidae) en plantaciones de manzano de Asturias. *Bol. San. Veg. Plagas* **28**: 289-299.
- MIÑARRO, M., BARROS, R., FERRAGUT, F., DAPENA, E. 2005. Fitoseidos en plantaciones frutales experimentales de arándano, castaño, cerezo, kiwi y manzano en Asturias. *Bol. San. Veg. Plagas* **31**: 493-501.
- MORENO-SANZ, P., LOUREIRO, M. D., SUÁREZ, B. 2011. Microsatellite characterization of grapevine (*Vitis vinifera* L.) genetic diversity in Asturias (Northern Spain). *Sci. Hortic.* **129**: 433-440.
- PÉREZ MORENO, I. 1997. Bioecología de los ácaros en la vid. MAPYA. 191 pp.
- PÉREZ OTERO, R., MANSILLA VÁZQUEZ, P. 1997. Primeros resultados sobre acarofauna útil en los viñedos de la D.O. Rías Baixas (Pontevedra). *Bol. San. Veg. Plagas* **23**: 105-112.
- PÉREZ OTERO, R., MANSILLA VÁZQUEZ, P., XAVIER, A. 1999. Ácaros depredadores fitoseidos en los viñedos de la zona fronteriza Pontevedra (D.O. Rías Baixas) - Norte de Portugal. *Bol. San. Veg. Plagas* **25**: 41-48.
- SENTENAC, G., BONAFOS, R., RUELLE, B., COULON, T., ESCAFFRE, P., AUGER, P., KREITER, S. 2002. Effets non intentionnels de produits phytopharmaceutiques sur *Typhlodromus pyri*, *Kampimodromus aberrans* et *Phytoseius plumifer*. *Phytoma-La défense des végétaux* **555**: 50-54.
- TIRELLO, P., POZZEBON, A., DUSO, C. 2012. Resistance to chlorpyrifos in the predatory mite *Kampimodromus aberrans*. *Exp. Appl. Acarol.* **56**: 1-8.
- TIXIER, M.-S., KREITER, S., AUGER, P. 2000. Colonization of vineyards by phytoseiid mites: their dispersal patterns in the plot and their fate. *Exp. Appl. Acarol.* **24**: 191-211.
- TIXIER, M.-S., KREITER, S., CHEVAL, B., PERROTIN, B. 2005. Les espèces de phytoséiides présentes dans les vignobles du Languedoc-Roussillon et les facteurs qui affectent leur densité et leur diversité. *Le Progrès Agricole et Viticole* **122**: 463-467.

(Recepción: 24 noviembre 2011)

(Aceptación: 21 febrero 2012)

Clave de identificación de huevos, larvas y pupas de *Allograpta* (Diptera: Syrphidae) comunes en la zona central de Chile

V. CASTRO, J. E. ARAYA

Para describir los estadios juveniles de las especies del género *Allograpta* (Diptera: Syrphidae) más abundantes en la Región Metropolitana de Chile central, se hicieron capturas periódicas de adultos con red entomológica en plantas en flor en sectores sin tratamientos insecticidas en la comuna de La Pintana, Santiago. Las especies se identificaron, se sexaron y se pusieron hembras fertilizadas en condiciones ideales para la ovipostura. Se crió y completó el ciclo de tres especies, *A. hortensis* (Philippi), *A. exotica* (Wiedemann) y *A. pulchra* Shannon, y se presentan las descripciones morfológicas de los estados de huevo, larvas I, II y III, y pupa. Con estas descripciones se preparó una clave simple de los estadios juveniles de las tres especies de *Allograpta* mencionadas. El conocimiento obtenido permitirá investigar el uso potencial de estos insectos en control biológico y manejo integrado de áfidos plaga.

V. CASTRO, J. E. ARAYA. Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Agronómicas, Departamento de Sanidad Vegetal, Casilla 1004, Santiago, Chile; jaimearaya@yahoo.com

Palabras clave: *Allograpta hortensis*, *Allograpta exotica*, *Allograpta pulchra*, mosca abeja, sírfido.

INTRODUCCIÓN

La familia Syrphidae se compone de las subfamilias Eristalinae, Microdontinae y Syrphinae, con 180 géneros y alrededor de 6.000 especies descritas en todas las zonas biogeográficas del mundo (VOCKEROTH y THOMPSON, 1987), con excepción de la Antártida (SPEIGHT y LUCAS, 1992). En Chile, ETCHEVERRY (1963) encontró 109 especies, en 30 géneros. La subfamilia Syrphinae comprende la mayoría de las especies cuyas larvas depredan áfidos y otros insectos de cuerpo blando (VOCKEROTH y THOMPSON, 1987). El género más común en Chile es *Allograpta*, con siete especies (ETCHEVERRY, 1963); y con un predominio claro de *A. hortensis* (Philippi), *A. pulchra* Shannon y *A. exotica* (Wiedemann) en la zona central (LÓPEZ *et al.*, 2012).

Una de las alternativas disponibles para el manejo sanitario de sistemas productivos es

el control biológico, pero su necesidad y factibilidad de aplicación se debe evaluar antes de desarrollar estudios de la o las especies elegidas para este control. Para estos estudios, como los de dinámica poblacional, estructura de edades, relaciones depredador-presa, etc., es primordial poder reconocer las especies, tanto sus adultos como los estados de huevo y juveniles (larvas y pupas) (BENESTAD y HAGVAR, 1974).

En Chile se han estudiado las características morfológicas de adultos de algunas especies del género *Allograpta*, y existe una clave de reconocimiento (LÓPEZ *et al.*, 2012). Sin embargo, no existe información suficiente sobre la morfología de los otros estados de desarrollo, un aspecto fundamental antes de efectuar estudios de depredación u otros, con miras al uso potencial de estos organismos benéficos en programas de control biológico.

Por esta razón se hizo una investigación cuyos objetivos fueron los siguientes:

Hacer descripciones de morfología de los estados juveniles de las tres especies más abundantes de *Allograpta* en la Región Metropolitana (RM), a partir de material colectado en el campo y criado en laboratorio.

Relacionar las características morfológicas de los huevos, larvas y pupas obtenidas con las de los adultos ya descritos con el fin de hacer una clave de identificación para estados juveniles de tres de las especies de sírfidos afídófagos más comunes en cultivos y malezas en la RM (*A. pulchra*, *A. hortensis* y *A. exótica*; LÓPEZ *et al.*, 2012).

MATERIAL Y MÉTODOS

Esta investigación se desarrolló en el Departamento de Sanidad Vegetal, Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de Chile, Comuna de La Pintana, Santiago. Los ejemplares se obtuvieron con red entomológica alrededor de las 10 AM en los alrededores de la Facultad, en aromos, rosales y terrenos no cultivados con malezas abundantes en flor, en dos períodos, en las épocas de más abundancia de sírfidos, del 20 de febrero hasta el 1 de mayo de 2010 y del 1 de septiembre hasta el 22 de diciembre del mismo año. Los adultos de *A. hortensis*, *A. pulchra* y *A. exótica* se identificaron con la clave dicotómica de LÓPEZ *et al.* (2012), y se criaron en forma separada. Para alimentar *ad libitum* a las larvas de *Allograpta* se requirió mantener una colonia de *Acyrtosiphon pisum* (Harris), colectados inicialmente en parcelas de alfalfa sin tratamiento de insecticidas y que se mantuvieron sobre plantas de haba en macetas en jaulas de tul (LÓPEZ, 2007).

Para obtener huevos, se pusieron hembras fertilizadas, provenientes de las colectas, en vasos de vidrio de 150 ml (cubiertos con tul) con dos frascos de 3,5 ml en el fondo, uno con miel diluida en agua al 5% y el otro

sólo con agua y una inflorescencia recién abierta de *Plantago lanceolata* L., ambos tapados con algodón, en laboratorio a temperatura ambiente. Luego de alimentarse de polen y néctar, pusieron sus huevos en la superficie de los frascos, las flores y principalmente en el tul. Se intentó obtener huevos desde parejas de cada especie en los vasos utilizados, pero con éxito escaso, debido probablemente a que los sírfidos necesitan espacios abiertos para aparearse (Dra. G. Lankin, Univ. de Chile, comunicación personal, 2010). Una vez obtenidos algunos, se determinó el tiempo aproximado de desarrollo de los huevos en frascos individuales de 40 ml, donde se los trasladó con un pincel fino. Las larvas neonatas se mantuvieron en su frasco y se alimentaron a diario con brotes de haba con áfidos desde la crianza. Aquellas larvas que completaron su desarrollo y dejaron de comer se mantuvieron con un brote sin áfidos para que se fijaran y se mantuvieran con cierta humedad después de transformarse en pupas, de las que se estudió su morfología.

Las descripciones morfológicas y algunas observaciones de biología se hicieron siempre sobre 10 individuos. A los huevos se les hizo un seguimiento diario para ver cambios de color y reticulación en muestras vivas, además de registrar la forma, color, tamaño y diseño geométrico del corion. Las larvas se observaron en cada uno de sus tres instares, considerando sus mudas y comportamiento. Se hicieron preparaciones microscópicas sólo del tercer estadio, con el fin de apreciar detalles microscópicos no observables *in vivo*. Las características de mayor importancia utilizadas para describir las larvas fueron la forma, color, tamaño, microespinas y espiráculos caudales. De las pupas se observó la morfología y cambios de color cada dos días. Al emerger el adulto se verificó que correspondiera a la especie que originó el huevo, para luego liberarlo.

RESULTADOS

Eclósión de los huevos de *Allograpta* obtenidos en los frascos de ovipostura. Con una temperatura media diaria de 22,5°C, la mayoría de los huevos eclósó en 2 días. La larva emergió en el tercio anterior, cerca del extremo micropilar.

Comportamiento de las larvas. El objetivo de este trabajo no consistió en determinar la duración ni la alimentación de los estados juveniles de las especies en estudio. Sin embargo, se observaron aspectos generales sobre su comportamiento. Entre las especies, que se criaron simultáneamente y en las mismas condiciones, *A. pulchra* completó su desarrollo en menor cantidad de tiempo en comparación a las otras dos, mientras que la que lo hizo en mayor tiempo fue *A. hortensis*.

La larva recién emergida es capaz de depredar fácilmente pulgones de hasta cinco veces su tamaño, al fijar firmemente la zona anal a la superficie donde se encuentra y sujetar a la presa con su aparato bucal práctica-

mente por cualquier parte, luego bombea al insertar sus piezas bucales y succionarla por completo y dejar sólo el exoesqueleto. La larva defeca tres veces a lo largo de su ciclo larvario, la primera antes de que la larva de primer instar mude, cuando expulsa gran parte del contenido del tracto digestivo, una sustancia marrón claro transparente de consistencia oleosa; la segunda defecación es previa a la segunda muda y posee consistencia y color similar a la primera; mientras que la tercera ocurre antes de que la larva de tercer estadio comience a pupar; el material expulsado es pegajoso y espeso, de color marrón oscuro y se ennegrece rápidamente (Figura 1). La larva de tercer instar se alimenta bastante en sus primeros días pero luego pasa por un período sin alimentarse en el que se prepara para pupar, lo que ocurrió por lo general en los brotes de haba, aunque algunas larvas se fijaron a las paredes del frasco.

Emergencia de los adultos. El imago emerge sin excepción por la zona cefálica; el pupario se rompe por una línea débil regular, como se aprecia en la Figura 2.

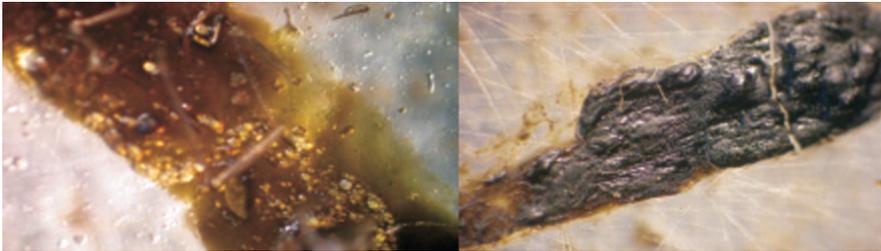


Figura 1. Excrementos de las larvas I (izq.) y III (der.) de *Allograpta*



Figura 2. Ruptura de la pupa de Syrphidae en la emergencia del adulto

Descripción morfológica de los estados de huevo, larvas y pupas

Huevos (Figura 3): El huevo de *A. pulchra* mide en promedio 0,77 mm de longitud (0,65 a 0,85 mm), y 0,33 mm de ancho en su parte media. De color blanco lechoso, se torna levemente amarillento con el desarrollo, tiene forma de óvalo alargado, con el extremo micropilar truncado y el margen posterior redondeado. El corion presenta células poligonales, en su gran mayoría hexagonales alargadas, que forman una red horizontal y regular de un extremo al otro, y cuyos límites aumentan de grosor junto con su desarrollo.

El huevo de *A. hortensis* mide en promedio 0,86 mm de longitud (0,78 a 0,95 mm) y 0,36 mm de ancho en su región media. De color blanco lechoso, se torna levemente amarillento al avanzar en desarrollo. Tiene forma de óvalo alargado con el extremo micropilar truncado y el margen posterior redondeado. El corion presenta células poligonales, en su gran mayoría hexagonales, algunas alargadas y otras regulares, que forman redes curvas y horizontales de un extremo al otro del huevo, y cuyos límites aumentan de grosor junto con su desarrollo.

El huevo de *A. exotica* mide en promedio 0,81 mm de longitud, con un rango entre 0,75 y 0,88 mm y 0,35 mm de ancho en su región media. Su color blanco cremoso se torna levemente amarillento con el desarrollo. Su forma es un óvalo alargado, con el extremo micropilar truncado y el margen posterior redondeado. El patrón geométrico del córion son células poligonales alargadas bastante irregulares y de tamaños muy variados que forman redes desordenadas, y cuyos límites aumentan en grosor junto con su desarrollo.

Larvas de primer instar. Metapnéusticas, subcilíndricas; tienen segmentos apreciables, cada uno con seis pares de microespinas que lo circundan; los nueve segmentos abdominales, junto al metatórax están siempre expuestos, mientras que el meso y protórax, junto con la cabeza, aparentemente de dos segmen-

tos, forman una estructura retráctil que queda a la vista cuando la larva se desplaza o se alimenta, característica que no varía en ninguno de los tres instares larvarios. En el dor-

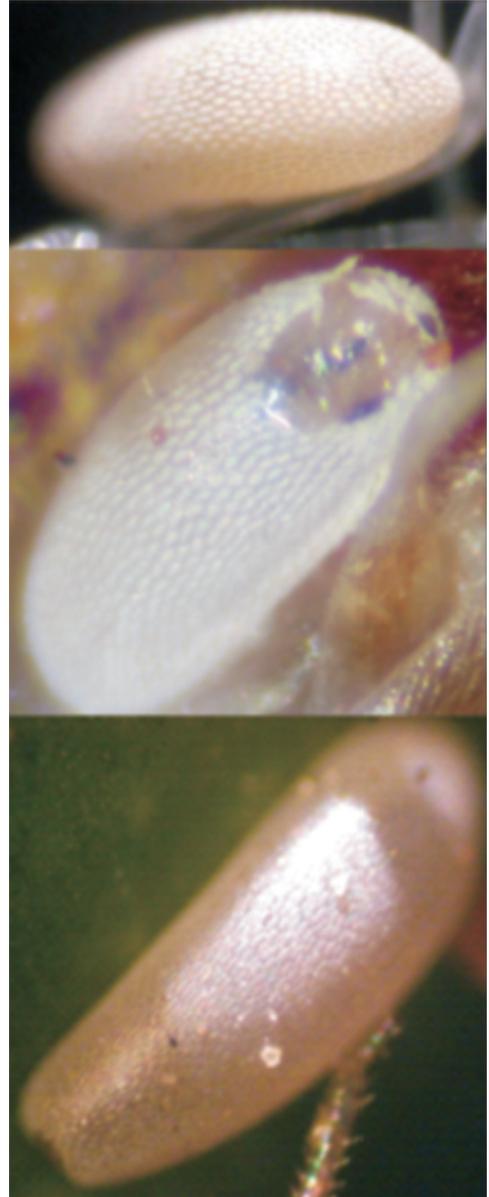


Figura 3. Huevos de *A. pulchra* (arriba), *A. hortensis* (centro) y *A. exotica* (abajo)

so del noveno segmento abdominal se distinguen dos espiráculos respiratorios funcionales de color marrón claro ligeramente ovalados y separados entre sí, característica que no varía en ninguno de los tres instares larvarios. En la Figura 4 se presentan las larvas I de *A. hortensis* y *A. exotica*. Las primeras miden cerca de 0,9 mm de largo al nacer y menos de 3 mm antes de su primera muda, y entre 0,33 y 0,5 mm de ancho en su región media. El grosor de las larvas I de *A. exótica* dismi-

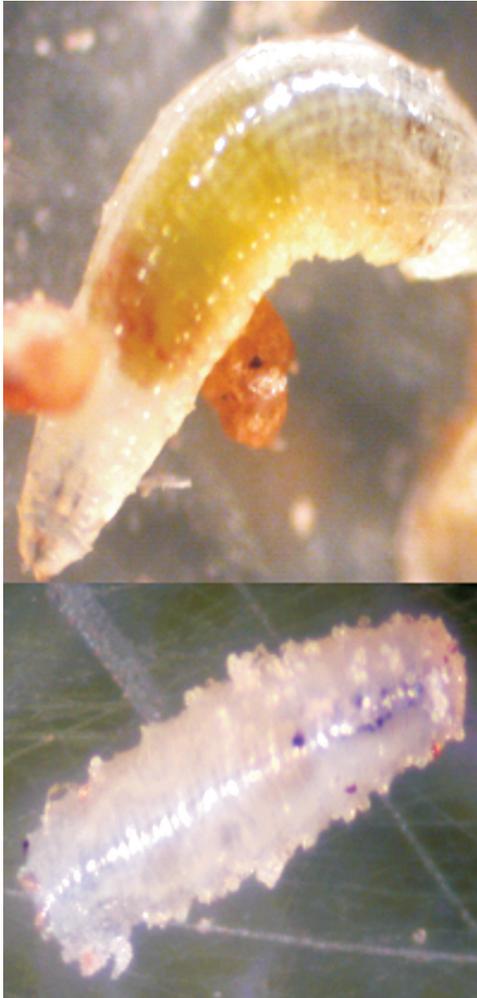


Figura 4. Larvas I de *A. hortensis* y *A. exotica*

nuye desde la base del tercio anterior hacia la cabeza, tiene color beige claro transparente, con tonalidades verdosas desde el centro hacia los extremos a medida que avanza el desarrollo; mide alrededor de 0,93 mm de largo al emerger y $\sim 3,3$ mm antes de la primera muda, y entre 0,33 y 0,5 mm de ancho en su región media.

Larva de segundo instar. Semejantes a las larvas I, pero aquellas de *A. pulchra* miden 3 a 5 mm de longitud y 0,8 a 1,8 mm de ancho en su región media; las de *A. hortensis* tienen color verde oscuro, miden 4 a 6,8 mm de longitud y 0,9 a 2 mm de ancho en su región media. Estas larvas tienen el tegumento externo, rugoso y con pliegues transversales numerosos, delgado y transparente, lo que permite distinguir el vaso dorsal, con una banda de cuerpos grasos de color blanco a ambos lados que recorren todo el abdomen. En este estadio se elongan los apéndices tubulares de los espiráculos posteriores. Los de *A. pulchra* se encuentran unidos y divergen sólo en su extremo distal; presentan una línea que los divide en dos zonas, la basal de color beige claro y la distal marrón pálido. Aquellos de *A. hortensis* son marrón pálido, paralelos, están unidos en toda su longitud y no tienen segmentación (Figura 5).

Larvas de tercer instar. Metapnéusticas, subcilíndricas, la de *A. pulchra* es de color verde claro levemente más oscuro que el segundo instar, mide 6,5 a 8,9 mm de largo y 1,6 a 2,3 mm de ancho en su región central. El tegumento externo rugoso tiene numerosos pliegues transversales más marcados que en el segundo instar. El vaso dorsal está rodeado por cuerpos grasos blanquecinos que recorren el abdomen a lo largo desde el extremo posterior al tercio anterior, donde se adelgazan hasta desaparecer. Se observan microespinas sobre elevaciones carnosas cónicas transparentes, con dos partes, la base es subcilíndrica con el margen interno levemente más ancho que el externo y mide 0,033 mm de largo por 0,046 mm de ancho en la base, y la punta es redondeada alargada y mide 0,078 mm de largo y 0,034

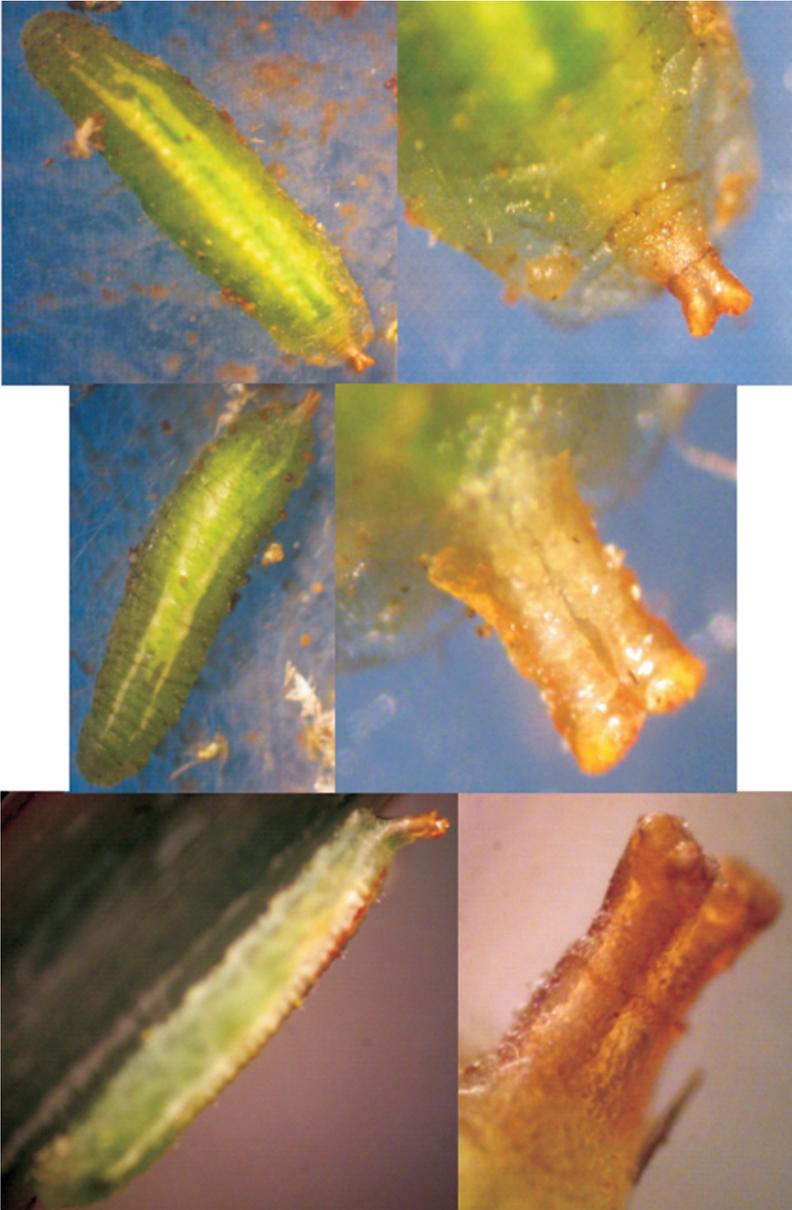


Figura 5. Larvas II de *A. pulchra* (sup.), *A. hortensis* (centro) y *A. exotica* (inf.)

mm de ancho (Figura 6). El complejo espiracular mantiene las mismas características y mide 0,51 mm de longitud por 0,34 mm

de ancho en la base y 0,26 mm en la región peciolada (Figura 7).

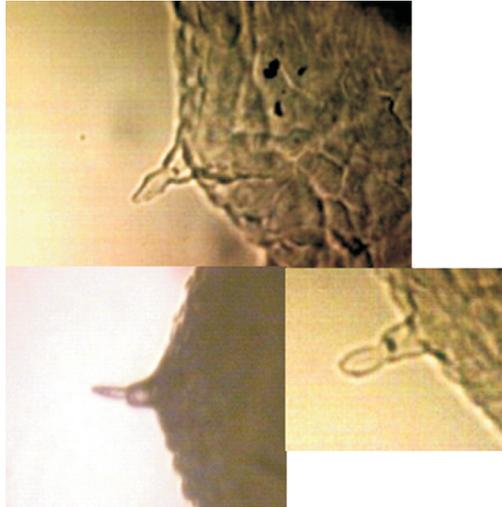


Figura 6. Microespinas de larvas III de *A. hortensis* (sup.), *A. exotica* (inf., izq.) y *A. pulchra* (inf., der.)

Pupas. Coartadas (sin segmentación aparente), redondeadas en la zona cefálica y aguzadas hacia la parte caudal, con pliegues transversales numerosos; su coloración comienza por un verde claro intenso que se va oscureciendo hasta adquirir los colores del adulto, que se aprecian por transparencia. Los espiráculos caudales mantienen su tamaño y forma, pero los apéndices tubulares se oscurecen y las placas espiraculares se ennegrecen por completo (Figura 8). La pupa de *A. pulchra* mide en promedio 4,65 mm de largo y 1,88 mm de ancho. La de *A. hortensis* mide en promedio 5 mm de largo y 1,99 mm de ancho. Aquella de *A. exotica* alcanza mide en promedio 4,85 mm de largo y 1,9 mm de ancho.

Claves de identificación para huevos y larvas de tres especies de *Allograpta*

Huevos

- 1 Su color corresponde a un blanco lechoso y el patrón geométrico del corion está compuesto en su gran mayoría por celdas hexagonales 2

Su color corresponde a un blanco cremoso y el patrón geométrico del corion corresponde a celdas poligonales alargadas bastante irregulares y de tamaños muy variados que forman redes desordenadas *Allograpta exotica* (Wiedemann)

- 2 Las celdas son alargadas formando una red horizontal y regular semirrecta de un extremo al otro del huevo . . . *Allograpta pulchra* Shannon

Hay celdas alargadas y otras regulares que forman redes curvas y horizontales de un extremo al otro del huevo . . . *Allograpta hortensis* (Philippi)

Larvas de instar II en adelante

- 1 Los apéndices tubulares de los espiráculos caudales poseen segmentación y divergen en su extremo distal. 2

Los apéndices tubulares no poseen segmentación, son paralelos y se encuentran unidos en toda su longitud, las puntas de

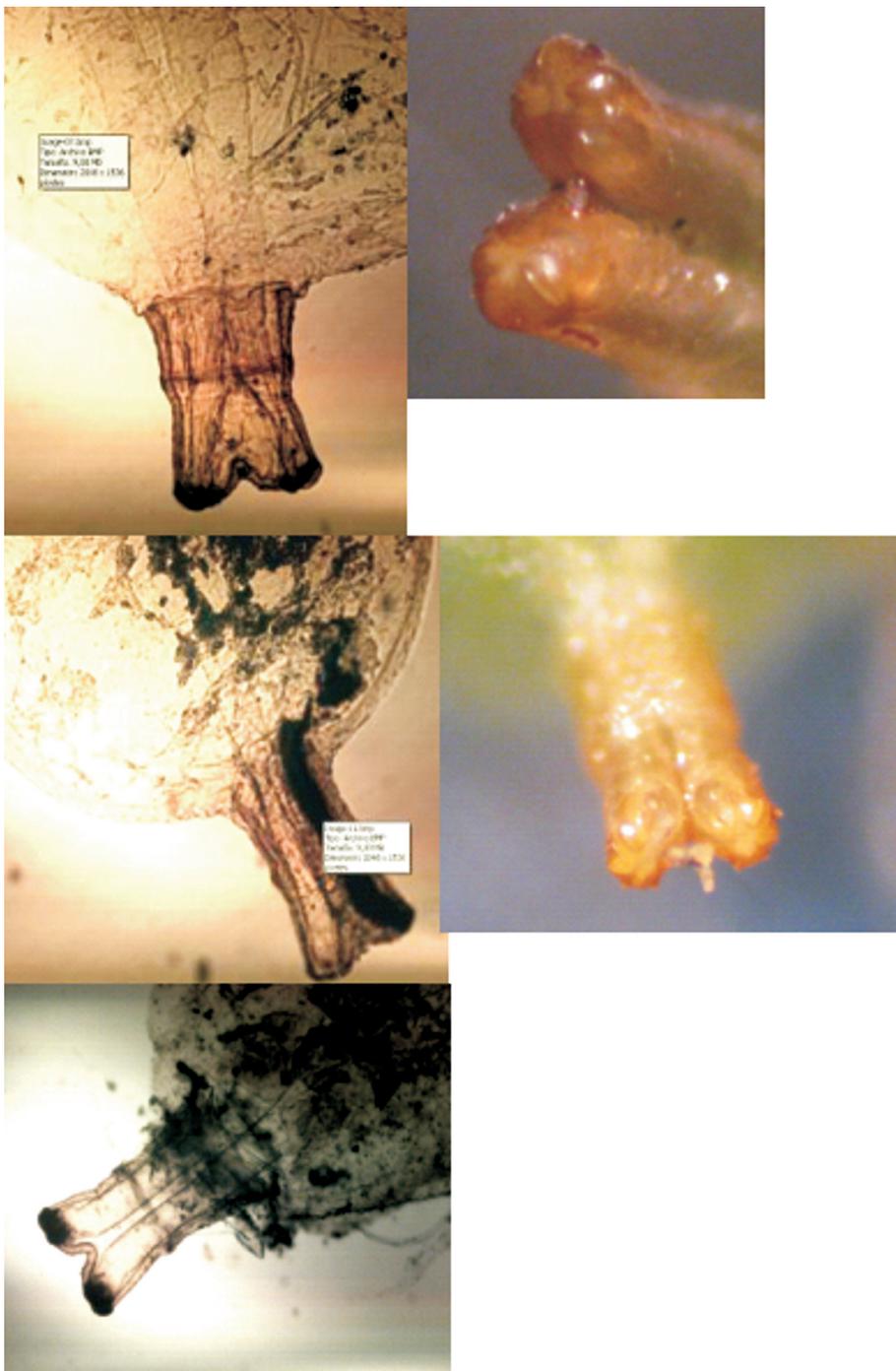


Figura 7. Complejo espiracular de larvas III de *A. pulchra* (sup.), *A. hortensis* (centro) y *A. exotica* (inf.)



Figura 8. Pupas de *A. hortensis* (sup.) y detalle de espiráculos de pupa de *A. exotica* (inf.)

las microespinas presentes en el tegumento son lanceoladas *Allograpta hortensis* (Philippi)

- 2 La longitud de los apéndices espiraculares es de aproximadamente 1,5 veces su ancho máximo; microespinas con puntas ovaladas *Allograpta pulchra* Shannon

La longitud de los apéndices espiraculares es de más de 2 veces su ancho máximo; microespinas con puntas aguzadas *Allograpta exotica* (Wiedemann)

DISCUSIÓN

Las moscas de las flores (Diptera, Syrphidae), como su nombre indica, utilizan a estas estructuras como sitios de apareamiento y fuentes de néctar y polen para alimento. Los adultos se pueden reconocer por la venación alar, son comunes sobre las flores y con frecuencia permanecen suspendidos en el aire (BORROR *et al.*, 1989). Sólo los miembros de la subfamilia Microdontinae no están asociados con flores, sino con sus hormigas hospedadoras (BARRANCO, 2003). Muchas especies presentan mimetismo batesiano y simulan ser himenópteros picadores (THOMPSON *et al.*, 1976).

Las larvas viven en ambientes diversos, la gran mayoría terrestres, aunque algunas son acuáticas; cerca del 25% de las primeras son depredadoras, principalmente de áfidos. Las larvas de las especies terrestres presentan por lo general tres instares y el tercer estadio varía entre 6 y 19 mm de longitud (PETERSON, 1960). La subfamilia Syrphinae comprende la mayoría de las especies cuyas larvas depredan áfidos y otros artrópodos de cuerpo blando (VOCKEROTH y THOMPSON, 1987). Los sirfidos afidófagos presentan tres estadios larvarios antes de su pupación y todos ellos depredan una amplia variedad de pulgones (ROJO *et al.*, 2003). Para alimentarse de ellos, las larvas atraviesan su exoesqueleto y los levantan de la superficie de la planta mientras extraen sus fluidos internos (ROJO *et al.*, 1996). Así, reducen la densidad de los áfidos plaga a niveles tolerables (ADAMS *et al.*, 1987). Las larvas comen varios cientos de áfidos durante su desarrollo. A pesar de su gran voracidad, el uso de sirfidos afidófagos en Control Biológico de Plagas no es fácil debido a las demandas ambientales específicas y diferentes entre larvas y adultos, ya que estos últimos se alimentan de mielecilla de áfidos y también de néctar y polen (SCHNEIDER, 1969).

FRECHETTE *et al.* (2007) han sugerido su idoneidad en sistemas de manejo integrado de plagas, y WEEMS (2000) estima que poblaciones densas de larvas de *A. obliqua*

pueden controlar entre 70 y 100% de las poblaciones de pulgones. TENHUNBERG (1995) señala que el único sírfido afidófago disponible comercialmente, *Episyrphus balteatus* (De Geer), la especie más abundante en muchos cultivos en el norte y centro de Europa, depreda a *Sitobion avenae* (F.) en campos de trigo y reduce su población de 475 a 30 individuos por brote.

En Chile, *Allograpta*, el género más común, tiene siete especies (ETCHEVERRY, 1963), de sírfidos pequeños, muy abundantes en algunos sectores; se diferencia del resto de la subfamilia Syrphinae en que las inserciones de las antenas están separadas por cerca de dos veces el largo del escape, y además su metaesterno tiene pilosidad abundante. *Allograpta* tiene distribución principalmente circumtropical, aunque se han identificado algunas especies en Australia y Florida (VOCKEROTH y THOMPSON, 1987). En el mundo existen 116 especies descritas de *Allograpta*, divididas en seis subgéneros, *Allograpta*, *Antillus*, *Claraplumula*, *CR*, *Fazia* y *Rhinoprosopa* (THOMPSON, 2006).

Las especies de *Allograpta* más abundantes en Chile son *A. pulchra* Shannon y *A. hortensis* (Philippi), y sus adultos se encuentran con facilidad en cultivos y malezas en flor. *Allograpta hortensis* se ha encontrado en Argentina (Neuquén) y en Chile (La Serena, Valparaíso, Santiago, Angol, Nahuelbuta, Valdivia, Frutillar, Magallanes, etc.), mientras que *A. pulchra* se ha encontrado en Santiago, Los Andes, Concepción, Angol, Puerto Montt y Chiloé (ETCHEVERRY, 1963).

Existen diversas claves de identificación para familias, géneros y especies de dípteros, pero a menudo se refieren a adultos, como aquella para especies del género *Allograpta* desarrollada por LÓPEZ *et al.* (2012), quienes las identificaron mediante rasgos macroscópicos generales. Además de una clave, PETERSON (1960) describió las características generales de larvas de último estadio de familias de Diptera. Más tarde, GRECO (1998) desarrolló una clave de identificación para instares larvarios y la com-

pletó con una para pupas, que no difiere mucho de aquella para el tercer instar, pues los sírfidos pupan dentro de la última cutícula larvaria, la que conserva un color similar y mantiene los espiráculos sin variación morfológica. Esa clave contiene cinco especies de sírfidos afidófagos, todas de distinto género, por lo que las diferencias entre ellas son mucho más marcadas y a pesar de que aparece *Allograpta exotica* no incluye una descripción que la diferencie de otras especies del mismo género.

Morfología de los estados preimaginales

Los huevos varían de color blanco lechoso a amarillento (BHATIA, 1939). Su tamaño es aproximadamente 1 mm de largo por 0,25 mm de ancho y su forma es subcilíndrica, algo curvados longitudinalmente y con levemente menor grosor en sus extremos (Heiss, 1938); poseen el extremo micropilar truncado y el margen posterior redondeado (METCALF, 1913). El diseño del corion presenta un patrón único para cada especie y refleja la forma de las células foliculares que lo secretan (BHATIA, 1939).

Las larvas afidófagas y fitófagas de la familia Syrphidae se diferencian de otras familias de dípteros en que los espiráculos caudales son contiguos, sus segmentos abdominales y torácicos poseen varios pliegues transversales y la cabeza es retráctil (PETERSON, 1960). El aparato bucal está constituido por un esqueleto cefalofaríngeo con tres escleritos, típicos del suborden Cyclorhapha (HEISS, 1938). Las larvas afidófagas tienen el abdomen de nueve segmentos y cada uno de ellos presenta 12 setas o microespinas en posiciones definidas (PETERSON, 1960). Poseen un exoesqueleto rugoso y transparente, por lo general de color marrón, rosado o verde, matizado con blanco o negro (METCALF, 1913).

La subfamilia Syrphinae tiene una pupa con forma semejante a una gota de agua de 6 a 7 mm de longitud, aguzada en un extremo y engrosada hacia el otro, y se oscurece

a medida que avanza el desarrollo (VOCKE-ROTH y THOMPSON, 1987).

Sobre el género *Allograpta* han aparecido algunas descripciones específicas de estados juveniles, pero son muy generales, como en VILARINHO DE OLIVEIRA y DOS SANTOS (2005), quienes describen a *A. exotica* como sigue: “las larvas poseen una coloración verde con manchas longitudinales blancas en el dorso”, una característica típica de las larvas de ese género; tampoco determinaron el número de mudas y por ende no describieron las diferencias entre instares, y presentaron brevemente las características del huevo y la pupa. WEEMS (2000) hace una descripción más completa del huevo, larva de tercer estadio y pupa *A. obliqua*, pero tampoco con características que los diferencien de otras especies de *Allograpta*. OBANDO (1980) hace una descripción bastante completa de los estados pre-imaginales de *A. pulchra*, en base principalmente a preparaciones microscópicas de estructuras quitinosas, principalmente el aparato cefalofaríngeo, que no permiten una identificación rápida y que requiere un microscopio óptico; además, la descripción del pupario es errónea, pues la coloración no corresponde a un marrón amarillento que se va oscureciendo junto con su desarrollo, sino es un verde claro intenso.

Este error puede deberse a que las pupas descritas en aquel trabajo estaban parasitadas por microhimenópteros, pues cuando esto ocurre el pupario adquiere dicho color marrón.

Las descripciones originales de ETCHEVERRY (1963) mencionan las especies que representan al género *Allograpta* en Chile, pero no existe información sobre los estados pre-imaginales de *A. hortensis*, como la aportada por nuestras observaciones.

En esta investigación se colectaron tres especies de *Allograpta* y se describen sus estadios juveniles, con características propias del género, lo que permite diferenciar a *Allograpta* de otros géneros de sírfidos presentes en los ecosistemas de la zona central de Chile. Estas características son principalmente la coloración verdosa intensa con las bandas blanquecinas en el dorso y los espiráculos caudales prominentes, ambas observables en el campo sobre larvas de segundo instar en adelante. Los resultados de esta investigación permitirán identificar en estado preimaginal tres de las especies más abundantes de sírfidos depredadores en la zona central de Chile. Este trabajo continúa el de LÓPEZ *et al.* (2012) sobre identificación de los adultos de estos insectos benéficos.

ABSTRACT

CASTRO, V., J. E. ARAYA. 2012. Identification key for eggs, larvae and pupae of *Allograpta* (Diptera: Syrphidae) common in the central zone of Chile. *Bol. San. Veg. Plagas*, **38**: 83-94.

To describe the juvenile stadia of the most abundant representatives of the genus *Allograpta* in the Metropolitan Region, periodic samples were obtained with an entomological net from blooming plants in areas unexposed to insecticides in La Pintana commune, Santiago, Chile. The specimens were identified and sexed to set fertilized females for oviposition. Three species were reared to complete their cycle, *A. hortensis* (Philippi), *A. exotica* (Wiedemann), and *A. pulchra* Shannon, and the morphology of their eggs, larvae I, II, and III, and pupae, are described. A simple key for the identification of their juvenile stages is presented. The knowledge obtained will allow further studies toward their potential use in biological control and integrated pest management of aphids.

Key words: *Allograpta hortensis*, *Allograpta exotica*, *Allograpta pulchra*, hover flies, sirphyd flies.

REFERENCIAS

- ADAMS, T. H. L., CHAMBERS, R. J., DIXON, A. F. G. 1987. Quantification of the impact of the hoverfly, *Metasyrphus corollae* on the cereal aphid, *Sitobion avenae*, in winter wheat: laboratory rates of kill. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **43** (2): 153-157.
- BARRANCO, V. P. 2003. Dípteros de interés agronómico. Agromicidas plaga de cultivos hortícolas intensivos. *Entomología aplicada* (VI). *Boletín Sociedad Entomológica Aragonesa*, **33**: 293-307.
- BHATIA, M. L. 1939. Biology, morphology and anatomy of aphidophagous Syrphid larvae. *Parasitology*, **31**: 78-129.
- BENESTAD, E., HAGVAR, E. B. 1974. Effectiveness of larvae of *Syrphus ribesii* and *Syrphus corollae* (Diptera, Syrphidae) as predators on *Myzus persicae* (Homoptera: Aphididae). *Entomophaga*, **19**: 123-134.
- BORROR, D. J., TRIPLEHORN, C. A., JOHNSON, N. F. 1989. An introduction to the study of insects, sixth edition. Saunders College Publishing, Fort Worth, Texas, US. 875 p.
- ETCHEVERRY, M. 1963. Descripciones originales, sinonimia y distribución geográfica de las especies de la familia Syrphidae (Diptera) de Chile. *Publicaciones del Centro de Estudios Entomológicos de la Universidad de Chile*, Santiago. 143 p.
- FRECHETTE, B., ROJO, S., ALOMAR, O., LUCAS, E. 2007. Intraguild predation between syrphids and mirids: Who is the prey? Who is the predator? *Biocontrol*, **52** (2): 175-191.
- GRECO, C. F. 1998. Sirfidos afídofagos (Diptera, Syrphidae): identificación rápida a campo de estados preimaginales y lista de enemigos naturales de las especies más frecuentes en cereales y forrajes en la provincia de Buenos Aires (Argentina). *Acta Entomologica Chilena*, **22**: 7-11.
- HEISS, E. M. 1938. *A classification of the larvae and puparia of the Syrphidae of Illinois exclusive of aquatic forms*. Illinois Biological Monographs 16(4), University of Illinois Press, Urbana. 142 p.
- LÓPEZ, R. 2007. *Desarrollo de una clave de identificación y determinación de los sirfidos asociados a un cultivo de alfalfa en colina, región metropolitana*. Memoria Ing. Agr., Universidad de Chile. 47 p.
- LÓPEZ, R., ARAYA, J. E., SAZO, L. 2012. Colectas de Syrphidae (Diptera) en alfalfa en Colina, Región Metropolitana, Chile, y clave de identificación de seis especies de *Allograpta*. *Boletín de Sanidad Vegetal, Plagas*, **38** (1): 3-15.
- METCALF, C. L. 1913. The Syrphidae of Ohio. *Ohio Biology Survey Bulletin*, **1**: 1-123.
- OBANDO, I. 1980. *Morfología de los estados pre-imaginales y aspectos de biología de 4 especies de sirfidos afídofagos: Allograpta pulchra Shannon, Melanostoma fenestratum Macquart, Mesograpta philippi Shannon y Syrphus octomaculatus Walker*. Memoria Ing. Agr., Fac. de Ciencias Agrarias, Universidad Austral de Chile. 95 p.
- PETERSON, A. 1960. *Larvae of insects. An introduction to Nearctic species, Part II*, 6th edition. Ohio State University. 416 p.
- ROJO, S., GILBERT, F., MARCOS-GARCÍA, M. A., NIETO, J. M., MIER, M. P. 2003. *A world review of predatory hoverflies (Diptera, Syrphidae: Syrphinae) and their prey*. CIBIO (Centro Iberoamericano de la Biodiversidad), Universidad de Alicante, Spain. 319 p.
- ROJO, S., HOPER, K. R., MARCOS-GARCÍA, M. A. 1996. Fitness of the hoverflies *Episyrphus balteatus* and *Eupeodes corollae* faced with limited larval prey. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **81**: 53-59.
- SCHNEIDER, F. 1969. Bionomics and physiology of aphidophagous Syrphidae. *Annual Review of Entomology*, **14**: 103-124.
- SPEIGHT, M. C., LUCAS, J. W. 1992. Liechtenstein Syrphidae (Diptera). *Ber. Bot.-Zool. Ges. Liechtenstein Sargans Werdenberg*, **19**: 327-463.
- TENHUMBERG, B. 1995. Estimating predatory efficiency of *Episyrphus balteatus* (Diptera: Syrphidae) in cereal fields. *Environmental Entomology*, **24**: 687-691.
- TENHUMBERG, B. 2004. *Predicting predation efficiency of biocontrol agents: linking behavior of individuals and population dynamics*. School of Natural Resources, University of Nebraska-Lincoln, Nebraska, US. Rev 25 abr. 2011, en [http://www.unl.edu/btenhumberg/Tenhumberg%20PDF/Tenhumberg%20\(Aphid%20Syrphid\).pdf](http://www.unl.edu/btenhumberg/Tenhumberg%20PDF/Tenhumberg%20(Aphid%20Syrphid).pdf)
- THOMPSON, F. C. 2006. *Biosystematic Database of World Diptera, Version 7.5*. Rev. 5 ago. 2009, en <http://www.diptera.org/biosys.htm>
- THOMPSON, F. C., VOCKEROTH, J. R., SEDMAN, Y. S. 1976. Family Syrphidae. In: PAPAREVO, N. (ed.), *A catalogue of the Diptera of the Americas south of the United States*. Mus. Zool. Univ. Sao Paulo, Brasil, Fasc. **46**: 1-195.
- VILARINHO DE OLIVEIRA, M. R., DOS SANTOS, E. A. 2005. Biología de *Allograpta exótica* (Wiedeman), *Toxomerus lacrimosus* (Bigot) (Diptera: Syrphidae) e de *Nephosis hydra* (Gordon) (Coleoptera: Coccinellidae), predadores de ovos e ninfas da mosca-branca, *Bemisia tabaci* (Gennadius), biótipo B (Hemiptera: Aleyrodidae). Comunicado Técnico 123 (EMBRAPA). ISSN 9192-0099. 15 p. Rev 25 abr. 2011, en: <http://www.cenargen.embrapa.br/publica/trabalhos/cot123.pdf>
- VOCKEROTH, J. R., THOMPSON, F. C. 1987. Family Syrphidae. Chapter 52: 713-743. In: MCALPINE, J. F., WOOD, D. M. (eds.), *Manual of the Nearctic Diptera*, Vol. 2. Research Branch, Agriculture Canada, Ottawa, Monograph, **28**: 667-1332.
- WEEMS, H. V. 2000. *A hover fly: Allograpta obliqua (Say) (Insecta: Diptera: Syrphidae)*. Univ. of Florida Publ. EENY-185. Rev. 22 dic. 2009, en: <http://edis.ifas.ufl.edu/pdf/IN/IN34200.pdf>

(Recepción: 27 diciembre 2011)

(Aceptación: 28 marzo 2012)

Ecotoxicidad de insecticidas de uso frecuente en el cultivo del tomate, en el enemigo natural *Trichogramma achaeae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae)

R. M.^a Saelices, A. López, F. Amor, P. Bengochea, M.^a M. Fernández, A. Garzón, I. Morales, E. Velázquez, P. Medina, A. Adán, P. Del Estal, E. Viñuela, F. Budia

Desde que *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) fue detectada en 2006 como nueva plaga del cultivo de tomate en España, se han seleccionado diversos enemigos naturales para su control. En programas de control biológico, se ha estado usando el parasitoide autóctono *Trichogramma achaeae* Nagaraja & Nagarkatti (Hymenoptera: Trichogrammatidae), contra esta plaga. Sin embargo la medida de control más utilizada se basa en el uso de plaguicidas; y en el marco de los programas de Manejo Integrado de Plagas (MIP), resulta necesario conocer el efecto de los plaguicidas sobre los insectos beneficiosos para poder emplearlos de manera conjunta. En este trabajo, se han evaluado los efectos letales y subletales de varios insecticidas de uso frecuente en el cultivo de tomate sobre adultos de *T. achaeae*. Los plaguicidas se pulverizaron, bien sobre plantas de tomate, o sobre huevos de *T. absoluta*, hasta punto de goteo a la máxima concentración de campo recomendada. Se registró la mortalidad a las 24, 48 y 72 horas, así como la capacidad benéfica y el porcentaje de emergencia. Los resultados muestran la compatibilidad entre *Bacillus thuringiensis* subsp. *Kurstaki* y el parasitoide. Por el contrario, emamectina (Benzoato) e imidacloprid fueron moderadamente tóxicos para *T. achaeae*.

R. M.^a Saelices, F. Amor, P. Bengochea, M.^a M. Fernández, A. Garzón, I. Morales, E. Velázquez, P. Medina, A. Adán, P. Del Estal, E. Viñuela, F. Budia. Unidad de Protección de cultivos. Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos. Universidad Politécnica de Madrid. Ciudad Universitaria s/n. 28040. Madrid. flor.budia@upm.es
A. López. Syngenta Agro S.A. C/ Ribera del Loira 8-10. 28042. Madrid. antonio.lopez@syngenta.com

Palabras clave: *Tuta absoluta*, control biológico, *Bacillus thuringiensis*.

INTRODUCCIÓN

La polilla del tomate *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) es un insecto originario del norte del continente sudamericano que se ha ido expandiendo desde mediados del siglo XX, hacia las principales áreas de cultivo del tomate en el continente sudamericano (GARCIA-MARI y VERCHER, 2010). Esta plaga apareció por primera vez en el este de España a finales del 2006 y

posteriormente se extendió por la cuenca del Mediterráneo y Europa (DESNEUX *et al.*, 2010).

Desde la llegada de esta plaga a la cuenca mediterránea, se han descrito un conjunto de enemigos naturales endémicos, y actualmente se está evaluando su potencial para utilizarlos en el control de *T. absoluta* (DESNEUX *et al.*, 2010).

Durante los años 2007 y 2008 se seleccionó un parasitoide de huevos autóctono, *Tri-*

chogramma achaeae Nagaraja & Nagarkatti (Hymenoptera: Trichogrammatidae) y CABELLO *et al.* (2009) demostraron su potencial como parasitoide de *T. absoluta*, comprobando que tenía un comportamiento muy agresivo contra la plaga (CABELLO *et al.*, 2010). Actualmente este mismo parasitoide está siendo evaluado como potencial agente de control biológico de *Chrysodeixis chalcites* (Esper) (Lepidoptera: Noctuidae) en cultivos de banana (POLASZEK *et al.*, 2011).

El control químico ha sido hasta ahora, la principal estrategia de control para este insecto (BIELZA, 2010). Por lo tanto, la integración con otros métodos de control (culturales, biológicos y biotecnológicos) comienza a ser imprescindible, ya que el uso continuado de insecticidas químicos podría dañar a los insectos beneficiosos, aplicadores, consumidores, y al medio ambiente (GONZÁLEZ-CABRERA *et al.*, 2011).

El objetivo principal de este trabajo ha sido evaluar la toxicidad de diversos insecticidas, actualmente de uso frecuente en plantas hortícolas, sobre adultos de *T. achaeae*.

MATERIAL Y MÉTODOS

Ensayo residual: aplicación de insecticidas a hojas de tomate (Ensayos 1 y 2)

Se llevaron a cabo dos tipos de ensayos, en el primero, se evaluó el efecto de los compuestos, *Bacillus thuringiensis* subsp. Kurstaki (Costar), emamectina (Benzoato) e imidacloprid sobre adultos (procedentes de una casa comercial), evaluándose el porcentaje de mortalidad hasta 72 horas después del tratamiento. En el segundo, se evaluó el efecto de dos formulaciones distintas del compuesto *B. thuringiensis* subsp. Kurstaki (Costar y Bactur) en individuos procedentes de una cría establecida en el laboratorio. En este último se evaluó el porcentaje de mortalidad a las 24, 48 y 72 horas después del

tratamiento, el porcentaje de parasitación (porcentaje de huevos parasitados respecto al de huevos ofrecidos), y el parasitismo de las hembras (n.º de huevos/hembra y día) a las 24 horas (2.º día) y 48 horas (3.º día) del ensayo (ofreciéndoles a las hembras, huevos del huésped de sustitución *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae)), así como el porcentaje de emergencia de los adultos del parasitoide.

Para evaluar el parasitismo y el porcentaje de emergencia, se contabilizó el número de individuos emergidos y el número de huevos con agujero/s de salida. Cuando un huevo contenía claramente dos individuos de *Trichogramma* sp., o presentaba dos agujeros de salida, era contado dos veces (MORENO, 2007).

Material vegetal

Para la realización de los ensayos se utilizaron plantas de tomate (variedad Marmande). Se sembraron las semillas en semilleros situados en una cámara de germinación a 25°C de temperatura y 50% de HR. Posteriormente, cuando el tallo de las plantas alcanzó una altura de 10 a 15 cm, se trasladaron a los invernaderos de los Campos de prácticas de la Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos (Universidad Politécnica de Madrid). Allí se trasplantaron a tiestos más grandes donde permanecieron hasta alcanzar el tamaño requerido.

Insectos

Los insectos utilizados en el primer ensayo (Ensayo 1) son los proporcionados directamente por una casa comercial (TRICHOCOL; Agrobio S.L, La Mojenera, Almería, España). Los evaluados en el segundo ensayo (Ensayo 2) descienden de una población establecida en el laboratorio, a partir de los primeros.

Para la cría en el laboratorio de los mismos, se ha utilizado el huésped de sustitución *E. kuehniella* (Figuras 1 y 2).

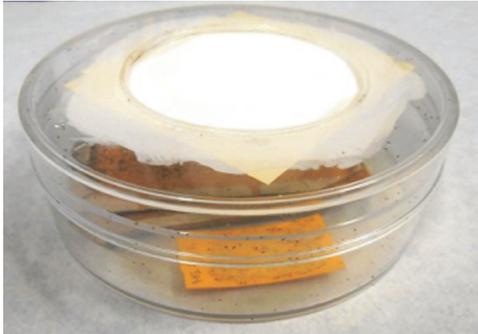


Figura 1. Caja de cría de *T. achaeae*

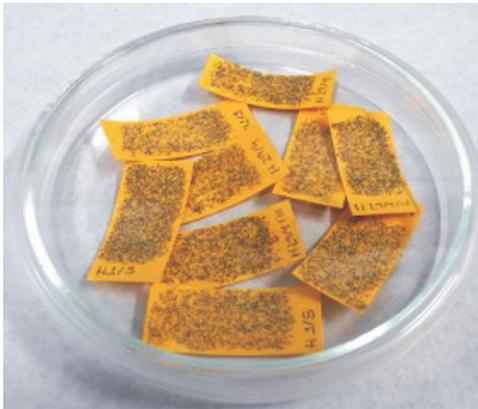


Figura 2. Huevos de *E. kuehniella* parasitados

Metodología

Los productos a evaluar se aplicaron sobre las plantas situadas en el invernadero, utilizando pulverizadores manuales hasta punto de goteo. Una vez secas (aproximadamente 3-4 horas después), se cortan los folíolos de peciolo largo (folíolos terminales), y con el fin de conservar los folíolos durante el tiempo que dura el ensayo, se introduce el peciolo en un éppendorf® con una solución de agar al 1%.

La unidad de ensayo consiste en una caja cilíndrica de plástico (7 cm de diámetro y 3 cm de altura), cuya tapa posee un orificio (1,5 cm de diámetro) cubierto con rejilla metálica para permitir una correcta ventila-

ción. Las paredes de la caja poseen dos orificios circulares, uno de ellos para insertar el éppendorf® con la hoja (por donde se pasearán y posarán los insectos) y el otro para introducir los insectos objeto de estudio (Figuras 3 y 4).

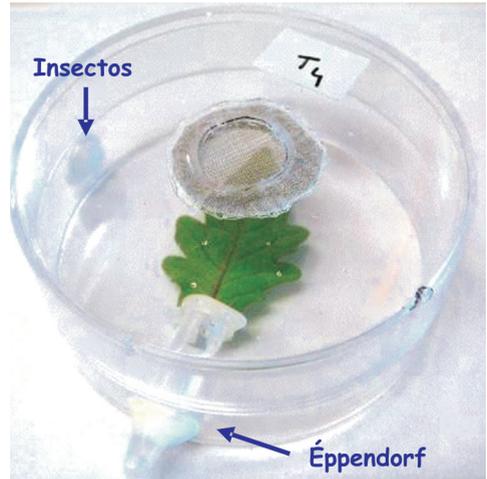


Figura 3. Caja de ensayo



Figura 4. Éppendorf inserto en el orificio de la caja de ensayo

Una vez montadas las cajas con las hojas de tomate, se procede a introducir los adultos, con la ayuda de un pincel, dado el pequeño tamaño de los mismos. En el Ensayo 1 (insectos comerciales), al ser el porcentaje de mortalidad el único parámetro evaluado, se introdujeron 5 adultos por caja, resultando indiferente el que fueran machos

o hembras, así como el número de individuos expuestos a los residuos. En cambio, en el Ensayo 2 (población de laboratorio) se expusieron a los tóxicos, 2 hembras y 2 machos por caja. La comida de los insectos consiste en gotitas de miel aplicadas con la punta de un punzón en la tapa superior de la caja, para evitar que los insectos se queden pegados.

A los insectos procedentes de la cría de laboratorio, después de 24 horas de contacto con el residuo, se les ofrecieron 20-25 huevos de *E. kuehniella* (3-4 días de edad), a las 24 horas (2.^o día) y 48 horas (3.^{er} día) después de haber estado en contacto con el residuo, con el fin de evaluar el parasitismo de las hembras (Figura 5). Estos huevos se esterilizan previamente con luz ultravioleta (TUV G15 T8; PHILIPS), ya que los individuos de *Trichogramma* pueden desarrollarse y emerger cuando se usan huevos tratados con luz UV como huéspedes (TAKADA *et al.* 2001). Cuando no se esterilizan los huevos, de éstos emergen larvas de *E. kuehniella* que se destinan al proceso de cría del huésped, llevado a cabo en el laboratorio.



Figura 5. Tarjetas de huevos de *E. kuehniella*

Tras la esterilización, los huevos se pegan en tiras rectangulares de cartulina blanca (1,5 × 0,6 cm) por medio de una solución acuosa de goma tragacanto. Se recomienda el uso de la misma por ser completamente inocua para *Trichogramma* spp., y con el fin de facilitar el manejo de huéspedes y para-

sitoides (HASSAN *et al.* 2000, HASSAN y ABDELGADER, 2001).

Para evaluar la capacidad benéfica, los huevos de *E. kuehniella* se dejaron 24 horas en contacto con las hembras y a continuación se trasladaron las tarjetas a vasitos de cristal de 3 cm de diámetro y 4 cm de altura (Figura 6) tapados con Parafilm[®], con el fin de poder hacer un seguimiento de los huevos hasta la emergencia de los adultos.

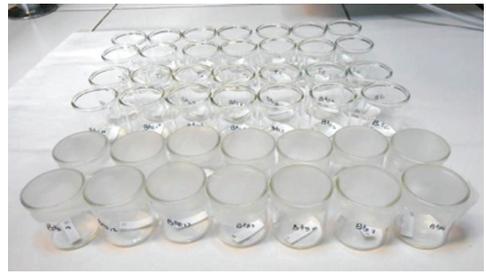


Figura 6. Vasitos con tarjetas de huevos de *E. kuehniella*

Ensayo residual: aplicación de insecticidas a huevos de *T. absoluta* (Ensayo 3)

El ensayo consistió en pulverizar huevos de *T. absoluta* (de 2-3 días de edad), con *B. thuringiensis* subsp. *Kurstaki* (Costar y Bactur) y una vez secos (aproximadamente 3-4 horas después) se ofrecieron 12 huevos a cada dos hembras de *T. achaeae* (de 24 horas de edad) para que los parasitasen.

Los huevos de *T. absoluta* se obtuvieron de plantas de tomate que fueron introducidas en jaulas de cría (60 × 60 × 60 cm), las cuales se mantenían en los invernaderos (Figura 7). Con la ayuda de una lupa y un pincel, los huevos se pegaron en cartulinas blancas (1,5 × 0,6 cm) de igual modo que se hizo con los huevos de *E. kuehniella*. La unidad de ensayo y la metodología fue la misma que en los ensayos anteriores y se introdujeron 2 hembras y 2 machos por caja, de *T. achaeae* procedentes de la cría de laboratorio, los



Figura 7. Jaulón de cría de *T. absoluta*

cuales estuvieron 24 horas en contacto con los huevos tratados para su parasitación.

Los parámetros evaluados fueron el porcentaje de mortalidad hasta las 72 horas después del tratamiento, el porcentaje de parasitación, el parasitismo de las hembras, y el porcentaje de emergencia de los adultos de *T. achaeae*.

Localización y condiciones de realización de los ensayos

Todos los ensayos y la cría de los insectos se llevaron a cabo en un insectario (cámara

climática visitable de 4,25 × 2 × 2,5 m) (Figura 8) a 25° C, 65% de humedad relativa y fotoperiodo de 16 L: 8 O con el fin de controlar tanto su estado sanitario, como su ciclo de desarrollo, excepto la cría de *T. absoluta* que se llevó a cabo en los invernaderos, también en condiciones controladas.



Figura 8. Cajas de ensayo en el insectario

Compuestos evaluados

Los compuestos evaluados en los ensayos, el nombre comercial, formulación, casa comercial y dosis máxima de campo recomendada, se recogen en el Cuadro 1. En todos los ensayos se empleó la máxima dosis de campo recomendada y se utilizó agua destilada como tratamiento control. El uso de

Cuadro 1. Compuestos evaluados: ingrediente activo, nombre comercial, formulación, casa comercial y dosis máxima de campo

Ingrediente activo	Nombre comercial	Formulación (% i.a)	Casa comercial	Dosis máxima de campo
Emamectina (Benzoato)	AFFIRM	0,855%	Syngenta	150 g/hl
<i>Bacillus thuringiensis</i> subsp. Kurstaki	COSTAR	18%	Syngenta	50 gr/hl
<i>Bacillus thuringiensis</i> subsp. Kurstaki	BACTUR 2X WP	32%	C.Q.Massó	100 gr/hl
Imidacloprid	CONFIDOR 20 LS	20%	Bayer	75 cc/hl

i.a: ingrediente activo.

estos compuestos está indicado para plagas de lepidópteros y en concreto, los formulados comerciales basados en *B. thuringiensis* se han estado usando como una alternativa a los productos químicos, empezando por la región de origen de *T. absoluta*.

Se realizaron 15 repeticiones con cada producto en el caso del ensayo con insectos comerciales (Ensayo 1), y 20 en el ensayo con insectos procedentes de la cría de laboratorio (Ensayos 2 y 3). El número de repeticiones varía en función de la disponibilidad de insectos en el momento de la realización de los ensayos.

Análisis estadístico de los resultados

Los datos se analizaron estadísticamente utilizando la aplicación informática Statgraphics® Plus Version 5.1. Las series deben ser elegidas al azar, independientes, normalmente distribuidas (hipótesis de normalidad) y con varianzas homogéneas (hipótesis de homocedasticidad). Cuando no se cumplió alguna de las hipótesis, normalidad y/o homocedasticidad se recurrió a hacer un cambio de variable con la transformación $y = \arcsen(\sqrt{x/100})$. Si después del cambio de variable no se cumplieron las premisas anteriores, se recurrió al *Test no paramétrico de Kruskal-Wallis*. Por el contrario, si las hipótesis se cumplieron tras realizar el cambio de variable y se detectaban diferencias significativas, se recurrió al *Test LSD* (mínimas diferencias significativas).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Ensayo residual: aplicación de insecticidas a hojas de tomate (Ensayos 1 y 2)

Ensayo 1

Una vez realizado el análisis estadístico comprobamos que existen diferencias sig-

nificativas entre los compuestos emamectina (Benzoato) e imidacloprid y el testigo, resultando ser moderadamente tóxicos, con mortalidades que casi alcanzan el 80% a las 24 horas en el caso de emamectina (Benzoato), y superiores al 90% a las 72 horas con ambos compuestos (Cuadro 2). Estos resultados coinciden con los obtenidos por HEWA-KAPUGE *et al.* (2003) sobre *Trichogramma brassicae* Bezdenko (Hymenoptera: Trichogrammatidae), en los que los residuos frescos de imidacloprid y emamectina resultaron ser tóxico y moderadamente tóxico, respectivamente, para el insecto cuando se expuso a hojas de tomate tratadas. En insectos expuestos a residuos de imidacloprid sobre substrato inerte, SABER (2011) registró un 100% de mortalidad a las 24 horas en adultos de *Trichogramma cacaeciae* Marchal (Hymenoptera: Trichogrammatidae), y sin embargo PREETHA *et al.* (2010), lo clasificaron como inocuo para otra especie de *Trichogramma* como *T. chilonis* Ishii (Hymenoptera: Trichogrammatidae) cuando se trató el estado más protegido del parasitoide. No obstante, para los adultos de otras familias de parasitoides como *Chelonus Blackburni* Cameron (Hymenoptera: Braconidae) y *Habrobracon hebetor* Say (Hymenoptera: Braconidae) en ensayos residuales, imidacloprid, a la dosis de campo recomendada, se clasificó como moderadamente tóxico (PREETHA *et al.*, 2010). La susceptibilidad parece estar muy relacionada con la especie y su capacidad de detoxificación, ya que adultos de otras especies de parasitoides como *Eretmocerus mundus* Mercet (Hymenoptera: Aphelinidae), *Eretmocerus eremicus* Rose & Zolnerowich (Hymenoptera: Aphelinidae) y *Encarsia formosa* Gahan (Hymenoptera: Aphelinidae), son más sensibles a estos compuestos, puesto que imidacloprid y emamectina (Benzoato) ocasionaron un 100% de mortalidad a las 24 horas en ensayos del mismo tipo (SUGIYAMA *et al.*, 2011).

Cuadro 2. Porcentaje de mortalidad de adultos de *T. achaeae* tras su exposición a hojas de tomate tratadas con distintos compuestos. Ensayo 1 (insectos comerciales)

Compuestos	% Mortalidad 24 horas ⁽¹⁾	Mortalidad 24 horas corregida (%) ⁽²⁾	% Mortalidad 48 horas ⁽¹⁾	Mortalidad 48 horas corregida (%) ⁽²⁾	% Mortalidad 72 horas ⁽¹⁾	Mortalidad 72 horas corregida (%) ⁽²⁾	CAT. OILB ⁽³⁾
Testigo	2,67 ± 1,82 a	–	20 ± 5,86 a	–	38,67 ± 7,16 a	–	–
<i>Bacillus thuringiensis</i> subsp. Kurstaki (Costar)	9,33 ± 5,81 a	6,84	29,33 ± 8,25 a	11,66	40 ± 6,17 a	2,12	1
Emamectina (Benzoato)	77,33 ± 5,81 b	76,71	96 ± 2,14 b	95	98,67 ± 1,33 b	97,88	3
Imidacloprid	46,33 ± 8,54 c	44,86	69,33 ± 6,05 c	61,66	91,67 ± 2,75 b	86,46	3
<i>K</i>	42,86	–	39,17	–	43,13	–	–
<i>P</i>	< 0,001	–	< 0,001	–	< 0,001	–	–

Los datos son la media ± el error estándar de quince repeticiones por compuesto. En cada columna los datos seguidos por la misma letra no son significativamente diferentes (*P* < 0.05; ANOVA).

(1) Se recurrió al Test no paramétrico de Kruskal-Wallis

(2) Mortalidad corregida con respecto al testigo siguiendo la fórmula de Schneider-Orelli: $M (\%) = ((M-Mcontrol) / (100-Mcontrol)) \times 100$.

(3) Categorías toxicológicas de la OILB: 1 = Inocuo (reducción < 30%), 2 = Ligeramente tóxico (reducción 30-79%), 3 = Moderadamente tóxico (reducción 80-99%), 4 = Tóxico (reducción > 99%) (Según Hassan, 1994b).

Ensayo 2

Posteriormente, con insectos procedentes de la cría en laboratorio, evaluamos dos formulaciones del insecticida biológico *B. thuringiensis* subsp. Kurstaki (Bactur y y

Costar), los cuales apenas afectan a la supervivencia de *T. achaeae*, aunque a las 72 horas, Bactur (Cuadro 3) ocasiona una mortalidad ligeramente mayor que Costar no siendo las diferencias estadísticamente significativas.

Cuadro 3. Porcentaje de mortalidad de adultos de *T. achaeae* tras su exposición a hojas de tomate tratadas con *B. thuringiensis* subsp. Kurstaki. Ensayo 2 (población de laboratorio)

Compuestos	% Mortalidad 24 horas ⁽¹⁾	Mortalidad 24 horas corregida (%) ⁽²⁾	% Mortalidad 48 horas ⁽¹⁾	Mortalidad 48 horas corregida (%) ⁽²⁾	% Mortalidad 72 horas ⁽¹⁾	Mortalidad 72 horas corregida (%) ⁽²⁾	CAT. OILB ⁽³⁾
Testigo	5,42 ± 2,51 a	–	10,42 ± 3,91 a	–	15,83 ± 4,35 a	–	–
<i>Bacillus thuringiensis</i> subsp. Kurstaki (Bactur)	7,5 ± 3,19 a	2,20	14,17 ± 3,92 a	4,19	23,92 ± 3,87 a	9,61	1
<i>Bacillus thuringiensis</i> subsp. Kurstaki (Costar)	6,25 ± 3,08 a	0,88	10 ± 3,8 a	0	16 ± 4,52 a	0,20	1
<i>F</i>	0,11	–	1,73	–	0,48	–	–
<i>g.l</i>	2; 57	–	2; 57	–	2; 57	–	–
<i>P</i>	0,0897	–	0,1870	–	0,6236	–	–

Los datos son la media ± el error estándar de veinte repeticiones por compuesto. En cada columna los datos seguidos por la misma letra no son significativamente diferentes (*P* < 0.05; ANOVA).

(1) Fue necesario realizar un cambio de variable ($y = \arcsen(\sqrt{x/100})$).

(2) Mortalidad corregida con respecto al testigo siguiendo la fórmula de Schneider-Orelli: $M (\%) = ((M-Mcontrol) / (100-Mcontrol)) \times 100$.

(3) Categorías toxicológicas de la OILB: 1 = Inocuo (reducción < 30%), 2 = Ligeramente tóxico (reducción 30-79%), 3 = Moderadamente tóxico (reducción 80-99%), 4 = Tóxico (reducción > 99%) (Según Hassan, 1994b).

El porcentaje de parasitación (porcentaje de huevos parasitados respecto al de huevos ofrecidos), y el parasitismo (n.º de huevos/hembra y día) de las hembras expuestas a los residuos de ambas formulaciones fueron similares al testigo (Cuadros 4 y 5; Figuras 9 y 10), y la emergencia de los adultos fue muy alta en todos los casos, con porcentajes entre el 89 y 95% (Cuadro 6, Figura 11). Se ha demostrado la inocuidad del insecticida biológico *B. thuringiensis* subsp. *Kurstaki* sobre diversas especies del género *Trichogramma*, y así se ha podido estimar en *T. cacaeciae* en el que tras probar varias formulaciones de este compuesto, fueron clasificadas como inofensivas en ensayos residuales sobre sustra-

to inerte en adultos (HASSAN, 1994a), o cuando se aplica directamente sobre adultos de *Trichogramma ostrinae* (Peng and Chen) (Hymenoptera: Trichogrammatidae) donde la tasa de supervivencia fue de 91,88% después de tratar los insectos con este compuesto (IN-CHEON *et al.* 2010). Así mismo, VIEIRA *et al.* (2001) y GARCÍA *et al.* (2009), evaluaron el compuesto *B. thuringiensis* var. *Kurstaki* (Dipel), sobre el estado más protegido del parasitoide *Trichogramma cordubense* Vargas & Cabello (Hymenoptera: Trichogrammatidae) después de pulverizar los huevos parasitados del huésped, no encontrando efectos en la emergencia, longevidad y fecundidad del parasitoide.

Cuadro 4. Porcentaje de huevos parasitados por adultos de *T. achaeae* tras su exposición a hojas de tomate tratadas con *B. thuringiensis* subsp. *Kurstaki*. Ensayo 2 (población de laboratorio)

Compuestos	% Huevos parasitados 2.º día ⁽¹⁾	Reducción 2.º día (%) ⁽²⁾	% Huevos parasitados 3.º día ⁽¹⁾	Reducción 3.º día (%) ⁽²⁾	CAT. OILB ⁽³⁾
Testigo	18,78 ± 7,23 a	–	34,92 ± 8,13 a	–	–
<i>Bacillus thuringiensis</i> subsp. <i>Kurstaki</i> (Bactur)	32,09 ± 7,93 a	–	36,81 ± 8,27 a	–	1
<i>Bacillus thuringiensis</i> subsp. <i>Kurstaki</i> (Costar)	26,79 ± 6,81 a	–	30,38 ± 7,82 a	13	1
<i>F</i>	0,90	–	0,16	–	–
<i>g.l</i>	2; 57	–	2; 57	–	–
<i>P</i>	0,414	–	0,849	–	–

Los datos son la media ± el error estándar de veinte repeticiones por compuesto. En cada columna los datos seguidos por la misma letra no son significativamente diferentes ($P < 0.05$; ANOVA).

(1) % Huevos parasitados respecto al de huevos ofrecidos. Fue necesario realizar un cambio de variable ($y = \arcsen(\sqrt{x/100})$)

(2) % Parasitación corregido con respecto al testigo siguiendo la fórmula de Abbott: $P(\%) = (1 - (P_{\text{tratado}}/P_{\text{control}})) \times 100$.

(3) Categorías toxicológicas de la OILB: 1 = Inocuo (reducción < 30%), 2 = Ligeramente tóxico (reducción 30-79%), 3 = Moderadamente tóxico (reducción 80-99%), 4 = Tóxico (reducción > 99%) (Según Hassan, 1994b).

Cuadro 5. Parasitismo de hembras de *T. achaeae* tras su exposición a hojas de tomate tratadas con *B. thuringiensis* subsp. *Kurstaki*. Ensayo 2 (población de laboratorio)

Compuestos	Parasitismo 2.º día (n.º huevos/♀)	Reducción 2.º día (%) ⁽¹⁾	Parasitismo 3.º día (n.º huevos/♀)	Reducción 3.º día (%) ⁽¹⁾	CAT. OILB ⁽²⁾
Testigo	8,17 ± 1,31 a	–	10,06 ± 0,71 a	–	–
<i>Bacillus thuringiensis</i> subsp. <i>Kurstaki</i> (Bactur)	7,9 ± 0,77 a	3,30	9,95 ± 0,98 a	1,09	1
<i>Bacillus thuringiensis</i> subsp. <i>Kurstaki</i> (Costar)	7 ± 8,38 a	14,32	8,38 ± 1,05 a	16,70	1
<i>F</i>	0,47	–	0,97	–	–
<i>g.l</i>	2; 23	–	2; 24	–	–
<i>P</i>	0,633	–	0,393	–	–

Los datos son la media ± el error estándar de varias repeticiones por compuesto. En cada columna los datos seguidos por la misma letra no son significativamente diferentes ($P < 0.05$; ANOVA).

(1) Parasitismo corregido con respecto al testigo siguiendo la fórmula de Abbott: $P(\%) = (1 - (P_{\text{tratado}}/P_{\text{control}})) \times 100$.

(2) Categorías toxicológicas de la OILB: 1 = Inocuo (reducción < 30%), 2 = Ligeramente tóxico (reducción 30-79%), 3 = Moderadamente tóxico (reducción 80-99%), 4 = Tóxico (reducción > 99%) (Según Hassan, 1994b).

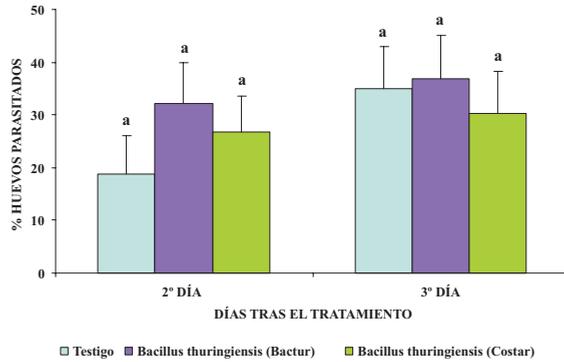


Figura 9. Porcentaje de huevos parasitados por adultos de *T. achaeae*. Ensayo 2 (población de laboratorio)

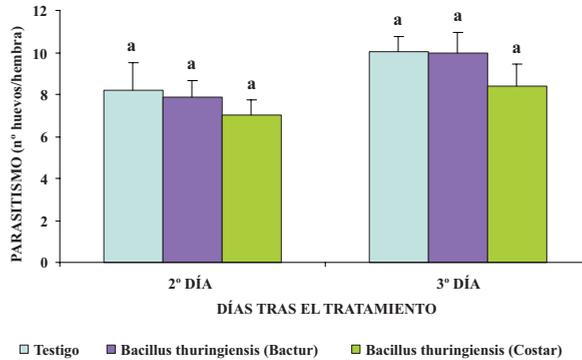


Figura 10. Parasitismo de hembras de *T. achaeae*. Ensayo 2 (población de laboratorio)

Cuadro 6. Porcentaje de emergencia de adultos de *T. achaeae* procedentes de huevos parasitados por los adultos expuestos a hojas de tomate tratadas con *B. thuringiensis* subsp. *Kurstaki*. Ensayo 2 (población de laboratorio)

Compuestos	% Emergencia 2.º día ⁽¹⁾	Reducción 2.º día (%) ⁽³⁾	% Emergencia 3.º día ⁽²⁾	Reducción 3.º día (%) ⁽³⁾	CAT. OILB ⁽⁴⁾
Testigo	94,33 ± 4,91 a	—	94,98 ± 2,96 a	—	—
<i>Bacillus thuringiensis</i> subsp. <i>Kurstaki</i> (Bactur)	95,51 ± 2,82 a	—	89,76 ± 3,49 a	5,50	1
<i>Bacillus thuringiensis</i> subsp. <i>Kurstaki</i> (Costar)	94,64 ± 3,75 a	—	92,1 ± 3,76 a	3,03	1
<i>F</i>	0,01	—	0,62	—	—
<i>g.l</i>	2; 23	—	2; 24	—	—
<i>P</i>	0,989	—	0,548	—	—

Los datos son la media ± el error estándar de varias repeticiones por compuesto. En cada columna los datos seguidos por la misma letra no son significativamente diferentes ($P < 0.05$; ANOVA).

(1) Fue necesario realizar un cambio de variable ($y = \arcsen(\sqrt{x/100})$). La emergencia está referida a los huevos que fueron parasitados el 2.º día del ensayo.

(2) La emergencia está referida a los huevos que fueron parasitados el 3.º día del ensayo.

(3) % Emergencia corregida con respecto al testigo siguiendo la fórmula de Abbott: $P(\%) = (1 - (P_{tratado}/P_{control})) \times 100$.

(4) Categorías toxicológicas de la OILB: 1 = Inocuo (reducción < 30%), 2 = Ligeramente tóxico (reducción 30-79%), 3 = Moderadamente tóxico (reducción 80-99%), 4 = Tóxico (reducción > 99%) (Según Hassan, 1994b).

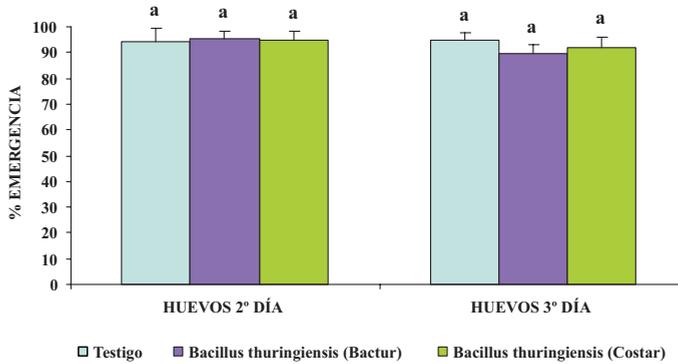


Figura 11. Porcentaje de emergencia de adultos de *T. achaeae*. Ensayo 2 (población de laboratorio)

Ensayo residual: aplicación de insecticidas a huevos de *T. absoluta* (Ensayo 3)

Ninguna de las formulaciones de *B. thuringiensis* subsp. *Kurstaki* (Bactur y Costar) afectó a la supervivencia del parasitoide (Cuadro 7) cuando se les ofreció huevos de *T. absoluta* tratados con el objetivo de evaluar su efecto en las hembras del parasitoide. Nuestros resultados coinciden con los de VIEIRA *et al.* (2001) que ofrecieron huevos de *E. kuehniella* tratados con *B. thuringiensis* subsp. *Kurstaki* a adultos de *T. cordubense*, y los valores de mortalidad fueron del 4% a las 24 horas del tratamiento, tanto en residuo fresco como en residuo de 24 horas.

En nuestros ensayos al no existir diferencias significativas en la mortalidad durante las primeras 72 horas del ensayo, se decidió alargar su evaluación hasta los 7 días para detectar posibles efectos.

El porcentaje de parasitación de las hembras expuestas al residuo resultó extremadamente bajo en todos los casos (Cuadro 8), con valores que no superan el 9%, por ello no se prosiguió con la evaluación del parasitismo, ni con la de la emergencia de los adultos. Sin embargo, se usan comercialmente varias especies de *Trichogramma*, parasitoides de huevos de lepidópteros, en más de 30 países para controlar las principales pla-

gas de 34 cultivos, a través de sueltas inundativas en aproximadamente 32 millones de hectáreas (PRATISSOLI y PARRA, 2000) como es el caso de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae), que ha resultado ser eficiente en el control de *T. absoluta* en plantaciones de tomate para la industria en áreas del noreste de Brasil.

En nuestro caso, se necesitarían más estudios en laboratorio, semicampo y campo, para comprobar el potencial de *T. achaeae* como agente de control de *T. absoluta*, ya que en ninguno de los ensayos realizados, hemos conseguido niveles de parasitación que permitan afirmar, que en nuestras condiciones este parasitoide, sea un buen agente de control biológico de *T. absoluta*, y poder así asegurar y afirmar su eficacia a nivel de campo.

Respecto a los insecticidas evaluados podemos concluir, que el insecticida biológico *B. thuringiensis* subsp. *Kurstaki*, en las formulaciones ensayadas, no es tóxico para los adultos de *T. achaeae*, ya que no compromete la supervivencia, ni la capacidad benéfica del parasitoide. Por el contrario, no es recomendable la aplicación de emamectina (Benzoato) e imidacloprid cuando *T. achaeae* se encuentre establecida en el cultivo, o bien coincida la aplicación de estos compuestos con la liberación de este enemigo natural, ya que reduciría la eficacia del parasitoide.

Cuadro 7. Porcentaje de mortalidad de adultos de *T. achaeae* cuando se les ofrece huevos de *T. absoluta* tratados con *B. thuringiensis* subsp. *Kurstaki*. Ensayo 3 (población de laboratorio)

Compuestos	% Mortalidad 1 día ⁽¹⁾	Mortalidad 1 día corregida (%)(²)	% Mortalidad 2 días	Mortalidad 2 días corregida (%)(²)	% Mortalidad 3 días	Mortalidad 3 días corregida (%)(²)	% Mortalidad 7 días ⁽¹⁾	Mortalidad 7 días corregida (%)(²)	CAT. OHLB ⁽³⁾
Testigo	4,75 ± 2,19 a	-	6 ± 2,40 a	-	35,92 ± 4,3 a	-	69,58 ± 4,29 a	-	-
<i>Bacillus thuringiensis</i> subsp. <i>Kurstaki</i> (Bactur)	3,75 ± 2,05 a	-	11 ± 2,8 a	5,32	27,42 ± 3,91 a	-	67,5 ± 4,64 a	-	I
<i>Bacillus thuringiensis</i> subsp. <i>Kurstaki</i> (Costar)	7,5 ± 2,63 a	2,89	8,75 ± 2,74 a	-	24,17 ± 3,41 a	-	68,34 ± 3,99 a	-	I
<i>F</i>	0,69	-	0,88	-	2,43	-	0,05	-	-
<i>g-l</i>	2; 57	-	2; 57	-	2; 57	-	2; 57	-	-
<i>P</i>	0,5045	-	0,4206	-	0,0971	-	0,9550	-	-

Los datos son la media ± el error estándar de veinte repeticiones por compuesto. En cada columna los datos seguidos por la misma letra no son significativamente diferentes ($P < 0.05$; ANOVA).

(1) Fue necesario realizar un cambio de variable ($y = \arcsen(\sqrt{x/100})$).

(2) Mortalidad corregida con respecto al testigo siguiendo la fórmula de Schneider-Orelli: $M(\%) = ((M - M_{control}) / (100 - M_{control})) \times 100$.

(3) Categorías toxicológicas de la OHLB: 1 = Inocuo (reducción < 30%), 2 = Ligeramente tóxico (reducción 30-79%), 3 = Moderadamente tóxico (reducción 80-99%), 4 = Tóxico (reducción > 99%) (Según Hassan, 1994b).

Cuadro 8. Porcentaje de huevos de *T. absoluta* tratados con *B. thuringiensis* subsp. *Kurstaki* parasitados por adultos de *T. achaeae*. Ensayo 3 (población de laboratorio)

Compuestos	% Huevos parasitados ⁽¹⁾
Testigo	8,40 ± 4,91 a
<i>Bacillus thuringiensis</i> subsp. <i>Kurstaki</i> (Bactur)	1,67 ± 1,30 a
<i>Bacillus thuringiensis</i> subsp. <i>Kurstaki</i> (Costar)	8,75 ± 4,78 a
<i>K</i>	0,478
<i>P</i>	0,787

Los datos son la media ± el error estándar de veinte repeticiones por compuesto. En cada columna los datos seguidos por la misma letra no son significativamente diferentes ($P < 0.05$; ANOVA).

(1) Se recurrió al Test no paramétrico de Kruskal-Wallis.

ABSTRACT

Saelices, R. M.^a, A. López, F. Amor, P. Bengochea, M.^a M. Fernández, A. Garzón, I. Morales, E. Velázquez, P. Medina, A. Adán, P. Del Estal, E. Viñuela, F. Budia. 2012. Ecotoxicity of insecticides commonly used on tomato crops on the natural enemy *Trichogramma achaeae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Bol. San. Veg. Plagas*, **38**: 95-107.

Since *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) was detected in 2006 as a new pest in tomato crops in Spain, several natural enemies have been reported to control this pest. In biological control programs, the native parasitoid *Trichogramma achaeae* Nagaraja & Nagarkatti (Hymenoptera: Trichogrammatidae) is used against *T. absoluta*. However, the most common control practice is based on use of pesticides, and in the frame of Integrated Pest Management (IPM) programs, the knowledge on the activity of insecticides towards beneficial insects is needed for its joint use. In this work, we evaluated lethal and sublethal effects of insecticides commonly applied on tomato crops on adults of *T. achaeae*. Pesticides were sprayed on tomato plants or *T. absoluta* eggs till run off at their maximum field recommended concentration. Mortality was scored after 24, 48 and 72 hours, as well as beneficial capacity and percentage of emergence. The results demonstrated the compatibility of *Bacillus thuringiensis* subsp. *Kurstaki* with the parasitoid. In contrast, Emamectin benzoate and limidacloprid were toxic to *T. achaeae*.

Key words: *Tuta absoluta*, biological control, *Bacillus thuringiensis*.

REFERENCIAS

- BIELZA, P. 2010. La resistencia a insecticidas en *Tuta absoluta* (Meyrick). *Phytoma España*, **217**: 103-106.
- CABELLO, T., GALLEGO, J. R., VILA, E., SOLER, A., DEL PINO, M., CARNERO, A., HERNÁNDEZ-SUÁREZ, E., POLASZEK, A. 2009. Biological control of the South American Tomato Pinworm, *Tuta absoluta* (Lep.: Gelechiidae), with releases of *Trichogramma achaeae* (Hym.: Trichogrammatidae) in tomato greenhouses of Spain. *IOBC/WPRS Bulletin*, Vol. **49**: 225-230.
- CABELLO, T., GALLEGO, J. R., FERNÁNDEZ, F. J., VILA, E., SOLER, A., PARRA, A. 2010. Aplicación de parasitoides de huevos en el control de *Tuta absoluta* en España. *Phytoma España*, **217**: 53-59.
- DESNEUX, N., WAJNBERG, E., WYCKHUYS, K. A. G., BURGIO, G., ARPAIA, S., NARVÁEZ-VÁSQUEZ, C.A., GONZÁLEZ-CABRERA, J., RUESCAS, D. C., TABONE, E., FRANDON, J., PIZZOL, J., PONCET, C., CABELLO, T., URBANEJA, A. 2010. Biological invasion of European tomato crops by *Tuta absoluta*: ecology, geographic expansion and prospects for biological control. *J. Pest. Sci.*, **83**: 197-215.
- GARCÍA, P.V., PEREIRA, N., OLIVEIRA, L.M. 2009. Side-effects of organic and synthetic pesticides on cold-stored diapausing prepupae of *Trichogramma cordubensis*. *Biocontrol*, **54**: 451-458.

- GARCÍA-MARÍ, F., VERCHER, R. 2010. Descripción, origen y expansión de *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). *Phytoma España*, **217**: 16-20.
- GONZÁLEZ-CABRERA, J., MOLLÁ, O., MONTÓN, H., URBANEJA, A. 2011. Efficacy of *Bacillus thuringiensis* (Berliner) in controlling the tomato borer, *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). *Biocontrol*, **56**: 71-80.
- HASSAN, S. A. 1994a. Comparison of three different laboratory methods and one semi-field test method to assess the side effects of pesticides on *Trichogramma cacoeciae*. *IOBC/WPRS Bulletin*, Vol. **17** (10): 133- 141.
- HASSAN, S. A. 1994b. Activities of the IOBC/ WPRS Working Group "Pesticides and Beneficial Organisms". *IOBC/WPRS Bulletin*, Vol. **17** (10): 1-5.
- HASSAN, S. A., HALSALL, N., GRAY, A. P., KÜHNER, C., MOLL, M., BAKKER, F. M., ROEMKE, J., YOUSIF, A., NASR, F., ABDELGADER, H. 2000. A laboratory method to evaluate the side effects of plant protection products on *Trichogramma cacoeciae* Marchal (Hymenoptera: Trichogrammatidae). En: CANDOLFI, M. P., BLÜMEL, S., FÖRSTER, R., BAKKER, F. M., GRIMM, C., HASSAN, S. A., HEIMBACH, U., MEAD-BRIGGS, M. A., REBER, B., SCHMUCK, R., VOGT, H. (eds.). 2000. Guidelines to evaluate side-effects of plant protection products to non-target arthropods. *IOBC/WPRS*, pp. 107-119.
- HASSAN, S. A., ABDELGADER, H. 2001. A sequential testing program to assess the side effects of pesticides on *Trichogramma cacoeciae* Marchal (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *IOBC/WPRS Bulletin*, Vol. **24** (4): 71-81.
- HEWA-KAPUGE, S., MCDUGALL, S., HOFFMANN, A. A. 2003. Effects of Methoxyfenozide, Indoxacarb, and other insecticides on the beneficial egg parasitoid *Trichogramma* nr. *Brassicae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) under laboratory and field conditions. *J. Econ. Entomol.*, **96** (4): 1083- 1090.
- IN-CHEON, H., CHAN, P., DONG-KYUN, K., NA-YOUNG, J., SUN-YOUNG, J., MI-JA, S., JANG-EOK, K., YOUNG-NAM, Y., YONG-MAN, Y. 2010. Combined application of *Trichogramma ostrinae* and *Bacillus thuringiensis* for eco-friendly control of *Plutella xylostella*. *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem.*, **53** (3): 316- 322.
- MORENO, F. 2007. Evaluación del potencial del parasitoides de una población de *Trichogramma* Westwood (Hymenoptera: Trichogrammatidae) como agente de Control Biológico de *Lobesia botrana* Den. Y Schiff. (Lepidoptera: Tortricidae). Tesis Doctoral. Universidad de La Rioja. 150 pp.
- POLASZEK, A., RUGMAN-JONES, P. F., STOUTHAMER, R., HERNÁNDEZ-SUAREZ, E., CABELLO, T., DEL PINO PÉREZ, M. 2011. Molecular and morphological diagnosis of five species of *Trichogramma*: biological control agents of *Chrysodeixis chalcites* (Lepidoptera: Noctuidae) and *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae) in the Canary Islands. *Biocontrol*. [Disponible on-line en <http://www.springerlink.com/content/w013321r78140522/fulltext.pdf>. Consultado el 15 de diciembre de 2011].
- PRATISSOLI, D., PARRA, J. R. P. 2000. Fertility life table of *Trichogramma pretiosum* (Hym., Trichogrammatidae) in eggs of *Tuta absoluta* and *Phthorimaea operculella* (Lep., Gelechiidae) at different temperatures. *J. Appl. Ent.*, **124**: 339-342.
- PREETHA, G., MANOHARAN, T., STANLEY, J., KUTTALAM, S. 2010. Impact of Chloronicotinyl insecticide, Imidacloprid on egg, egg-larval and larval parasitoids under laboratory conditions. *J. Plant Protect. Research*, **50** (4): 535-540.
- SABER, M. 2011. Acute and population level toxicity of imidacloprid and fenpyroximate on an important egg parasitoid, *Trichogramma cacoeciae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Ecotoxicology*, **20**: 1476-1484.
- SUGIYAMA, K., KATAYAMA, H., SAITO, T. 2011. Effect of insecticides on mortalities of three whitefly parasitoid species, *Eretmocerus mundus*, *Eretmocerus eremicus* and *Encarsia Formosa* (Hymenoptera: Aphelinidae). *Appl. Entomol. Zool.*, **46**: 311-317.
- TAKADA, Y., KAWAMURA, S., TANAKA, T. 2001. Effects of various insecticides on the development of the egg parasitoid *Trichogramma dendrolimi* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *J. Econ. Entomol.*, **94** (6): 1340-1343.
- VIEIRA, A., OLIVEIRA, L., GARCÍA, P. 2001. Effects of conventional pesticides on the preimaginal developmental stages and on adults of *Trichogramma cordubensis* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Biocontrol Sci. Technol.*, **11**: 527-534.

(Recepción: 24 enero 2012)
(Aceptación: 29 febrero 2012)

Estudio de la capacidad de vuelo a larga distancia de *Monochamus galloprovincialis* (Olivier 1795). (Coleoptera: Cerambycidae) en un mosaico agro-forestal

D. GALLEGO, F. J. SÁNCHEZ-GARCÍA, H. MAS, M. T. CAMPO, J. L. LENCINA

Se pretende estimar la capacidad de dispersión a larga distancia de adultos de *Monochamus galloprovincialis* (Olivier 1795) extraídos de su población y liberados en una zona no forestal. Se ha realizado una experiencia de captura-marcado-recaptura de adultos de *Monochamus galloprovincialis* en un paisaje de matriz agrícola de secano (cereal y viñedos) con un mosaico forestal en el que predomina el pinar de *Pinus halepensis* Mill., formando manchas de extensión variable. Se instalaron 17 trampas Crosstrap (Econex) cebadas con atrayente cairo-feromonal de *M. galloprovincialis* (SEDEQ), entre el 1 de julio y 30 de octubre de 2011. Las trampas se instalaron en manchas de bosque y en árboles dispersos en zonas agrícolas, la distancia mínima entre trampas fue de 632 m, y la media 4.853 m, por lo que se estima que no debe producirse efecto sumidero y los insectos pueden volar libremente por la zona de estudio. Se estableció un punto de suelta en una zona agrícola, aproximadamente en el centroide del polígono formado por las trampas. La trampa más próxima se encontraba a 2.089 m, la más alejada a 8.317 m, siendo la distancia media de 3.565 m. Las trampas se revisaron dos veces por semana, los insectos vivos eran transportados a laboratorio, marcados con una etiqueta numerada y liberados en el punto de suelta al atardecer del mismo día o al día siguiente. Se capturó un total de 594 ejemplares de *M. galloprovincialis*, de los cuales pudieron ser marcados y liberados 418. De estos, se recapturaron 47 ejemplares (11,24%). Un ejemplar fue recapturado en la trampa más alejada (8.317 m). El mayor número de recapturas, ocho, se registró en una trampa situada a 2.785 m del punto de suelta, siendo el tiempo medio de recaptura en esta trampa de 8,13 días. Las trampas fuera de manchas forestales no recapturaron ningún ejemplar. La relación entre la distancia y el número medio de recapturas no se ajusta a la función de dispersión típica (exponencial negativa), indicando que todas las recapturas se corresponden con eventos de dispersión a larga distancia. Los resultados indican que los adultos de *M. galloprovincialis* extraídos de su población y posteriormente liberados en entornos no forestales son capaces de dispersarse a larga distancia, según la dirección del viento dominante, siendo capaces de localizar plumas de feromona a larga distancia y desplazarse volado contra vientos de baja intensidad, hasta caer en las trampas. Con algo menor frecuencia vuelan con viento a favor hacia masas forestales donde posteriormente son capaces de encontrar plumas de feromona a corta distancia dentro de la masa.

D. GALLEGO, M. T. CAMPO. Unidad de Salud de los Bosques, Servicio de Gestión y Protección Forestal, Dirección General de Medio Ambiente, Consejería de Presidencia de la Comunidad Autónoma de la Región de Murcia. E-mail: dgallego@um.es

F. J. SÁNCHEZ-GARCÍA, J. L. LENCINA. Departamento de Zoología y Antropología Física, Universidad de Murcia. E-mail: jllg@um.es

H. MAS. Laboratori de Sanitat Forestal, CIEF- Banc de Llavors, Conselleria d'Infraestructures, Territori i Medi Ambient, Generalitat Valenciana. E-mail: lab_pla_gas.ctv@gva.es

Palabras clave: *Bursaphelenchus xylophilus*, *Pinus halepensis*, captura-recaptura, Crosstrap, feromona.

INTRODUCCIÓN

De acuerdo con GONZÁLEZ *et al.* (2007), el género *Monochamus* (Coleoptera, Cerambycidae) se compone en la península Ibérica de dos especies: *Monochamus sutor* Linneo 1758, y *Monochamus galloprovincialis* (Olivier 1795). *M. sutor* es una especie de dominio paleártico, llegando hasta Japón por Siberia. En la península Ibérica es una especie rara que se distribuye únicamente por Pirineos y sus estribaciones. La segunda especie *M. galloprovincialis* es mucho más común y se encuentra distribuida en el área circummediterránea, Europa central, Cáucaso, Siberia, Mongolia y China. En la península Ibérica vive sobre prácticamente todas las especies de *Pinus*, e incluso *Abies* y *Picea*.

El estudio de este género de coleópteros ha despertado un gran interés en la última década ya que sus especies son los únicos vectores conocidos del nematodo del pino *Bursaphelenchus xylophilus* (Steiner et Bührer) Nickle. Las especies del género *Monochamus*, y especialmente *M. galloprovincialis*, son de hábitos secundarios que buscan pinos muy debilitados y preferentemente colonizados por escolítidos (VIVES, 2000). De hecho el complejo de sustancias con mayor actividad atractiva incluye dos compuestos cairomonales emitidos por el hospedador (α -pineno y metil-butenol) y una cairomona emitida por escolítidos del género *Ips* y *Orthotomicus* (ipsenol) de acuerdo con PAJARES *et al.* (2004) e IBEAS *et al.* (2007). Estos trabajos han permitido desarrollar un atrayente cairomonal muy eficaz en la captura de *M. galloprovincialis*, mejorado posteriormente con el descubrimiento de una feromona de agregación emitida por los machos de esta especie (PAJARES *et al.*, 2010). Con ello pudo desarrollarse y comercializarse un cebo cairo-feromonal (SEDQ, Barcelona) que permite una alta tasa de capturas de ambos sexos de *M. galloprovincialis* durante prácticamente todo su periodo de vuelo.

Al disponer de este cebo se han podido realizar numerosos estudios encaminados a

averiguar aspectos relevantes sobre la biología de *M. galloprovincialis*, sobre todo en lo relativo a su distribución y comportamiento de vuelo, como el publicado por HERNÁNDEZ *et al.* (2011). Estos autores, de acuerdo con las propuestas metodológicas de ÁLVAREZ *et al.* (2010), para Taller sobre Complejos Feromonales de Insectos Forestales, auspiciado por Servicio de Sanidad Forestal y Equilibrios Biológicos del Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente, aportaron resultados de experiencias realizadas durante dos años en espacios forestales de montaña, en los que se pusieron a prueba las técnicas de marcaje-recaptura de *M. galloprovincialis*. Estas técnicas se han probado extensamente desde hace décadas para estudiar procesos de dispersión de especies de plantas y animales (NATHAN *et al.*, 2003), así como para estudiar movimientos individuales y capacidades de dispersión a larga distancia (KOEING *et al.*, 1996).

HERNÁNDEZ *et al.* (2011) obtuvieron porcentajes de recaptura del entre el 3,85 y el 11,18% de los insectos liberados, con una media de 6,78% de recapturas, resultando unos pocos insectos recapturados hasta dos veces. Estos autores registraron distancias máximas de vuelo de 7,1 km. Sus resultados muestran que un buen porcentaje de imagos volaron más de 3 km, incidiendo en que se superaron las distancias marcadas en los programas de erradicación de *B. xylophilus* en España (Junta de Extremadura, 2008; Xunta de Galicia, 2010).

El presente trabajo, utilizando técnicas de marcaje-recaptura, pretende aportar datos relativos al conocimiento del comportamiento del vuelo a larga distancia de adultos *M. galloprovincialis* en mosaicos agro-forestales, y el papel que ciertos factores ambientales como la topografía o el viento pueden tener en la modulación de dicho vuelo.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se ha realizado una experiencia de captura-marcaje-recaptura de adultos de *Mono-*

chamus galloprovincialis en una zona de estudio (38° 37' 9.29" N; 1° 22' 28.56" E) ubicada en la porción norte del término municipal de Jumilla (Murcia, S.E. España) en un paisaje de matriz agrícola de secano (cereales y viñedos) con un mosaico forestal en el que predomina el pinar de *Pinus halepensis* en estado de latizal, formando manchas de extensión variable. Se instalaron 17 trampas Crosstrap (Econex, Murcia) (Figura 1) cebadas con atrayente caíro-feromonal de *M. galloprovincialis* (SEDEQ, Barcelona). El experimento se mantuvo entre el 1 de julio y 30 de octubre de 2011. Las trampas se instalaron colgadas de ramas de los árbo-

les o entre dos árboles, de modo que el tarro de capturas quedaba 1,5 m sobre el suelo. Los atrayentes se reemplazaron según las indicaciones del fabricante. Para poder capturar los insectos vivos, las trampas Crosstrap se dotaron de tarros de captura de 1 l con recubrimiento deslizante y con fondo de malla de acero inoxidable (Econex, Murcia), no habiéndose usado ningún tipo de insecticida ni conservante. El tratamiento deslizante impide la trepa de los insectos por las paredes del tarro y por tanto su escape. La malla metálica proporciona la suficiente aireación e impide la acumulación del agua de lluvia.

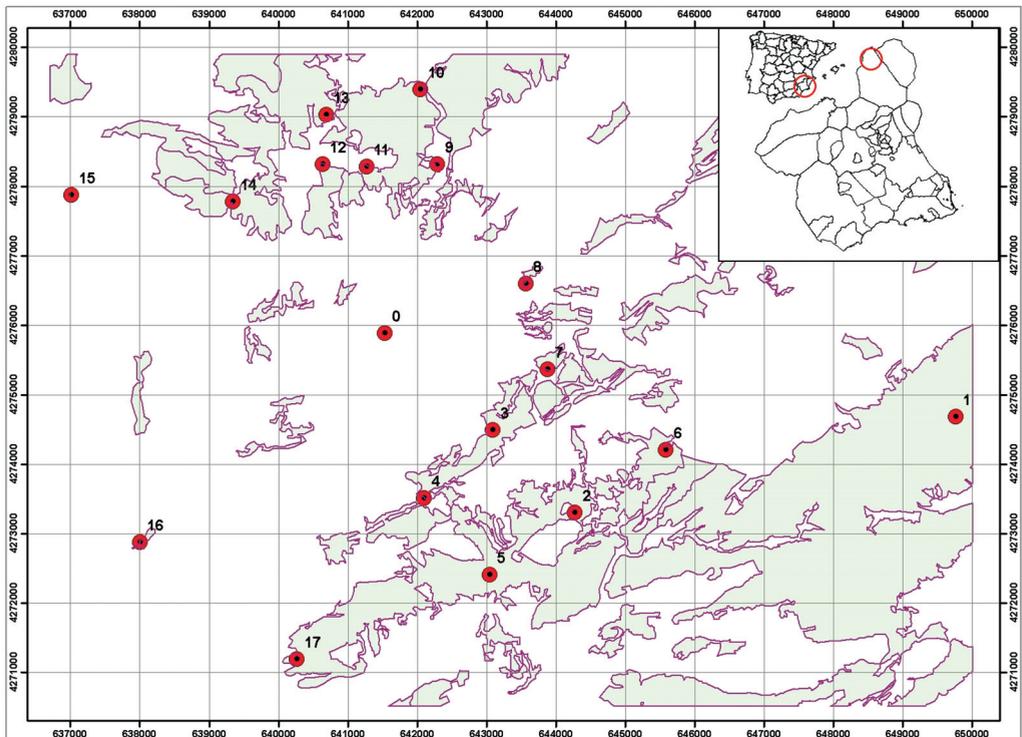


Figura 1. Ubicación de las trampas y el punto de suelta (punto 0). Con sombreado verde se representan las manchas forestales en la matriz del paisaje agrícola (áreas blancas)

Las trampas se instalaron en manchas de bosque y en árboles dispersos en zonas agrícolas, la distancia mínima entre trampas fue de 632 m, y la media 4853 m, por lo que se estima que no debió producirse efecto sumidero y los insectos pudieron volar libremente por la zona de estudio. Se estableció un punto de suelta en una zona agrícola, aproximadamente en el centroide del polígono formado por las trampas (Figura 1).

En la Tabla 1 se muestran las distancias entre las trampas y el punto de suelta, así como la altitud de los mismos. La trampa más próxima se encontraba a 2.110 m, la más alejada a 8.339 m, siendo la distancia media al punto de suelta de 3.398 m. Las trampas se revisaron dos veces por semana, los insectos vivos y vigorosos fueron transportados a laboratorio y marcados con una etiqueta numerada, de acuerdo con la metodología propuesta por HERNÁNDEZ *et al.* (2011). El marcaje se realizó con etiquetas de marcado de reinas de *Apis mellifera* Linnaeus 1758, utilizadas en apicultura (Figura 2). Para la fijación de la etiqueta se utili-

zó un pegamento de cianoacrilato con consistencia de gel. Los insectos se inmovilizaron con frío para permitir la aplicación del pegamento y la etiqueta. La etiqueta se ubicó tanto en la parte proximal del élitro izquierdo como en el pronoto.

Los insectos marcados fueron liberados en el punto de suelta al atardecer del mismo día o al del día siguiente. Se capturó un total de 594 ejemplares de *M. galloprovincialis*, de los cuales pudieron ser marcados y liberados 418 ejemplares. Al final de la experiencia se observó que algunas etiquetas se desprendían, como ya observó HERNÁNDEZ *et al.* (2011), de modo que, a partir de esa fecha, se procedió a revisar todos los insectos capturados en busca de restos de pegamento. Se pudieron identificar 8 insectos con restos de pegamento pero sin etiqueta.

A fin de intentar entender la distribución de las recapturas se realizó un estudio de la facilitación del vuelo de los insectos para alcanzar las diferentes trampas desde el punto de suelta, en función de la topografía de la zona y en función de los vientos. Para ello

Tabla 1. Distancia entre las trampas y el punto de suelta (Trampa 0), así como la altitud y la posición en el rumbo colateral respecto al punto de suelta de cada uno de las trampas

Trampa	Distancia (m)	Altitud (m)	Rumbo colateral
0		739	
1	8.339,59	979	E
2	3.781,41	787	SE
3	2.110,46	762	SE
4	2.449,26	733	S
5	3.800,31	745	SE
6	4.408,29	802	SE
7	2.430,10	750	E
8	2.177,01	758	NE
9	2.550,39	792	N
10	3.351,79	818	N
11	2.403,13	805	N
12	2.584,13	796	NW
13	3.250,76	833	NW
14	2.875,13	761	NW
15	4.945,36	740	NW
16	4.641,34	669	SO
17	4.876,39	684	S



Figura 2. Aspecto de ejemplares de *M. galloprovincialis*, sin marcar y marcados con etiquetas identificativas individualizadas

se usaron técnicas de cálculo de cuencas visuales, determinadas mediante la topografía, mediante la función *Viewshed* de ArcGis 9.x. Se calculó la cuenca visual desde el punto de suelta, a 1.5 y 10 m de altura sobre el suelo, utilizando como base un DTM con un detalle de 1 m, disponible en: <http://www.murcianatural.carm.es/natmur08/>. A partir de esta cuenca se pudieron evaluar los impedimentos topográficos. Para el estudio de vientos se accedió a la información de la estación agrometeorológica automática más cercana, perteneciente a la red del SIAM: la estación JU42-Tobarrillas (<http://siam.imida.es/apex/f?p=101:1:3209513988824366>). Se descargó la información relativa a velocidad media diaria y dirección dominante del viento para cada día durante todo el periodo de estudio. Con estos datos se elaboró una rosa de los vientos, utilizando la extensión *Climatol* de R (R Development Team, 2009; GUIJARRO, 2009).

Posteriormente se realizó un estudio de la correlación entre el número de recapturas en las trampas ubicadas en los ocho rumbos colaterales de la rosa de los vientos (Tabla 1) y el número de días en que soplaron vientos desde esos ocho rumbos, mediante el índice de correlación de Pearson usando R (R Development Team, 2009).

RESULTADOS

Se ha recapturado un total de 47 ejemplares, lo que representa un 11,24% del total de insectos liberados. De estos, seis ejemplares se recapturaron sin etiqueta, pero mostrando restos de pegamento, por lo que en estos seis casos no puede conocerse el tiempo utilizado en recorrer la distancia entre la trampa y el punto de suelta. Otro ejemplar se recapturó en una trampa perteneciente a la red ESFP de la Región de Murcia (ESFP 20) localizada a 2.392 m del punto de suelta. Esta trampa se encuen-

tra cebada con α -pineno, etanol (Econex, Murcia) y feromona de *Ips sexdentatus* (Borner 1776) (SEDEQ, Barcelona), no conteniendo feromona de *M. galloprovincialis*, por lo que la atracción a esta trampa se estima mucho menor, de acuerdo con PAJARES *et al.* (2010). En la Tabla 2 se relaciona el número de recapturas por trampa, ordenadas en función de la distancia al punto de suelta. El valor medio de recapturas por trampa es de 2,76 ejemplares.

Un ejemplar fue recapturado en la trampa más alejada (8.317 m). El mayor número de recapturas, con un total de ocho, se registró en una trampa situada a 2.875 m del punto de suelta, siendo el tiempo medio de recaptura en esta trampa de 8,13 días (Tabla 3). Las trampas fuera de manchas forestales (15 y 16) no recapturaron nada, aunque sí registraron unas pocas capturas de ejemplares (Figura 3).

Tabla 2. Número de recapturas por trampa, ordenadas según la distancia

Trampa	Distancia	Recapturas
3	2.110,46	7
8	2.177,01	6
11	2.403,13	5
7	2.430,10	4
4	2.449,26	6
9	2.550,39	3
12	2.584,13	0
14	2.875,13	8
13	3.250,76	3
10	3.351,79	0
2	3.781,41	0
5	3.800,31	2
6	4.408,29	1
16	4.641,34	0
17	4.876,39	0
15	4.945,36	0
1	8.339,59	1
ESFP20	2.392,30	1

Tabla 3. Número medio de días que tardaron los insectos en ser recapturados, por trampa, ordenado según la distancia

Trampa	Distancia	Tiempo medio (días)
3	2.110,46	12,6
8	2.177,01	13
ESFP20	2.391,51	10
11	2.403,13	13
7	2.430,1	11
4	2.449,26	19,5
9	2.550,39	15,7
12	2.584,13	0
14	2.875,13	8,1
13	3.250,76	33
10	3.351,79	0
2	3.781,41	0
5	3.800,31	0
6	4.408,29	13
1	8.339,59	0

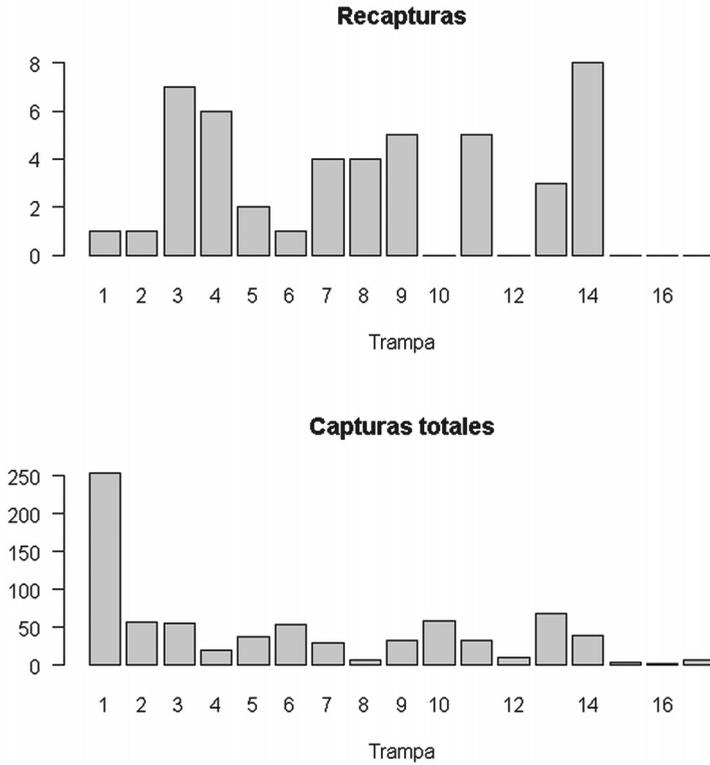


Figura 3. Gráficos de barras relativos al número de individuos de *M. galloprovincialis* capturados y recapturados, en función de la trampa

El número medio de días que tardaron en ser recapturados tras la liberación resultó muy variable (Tabla 3), oscilando entre algo más de 8 y 33 días, sin relación aparente con la distancia a la que se encuentra la trampa, de acuerdo HERNÁNDEZ *et al.* (2011). El mayor tiempo de recaptura fue de 48 días para un insecto liberado el 7 de julio y recapturado el 24 de agosto en la trampa 13, situada a 3.251 m del punto de suelta. Un ejemplar fue recapturado, liberado y vuelto a recapturar. En la primera ocasión fue recapturado en una trampa situada a 2.437 m, tardando como máximo 4 días en ser recapturado. En la segunda ocasión recorrió al menos 3.556 m hasta la trampa en que fue recapturado, invirtiendo como máximo 7 días en el recorrido. La mínima distancia

acumulada para este insecto fue como mínimo 5.993 m en 11 días.

Tampoco existe relación aparente entre el número de capturas totales por trampa y el número de recapturas (Figura 3), de modo que no son las trampas que más capturan las que registran un mayor número de recapturas (Índice de correlación de Pearson = -0,07). Si se exceptúa la trampa 1, por ser la más alejada, situada en una zona forestal más extensa, y en donde se registran casi la mitad de las capturas, tampoco puede observarse relación aparente entre un mayor número de capturas y recapturas, aunque la correlación aumenta (Índice de correlación de Pearson = 0,22).

La dinámica de capturas y recapturas tampoco mantiene una relación aparente

(Figura 4) aunque parecería existir una cierta relación inversa, recapturándose más ejemplares en el tercio final del periodo de estudio, cuando comienzan a des-

cender las capturas. Esto podría estar relacionado con la acumulación de ejemplares liberados desde el principio del periodo de estudio.

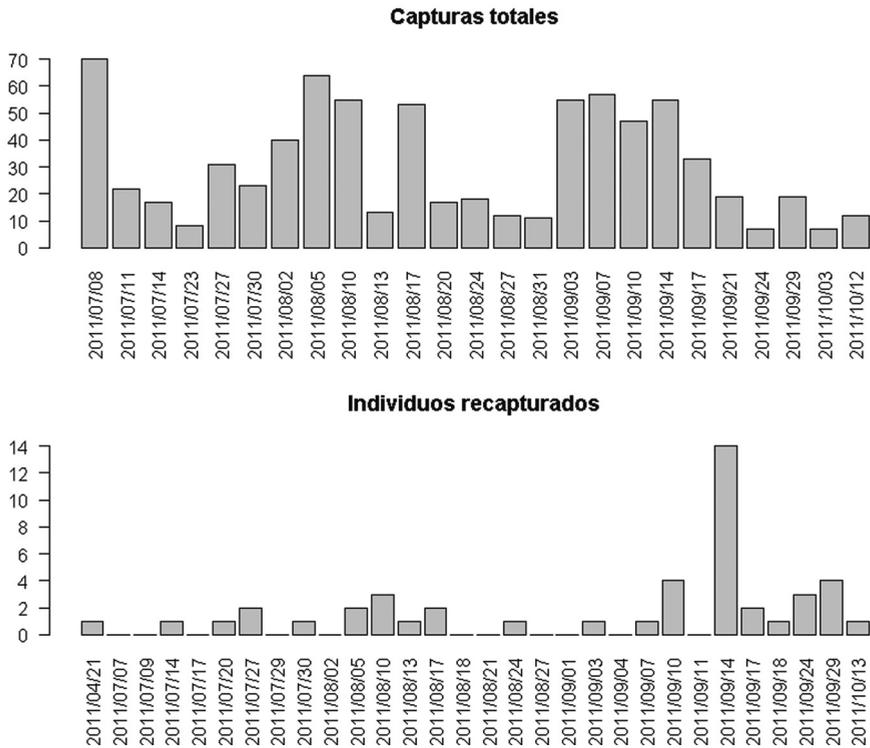


Figura 4. Gráficos de barras relativos al número de individuos de *M. galloprovincialis* capturados y recapturados, en función de la fecha

Si se estudia la relación entre los lotes de individuos liberados, entendiéndose por lote el grupo de individuos liberados en una fecha concreta, y los individuos recapturados de cada lote (Figura 5), puede observarse que si bien los lotes de individuos liberados tienen claramente que ver con la dinámica de capturas, las recapturas de insectos esos lotes mantienen una tendencia independiente. De este modo, en el 50% de los lotes se recapturan entre uno y tres insectos mientras que en el 43% de los lotes no se recapturó ningún individuo marcado, habiendo de re-

cordar que al menos seis individuos se recapturaron sin etiqueta, por lo que sí es posible que existieran recapturas que hayan pasado desapercibidas. Tan solo del 7% de los lotes se recapturan más de cuatro ejemplares.

Se ha realizado una acumulación de recapturas en función de la distancia (Figura 6) agrupando las trampas en cuatro grupos: menos de 2.500 m, entre 2.500 y 3.500 m, entre 3.500 y 4.500 m y superiores a 4.500 m. El patrón de recapturas en función de la distancia no se ajusta a una distribución exponen-

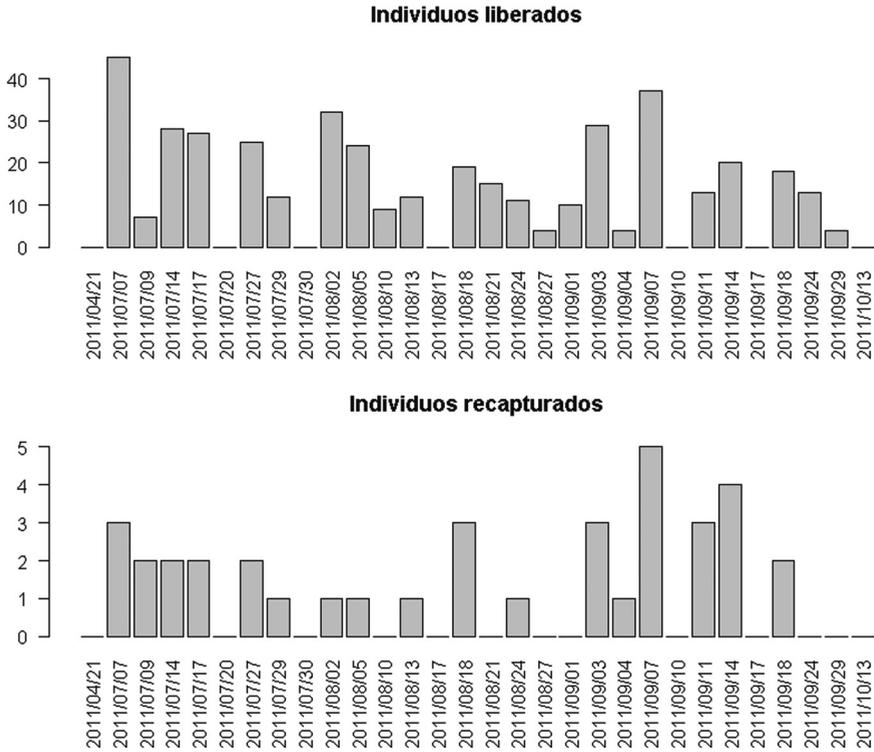


Figura 5. Gráficos de barras relativos al número de individuos de *M. galloprovincialis* capturados y recapturados de cada lote (fecha de captura)

cial, propia de un proceso de dispersión de insectos a corta distancia. El patrón obtenido es más de tipo unimodal, con máxima acumulación de recapturas en trampas situadas entre 3.500 y 4.500 m. También es muy clara la presencia de un sesgo en la direccionalidad de las capturas (Figura 7).

El estudio de facilitación topográfica de la dispersión de los insectos recapturados mediante metodologías de cuenca visual (Figura 8) indica que no existe impedimento topográfico entre el punto de suelta y las trampas 3, 7, 11, 13 y 1, mientras que todas las demás quedan ocultas desde dicho punto. Todas estas trampas han registrado capturas por encima de la media (7, 4, 5, 3 ejemplares, respectivamente), salvo la trampa 1, en contacto visual pero muy alejada del punto de suelta, en la que solo se registró una re-

captura. El valor medio de las capturas en las trampas sin impedimento topográfico es de 4 ejemplares. Este valor duplica el valor medio de las capturas registradas en las trampas ubicadas en puntos con impedimento topográfico, con un valor de 2,23. Este valor medio se ha calculado sobre muestras aleatorias de 5 trampas, repitiéndose este proceso 1.000 veces y calculando la media sobre el millar de valores.

De cualquier modo existen trampas ocultas con capturas muy altas, que pueden ser explicadas a partir de la información aportada por la rosa de los vientos calculada (Figura 9, derecha). Los vientos durante el periodo de estudio han soplado con mayor frecuencia del SE y del E. Se ha encontrado una correlación relativamente baja (Índice de correlación de Pearson = 0,312)

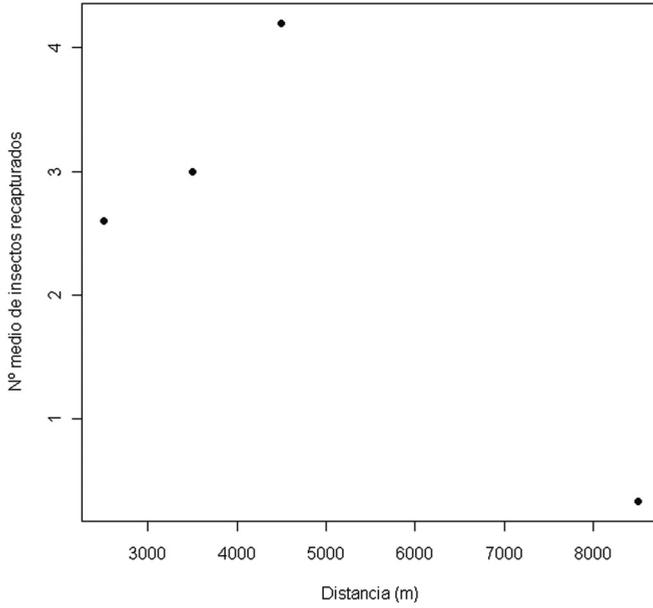


Figura 6. Número medio de *M. galloprovincialis* recapturados en trampas agrupadas en clases de distancia (< 2.500 m; entre 2.500 y 3.500 m; entre 3.500 y 4.500 m; > 4.500 m)

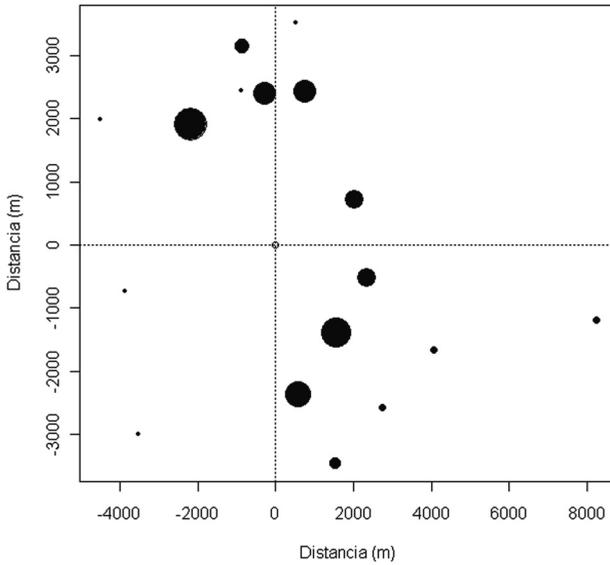


Figura 7. Distribución espacial del n.º de *M. galloprovincialis* recapturados (círculos negros), en relación al punto de suelta (circunferencia central). La parte superior de la gráfica coincide con el norte geográfico. El tamaño de los círculos es proporcional al n.º de recapturas (desde 0 a 8 recapturas)

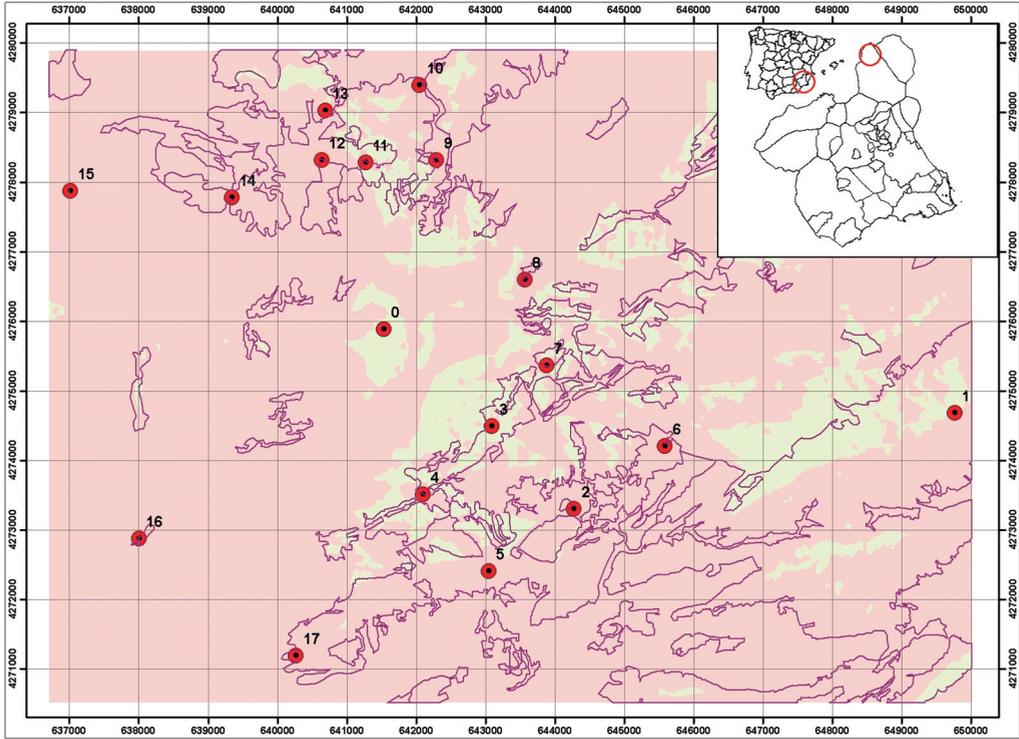


Figura 8. Mapa de accesibilidad visual desde el punto de suelta (0) a las trampas. En verde las zonas con conectividad visual a 1,5 m de altura, en rosa las zonas con impedimento topográfico

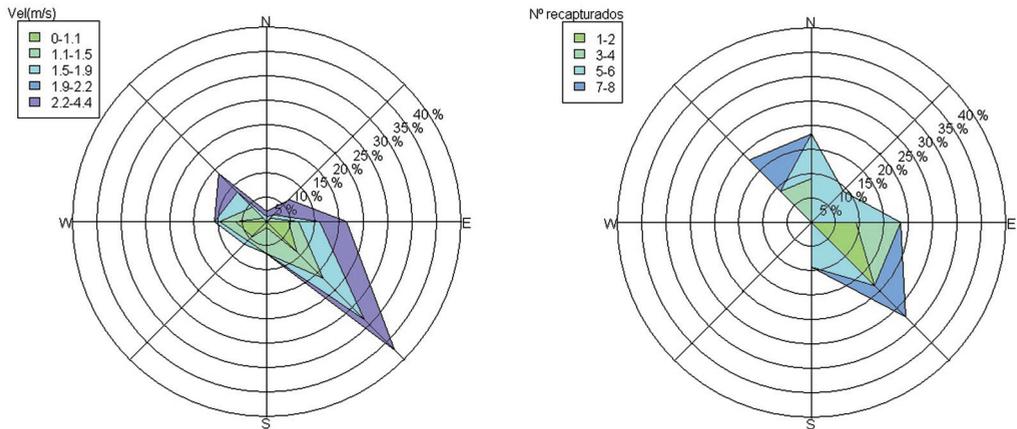


Figura 9. Izquierda: rosa de los vientos mostrando las frecuencias y velocidades del viento durante el periodo de estudio. Derecha: frecuencias de capturas de insectos según los ocho rumbos colaterales, durante el periodo de estudio

entre el rumbo colateral de los vientos y el número de capturas en las trampas situadas a sotavento de esos rumbos (Figura 9, izquierda). El número medio de días por recaptura fue algo más alto pero con mucha

mayor variabilidad en las trampas situadas a barlovento (16,56 días) que en las trampas situadas a sotavento del punto de suelta (12,62 días), como se ilustra en la Figura 10.

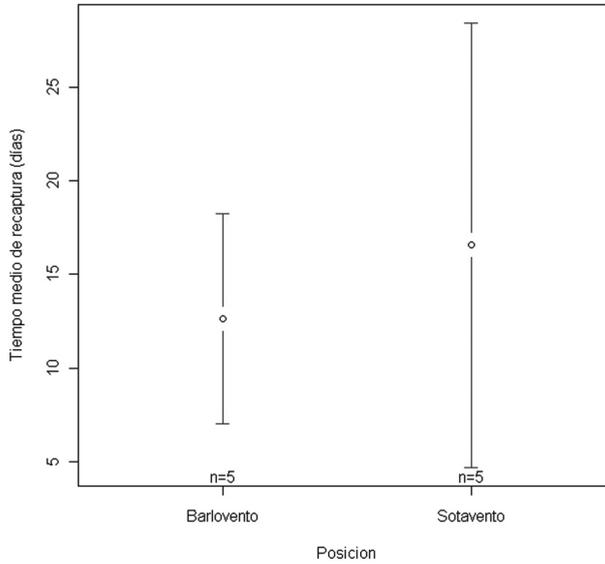


Figura 10. Representación gráfica de la media y el intervalo de confianza del número medio de días entre la suelta y la recaptura en función de ubicación de las trampas a sotavento o barlovento del punto de suelta, para el viento dominante del SE

DISCUSIÓN

HERNÁNDEZ *et al.* (2011) demostraron la alta capacidad del vuelo de los ejemplares adultos y, en menor medida, juveniles de *M. galloprovincialis* en medios forestales de montaña continuos, a partir de uno o varios puntos de suelta. También encontraron una clara relación positiva entre el número de recapturas y las distancias de las trampas al punto de suelta, siendo más frecuentes las capturas a distancias menores a 1.000 m. Es posible que estas trampas más cercanas puedan ejercer un efecto sumidero de modo que es más probable que un insecto encuentre una pluma de feromona de una trampa cercana que de otra más alejada. En nuestra

experiencia se ha intentado eliminar ese factor de efecto sumidero, colocando las trampas en un radio muy alejado, superior a 2.000 m del punto de suelta y con distancias entre ellas de más de 650 m.

Se ha recapturado un 11,08% de los ejemplares marcados y liberados de *M. galloprovincialis*, todos a distancias superiores a 2.159 m. Esta tasa de recaptura se sitúa en la parte superior de la horquilla de proporción de recapturas registradas en HERNÁNDEZ *et al.* (2011) y aproximadamente el doble de las registradas por MAS y PÉREZ-LAORGA (2011), del 5,27%. El porcentaje de recapturas registrado en nuestro estudio es aproximadamente la mitad de los aportados en los estudios de ÁLBAREZ *et al.* (2011),

entre 19,5 y 29,1%, debiendo tener en cuenta que la distancia máxima en que se situaron las trampas fue 750 m en una malla regular muy densa. Para alcanzar estas distancias los individuos han necesitado recorrer distancias superiores a los 2.000 m a través de espacios agrícolas. Un ejemplar con la etiqueta perdida recorrió al menos 8.317 m a través de espacios agrícolas y forestales. Otro ejemplar recapturado dos veces recorrió una distancia mínima acumulada de 5.993 m en 11 días. Ocho ejemplares fueron capturados a 3.760 m del punto de suelta tardando un tiempo medio de 8 días en recorrer al menos esa distancia. Con estos datos puede confirmarse que los adultos de *M. galloprovincialis* poseen suficiente capacidad de dispersión para recorrer sin problemas distancias medias de al menos 3.133 m en un corto espacio de tiempo.

Tampoco se ha podido encontrar relación entre el número total de capturas y el número de recapturas, es decir, las trampas que más insectos capturan no son las que posteriormente más recapturan. Esto indica que si bien algunas trampas capturan más insectos, bien porque las poblaciones son localmente mayores (por mejores condiciones de hábitat), bien por que las trampas capturan más por estar facilitadas topográficamente (mayor difusión de la pluma), una vez que los insectos son extraídos del bosque, no poseen capacidad de volver a su lugar de origen a larga distancia. Por el contrario, el comportamiento parece indicar que vuelan en cualquier dirección hasta localizar masas forestales, al azar o facilitados por vientos, como se discutirá adelante, hasta localizar las plumas de feromona. Las trampas ubicadas en terrenos no forestales, aunque fijadas sobre pinos (trampas 15 y 16) no han registrado ninguna recaptura, aunque esto pueda deberse a diferentes factores, como la dirección de los vientos dominantes.

En la mitad de los casos se han recapturado entre uno y tres insectos por cada lote liberado, con independencia del tamaño del lote. En el 45% de los lotes no se ha recapturado ningún insecto, pudiendo estar esto

relacionado con la pérdida de la etiqueta. Al final del periodo de estudio se observó por casualidad los restos de pegamento sobre la cutícula de insectos recapturados sin etiqueta, habiéndose contabilizado seis ejemplares en este estado. Muy posiblemente esta pérdida haya ocurrido desde el comienzo de la experiencia, por lo que se habrán perdido muchas recapturas.

En las experiencias realizadas por ÁLVAREZ *et al.* (2010), el patrón de las recapturas ajusta claramente al patrón de dispersión exponencial negativo. En cambio, en nuestros resultados es destacable que el patrón de recapturas por clases de distancias (Figura 6) no se ajusta a un patrón de dispersión a corta distancia (TURCHIN y THONEY, 1993, DRAG *et al.*, 2011). Estos resultados son más coherentes con eventos de dispersión a larga distancia (NATHAN *et al.*, 2003), lo que indicaría que en nuestra experiencia se ha forzado la capacidad de vuelo a larga distancia de los insectos liberados. Es sorprendente que hayan podido alcanzarse un relativamente alto porcentaje de recapturas, como se ha discutido anteriormente, lo que indica que al menos el 11% de adultos de *M. galloprovincialis* están capacitados para desarrollar eventos de vuelo a larga distancia, en los que pueden saltar áreas con hábitats no apropiados, en este caso áreas agrícolas.

La presencia de sesgos en la dispersión, como se muestra en la Figura 7, indica que existen otros factores ambientales que determinan la facilidad de los ejemplares para localizar las plumas de feromona y ser recapturados, de acuerdo con TURCHIN y THONEY (1993) como se discutirá seguidamente.

La topografía de la zona de estudio facilita las recapturas en trampas sin impedimento topográfico desde el punto de suelta, aunque parece existir una mayor relación entre el número de recapturas y el rumbo de los vientos durante el periodo de estudio, tanto a sotavento como a barlovento del punto de suelta. Se ha podido establecer una cierta relación positiva entre el rumbo del viento y el mayor número de recapturas en las tram-

pas situadas a barlovento del punto de suelta (SE y E). Esto puede estar relacionado con una alta capacidad de localización de plumas de feromona arrastradas por el viento a larga distancia (> 2 km), siendo capaces de volar contra el viento hasta localizar la fuente de emisión. La velocidad media del viento no ha superado los 4,4 m/s, siendo la más frecuente por debajo de 2 m/s. Nuestros resultados indican que esta velocidad, un ejemplar en buen estado de vigor puede volar contra el viento al localizar una pluma de feromona. Con menor frecuencia, los insectos volaron a sotavento del punto de suelta (N, NW y NE). En las trampas situadas a sotavento, las capturas están menos correlacionadas con el rumbo del viento que en las trampas situadas a barlovento. Además, el número medio de días en que los insectos fueron recapturados es menor y menos variable en las trampas a barlovento que en las de sotavento. Esto podría estar relacionado con que ese vuelo a sotavento es menos dirigido, al no localizar las plumas de feromona,

llegando a la masa forestal por cualquier punto y localizando posteriormente las plumas a corta distancia, lo que resulta mucho más aleatorio y por tanto variable.

A modo de conclusión puede indicarse que todo indica que adultos de *M. galloprovincialis* extraídos de su población y posteriormente liberados en entornos no forestales relacionan su vuelo con la dirección del viento dominante, siendo capaces de localizar plumas de feromona a larga distancia y desplazarse volado esas largas distancias contra vientos de baja intensidad. Con algo menor frecuencia vuelan con viento a favor hacia masas forestales donde posteriormente son capaces de encontrar plumas de feromona a corta distancia ya dentro de la masa.

AGRADECIMIENTOS

A Josefina y Pedro Luis Martínez, por facilitar la instalación de algunas de las trampas en terrenos de su propiedad.

ABSTRACT

GALLEGO, D., F. J. SÁNCHEZ-GARCÍA, H. MAS, M. T. CAMPO, J. L. LENCINA. 2012. Long distance ability of *Monochamus galloprovincialis* (Olivier 1795). (Coleoptera: Cerambycidae) in a agro-forest mosaic. *Bol. San. Veg. Plagas*, **38**: 109-123.

The present work aims estimate the long-distance dispersion ability behaviour of adults of *Monochamus galloprovincialis* (Olivier 1795) released at a non-forest area. We was performed an experience of capture-mark-recapture of *M. galloprovincialis* in a *Pinus halepensis* Mill. forest mosaic landscape into an agricultural matrix (wheat and grapes). We used 17 traps Crosstrap (ECONEX) baited with kairo-pheromonal attractant of *M. galloprovincialis* (SEDQ), between July 1 and October 30, 2011. The traps were installed in forest patches and in scattered trees in agricultural areas. The minimum distance between traps was 632 m, and the average distance was 4853 m, so it we estimated that there should be no sink effect and insects can fly freely across the study area. We established a release point in the agricultural area, approximately at the centroid of the polygon formed by the nearest traps. The closer trap to the release point was located at 2089 m, and at 8317 m the farthest, the average distance was 3565 m. The traps was censused three times a week, the live insects were transported to the laboratory, marked with a numbered tag and released at the release point in the evening the same day or the next day. We captured 594 specimens of *M. galloprovincialis*, which could be tagged and released 418 specimens, which 47 specimens were recaptured (11.24%). An insect was recaptured at the farthest trap (8317 m). The highest number of recaptures, eight, was recorded in a trap located at 2785 m from of the release point, with an average time of recapture of 8.13 days. The traps out of forest spots do not recaptured any specimen. The relationship between distance and the average number of recaptures does not fit the typical dispersal curve (negative exponential), indicating that all recaptures possibly correspond to long-distance dispersal events. We observed a directional bias in recaptures, possibly related with the influence of

some environmental factors in the recapture spatial distribution. The results indicate that adults of *M. galloprovincialis* taken from its population and subsequently released in a non-forest area were able to disperse over long distances, according to the prevailing wind direction. The insects being able to locate pheromone plumes and fly long distances with wind-blown of low intensity, whereas, in a less frequent events they fly downwind to forests.

Key words: *Bursaphelenchus xylophilus*, *Pinus halepensis*, capture-recapture Cross-strap, pheromone.

REFERENCIAS

ÁLVAREZ, G., SÁNCHEZ, E., MARTÍN, A., PÉREZ, G., ETXEBESTE, I., PAJARES, J. A. 2010. Resultados preliminares de ensayos de captura masiva de *Monochamus galloprovincialis* y dispersión II. VI Taller sobre Complejos Feromonales de Insectos Forestales. Valencia. http://www.marm.es/es/biodiversidad/temas/montes-y-politica-forestal/sanidad-forestal/VI_taller_feromonas.aspx.

DRAG, L., HAUCK, D., POKLUDA, P., ZIMMERMANN, K., CIZEK, L. 2011. Demography and dispersal ability of a threatened saproxylic beetle: a mark-recapture study of the Rosalia longicorn (*Rosalia alpina*). *Plos one*, **6**: 1-8.

GONZÁLEZ C. F., VIVES, E. Y. & DE SOUSA ZUZARTE, A. J. 2007. *Nuevo catálogo de los Cerambycidae (Coleoptera) de la Península Ibérica, islas Baleares e islas atlánticas: Canarias, Açores y Madeira*. Monografías S.E.A., vol. 12. Sociedad Entomológica Aragonesa. Zaragoza, 136 pp.

GUIJARRO, J. A. 2009. climatol: Some Tools for Climatology. R package version 1.0.3.1. <http://webs.ono.com/climatol/climatol.html>

IBEAS, F., GALLEGO, D., DÍEZ, J. J., PAJARES, J. A. 2007. An operative kairomonal lure for managing pine sawyer beetle *Monochamus galloprovincialis* (Coleoptera: Cerambycidae). *J. Appl. Ent.*, **131**: 13-20.

JUNTA DE EXTREMADURA 2008. Resolución de 20 de noviembre de 2008, de la Dirección General de Explotaciones Agrarias y Calidad Alimentaria, por la que se adopta la medida fitosanitaria consistente en la tala y destrucción de todas las plantas susceptibles situadas en el polígono de actuación especificado en el Anexo, con relación al foco contaminado por el nematodo de la madera del pino *Bursaphelenchus xylophilus* (Steineret Buhner) Nickle *et al.* en determinada área forestal del término municipal de Villanueva de la Sierra, previamente declarado por esta Dirección General.

KOEING, W. D., VAN VUREN, D., HOOGE, P. N. 1996. Detectability, philopatry, and the distribution of dispersal distances in vertebrates. *Trends Ecol. Evol.*, **11**: 514-517.

MAS, H., PÉREZ-LAORGA, E. 2011. Resumen del estudio de la capacidad de vuelo del vector del nematodo del pino (*Monochamus galloprovincialis*) y de su dispersión a través de su captura-recaptura mediante trampas cebadas con atrayentes feromonales y cairaomonal. Año 2010. VI Taller sobre Complejos Feromonales de Insectos Forestales. Valencia. http://www.marm.es/es/biodiversidad/temas/montes-y-politica-forestal/sanidad-forestal/VI_taller_feromonas.aspx

NATHAN, R., PERRY, G., CRONIN J. T., STRAND, A. E., CAIN, M. L. 2003. Methods for estimating long-distance dispersal. *Oikos*, **103**: 261-273.

PAJARES, J. A., IBEAS, F., DIEZ, J. J., GALLEGO, D. 2004. Attractive responses by *Monochamus galloprovincialis* (Col., Cerambycidae) to host and bark beetle semiochemicals. *J. Appl. Ent.*, **128**: 633-638.

PAJARES, J., ÁLVAREZ, G., IBEAS, F., GALLEGO, D., HALL, D. R., FARMAN, D. I. 2010. Identification and field activity of a male-produced aggregation pheromone in the pine sawyer beetle, *Monochamus galloprovincialis*. *J. Chem. Ecol.*, **36**: 570-583.

XUNTA DE GALICIA 2011. Plan de acción para la erradicación y el control del nematodo de la madera del pino (*Bursaphelenchus xylophilus*) en el área demarcada de "As Neves" (Pontevedra), Comunidad Autónoma de Galicia (España).

R DEVELOPMENT CORE TEAM. 2009. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0. <http://www.R-project.org>.

TURCHIN, P., THONEY, W. 1993. Quantifying dispersal of southern pine beetles with mark-recapture experiments and a diffusion model. *Ecological app.*, **3**: 187-188.

VIVES, E. 2000. Insecta, Coleoptera, Cerambycidae. Serie Fauna Ibérica, Vol. 12. Museo Nacional de Ciencias Naturales, CSIC, Madrid.

(Recepción: 26 marzo 2012)

(Aceptación: 20 abril 2012)

Seguimiento de *Leptoglossus occidentalis* Heidemann durante la anualidad 2011 en el Centro Nacional de Recursos Genéticos Forestales “Alaquàs” - Valencia

M. NAYA, A. AGUADO

En abril de 2010 se detectó en el Centro Nacional de Recursos Genéticos Forestales “Alaquàs” - (Valencia) la presencia del insecto hemíptero de la familia de los coreidos *Leptoglossus occidentalis* Heidemann, cuya alimentación basada en conos y semillas de coníferas en formación, hacía necesario su estudio por poder afectar a la producción de materiales forestales de reproducción, propia del Centro.

Dado el bajo conocimiento de esta especie norteamericana en España, se consideró conveniente realizar un seguimiento con la finalidad de conocer su Ciclo Biológico y la aproximación a su integral térmica, apoyándose en los datos meteorológicos de la estación situada en el interior de nuestras instalaciones.

A lo largo del año 2011 se realizó el seguimiento de la población en uno de los bancos clonales de *Pinus nigra* Arnold ssp. *salzmanii* existentes, estableciendo la existencia de 3 generaciones anuales de *L. occidentalis* Heidemann. El dato de integral térmica obtenido para el desarrollo de una generación completa, se ha situado en 538 grados día. Este dato se obtuvo tras el ajuste óptimo del correspondiente Umbral Inferior de desarrollo, que dio como resultado 15°C. El momento de inicio de actividad de los adultos tras su característica hibernación comenzó en la quincena central del mes de febrero. La finalización de la actividad anual se produjo en la última quincena del mes de octubre, con la búsqueda de cobijo de los imagos para la hibernación.

M. NAYA. Ing. Tec. Forestal. marconaya2001@yahoo.es

A. AGUADO. Ing. Montes. Coordinadora de Zona en la Comunidad Valenciana. MAGRAMA - Joaquín Ballester, 39, 6.ª 46009 -Valencia. aaguado@magrama.es

Palabras clave: ciclo biológico, integral térmica.

INTRODUCCIÓN

El Centro Nacional de Recursos Genéticos Forestales “Alaquàs” (en adelante CNRGF - “Alaquàs”), dependiente del Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente, posee diversos huertos semilleros y bancos clonales de varias especies de coníferas de ámbito mediterráneo: *Pinus halepensis* Miller., *Pinus nigra* Arnold., y *Pinus sylvestris* Linnaeus.

En la mayoría de las parcelas del Centro, se realizan controles fitosanitarios con una periodicidad bimensual, sobre todo en los huertos

y bancos, con la intención de localizar e identificar los distintos agentes bióticos (plagas y enfermedades) y abióticos (daños por climatología o contaminación), que pudieran afectar al buen estado sanitario de los ramets.

En el mes de noviembre de 2009, se tuvo conocimiento de la presencia de un nuevo insecto que había sido localizado en el Parc Natural de la Serra Calderona (Valencia), a una distancia de 25 Km del Centro, y que por su alimentación a base de semillas de conos en formación, se consideró que podría afectar a la producción de piña en las parcelas de coníferas del CNRGF “Alaquàs”.



Figura 1. Vista aérea del CNRGF-“Alaquàs”

En abril de 2010, *L. occidentalis* Heide-
mann fue localizado por primera vez, en el
huerto B25ALA, ubicado en el Centro, co-
municándose oficialmente a los organismos
responsables en Sanidad Vegetal, en fecha 4
de mayo de 2010.

Leptoglossus occidentalis Heidemann, es
un insecto relativamente nuevo en los pina-
res peninsulares. Procedente de EEUU y
Canadá, sus primeras citas en Europa datan
de 1999, cuando fue localizado en la región

del Véneto en Italia (EPPO Reporting Ser-
vice, 2006). Posteriormente ha sido citado
hasta en 17 países europeos, incluyendo Es-
paña, donde se cita por primera vez en 2003,
en la localidad de Vallbona d’Anoia, 2003
(EPPO Reporting Service, 2010).

En EEUU y Canadá, *L. occidentalis* es
univoltino (EPPO Reporting Service, 2010),
mientras que en otras localizaciones, como
México o Italia, se ha apreciado que es po-
livoltino, presentando hasta tres generacio-
nes (CIBRIÁN-TOBAR *et al.*, 1986) (BERNAR-
DINELLI *et al.*, 2006).

Según experiencias realizadas en México,
con distintas especies de coníferas, las nin-
fas provocarían en su alimentación el aborto
de los conillos. En cambio, los adultos po-
drían alimentarse tanto de conillos como de
conos de 2.º año, provocando distintos daños
dependiendo de la fecha e intensidad del
ataque (CIBRIÁN-TOBAR *et al.*, 1986).

Dado el desconocimiento de esta especie
en España, se plantea como primer objetivo
del presente trabajo la determinación de su
Ciclo Biológico en el CNRGF “Alaquàs”, ya
que se reúnen unas condiciones ideales para
ello: accesibilidad de las parcelas, poca al-



Figura 2. *L. occidentalis* sobre *P. nigra* en el banco
clonal B25ALA. CNRGF “Alaquàs”



Figura 3. Apareamiento de *L. occidentalis* en el banco clonal B25ALA. CNRGF "Alaquàs"

tura de los ramets (replicas vegetativas de árboles plus)...

El segundo objetivo, utilizando los datos recogidos por la estación meteorológica situada en nuestras instalaciones, sería la obtención de la integral térmica de desarrollo de toda una generación, así como la determinación de la temperatura umbral inferior de desarrollo.

Sobre estos conocimientos previos, los posteriores estudios de evaluación de daños, realización de tratamientos, etc., podrán ser realizados ajustándose a las épocas más adecuadas para ello.

MATERIAL Y MÉTODOS

Durante el año 2010, en el que se observó por primera vez *Leptoglossus occidentalis* Heidemann en el CNRGF "Alaquàs", se realizaron unas observaciones de comportamiento, buscando la posible existencia de

patrones, lo cual podía revertir en la consecución de los objetivos de estudio planteados con los mínimos esfuerzos posibles.

También en ese mismo año, se fotografiaron distintos individuos en vistas a poder reconocer los distintos estadios de desarrollo del insecto (en adelante, Huevo, N1, N2, N3, N4, N5 e Imago/Adulto).

Para la realización del seguimiento de la población en el año 2011, se estimó conveniente realizar los trabajos en parcelas cuyo tamaño de ramets permitiesen revisiones completas de estos sin excesivos esfuerzos.

En el CNRGF "Alaquàs" existen dos bancos clonales y un huerto semillero, todos ellos de *Pinus nigra*, que podrían cumplir esta primera condición de tamaño de los ramets. En octubre de 2010, se realizó un primer conteo de población en las tres parcelas de estudio, para estimar cual de las tres presentaba mayor población de *L. occidentalis*. De este modo, se observó que el banco clonal B25ALA (0,45 ind./ramet, en octubre 2010) poseía mucha mayor población de *L. occidentalis* que los adyacentes B25ALA2 (0,01 ind./ramet) y H25ALA (0,012 ind./ramet), probablemente por su mayor producción de piñón, por lo que se eligió dicho huerto para la realización de los futuros estudios.

El banco clonal B25ALA del CNRGF "Alaquàs", está compuesto por un total de 142 ramets de *Pinus nigra* Arnold subsp. *Salzmanii* de la región de procedencia 7-Sistema Ibérico Meridional. La superficie que ocupa es de aproximadamente 0.35 Has y su topografía es totalmente llana. Su establecimiento data del año 1997, y en él se encuentran representadas un total de 15 familias. Todos los ramets del banco clonal se obtuvieron por injerto heteroblástico de púas de *Pinus nigra* Arnold subsp. *salzmanii* sobre patrón de *Pinus halepensis* Miller. La altura de los ramets va desde un metro hasta los tres metros y medio.

En cuanto a las características de la estación, según datos climatológicos de la estación meteorológica más cercana (Manises, a 3 Kms), el CNRGF "Alaquàs" se encuentra

situado a una altitud de 52 metros s.n.m, y posee una climatología según la metodología Thornthwaite de tipo semi-árido, mesotérmico, con poco o nada de superavit en invierno (Atlas Climático de la Comunidad Valenciana (1961-1990), 1994).

Hasta principios de 2011, no se empezaron a observar las diferencias entre los sexos de los individuos adultos. En esas fechas, se pudo comprobar que resultaban fácilmente distinguibles por la diferencia de su tamaño, pues los ejemplares hembra poseen entre 3 y 4 milímetros más de longitud y algo más de envergadura abdominal que los ejemplares macho (CIBRIAN-TOBAR *et al.*, 1986)

Basándonos en la fecha de observación de los primeros individuos en el 2010, se inició el ciclo de conteos en el mes de febrero de 2011, coincidiendo con la aparición de 3 individuos adultos en los exteriores de los edificios del Centro. No se localizaron individuos en el banco clonal hasta la revisión del mes de abril.

A partir de ese momento, se estableció un calendario de observaciones, iniciándose con una prospección al mes, durante mayo y junio, para continuar con revisiones quincenales desde julio hasta la hibernación, asegurando de este modo la correcta observación del ciclo biológico, dada la probable mezcla de generaciones durante los meses de estío y otoño de *L. occidentalis* Heide-mann.

La metodología seguida para la determinación del ciclo biológico, en cada revisión, consistió en:

- Revisión individual de cada ramet hasta una altura de 2 metros, dedicando un tiempo de observación/ramet de entre 1 y 1,5 minutos, dependiendo su copa, recorriendo su perímetro.
- Dar atención a los puntos más probables de observación: a. Puntas de las ramas y b. Grupos de conos inmaduros.
- Anotación de:
 - Número de insectos localizados,
 - Identificación del ramet: posición y familia.

- Estimación de los distintos estadios ninfales en los que se encontraban los insectos todavía inmaduros (N1 - N5).
- Anotación de las puestas de huevos no eclosionadas localizadas.
- Determinación por tamaño, del sexo de los imagos.

–Realización de monitoreo considerando siempre las condiciones climáticas:

- Preferencia por los días soleados a la hora de realizar los seguimientos.
- Horarios de monitoreo entre las 8 y 14 h.
- Aplazamiento en caso de lluvia reciente o viento intenso.

Para el cálculo de la integral térmica y la temperatura umbral inferior de desarrollo, se tomó la serie de temperaturas de toda la anualidad, recogida por la estación meteorológica, con periodicidad horaria. Con dichos datos, se obtuvieron los máximos y mínimos diarios necesarios para los cálculos.

RESULTADOS

Los resultados del estudio descrito mostraron el siguiente resultado:

- A. Respecto al ciclo biológico.
- B. Respecto a la integral térmica.

A. Ciclo biológico

Se produjo la observación de 747 individuos de *L. occidentalis* en distintas fases de desarrollo en las 13 revisiones realizadas en la anualidad.

El inicio de la actividad reproductora de *L. occidentalis* se hizo evidente a finales del mes de marzo e inicios de abril, con la detección de una puesta eclosionada el 29 de marzo de 2011.

En la revisión realizada el 5 de abril, tan solo se contabilizaron individuos adultos (provenientes de la hibernación), siendo posible observarlos en ocasiones en alimenta-

ción (con el estilete insertado en las piñas) e incluso en còpula.

Entre el inicio de abril y la primera quincena de mayo, se produce un aumento de la población, motivado por la presencia de puestas y la nascencia de la **primera generación** de *L. occidentalis* Heidemann. En esta época, se

apreció también la disminución en el número individuos adultos invernantes, probablemente por su muerte tras la reproducción. A inicios de julio se hace evidente que la primera generación ha llegado al desarrollo adulto.

Se observa el inicio de una **segunda generación** a finales de julio e inicios de agosto.

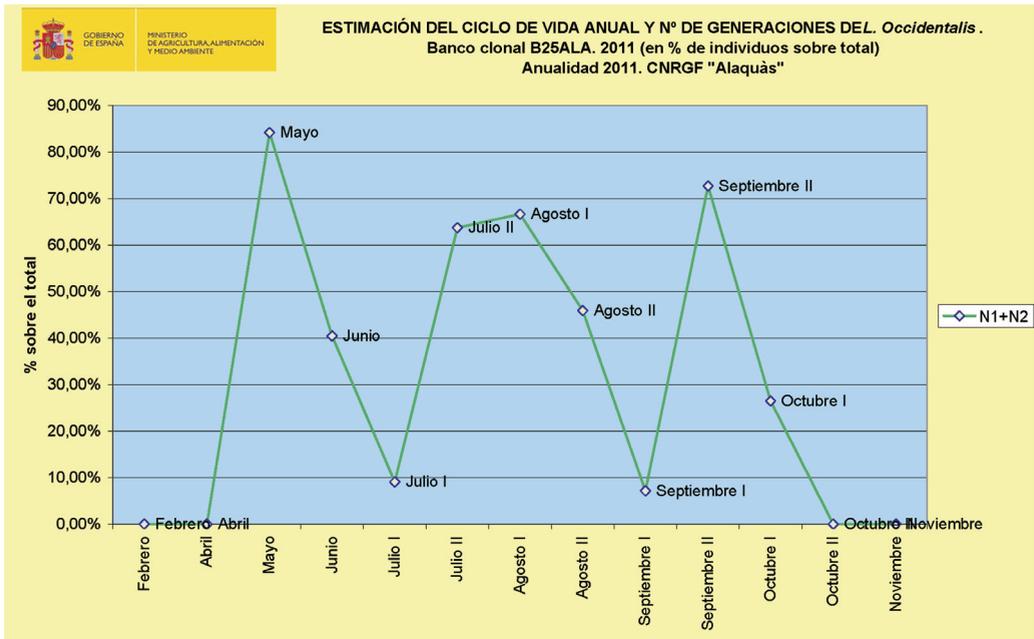


Figura 4. Proporción de ninfas de primer y segundo estadio sobre el total en cada revisión. Banco B25ALA. CNRGF "Alaquàs"

La nascencia de la **tercera generación anual** tiene lugar a finales de la primera quincena de septiembre. A partir de este punto, se observa como durante el siguiente mes, la proporción de individuos adultos va en aumento, mientras que la población existente en el banco clonal va en disminución, evidenciando el final del los ciclos anuales y el inicio de la migración en búsqueda de refugio invernal típico de la especie.

Llegado el mes de noviembre, ya no se localizan individuos de *L. occidentalis* en el banco clonal.

En cambio, todavía en este mes se apreció la presencia de individuos en busca de refu-

gio invernal en los edificios cercanos, tal y como resulta característico en la especie (EPPO Reporting Service, 2010).

El máximo poblacional se dio a inicios del mes de agosto, existiendo un segundo pico de población muy cercano a finales del mes de septiembre.

B. Aproximación a la Integral Térmica de *L. occidentalis* Heidemann

Utilizando los datos de temperatura media diaria, se realizó el ajuste del umbral inferior de desarrollo, buscando que el número de gra-

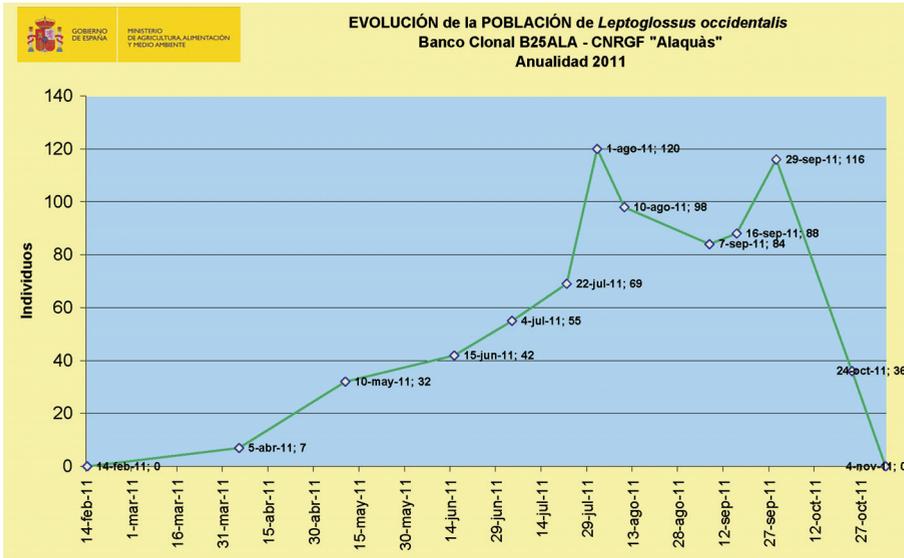


Figura 5. Número de individuos de *L. occidentalis* en cada revisión, a lo largo de la anualidad 2011. Banco clonal B25ALA. CNRGF "Alaquàs"

dos día, acumulados en dos generaciones de las que se conoce el inicio y el final, fueran idénticos. De este modo, se testaron los grados día

acumulados para umbrales inferiores de 12°C, 13°C, 14,6°C, 14,8°C, 15°C y 16°C, obteniéndose como resultado óptimo los 15°C.

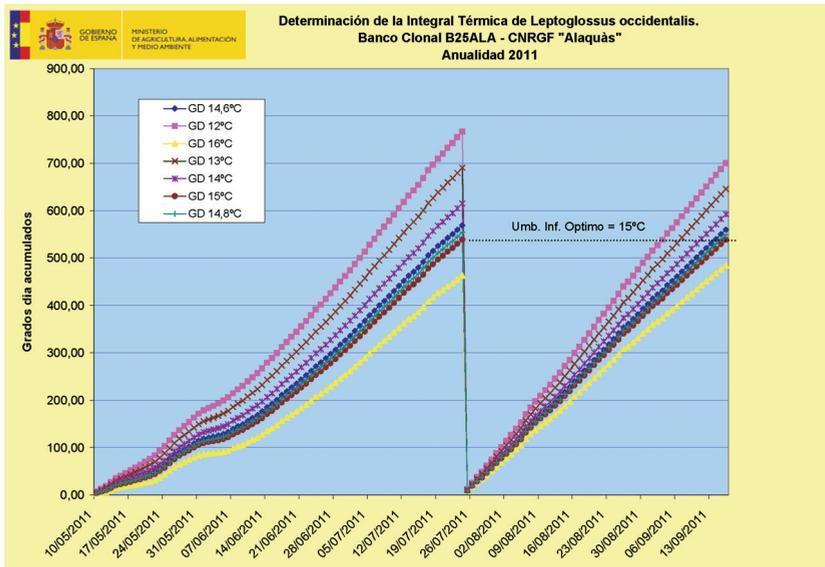


Figura 6. Determinación del Umbral inferior de desarrollo e integral térmica de *L. occidentalis* Heidemann en el Banco clonal B25ALA. CNRGF "Alaquàs"

Conocida esta temperatura, se obtuvo que el dato de la integral térmica para el desarrollo completo de una generación del insecto ascendía a 538 Grados Día.

DISCUSIÓN

Leptoglossus occidentalis Heidemann, posee un total de 3 ciclos anuales en la estación que ocupa el CNRGF "Alaquàs".

El inicio de su actividad post invernal se da a mediados de febrero, cuando se le localiza en exposiciones soleadas, en los exteriores de edificios cercanos. Sin embargo, no es localizable en los huertos hasta finales de marzo - inicios de abril, cuando inician la copula para el inicio de la primera generación.

El pico de nacimiento de la primera generación del insecto se da a mediados del mes de abril. Tras este pico, se observan dos picos de nacimiento más, situados a finales de julio - inicios de agosto; y a mediados del mes de septiembre.

Los individuos de este último pico de nacimiento, se desarrollan a través de sus 5 fases ninfales hasta el estado de adulto, que se alcanza aproximadamente a finales del mes de octubre, y abandonan los campos en busca de refugio invernal, razón por la cual no se encuentran individuos en los campos ya a inicios de noviembre

Leptoglossus occidentalis Heidemann, realiza un ciclo completo de desarrollo con un total de 538 Grados Día, pudiéndose utilizar este dato para aproximaciones al número de generaciones en distintas localizaciones.

ABSTRACT

NAYA, M., A. AGUADO. 2012. Monitoring of *Leptoglossus occidentalis* Heidemann during 2011 in the Centro Nacional de Recursos Genéticos Forestales "Alaquàs" - Valencia. *Bol. San. Veg. Plagas*, **38**: 125-132.

In April 2010, the coreid hemipter *Leptoglossus occidentalis* Heidemann, was found in the Centro Nacional de Recursos Genéticos Forestales - "Alaquàs" (Valencia), belonging to the Spanish Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente. Its natural diet of conifer seeds, and the minimum studies of this pest specie in Spain, determined the need to study the life history and the thermal integral of the insect, as a first step in the knowledge of it.

During 2011, a total of 13 explorations have been done in the *Pinus nigra salzmannii* clonal bank B25ALA. Three generations of *Leptoglossus occidentalis* Heidemann were observed, and the calculation of the thermal integral gave a result of 538 days degree to complete a generation. The optimal lower developmental threshold obtained was 15°C.

It was observed that *Leptoglossus occidentalis* Heidemann starts its activity after hibernation at March, to mate in the middle of the month; in addition it was observed that *Leptoglossus occidentalis* Heidemann leaves the clonal bank during the last days of October to search a place for overwintering.

Key words: life history, thermal integral.

REFERENCIAS

- ATLAS CLIMÁTICO DE LA COMUNIDAD VALENCIANA (1961-1990), 1994. Conselleria d'Obres Publiques, Urbanismo i Transports. Generalitat Valenciana.
- BERNARDINELLI, I., ROVATO, M., ZANDIGIACOMO, P. 2010. Life history and Laboratory rearing of *Leptoglossus occidentalis*. IUFRO Working Party 7.03.2010. Proceedings of the workshop 2006, Gmunden/Austria.
- CIBRIAN-TOVAR, D., EBEL, B. H., YATES, H. O., MENDEZ-MONTIEL, J. T. 1986. Insectos de conos y semillas de las coníferas de México. Estación Experimental Forestal del Sureste. USDA Forest Service. 55-58.
- EPPO. 2010. *Leptoglossus occidentalis*: an invasive alien species spreading in Europe. EPPO Reporting Service. Reporting Service 2010, **1**: 2010/009.
- FERA. 2009. Western conifer seed bug (*Leptoglossus occidentalis*). Plant Pest Factsheet. FERA, Food and Environment Research Agency, UK.

- FGC. 2010. Western conifer seed bug (*Leptoglossus occidentalis*). Cone and Seed Insect Pest Leaflet N.º 4. British Columbia Ministry of Forests and Range, Tree Improvement Branch, Saanichton, BC.
- LEVANTE-EMV. 2009. Una chinche gigante amenaza los pinos. <http://www.levante-emv.com/comunitat-valenciana/2009/11/11/chinche-gigante-amenaza-pinos/650233.html>. [Consultado 11/11/2009].
- MARCO, V. 2001. Modelización de la tasa de desarrollo de insectos en función de la temperatura. Aplicación al Manejo Integrado de Plagas mediante el método de grados día. *Aracnet 7 - Bol. S.E.A.*, **28**: 147-150.

(Recepción: 18 abril 2012)

(Aceptación: 27 abril 2012)

Eficacia de diferentes fungicidas en el control de la mole húmeda del champiñón (agente causal: *Mycogone perniciosa*)

F. J. GEA, M. C. LAINEZ, M. J. NAVARRO

Se realizaron ensayos *in vitro* e *in vivo* con varios fungicidas (carbendazima, iprodiona, procloraz-Mn, tiabendazol y metil-tiofanato) para valorar su efecto sobre *Mycogone perniciosa*, agente causal de la mole húmeda del champiñón. Los experimentos *in vitro* mostraron que procloraz-Mn ($ED_{50} = 0,006-0,064 \mu\text{g ml}^{-1}$) y carbendazima ($ED_{50} = 0,031-0,097 \mu\text{g ml}^{-1}$) fueron los fungicidas más eficaces para inhibir el crecimiento micelial de *M. perniciosa*, mientras que iprodiona ($ED_{50} = 1,90-3,80 \mu\text{g ml}^{-1}$) fue el menos eficaz. Los factores de resistencia calculados para los cinco fungicidas se situaron entre 1,4 y 2, lo que sugiere que hay muy poco riesgo de que *M. perniciosa* desarrolle resistencia a los fungicidas ensayados. La eficacia *in vivo* de los fungicidas se estudió en dos ensayos de cultivo de champiñón, que fueron artificialmente infectados con dos dosis de *M. perniciosa*, 10^6 y 10^7 esporas m^{-2} , respectivamente. Todos los fungicidas mostraron un elevado grado de eficacia (96,5-100,0%) con la dosis de inóculo más baja. Sin embargo, con la dosis más elevada, iprodiona registró una eficacia menor (20,5-24,4%) que el resto de fungicidas (88,7-100,0%).

F. J. GEA, M. J. NAVARRO. Centro de Investigación, Experimentación y Servicios del Champiñón (CIES), Apdo. 63, 16220 Quintanar del Rey (Cuenca).
M. C. LAINEZ. IES Amparo Sanz. Albacete.

Palabras clave: carbendazima, iprodiona, procloraz, tiabendazol, metil-tiofanato.

INTRODUCCIÓN

La mole húmeda, causada por el hongo micoparásito *Mycogone perniciosa* (Magnus) Delacroix, es una enfermedad del champiñón [*Agaricus bisporus* (Lange) Imbach] que también se desarrolla sobre otras especies de *Agaricales*. A pesar de su distribución mundial no suele causar importantes pérdidas en los cultivos de champiñón (FLETCHER Y GAZE, 2008), aunque recientemente ha originado serios problemas en algunos países como Serbia (GLAMOCLIJA *et al.*, 2008) y Sudáfrica (MEYER Y KORSTEN, 2008). *M. perniciosa* esporula abundantemente sobre los cuerpos fructíferos de *Agaricus*, produciendo conidios de paredes delgadas parecidos a los de *Verticillium* y

clamidosporas bicelulares esféricas de color oscuro y pared gruesa, con una célula apical verrugosa y una célula basal de pared delgada (HOLLAND Y COOKE, 1990). Este micoparásito afecta la morfogénesis de los basidiomas de *A. bisporus*, formando masas deformes de tejido sin ningún signo de diferenciación. Inicialmente las moles húmedas son esponjosas y de color blanco, virando posteriormente al color oscuro. Ocasionalmente pueden exudar sobre su superficie gotas de líquido color ámbar debido a la putrefacción bacteriana que se produce en su interior (Figura 1). Al corte, se puede observar que las masas deformes muestran áreas oscuras justo debajo de la superficie exterior del esporóforo. A veces, los síntomas causados por *M. perniciosa* son parecidos a los

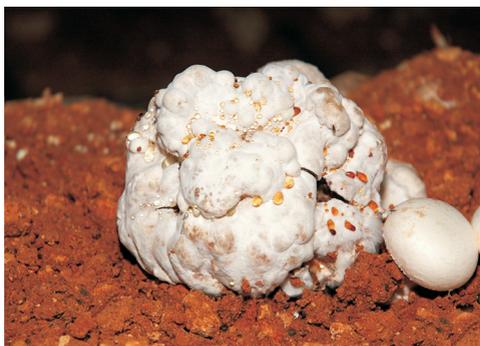


Figura 1. Aspecto de una mole húmeda con exudado de líquido color ámbar

ocasionados por *Verticillium fungicola* (Preuss) Hassebrauk [recientemente clasificado como *Lecanicillium fungicola* (Preuss) Zare & W. Gams (ZARE Y GAMS, 2008)], por lo que la presencia de la mole húmeda puede quedar enmascarada por la mole seca. La mezcla de cobertura siempre ha sido considerada como la principal fuente de contaminación de *M. perniciosa*, por lo que es particularmente importante asegurar que los materiales de cobertura estén limpios y almacenados en un área segura, sin riesgos de terminar contaminados por polvo o restos procedentes de otras naves de cultivo (FLETCHER Y GANNEY, 1968). *M. perniciosa* puede ser diseminado por el agua de riego, al igual que *V. fungicola*, pero a diferencia de éste, las esporas no son pegajosas, por lo que las moscas y los recolectores tienen menos importancia en su diseminación.

La aparición de la mole húmeda en los cultivos de champiñón españoles ha sido esporádica durante los últimos veinte años. Hasta ahora, el control se había realizado mediante el uso de fungicidas benzimidazoles y procloraz-Mn, prácticas culturales e higiene (FLETCHER *et al.*, 1975, 1983; GANDY Y SPENCER, 1978; GEA *et al.*, 1995). La incidencia actual de la enfermedad es baja o nula en cultivos bien conducidos, pero la mole húmeda se puede convertir en una seria amenaza para los cultivos de champiñón. De hecho, durante el otoño de 2006, se detecta-

ron fuertes ataques de mole húmeda en algunos cultivos comerciales de *A. bisporus*, lo que puso de manifiesto la necesidad de llevar a cabo un estudio con el fin de desarrollar medidas de control más eficaces y de valorar la actual sensibilidad de *M. perniciosa* a varios fungicidas, para poder determinar si se había desarrollado alguna resistencia.

Hay que tener en cuenta que la disponibilidad de fungicidas en el cultivo del champiñón está limitada no solo por estrictas regulaciones sino también por el hecho de que tanto el patógeno como el huésped son hongos. Por esta razón, en este estudio se han usado fungicidas que están autorizados en España (iprodiona y procloraz-Mn), o que han sido ampliamente utilizados en otros países europeos (carbendazima y metil-tiofanato) o en Estados Unidos (metil-tiofanato y tiabendazol). Todos estos fungicidas están incluidos en el Anexo I de la Directiva 91/414/EEC, aunque carbendazima está solo autorizada en cereales, colza, remolacha y maíz.

Por tanto, el objetivo de este estudio es determinar la sensibilidad *in vitro* de aislados de *M. perniciosa* frente a los fungicidas seleccionados y la efectividad de estos fungicidas frente a la mole húmeda en cultivos de champiñón artificialmente infectados con *M. perniciosa*. La información obtenida puede ayudar a conocer mejor cómo se desarrolla esta enfermedad, al tiempo que puede contribuir a diseñar estrategias de control más eficaces.

MATERIALES Y MÉTODOS

Aislados

Para los ensayos *in vitro* se utilizaron doce aislados de *M. perniciosa* recuperados de cuerpos fructíferos de *A. bisporus* que mostraron síntomas de mole húmeda. Las muestras se recogieron entre los años 2006 y 2009 en cultivos de champiñón situados en Castilla-La Mancha. Los aislados se cultivaron en medio agar-patata dextrosa (PDA) y se identificaron de acuerdo con los criterios

taxonómicos descritos por BRADY Y GIBSON (1976).

Determinación de la sensibilidad *in vitro* de *Mycogone perniciosa* a los fungicidas

Para determinar la sensibilidad *in vitro* de *M. perniciosa* a los fungicidas se utilizaron las formulaciones comerciales de las siguientes materias activas: carbendazima 50% pm (Bavisfor® 50, IQV, Mollet del Vallés, Barcelona, Spain), iprodiona 50% pm (Rovral® WP, Agrogen, Madrid, Spain), procloraz 46% pm (Sporgon®, Basf Española, Barcelona, Spain), tiabendazol 60% sc (Textar® 60-T, Tecnidex, Paterna, Valencia, Spain) y metiltiofanato 70% wg (Topsin® 70 WG, Bayer CropScience, Alcácer, Valencia, Spain).

Los fungicidas se disolvieron en agua destilada estéril y se añadieron al medio de cultivo esterilizado (agar-extracto de malta enfriado a 45-50°C), con el fin de conseguir diversas concentraciones de materia activa (entre 0,001 y 100 µg ml⁻¹). Las placas de medio con fungicida se sembraron con discos de 5 mm de diámetro, procedentes de la zona con crecimiento activo de un micelio de *M. perniciosa*. Se realizaron cuatro replicados por cada combinación de aislado y concentración fungicida. Las placas Petri se incubaron durante 12 días a 25°C en oscuridad y posteriormente se determinó el tamaño de las colonias midiendo dos diámetros perpendiculares por cada placa.

Se valoró la tasa de crecimiento micelial para cada aislado, utilizando las placas control a las que no se había añadido fungicida. A continuación, se calculó el porcentaje de inhibición (PI) del crecimiento micelial mediante la ecuación de VINCENT (1947): $PI = 100(C-T)/C$ (C = tasa de crecimiento del control; T = tasa de crecimiento en las placas tratadas con fungicida). La sensibilidad de la población de aislados de *M. perniciosa* se estimó mediante el cálculo de la ED₅₀ (µg ml⁻¹ de materia activa necesarios para inhibir el crecimiento radial al 50%). Para cada fungicida también se determinó el factor de re-

sistencia, el cual se expresa como la relación entre el valor más elevado de ED₅₀ de los aislados considerados, frente al valor medio de ED₅₀ para cada combinación de aislados-fungicida (REYNOLDS *et al.*, 1997; FRANKE *et al.*, 1998; KURT *et al.*, 2003).

Los valores de ED₅₀ se examinaron mediante un análisis de varianza (ANOVA), usando el programa Statgraphics Plus 5.1 (Statistical Graphics Corp., Princeton, NJ).

Ensayos en cámaras de cultivo de champiñón

Para valorar la eficacia de los fungicidas frente a la mole húmeda en cultivos de champiñón artificialmente infectados con *M. perniciosa* se realizaron dos ciclos de cultivo en una cámara visitable Ibercex (ASL, S.A., San Fernando de Henares, Madrid, España) de dimensiones 3,70 × 2,10 × 2,60 m (20,2 m³), provista de sistemas de humidificación, calefacción/refrigeración, y recirculación/ventilación exterior, que permite el control automático de la temperatura, la humedad relativa y la concentración de dióxido de carbono. Se utilizaron cubetas de 16 l de volumen y una superficie de 870 cm², cada una de las cuales se llenó con 6 kg de compost. La variedad comercial de micelio de *Agaricus bisporus* utilizada fue Gurelan 45 (Gurelan S. Coop., Huarte, Pamplona), a una tasa de siembra del 1% en peso fresco del compost. La capa de cobertura aplicada estaba formada por una mezcla de suelo mineral y turba rubia en proporción 4:1 (v/v), que es la habitual en el sector productor de Castilla-La Mancha. En cada cubeta se depositó una capa de 30 mm de espesor y 2,6 l de volumen.

Se realizaron dos ensayos (A y B), que diferían en la concentración de esporas usada como tasa de inoculación para cada ensayo: 10⁶ esporas m⁻² en el ensayo A y 10⁷ esporas m⁻² en el ensayo B. La inoculación se llevó a cabo dos días después de realizar la cobertura, aplicando una suspensión de esporas de *M. perniciosa* sobre la superficie de ésta, a razón de 10 ml por cubeta. El

inóculo de *M. pernicioso* se preparó el mismo día en que se realizó la inoculación. La concentración de cada suspensión de esporas se determinó mediante un hematocitómetro. Cada suspensión se diluyó en agua estéril hasta conseguir una concentración de $8,7 \times 10^3$ esporas ml^{-1} (ensayo A) y $8,7 \times 10^4$ esporas ml^{-1} (ensayo B). Las cubetas control recibieron 10 ml de agua estéril.

Se utilizaron formulaciones comerciales de los siguientes fungicidas: carbendazima, iprodiona, tiabendazol y metil-tiofanato al 0,1% (p/v) y procloraz al 0,05% (p/v). Se añadieron en riego, disueltos en agua, a razón de 100 ml por cubeta. Para cada fungicida se realizaron dos tratamientos y seis repeticiones por tratamiento. El primer tratamiento (I) se efectuó el mismo día de la cobertura (día 0), es decir, dos días antes de llevar a cabo la inoculación con esporas de *M. pernicioso*. El segundo tratamiento (II) se aplicó el quinto día después de la cobertura, 3 días después de la inoculación. A las cubetas control se les añadieron 100 ml de agua.

Durante las tres primeras floradas, se anotaron los datos correspondientes al número y peso de los champiñones recogidos en cada uno de los tratamientos aplicados. Los champiñones recolectados se clasificaron como sanos o infectados por *M. pernicioso*. La incidencia de la enfermedad se calculó como un porcentaje, basada en la relación entre el número

total de champiñones enfermos frente al número total de champiñones (sanos y enfermos). La eficacia de los fungicidas se valoró mediante la fórmula de ABBOTT (1925): % eficacia = $[(I_c - I_t)/I_c] \times 100$ (donde I_c = incidencia de la enfermedad en el control; I_t = incidencia de la enfermedad en el tratamiento).

El diseño experimental utilizado fue de bloques al azar con seis repeticiones. Los datos de eficacia total se analizaron mediante un análisis de varianza (ANOVA), previa transformación $\arcsin\sqrt{x/100}$.

RESULTADOS

Determinación de la sensibilidad *in vitro* de *M. pernicioso* a los fungicidas

En la Tabla 1 se presentan los valores medios de ED_{50} de los fungicidas seleccionados y los factores de resistencia de doce aislados de *M. pernicioso*. El fungicida que inhibió el crecimiento *in vitro* de *M. pernicioso* con más eficacia fue procloraz-Mn (ED_{50} media = 0,029 $\mu\text{g ml}^{-1}$), seguido por carbendazima (ED_{50} media = 0,065 $\mu\text{g ml}^{-1}$). Por el contrario, los valores de ED_{50} más elevados se obtuvieron con iprodiona (ED_{50} media = 2,678 $\mu\text{g ml}^{-1}$). Los factores de resistencia calculados fueron relativamente bajos, oscilando entre 1,42 para iprodiona y 2,44 para metil-tiofanato.

Tabla 1. Valores de ED_{50} de los fungicidas seleccionados y factores de resistencia de los aislados de *Mycogone pernicioso* recolectados entre los años 2006 y 2009 en España

Fungicida	Aislados	ED_{50} ($\mu\text{g ml}^{-1}$)		Factor de resistencia ^b
		Media ^a	Rango	
Carbendazima	12	0,065 a	0,031-0,097	1,49
Iprodiona	12	2,678 c	1,897-3,805	1,42
Procloraz-Mn	12	0,029 a	0,006-0,064	2,20
Tiabendazol	12	0,225 a	0,155-0,335	1,49
Metil-tiofanato	12	0,773 b	0,298-1,884	2,44

^a Medias en columna seguidas por distinta letra indican diferencias significativas de acuerdo con el test de Tukey HSD, al nivel $P = 0,05$.

^b El factor de resistencia se expresa como la relación entre el valor más elevado de ED_{50} de los aislados considerados, frente al valor medio de ED_{50} para cada combinación de aislados-fungicida.

La distribución de frecuencias de los valores de ED_{50} mostró que el 100% de los aislados de *M. pernicioso* eran muy sensibles ($ED_{50} < 0,5 \mu\text{g ml}^{-1}$) a los fungicidas carbendazima, procloraz-Mn y tiabendazol, presentando diferencias significativas con los valores de ED_{50} de iprodiona y metil-tiofanato. Los valores de ED_{50} para iprodiona oscilaban entre 1,897 y 3,805 $\mu\text{g ml}^{-1}$, por lo que todos los aislados resultaron débilmente resistentes a este fungicida ($ED_{50} = 1-10 \mu\text{g ml}^{-1}$). Por último, los valores de ED_{50} para metil-tiofanato también mostraron un amplio rango (0,298-1,884 $\mu\text{g ml}^{-1}$), con dos aislados débilmente resistentes ($ED_{50} > 1 \mu\text{g ml}^{-1}$), y los otros diez sensibles ($ED_{50} < 1 \mu\text{g ml}^{-1}$).

Ensayos en cámaras de cultivo de champiñón

En la Tabla 2 se muestra la efectividad de los cinco fungicidas ensayados para controlar la mole húmeda en dos ciclos de cultivo de *A. bisporus* infectados artificialmente con dos dosis de inóculo de *M. pernicioso* diferentes (10^6 y 10^7 esporas m^{-2}). En los dos ensayos realizados únicamente se observó como síntoma típico de mole húmeda, la presencia de masas de tejido deformes sin ningún signo de diferenciación (Figura 2). En el ensayo A, los primeros síntomas se registraron 18 días después de la inoculación de la mezcla de cobertura (Día 20), coincidiendo con los primeros champiñones. En el ensayo B, los primeros síntomas de mole húmeda se observaron 17 días después de la inoculación de la cobertura (Día 19), y los primeros champiñones se cosecharon un día después (Día 20).

Los resultados obtenidos en el ensayo A no presentaron diferencias significativas en cuanto a la efectividad entre los tratamientos fungicidas aplicados. En el control inoculado, el peso total de moles húmedas recogido

ascendió a 6,33 kg m^{-2} , con una incidencia del 29,06% de la cosecha total (30,6% en la primera florada, 37,4% en la segunda y 42,2% en la tercera). En el control no inoculado la incidencia de la mole húmeda fue del 0% a lo largo del ciclo de cultivo. Por otro lado, los tratamientos fungicidas con más moles húmedas, es decir, los menos eficaces, fueron el de carbendazima I (0,51 kg m^{-2} , 2,27%) e iprodiona I (0,35 kg m^{-2} , 1,79%). Por el contrario, la efectividad fue del 100% a lo largo de todo el ciclo de cultivo para los tratamientos procloraz-Mn II, tiabendazol y metil-tiofanato aplicados antes y después de la inoculación.

En el ensayo B, se apreciaron diferencias significativas en la efectividad total entre iprodiona (I y II) y el resto de tratamientos ensayados. En el control inoculado, el peso total de moles húmedas recogido ascendió a 19,92 kg m^{-2} , con una incidencia del 89,0% de la cosecha total (61,7% en la primera florada, 59,0% en la segunda y 68,89% en la tercera). En el control no inoculado la incidencia fue del 0,0% en las dos primeras floradas y del 1,96% en la tercera. Por otro lado, los tratamientos fungicidas con más moles húmedas fueron iprodiona I (13,90 kg m^{-2} , 64,20%) e iprodiona II (13,85 kg m^{-2} , 65,65%), que demostraron ser los menos efectivos a lo largo de todo el ciclo de cultivo. Por el contrario, con los fungicidas carbendazima y metil-tiofanato aplicados después de la inoculación se consiguió un 100% de efectividad. En el resto de tratamientos, se puede ver como la efectividad disminuye conforme avanza el ciclo de cultivo. Para un mismo fungicida, no se observaron diferencias significativas entre la aplicación previa a la inoculación con *M. pernicioso* (día 0) y la aplicación posterior (día 5). En líneas generales, el tratamiento que presentó una mayor efectividad en los dos ensayos fue metil-tiofanato aplicado después de la inoculación con *M. pernicioso*.

Tabla 2. Eficacia (%) de los fungicidas carbendazima, iprodiona, procloraz-Mn, tiabendazol y metil-tiofanato en el control de *Mycogone perniciosa* en dos ciclos de cultivo de *A. bisporus* infectados artificialmente con el patógeno

Fungicida y momento de aplicación	Ensayo A (10 ⁶ esporas m ⁻²)				Ensayo B (10 ⁷ esporas m ⁻²)			
	1. ^a flor	2. ^a flor	3. ^a flor	Total	1. ^a flor	2. ^a flor	3. ^a flor	Total ^a
Carbendazima I	97,4	99,2	89,7	97,8	100,0	100,0	92,9	97,6 b
Iprodiona I	100,0	91,3	100,0	96,5	56,6	27,2	4,9	20,5 a
Procloraz-Mn I	98,3	98,3	100,0	98,8	99,2	96,7	96,6	98,1 b
Tiabendazol I	100,0	100,0	100,0	100,0	97,7	94,6	74,7	92,6 b
Metil-tiofanato I	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	98,1	94,8	97,9 b
Carbendazima II	100,0	99,4	100,0	99,7	100,0	100,0	100,0	100,0 b
Iprodiona II	98,5	97,6	100,0	98,9	69,4	8,5	6,8	24,4 a
Procloraz-Mn II	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	97,1	87,8	97,0 b
Tiabendazol II	100,0	100,0	100,0	100,0	94,4	91,0	80,9	88,7 b
Metil-tiofanato II	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0 b

^a Medias en columna seguidas por distinta letra indican diferencias significativas de acuerdo con el test de Tukey HSD, al nivel P = 0,05.



Figura 2. Aspecto de una cubeta de ensayo con varias moles húmedas

DISCUSIÓN

Los experimentos *in vitro* mostraron que procloraz-Mn y carbendazima eran los fungicidas más efectivos para inhibir el crecimiento de *M. perniciosa*, mientras que iprodiona era el menos efectivo. POTOČNIK *et al.* (2008) obtuvieron resultados parecidos con aislados de *M. perniciosa* de Serbia: valores de ED₅₀ por debajo de 0,008 mg l⁻¹ para procloraz-Mn, y 0,46 y 4,08 mg l⁻¹ para benomilo e iprodiona, respectivamente. Los valores de ED₅₀ y factores de resistencia obtenidos (Tabla I) indicaron que existe un riesgo muy bajo de que *M. perniciosa* desarrolle resistencia a los fungicidas ensayados (REYNOLDS *et al.*, 1997; FRANKE *et al.*, 1998; KURT *et al.*, 2003).

La concentración de inóculo usada en la inoculación de la mezcla de cobertura en el ensayo A (10⁶ esporas m⁻²) estaba situada dentro de los rangos considerados como aceptables para la experimentación con hongos micropatógenos de champiñón (MAMOUN Y OLIVIER, 1995). Sin embargo, la escasa manifestación de la mole húmeda hizo que estos resultados fueran inconsistentes en lo que a control de la enfermedad se refiere, no observándose diferencias significativas entre los tratamientos aplicados. Por el contrario, en el ensayo B, con una tasa de inóculo más elevada (10⁷ esporas

m⁻²), sí hubo una mayor manifestación de la enfermedad, lo que permitió establecer diferencias significativas entre los tratamientos. Este último ensayo puso de manifiesto la escasa eficacia de la iprodiona frente al resto de fungicidas, lo que está en concordancia con los valores de ED₅₀ obtenidos en los experimentos *in vitro*.

Los datos recogidos en nuestros ensayos detectaron una leve disminución de eficacia durante la tercera florada en los tratamientos con carbendazima I, tiabendazol I y II, procloraz-Mn II y metil-tiofanato I. Esta pérdida de eficacia de los fungicidas a lo largo del ciclo de cultivo de champiñón ha sido estudiada por varios autores. FLETCHER *et al.* (1980) indicaron que una falta de control del patógeno del champiñón mediante benomilo (benomilo y metil-tiofanato se transforman en carbendazima) estaba asociada con la desaparición del fungicida de la cobertura antes de que empezara la cosecha, debido a la presencia en la mezcla de cobertura de bacterias capaces de degradar el benomilo. Posteriormente, GROGAN Y JUKES (2003) demostraron que la concentración de carbendazima en la parte superior de la capa de cobertura descendía rápidamente al final de la segunda florada, por lo que podía ser menos eficaz en la tercera florada, mientras que la concentración de tiabendazol permanecía elevada durante el periodo de cosecha, descendiendo hacia el día 35 después de la cobertura. En cuanto al procloraz, GROGAN Y JUKES (2003) demostraron que la concentración de procloraz desciende significativamente hacia el día 21, al final de la primera florada. Hay evidencias que sugieren que la concentración de procloraz en la capa de cobertura puede declinar significativamente durante el periodo de cultivo hasta llegar a ser menor del 20% de lo que se había aplicado, debido a que los microorganismos presentes en los materiales de cobertura son capaces de degradar la molécula de procloraz (GROGAN *et al.*, 2008).

El uso de fungicidas continúa siendo de utilidad en aquellos casos donde los patógenos todavía son sensibles, pero esto requiere

un seguimiento regular de las poblaciones del patógeno, con el fin de valorar la aparición de posibles resistencias. Aunque el riesgo de que *M. pernicioso* desarrolle resistencia a los fungicidas ensayados es muy bajo, es necesari

rio poner en práctica aquellas estrategias que reducen la incidencia de la mole húmeda, como es la estricta higiene de la explotación, ya que es imprescindible minimizar los riesgos de aparición de estas resistencias.

ABSTRACT

GEA, F. J., M. C. LAINEZ, M. J. NAVARRO. 2012. Efficacy of different fungicides for control of wet bubble disease of white-button mushroom (causal agent: *Mycogone pernicioso*). *Bol. San. Veg. Plagas*, **38**: 133-141.

Carbendazim, iprodione, prochloraz-Mn, thiabendazole and thiophanate-methyl were tested *in vitro* and *in vivo* for their effect on *Mycogone pernicioso*, the mycoparasite that causes wet bubble disease of white button mushroom. *In vitro* experiments showed that prochloraz-Mn ($ED_{50} = 0.006-0.064 \mu\text{g ml}^{-1}$) and carbendazim ($ED_{50} = 0.031-0.097 \mu\text{g ml}^{-1}$) were the most effective fungicides for inhibiting the mycelial growth of *M. pernicioso*, while iprodione ($ED_{50} = 1.90-3.80 \mu\text{g ml}^{-1}$) was the least effective. The resistance factors calculated for the five fungicides were between 1.4 and 2. The results obtained suggest that there is very little risk that *M. pernicioso* will develop resistance to the fungicides assayed. The *in vivo* efficacy of fungicides for control of wet bubble was studied in two mushroom cropping experiments, which were artificially infected with two doses of *M. pernicioso*, 10^6 and 10^7 spores m^{-2} , respectively. There was, in the low dose inoculum experiment, a very high degree of effectiveness (96.5-100.0%) with all the fungicides assayed. However, iprodione performed poorly (20.5-24.4%) compared with the other fungicides (88.7-100.0%) in the high concentration inoculum experiment.

Key words: carbendazim, iprodione, prochloraz, thiabendazole, thiophanate-methyl.

REFERENCIAS

- ABBOTT, W. S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *J. Econ. Entomol.*, **18**: 265-267.
- BRADY, B. L. K., GIBSON, I. A. S. 1976. *Mycogone pernicioso*. CMI Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria n.º 499. London, UK: Commonwealth Agricultural Bureaux.
- FLETCHER, J. T., GANNEY, G. W. 1968. Experiments on the biology and control of *Mycogone pernicioso* Magn. *Mushroom Science* **VII**: 221-237.
- FLETCHER, J. T., GAZE, R. H. 2008. *Mushroom pest and disease control*. Manson Publishing. London, UK. 192 pp.
- FLETCHER, J. T., DRAKES, G. D., TALENT, C. J. W. 1975. The control of wet bubble disease of mushrooms caused by *Mycogone pernicioso*. *Ann. Appl. Biol.* **79**: 35-41.
- FLETCHER, J. T., CONNOLLY, G., MOUNTFIELD, E. I., JACOBS, L. 1980. The disappearance of benomyl from mushroom casing. *Ann. Appl. Biol.* **95**: 73-82.
- FLETCHER, J. T., HIMS, M. J., HALL, R. J. 1983. The control of bubble diseases and cobweb disease of mushrooms with prochloraz. *Plant Pathology* **32**: 123-131.
- FRANKE, M. D., BRENNEMAN, T. B., STEVENSON, K. L., PADGETT, G. B. 1998. Sensitivity of isolates of *Sclerotium rolfsii* from peanut in Georgia to selected fungicides. *Plant Dis.* **82**: 578-583.
- GANDY, D. G., SPENCER, D. M. 1978. Fungicides for the control of *Mycogone pernicioso* (Magn.), the cause of wet bubble on the cultivated mushroom. *Scientia Horticulturae* **8**: 307-313.
- GEA, F. J., PARDO, A., NAVARRO, M. J., PARDO, J. 1995. Fungal diseases of mushroom culture from Castilla-La Mancha (Spain): incidence of *Verticillium fungicola*. En: ELLIOT, T. J. (Ed.), *Science and cultivation of edible fungi: Mushroom Science XIV*, Vol. 2. A. A. Balkema, Rotterdam, Netherlands, pp. 643-651.
- GLAMOCLJA, J., SOKOVIC, M., LJALJEVIC-GRBIC, M., VUKOJEVIC, J., MILENKOVIC, I., VAN GRIENSVEN, L. 2008. Morphological characteristics and mycelial compatibility of different *Mycogone pernicioso* isolates. *Journal of Microscopy*, **232**: 489-492.
- GROGAN, H. M., JUKES, A. A. 2003. Persistence of the fungicides thiabendazole, carbendazim and prochloraz-Mn in mushroom casing soil. *Pest Manag. Sci.* **59**: 1225-1231.

- GROGAN, H., PAPADOPOULOS, G., BENDING, G. D., WOOD, M. 2008. Microbial degradation of prochloraz in mushroom casing. En: VAN GRUENING, M. (Ed.), *Science and cultivation of edible and medicinal fungi: Mushroom Science XVII*, South African Mushroom Farmers Association, Pretoria, South Africa, pp. 364-372. (CD-ROM).
- HOLLAND, D. M., COOKE, R. C. 1990. Activation of dormant conidia of the wet bubble pathogen *Mycogone perniciosa* by Basidiomycotina. *Mycol. Res.* **94**(6): 789-792.
- KURT, S., DERVIS, S., SAHINLER, S. 2003. Sensitivity of *Verticillium dahlia* to prochloraz and prochloraz-manganese complex and control of Verticillium wilt of cotton in the field. *Crop Prot.* **22**: 51-55.
- MAMOUN, M., OLIVIER, J. M. 1995. Discussions on assessment of artificial infections with *Verticillium fungicola* for breeding programmes. En: ELLIOT, T. J. (Ed.), *Science and cultivation of edible fungi: Mushroom Science XIV*, Vol. 2. A. A. Balkema, Rotterdam, Netherlands, pp. 669-677.
- MEYER, L., KORSTEN, L. 2008. A nested PCR for the detection of *Mycogone perniciosa* causing wet bubble disease of white button mushrooms. En: VAN GRUENING, M. (Ed.), *Science and cultivation of edible and medicinal fungi: Mushroom Science XVII*, South African Mushroom Farmers Association, Pretoria, South Africa, pp. 554-564 (CD-ROM).
- POTOCNIK, I., MILJASEVIC, S., REKANOVIC, E., TODOROVIC, B., STEPANOVIC, M. 2008. Sensitivity of *Verticillium fungicola* var. *fungicola*, *Mycogone perniciosa* and *Cladobotryum* spp. to fungicides in Serbia. En: VAN GRUENING, M. (Ed.), *Science and cultivation of edible and medicinal fungi: Mushroom Science XVII*, South African Mushroom Farmers Association, Pretoria, South Africa, pp. 615-627 (CD-ROM).
- REYNOLDS, K. L., BRENNEMAN, T. B., BERTRAND, P. F. 1997. Sensitivity of *Cladosporium caryigenum* to propiconazole and fenbuconazole. *Plant Dis.* **81**: 163-166.
- VINCENT, J. M. 1947. Distortion of fungal hyphae in the presence of certain inhibitors. *Nature* **159**, 850.
- ZARE, R., GAMS, W. 2008. A revision of the *Verticillium fungicola* species complex and its affinity with the genus *Lecanicillium*. *Mycol. Res.* **112**: 811-824.

(Recepción: 31 enero 2012)
(Aceptación: 21 marzo 2012)

Enfermedades causadas por *Phytophthora* en viveros de plantas ornamentales

A. PÉREZ-SIERRA, B. MORA-SALA, M. LEÓN, J. GARCÍA-JIMÉNEZ, P. ABAD-CAMPOS

Phytophthora es uno de los patógenos de plantas más destructivos en todo el mundo y es responsable de graves pérdidas económicas en viveros de plantas ornamentales. En los últimos 10 años, como consecuencia de la detección de *Phytophthora ramorum*, agente causal de la “muerte súbita del roble”, las inspecciones fitosanitarias en viveros de plantas ornamentales se han intensificado en Europa para evitar la introducción y posterior propagación de este patógeno. Entre las medidas de emergencia adoptadas a nivel europeo se incluyen las inspecciones de todos los viveros en los que se producen hospedantes susceptibles. Estas prospecciones han revelado la presencia en los viveros de otras especies de *Phytophthora*, diferentes de *P. ramorum*. El objetivo de este trabajo fue estudiar las enfermedades causadas por dichas especies. Para ello se prospectaron 23 viveros de plantas ornamentales y se tomaron muestras de plantas con manchas foliares, clorosis, defoliación, muerte de brotes, chancros, gomosis, muerte regresiva y podredumbre radicular. Se realizaron aislamientos directamente de los tejidos afectados en el medio selectivo CMA-PARPBH. *Phytophthora* fue aislada consistentemente de una amplia gama de plantas ornamentales en el 70% de los viveros prospectados. Se detectó *Phytophthora* en 136 plantas pertenecientes a 22 órdenes, 29 familias y 41 géneros diferentes. Sobre la base de sus características morfológicas y mediante la secuenciación directa de la región ITS del ADN ribosomal con los cebadores ITS4-ITS6, trece especies de *Phytophthora* fueron identificadas: *P. cactorum*, *P. cinnamomi*, *P. citrophthora*, *P. cryptogea*, *P. drechsleri*, *P. hibernalis*, *P. multivora*, *P. nicotianae*, *P. palmivora*, *P. niederhauserii*, *P. plurivora*, *P. syringae* y *P. tentaculata*. Los resultados mostraron la alta incidencia de *Phytophthora* spp. en viveros, observándose las mayores pérdidas económicas en plantas aromáticas afectadas por *P. nicotianae*, que fue a su vez la especie que se aisló con mayor frecuencia en este estudio. En todos los casos, se recomendaron medidas de control fitosanitarias, con el objetivo final de minimizar el daño causado, reducir su propagación dentro de las zonas de producción, y evitar su dispersión fuera de las mismas.

A. PÉREZ-SIERRA, B. MORA SALA, M. LEÓN, J. GARCÍA-JIMÉNEZ, P. ABAD-CAMPOS. Instituto Agroforestal Mediterráneo, Universitat Politècnica de València, Camino de Vera s/n, 46022, Valencia. E-mail: aperesi@eaf.upv.es

Palabras clave: ITS, aromáticas, oomicetos, detección.

INTRODUCCIÓN

En los últimos diez años se han intensificado las inspecciones fitosanitarias en viveros de plantas ornamentales debido a la detección de *Phytophthora ramorum* (WERRES *et al.*, 2001), agente causal de la “muerte súbita del roble”. *Phytophthora ramorum* es

uno de los organismos incluido en la lista de alerta de la EPPO (EPPO, 2002) y la Unión Europea tomó medidas de emergencia para evitar su entrada y diseminación en Europa (Decisiones 2002/757/EC, 2004/426/EC y 2007/201/EC). Estas medidas incluían inspecciones anuales de material vegetal susceptible a *P. ramorum* en viveros, jardines y

masas forestales. Aunque este organismo puede afectar a un amplio rango de hospedantes, las inspecciones se centraron principalmente en viveros con *Rhododendron*, *Viburnum* y *Camellia*. Al realizar estas inspecciones, se detectaron otras especies de *Phytophthora*, diferentes a *P. ramorum*, afectando a otros hospedantes, y causando pérdidas importantes. No hay estudios previos realizados en viveros de plantas ornamentales, excepto el realizado por TELLO *et al.* (1995), en el que investigaron la presencia de hongos fitopatógenos en viveros de plantas ornamentales de la Comunidad de Madrid. En dicho estudio, se prospectaron siete viveros de árboles y arbustos ornamentales principalmente en contenedor, y se detectaron organismos de la familia *Pythiaceae* (*Pythium* spp. y *Phytophthora* spp.) en el 61% de las muestras estudiadas. Se identificaron dos especies de *Phytophthora*, *P. cactorum* en *Crataegus* sp. y *P. nicotianae* en *Lavandula* sp. Anterior a este estudio, PÁEZ *et al.* (1993) detectaron la presencia de *P. palmivora* en plantas de *Lavandula dentata*, *Eleagnus angustifolia* y *Tecomaria capensis* en los jardines de la Exposición Universal de Sevilla (EXPO-92). En este estudio se remarca la complejidad de la taxonomía de *Phytophthora* y se planteaba la importancia de temas como la introducción de nuevos patógenos mediante las importaciones y los posibles riesgos implicados. A partir del año 2002, las detecciones de *Phytophthora* en plantas ornamentales van ampliándose, y en España se detectan: *P. ramorum* en *Rhododendron* en una intercepción en Mallorca (MORALEJO y WERRES, 2002) en *Camellia japonica* (PINTOS-VARELA *et al.*, 2003) y en *Viburnum tinus* (PINTOS-VARELA *et al.*, 2004); *P. tentaculata* en *Verbena* sp. (MORALEJO *et al.*, 2004); *P. hedraiaandra* en *V. tinus* (MORALEJO *et al.*, 2005); *P. tentaculata* en *Santolina chamaecyparissus* (ÁLVAREZ *et al.*, 2006); *P. hibernalis* en *Rhododendron* (ÁLVAREZ *et al.*, 2007a); *P. nicotianae* en *Lavandula* sp. y *Rosmarinus* sp. (ÁLVAREZ *et al.*, 2007b). Recientemente, MORALEJO *et al.* (2009), detectaron 17 especies de *Phyto-*

phthora en 37 hospedantes diferentes. Cinco de las especies encontradas eran especies de descripción reciente, incluso algunas de ellas está en proceso de descripción, y se encontraron 37 nuevas combinaciones hospedante-patógeno. Este estudio pone de manifiesto que la presencia de *Phytophthora* en viveros de plantas ornamentales es un problema tanto económico como fitosanitario para el sector viverista, y que los riesgos implicados deben estudiarse detenidamente. Por este motivo se realiza el estudio aquí presentado cuyos objetivos fueron: investigar la presencia de *Phytophthora* en viveros de plantas ornamentales de la zona mediterránea y del norte de España, identificar las especies de *Phytophthora* detectadas y caracterizar la sintomatología observada en las plantas afectadas.

MATERIAL Y MÉTODOS

Prospección, toma de muestras y procesado

Se realizaron prospecciones entre los años 2004 y 2011 en viveros de plantas ornamentales de Valencia, Castellón y Asturias. Se prospectaron plantas en alveolo, en contenedor o en campo, que presentaban alguno de los siguientes síntomas: manchas foliares, clorosis, defoliación, muerte de brotes, exudación de goma, decaimiento, podredumbre y muerte súbita. Solamente se tomaron muestras de plantas sintomáticas.

La toma de muestras se realizó siguiendo la siguiente metodología: en el caso de plántulas y plantas pequeñas, se tomaron las plantas completas en sus bandejas o contenedores. En el caso de plantas en contenedores grandes, si presentaban marchitez o decaimiento y no presentaban manchas foliares, se eliminaba la parte aérea y se tomaba la parte basal incluyendo el cuello, raíces y sustrato, y si presentaban lesiones foliares, se tomaban también muestras de la parte aérea. En las muestras de campo, se tomaron muestras de las raíces y del suelo en plantas que mostraban decaimiento generalizado.

Las muestras de suelo se tomaron cercanas a las raíces, seleccionando suelo de cuatro puntos distintos alrededor de la planta y mezclándolo en una única bolsa por planta prospectada. Se tomaron muestras foliares de aquellas plantas que mostraban sintomatología foliar específica (manchas foliares, muerte de brotes, chancros en ramas, etc.).

Se realizaron aislamientos a partir de material vegetal afectado; para ello, las muestras se lavaron con agua del grifo para eliminar restos de materia orgánica o de suelo, se secaron y se sembraron fragmentos de unos tres mm del frente de avance de las lesiones o fragmentos de raíces en el medio selectivo CMA-PARPBH, modificado del PARP descrito por JEFFERS y MARTIN (1986): 17 g de CMA (harina de maíz-agar), 0,4 g de pimáricina, 0,125 g de ampicilina, 0,01 g de rifampicina, 0,02 g de benomilo, 0,101 g de pentacloronitrobenzeno, 0,069 g de himexazol y 1 litro de agua destilada. Los cultivos se incubaron en estufa a 25°C en oscuridad durante 2-3 días. De las colonias obtenidas, se repicaron puntas de hifas a PDA (39 g de patata-dextrosa-agar; 1 litro de agua destilada) para su posterior identificación.

En el caso de las muestras de suelo se utilizaron manzanas Granny Smith o Golden Delicious como trampas vegetales y se procesaron mediante la técnica de HENDRIX y CAMPBELL (1970): las manzanas se lavaron previamente con alcohol; en cada manzana se realizaron 4 agujeros de 10 mm de diámetro y 15 mm de profundidad con la ayuda de un sacabocados desinfectado previamente con alcohol. Se rellenó cada uno de los agujeros con la muestra de suelo o sustrato correspondiente y se saturó con agua destilada, cubriéndose cada uno de ellos con cinta adhesiva. Las manzanas se incubaron a temperatura ambiente hasta la aparición de lesiones (4-7 días). De las lesiones, se extrajeron pequeños fragmentos del frente de avance y se sembraron en medio CMA-PARPBH. Se repicaron puntas de hifas de las colonias resultantes a medio PDA.

Caracterización morfológica, fisiológica y cultural de los aislados

Los cultivos puros obtenidos se identificaron a partir de sus características morfológicas, fisiológicas y culturales utilizando como referencia las claves de ERWIN y RIBEIRO (1996) y las publicaciones más recientes de GALLEGLY y HONG (2008), JUNG y BURGESS (2009) y SCOTT *et al.* (2009). Para la observación de estructuras asexuales, a partir del margen de la colonia de cada aislado crecido en medio agar jugoV8 (200 ml de zumo V8; 2 g de CaCO₃; 15 g de agar; 800 ml de agua destilada), se extrajeron discos colonizados, que se colocaron en placas Petri con solución de extracto de suelo estéril. Tras 3 ó 4 días de incubación a temperatura ambiente, se observaron las características de los esporangios y otras estructuras asexuales inducidas. La solución extracto de suelo se obtuvo colocando en un erlenmeyer 100 g de suelo agrícola y 900 ml de agua destilada. La solución se agitó y se dejó reposar durante un período de 24 horas. A continuación, se añadieron 50 ml del sobrenadante a 950 ml de agua destilada, esterilizándose posteriormente su contenido.

Se observó la presencia de estructuras sexuales para confirmar su naturaleza homotálica o heterotálica. En los aislados heterotálicos se indujo la producción de gametangios mediante el método de los cultivos duales (ERWIN y RIBEIRO, 1996). En una placa Petri conteniendo medio agar jugo V8 se colocó un disco colonizado con el aislado a identificar y a 3 cm de éste, un disco colonizado con el aislado de referencia de los grupos de apareamiento A1 ó A2. Se utilizaron los aislados de referencia proporcionados por Sabine Werres del JKI (Julius Kühn - Institut), Federal Research Centre for Cultivated Plants, Institute of Plant Protection in Horticulture and Forests, Braunschweig (Alemania), pertenecientes a los grupos A1 y A2 de *Phytophthora cryptogea*, aislados respectivamente de *Lewisia* sp. y de *Begonia* sp.. Las placas se incubaron en oscuridad a 25°C y se realizaron observaciones a los 15,

30 y 45 días después de las siembras para comprobar la formación de oosporas. Los aislados que produjeron gametos sexuales con el aislado de referencia A1 se consideraron del tipo de apareamiento A2, y los aislados que los formaron con el A2 se consideraron del tipo de apareamiento A1.

Conservación de los cultivos

Los cultivos puros de todos los aislados obtenidos a partir de puntas de hifa se conservaron en solución extracto de suelo estéril y en tubos de agar de harina de avena (72,5 g/l de oatmeal agar, Sigma-Aldrich, Steinheim, Alemania) a 15°C en oscuridad en la colección mantenida en el Instituto Agroforestal Mediterráneo, Universitat Politècnica de València (España).

Identificación molecular

Para confirmar la identificación morfológica, los cultivos se identificaron a nivel molecular. Para ello, se procedió a la extracción del ADN con el kit comercial EZNA Plant DNA Miniprep (Omega Biotek). El ADN se visualizó en un sistema de documentación de geles en un gel de agarosa de 0.7% mediante la tinción con bromuro de etidio. El ADN se conservó a -20°C hasta su utilización. Mediante la técnica PCR se amplificó la región ITS del ADN ribosómico con los cebadores ITS-4 (5' TCC TCC GCT TAT TGA TATGC 3') e ITS-6 (5' GAA GGT GAA GTC GTA ACA AGG 3') (WHITE *et al.*, 1990; COOKE *et al.*, 2000). Cada reacción contenía 1x tampón PCR, 2.5 MgCl₂ mM, 200 µM de cada dNTP, 0.4 µM de cada cebador, 1 U de ADN *Taq* polimerasa (Dominion MBL, Córdoba, España), y 1 µl de ADN genómico. El volumen final se ajustó a 25 µl con agua (Chromasolv Plus, Sigma-Aldrich, Steinheim, Alemania). La PCR se realizó en un termociclador programable (PTC 200, MJ Research) con las condiciones siguientes: un primer ciclo de 2 min

a 94°C seguido de 35 ciclos de 30 s a 94°C, 30 s a 55°C y 45 s a 72°C, seguidos de 10 min a 72°C de extensión final. La purificación de los fragmentos amplificados por PCR se realizó con el kit "High pure PCR product purification" (Roche), siguiendo las instrucciones sugeridas por el proveedor. Los fragmentos purificados fueron secuenciados, utilizando los cebadores ITS4 e ITS6 y el kit ABI PRISM, que utiliza terminadores marcados y como enzima se utilizó la Amplitaq ADN polimerasa (Perkin Elmer). La secuenciación se realizó con el secuenciador automático ABI 373 ADN Sequencer por el Servicio de Secuenciación del IBMCP (Instituto de Biología Molecular y Celular de Plantas) de la Universitat Politècnica de València.

Pruebas de patogenicidad

Se utilizaron dos metodologías, dependiendo si se trataba de inoculación de sustrato o foliar. Las inoculaciones del sustrato se llevaron a cabo utilizando el método descrito por BABADOOST e ISLAM (2003): matraces que contenían 200 g de harina de avena, 120 ml de jugo V8 y 1 l de agua destilada se autoclavaron dos veces, se inocularon con 5 discos de agar colonizados con *Phytophthora* procedentes de colonias de 7 días de edad en V8 y se incubaron en oscuridad a 20°C durante 4 semanas. El inóculo de cada matraz se mezcló con el sustrato de siembra a una concentración del 3% (p/v). Las inoculaciones se realizaron en plantas de 6 a 8 meses de edad en contenedor. Se utilizaron 10 plantas por especie de *Phytophthora* inoculada y 10 plantas como control (inoculadas con medio estéril). Las plantas se inundaron durante 48 horas y posteriormente fueron regadas dos veces por semana manteniéndose en invernadero a una temperatura de 24 ± 5°C. En el caso de inoculaciones foliares, se inocularon 5 hojas en el envés con una gota de 40 µl de una suspensión de zoosporas (10⁴/ml). Las hojas inoculadas se incubaron en cámara húmeda a 20°C en oscuridad durante 8 días, y

se midió el área necrótica utilizando el software Assess-APS. Las hojas control fueron inoculadas con una gota de 40 μ l de agua destilada estéril. En ambos casos se realizaron aislamientos para confirmar los postulados de Koch.

RESULTADOS

Prospección y procesado de muestras

Se prospectaron un total de 23 viveros de plantas ornamentales, 19 en Valencia, 2 en

Castellón y 2 en Asturias analizándose un total de 360 plantas pertenecientes a 56 géneros diferentes. En general se observó una sintomatología muy variada predominando los síntomas de seca parcial o total de la parte aérea. Otros síntomas fueron manchas foliares, clorosis, enrojecimiento de las hojas, defoliación, marchitez, pérdida de vigor, exudaciones y muerte de la planta (Figura 1). En el sistema radicular de las plantas afectadas se observó lesiones localizadas, escaso desarrollo y/o carencia de raíces secundarias y muerte de raíces (Figura 2).



Figura 1. Síntomas observados en viveros de plantas ornamentales: manchas foliares, clorosis, enrojecimiento de hojas (fila superior, de izquierda a derecha), marchitez, muerte de brotes, muerte de ramas (fila central, de izquierda a derecha), muerte de tallos, exudaciones o muerte de la planta (fila inferior, de izquierda a derecha)



Figura 2. Síntomas en el sistema radicular: lesiones localizadas, escaso desarrollo y/o carencia de raíces secundarias y muerte de raíces

Se detectó la presencia de *Phytophthora* en 16 de los viveros prospectados (70%), en 12 de Valencia, 2 de Castellón y 2 de Asturias. Se aisló *Phytophthora* de 136 plantas (37.8%) pertenecientes a 22 órdenes, 29 familias y 41 géneros (Tabla 1). Se observaron principalmente infecciones singulares, aunque en el 13% de las muestras se detectaron infecciones múltiples (Tabla 1).

Tabla 1. Hospedantes, órdenes y familias en las que se han detectado infecciones causadas por *Phytophthora*, especies identificadas y tipo de apareamiento de dichas especies (Ho: homotática, A1: tipo de apareamiento A1, A2: tipo de apareamiento A2)

Hospedantes	Orden/Familia	<i>Phytophthora</i> sp.	Infección múltiple
<i>Abelia grandiflora</i>	Dipsacales/Caprifoliaceae	<i>P. plurivora</i> (Ho)	
<i>Agave</i> sp.	Asparagales/Agavaceae	<i>P. cryptogea</i>	
<i>Arbutus unedo</i>	Ericales/Ericaceae	<i>P. cryptogea</i> (A1), <i>P. nicotianae</i>	
<i>Aucuba japonica</i>	Garryales/Garryaceae	<i>P. cactorum</i> (Ho)	
<i>Azalea japónica</i> var. "Snow"	Ericales/Ericaceae	<i>P. cinnamomi</i>	
<i>Berberis</i> sp.	Ranunculales/Berberidaceae	<i>P. citrophthora</i> (-)	
<i>Buxus sempervirens</i>	Buxales/Buxaceae	<i>P. cryptogea</i>	
<i>Callistemon</i> sp.	Myrtales/Myrtaceae	<i>P. nicotianae</i> (A1)	
<i>Ceanothus</i> sp., <i>C. thyrsiflorus</i> var. <i>repens</i>	Rosales/Rhamnaceae	<i>P. nicotianae</i> (A2), <i>P. plurivora</i> (Ho)	
<i>Chamaerops excelsa</i> , <i>C. humilis</i>	Arecales/Arecaceae	<i>P. nicotianae</i> , <i>P. palmivora</i> (A1)	
<i>Cupressus</i> sp.	Pinales/Cupressaceae	<i>P. nicotianae</i> (A2)	
<i>Dipladenia</i> sp.	Gentianales/Apocynaceae	<i>P. nicotianae</i>	
<i>Enkianthus</i> sp.	Ericales/Ericaceae	<i>P. cactorum</i> (Ho)	
<i>Escallonia</i> sp., <i>E. rubra</i> , <i>E. rubra</i> var. <i>macrantha</i>	Escalloniales/Escalloniaceae	<i>P. drechsleri</i> , <i>P. nicotianae</i> (A1)	<i>P. drechsleri</i> / <i>P. nicotianae</i>
<i>Euonymus</i> sp., <i>E. 'Luna'</i> , <i>E. microphylla variegata</i> , <i>E. pulchellus</i>	Celastrales/Celastraceae	<i>P. citrophthora</i> (A1), <i>P. nicotianae</i> (A2), <i>P. palmivora</i>	<i>P. citrophthora</i> / <i>P. palmivora</i> (en 3 ocasiones distintas)
<i>Genista</i> sp.	Fabales/Fabaceae	<i>P. multivora</i> (Ho)	
<i>Hebe 'Amy', H. diosmifolia</i>	Lamiales/Scrophulariaceae	<i>P. cactorum</i> (Ho), <i>P. multivora</i> (Ho), <i>P. nicotianae</i> (A1)	
<i>Hedera</i> sp.	Apiales/Araliaceae	<i>P. citrophthora</i> (-), <i>P. palmivora</i> (A1), <i>P. niederhauserii</i> (A1)	<i>P. citrophthora</i> / <i>P. palmivora</i>
<i>Ilex aquifolium</i>	Aquifoliales/Aquifoliaceae	<i>P. cinnamomi</i> (A2), <i>P. nicotianae</i>	
<i>Jasminum</i> sp.	Lamiales/Oleaceae	<i>P. citrophthora</i> , <i>P. cryptogea</i> (A2), <i>P. niederhauserii</i> (A1)	<i>P. cryptogea</i> / <i>P. niederhauserii</i>

Tabla 1. Hospedantes, órdenes y familias en las que se han detectado infecciones causadas por *Phytophthora*, especies identificadas y tipo de apareamiento de dichas especies (Ho: homotática, A1: tipo de apareamiento A1, A2: tipo de apareamiento A2) (Continuación)

Hospedantes	Orden/Familia	<i>Phytophthora</i> sp.	Infección múltiple
<i>Laurus nobilis</i>	Lurales/Lauraceae	<i>P. inundata</i> , <i>P. nicotianae</i> , <i>P. palmivora</i> ,	
<i>Lavandula</i> sp., <i>L. dentata</i> <i>L. angustifolia</i>	Lamiales/Lamiaceae	<i>P. cryptogea</i> , <i>P. nicotianae</i> (A1, A2), <i>P. palmivora</i> (A1)	<i>P. nicotianae</i> / <i>P. palmivora</i>
<i>Myrtus</i> sp., <i>M. communis</i>	Myrtales/Myrtaceae	<i>P. nicotianae</i> (A1), <i>P. palmivora</i>	<i>P. nicotianae</i> / <i>P. palmivora</i>
<i>Photinia</i> sp.	Rosales/Rosaceae	<i>P. cactorum</i> (Ho)	
<i>Pistacia lentiscus</i>	Sapindales/Anacardiaceae	<i>P. cryptogea</i> (A1), <i>P. nicotianae</i> (A1), <i>P. palmivora</i> (A1), <i>P. plurivora</i> (Ho)	<i>P. cryptogea</i> / <i>P. nicotianae</i> / <i>P. palmivora</i> , <i>P. citrophthora</i> / <i>P. cryptogea</i> / <i>P. nicotianae</i> / <i>P. plurivora</i>
<i>Pittosporum tobira</i>	Apiales/Pittosporaceae	<i>P. citrophthora</i> (-), <i>P. inundata</i> , <i>P. multivora</i> (Ho), <i>P. palmivora</i> (A1)	<i>P. citrophthora</i> / <i>P. inundata</i> / <i>P. multivora</i> / <i>P. palmivora</i>
<i>Plumbago</i> sp.	Caryophyllales/Plumbaginaceae	<i>P. nicotianae</i> (A2)	
<i>Polygala myrtifolia</i>	Fabales/Polygalaceae	<i>P. nicotianae</i> (Ho)	
<i>Punica granatum</i>	Myrtales/Punicaceae	<i>P. nicotianae</i> , <i>P. niederhauserii</i> (A1), <i>P. palmivora</i> (A1)	<i>P. nicotianae</i> / <i>P. niederhauserii</i> / <i>P. palmivora</i>
<i>Pyracantha</i> sp.	Rosales/Rosaceae	<i>P. cactorum</i> (Ho)	
<i>Rhododendron</i> sp.	Ericales/Ericaceae	<i>P. hibernalis</i> (Ho), <i>P. nicotianae</i>	
<i>Rosa</i> sp.	Rosales/Rosaceae	<i>P. citrophthora</i> (-)	
<i>Rosamarinus officinalis</i> , <i>R. officinalis</i> 'Postratus'	Lamiales/Lamiaceae	<i>P. citrophthora</i> (-), <i>P. cryptogea</i> (A1), <i>P. nicotianae</i> (A1, A2), <i>P. palmivora</i>	<i>P. citrophthora</i> / <i>P. nicotianae</i>
<i>Salvia officinalis</i>	Lamiales/Lamiaceae	<i>P. citrophthora</i> (-)	
<i>Santolina chamaecyparissus</i>	Asterales/Asteraceae	<i>P. cryptogea</i> , <i>P. nicotianae</i> (A1), <i>P. tentaculata</i> (Ho)	<i>P. nicotianae</i> / <i>P. tentaculata</i> , <i>P. cryptogea</i> / <i>P. nicotianae</i>
<i>Taxus baccata</i>	Pinales/Taxaceae	<i>P. cinnamomi</i> , <i>P. citrophthora</i> (-), <i>P. nicotianae</i> (A1)	<i>P. citrophthora</i> / <i>P. cinnamomi</i> <i>P. cinnamomi</i> / <i>P. nicotianae</i>
<i>Thymus vulgaris</i>	Lamiales/Lamiaceae	<i>P. nicotianae</i> (A1)	
Tiarella sp.	Saxifragales/Saxifragaceae	<i>P. citrophthora</i> (A1)	
<i>Trachycarpus</i> sp.	Arecales/Arecaceae	<i>P. palmivora</i> (A1)	
<i>Viburnum</i> sp., <i>V. tinus</i> , <i>V. lantana</i>	Dipsacales/Caprifoliaceae	<i>P. cactorum</i> (Ho), <i>P. cinnamomi</i> , <i>P. multivora</i> (Ho)	
<i>Washingtonia robusta</i>	Arecales/Arecaceae	<i>P. palmivora</i> (A1)	

Caracterización morfológica, cultural y molecular de los aislados

Se obtuvieron 156 aislados de *Phytophthora* que se pudieron agrupar por su patrón de crecimiento y por la morfología de su colonia en PDA en 13 grupos diferentes, 10 de las cuales se muestran en la Figura 3. Estos grupos se identificaron en base a las características morfológicas de las estructuras asexuales observadas tras la inducción en

solución extracto de suelo. Se identificaron las siguientes especies: *P. cactorum*, *P. cinnamomi*, *P. citrophthora*, *P. cryptogea*, *P. drechsleri*, *P. hibernalis* (Figura 4), *P. inundata*, *P. multivora*, *P. niederhauserii* (Figura 4), *P. nicotianae*, *P. palmivora*, *P. plurivora* y *P. tentaculata* (Figura 4). La identificación de estas especies fue confirmada por la secuenciación de su región ITS y la comparación de dichas secuencias con las depositadas en GenBank.

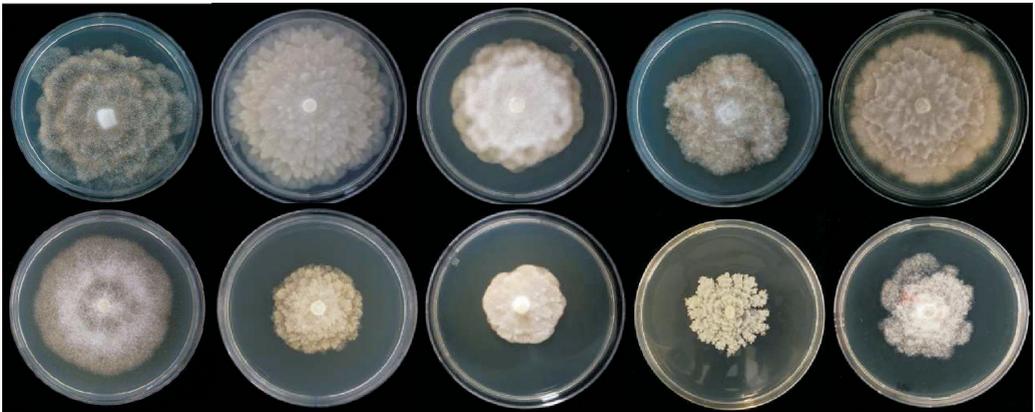


Figura 3. Morfología de colonias en medio PDA de diez de las *Phytophthora* spp. aisladas: *P. cinnamomi*, *P. citrophthora*, *P. cryptogea*, *P. drechsleri*, *P. multivora* (fila superior, de izquierda a derecha), *P. nicotianae*, *P. niederhauserii*, *P. palmivora*, *P. syringae* y *P. tentaculata* (fila inferior, de izquierda a derecha)



Figura 4. Morfología de los esporangios de las especies de *Phytophthora*: *P. hibernalis* (a), *P. niederhauserii* (b), *P. tentaculata* (c)

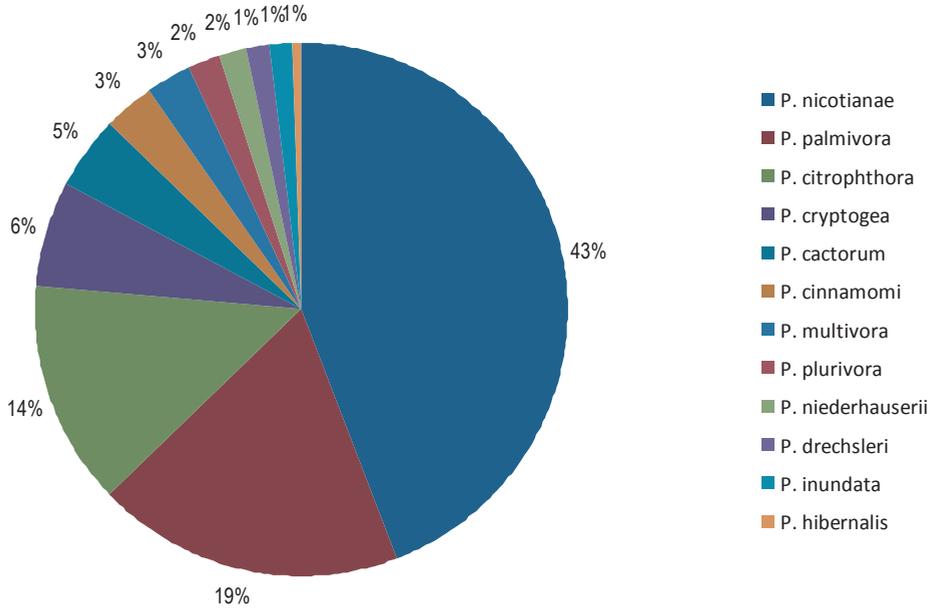


Figura 5. Frecuencia de aislamiento de las diferentes especies de *Phytophthora* en los viveros de plantas ornamentales prospectados

La frecuencia de aislamiento de cada una de las especies de *Phytophthora* se muestra en la Figura 5. Todas estas especies se detectaron en suelo, en sustrato o en las raíces de las plantas afectadas, excepto *P. hibernalis*, que se aisló sólo de manchas foliares en plantas de *Rhododendron* en Asturias. Algunas especies además de detectarse en suelo o raíces, también se aislaron de la parte aérea: *P. cactorum* se aisló de manchas foliares en *Aucuba* y *Photinia*, y *P. nicotianae* se aisló de brotes necróticos de *Lavandula*. La única especie que se aisló de muestras de suelo en cultivos en campo fue *P. cinnamomi*.

El tipo de apareamiento se determinó para las especies heterotálicas (Tabla 1). Algunos aislados de *P. citrophthora* resultaron estériles y de algunos de los aislados no se pudo identificar el tipo de apareamiento.

Pruebas de patogenicidad

Las pruebas de patogenicidad se realizaron para las siguientes combinaciones hospedante-patógeno: *Santolina chamaecyparissus*-*P. tentaculata* y *Rhododendron*-*P. hibernalis*. En la primera combinación, se realizaron inoculaciones del sustrato y las plantas inoculadas mostraron marchitez de la parte aérea, correspondiéndose con necrosis en el sistema radicular y muerte de la planta a los dos meses de la inoculación (Figura 6). En todos los casos se reaisló la especie de *Phytophthora* inoculada de las raíces de las plantas. Las plantas control no mostraron ningún síntoma de la enfermedad. En el caso de las inoculaciones aéreas, se utilizaron hojas de *Rhododendron* híbrido “Brigitte”. Todas las hojas inoculadas con *P. hibernalis* desarrollaron lesiones necróticas que midieron desde



Figura 6. Muerte de plantas de *Santolina chamaecyparissus* crecidas en sustrato inoculado con *Phytophthora tentaculata*

0,25 hasta 1,5 cm². *P. hibernalis* se reaisló del tejido infectado en todos los casos. Las hojas inoculadas con agua destilada estéril no mostraron ningún tipo de lesión.

DISCUSIÓN

Los estudios centrados en las enfermedades causadas por *Phytophthora* en viveros de plantas ornamentales en España son escasos, y los resultados obtenidos han constatado que las afecciones causadas por estos patógenos son frecuentes y que pueden afectar a un amplio rango de hospedantes, causando una sintomatología muy diversa. En este trabajo se ha confirmado su presencia en el 70% de los viveros prospectados con pérdidas en ocasiones muy importantes. Este ha sido el caso de la pérdida de toda la producción de plantas de *Santolina chamaecyparissus* causada por *P. tentaculata* (ÁLVAREZ *et al.*, 2006) o la pérdida de toda la producción de *Rosmarinus* sp. o *Lavandula* sp. causada por *P. nicotianae* (ÁLVAREZ *et al.*, 2007b) en uno de los viveros estudiados.

Las especies *P. hibernalis*, *P. niederhauerii* y *P. tentaculata* han constituido nuevas citas en España en sus hospedantes correspondientes; *P. multivora* y *P. plurivora* son especies de reciente descripción, que se en-

contraban dentro del “complejo *P. citricola*” y que han sido separadas como nuevas especies por JUNG y BURGESS (2009) y SCOTT *et al.* (2009); y *P. inundata* fue descrita por BRASIER *et al.* (2003) como patógena de plantas leñosas en vegetación de ribera y en ornamentales como *Aesculus* y *Salix* o plantas cultivadas como *Olea* y *Prunus* en zonas encharcadas o inundadas. Esta sería la primera cita de *P. inundata* en *Laurus nobilis* y *Pittosporum tobira*.

Aunque en la mayoría de los casos se han detectado infecciones singulares, también se han detectado infecciones múltiples. Este hecho hace plantear una serie de preguntas que necesitan ser estudiadas como pueden ser entre otras, la posible predilección entre hospedante-patógeno, la competencia entre dichas especies, la patogenicidad de las mismas y las condiciones que favorecen dichas infecciones.

Estudios similares destacando la importancia de *Phytophthora* en viveros de plantas ornamentales se han llevado a cabo en otros países como Australia (HARDY y SIVASITHAMPARAM, 1988) y EEUU (DANAHOOD y LAMOUR, 2008; FERGUSON y JEFFERS, 1999; LINDERMAN *et al.*, 2006; SCHWINGLE *et al.*, 2007; SCHWINGLE y BLANCHETTE, 2008; YAKABE *et al.*, 2009). En Europa, no hay estudios similares excepto el realizado en

España por MORALEJO *et al.* (2009), pero sí hay numerosas citas de especies de *Phytophthora* específicas en hospedantes concretos: *P. nicotianae* en *Skimmia japonica* en Italia (GARIBALDI *et al.*, 2004), *P. syringae* en *Pyracantha* en el Reino Unido (HENRICOT *et al.*, 2004), *P. citricola* en *Laurus nobilis* en Bélgica (CREPEL *et al.*, 2005), *P. cryptogea* en *Lantana* en Italia (CACCIOLA *et al.*, 2005), *P. cactorum* en *Photinia fraseri* en Italia (VETTRAINO *et al.*, 2005), *P. hedraiaandra* en *Rhododendron* en Eslovenia (MUNDA *et al.*, 2006), *P. ramorum* en *Rhododendron* en Francia (HUSSON *et al.*, 2007), *P. citricola* en *Rhododendron* en la República Checa (MRAZKOVA *et al.*, 2007), *P. niederhauserii* en plantas de invernadero en Noruega (HERRERO *et al.*, 2008), *P. citrophthora* en *Syringa vulgaris* en Polonia (ORLIKOWSKI y PTASZEK, 2010), *P. ramorum* en ornamentales en Serbia (BULAJIĆ *et al.*, 2010), *P. nicotianae* en *Rhododendron* en Grecia (TSOPELAS *et al.*, 2011), *P. citrophthora* en ornamentales leñosas en Hungría (JÓZSA *et al.*, 2011) y *P. lateralis* en *Thuja occidentalis* en Escocia (SCHLENZIG *et al.*, 2011). El elevado número de publicaciones de *Phytophthora* en plantas ornamentales a partir del año 2002 se debe, por un lado a la descripción de *P. ramorum* en Europa y a la legislación referente a este patógeno, a la mayor especialización del personal técnico que trabaja con oomicetos y a las nuevas técnicas de detección de los mismos.

Phytophthora puede ser introducida en los viveros con material vegetal infectado, con sustrato contaminado o con el agua de riego. En algunas ocasiones los viveros se establecen en antiguas zonas agrícolas, y las plantas están en contacto directo con el suelo, que podría estar contaminado con *Phytophthora*. La reutilización de sustratos, bandejas o contenedores pueden ser también foco de infección si no son desinfectados adecuadamente. Una vez que *Phytophthora* se ha establecido en el vivero, su diseminación es principalmente por agua de riego y por las prácticas culturales, intensidad del cultivo, movimiento de plantas, manejo de restos vegetales,

incluso el propio personal o los vehículos utilizados (DANAHOO y LAMOUR, 2008; GHIMIRE *et al.*, 2011; HONG *et al.*, 2008; 2010; LINDERMAN y DAVIS, 2006; MACDONALD *et al.*, 1994). Por último, algunas de las especies de *Phytophthora* pueden representar un riesgo para los ecosistemas semi-naturales y naturales y hay que tener en cuenta que el movimiento de material vegetal puede ser un catalizador de estos problemas.

Durante este estudio sólo se prospectaron plantas sintomáticas; por ello, no se han detectado posibles infecciones latentes que pueden afectar a otros hospedantes, y que al no mostrar síntomas, pasan desapercibidas durante las inspecciones. Es importante identificar estas infecciones asintomáticas puesto que son fuente de inóculo para futuras infecciones. Otra de las dificultades encontrada durante las inspecciones es la aplicación de fungicidas para enmascarar la sintomatología causada por *Phytophthora*. De acuerdo con la decisión de la Comisión Europea, el tratamiento con fungicidas en viveros con hospedantes susceptibles a *P. ramorum* está prohibido. Sin embargo, en numerosas ocasiones se ha observado la sintomatología característica de *Phytophthora* en plantas ornamentales y no ha sido posible el aislamiento de dichos organismos.

La situación detectada en España parece similar a la encontrada en otros países; sin embargo, es un tema muy delicado para el sector viverista, al tratarse de plantas dedicadas, en muchas ocasiones, a la exportación. Por ello, sería recomendable trabajar de forma conjunta para intentar reducir las afecciones causadas por *Phytophthora* en los viveros y minimizar su diseminación. Para ello recomendamos establecer formas de trabajo coordinadas, con el objetivo final de producir planta libre de estos patógenos.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo se ha realizado con financiación del Proyecto AGL2007-64690 (Minis-

terio de Educación y Ciencia, Fondos FEDER). Agradecemos el apoyo de E. Landeras de Consejería de Agroganadería y Recursos Autóctonos del Principado de Asturias, a L.

Álvarez, A. Román, O. Martínez, V. Garrigues de la Universidad Politécnica de Valencia y a todos los viveristas que han participado en estos estudios.

ABSTRACT

PÉREZ-SIERRA, A., B. MORA-SALA, M. LEÓN, J. GARCÍA-JIMÉNEZ, P. ABAD-CAMPOS. 2012. Diseases caused by *Phytophthora* in ornamental plant nurseries. Bol. San. Veg. Plagas, **38**: 143-156.

Phytophthora is one of the most destructive plant pathogens worldwide and it is responsible for serious economical losses in woody ornamental nurseries. In the last 10 years, surveys in ornamental nurseries have intensified in Europe as a result of the detection of *Phytophthora ramorum*, the causal agent of sudden oak death. European emergency measures were taken to avoid further introductions and spread of this pathogen and these included inspections of all nurseries where susceptible hosts were grown. During these surveys it was revealed that other *Phytophthora* spp. were present causing disease in almost all nurseries. Plants showing leaf spots, twig blight, chlorosis, defoliation, stem cankers, gummosis, dieback or root rot symptoms were sampled. Isolations were made directly from affected tissues onto CMA-PARPBH selective media and PDAS. *Phytophthora* was isolated consistently from a wide range of ornamental plants in 70% of the nurseries surveyed. It was detected in 136 plants belonging to 22 orders, 29 families and 41 different genera. Thirteen different *Phytophthora* species were identified based on morphological features and by direct sequencing of the ITS region of ribosomal DNA with the primers ITS4-ITS6: *P. cactorum*, *P. cinnamomi*, *P. citrophthora*, *P. cryptogea*, *P. drechsleri*, *P. hibernalis*, *P. multivora*, *P. nicotianae*, *P. palmivora*, *P. niederhauserii*, *P. plurivora*, *P. syringae* and *P. tentaculata*. The results showed the high incidence of *Phytophthora* spp. in nurseries, with important economical losses in aromatic plants caused by *P. nicotianae* that was also the most frequently isolated species. Control measures were recommended to minimize the damage caused by these pathogens and to avoid further problems with the ultimate goal of reducing their spread in nurseries.

Key words: ITS, aromatic, oomycetes detection.

REFERENCIAS

- ÁLVAREZ, L. A., PÉREZ-SIERRA, A., ARMENGOL, J., GARCÍA-JIMÉNEZ J. 2007b. Characterization of *Phytophthora nicotianae* isolates causing collar and root rot of lavender and rosemary in Spain. *Journal of Plant Pathology*, **89**: 261-264.
- ÁLVAREZ, L. A., PÉREZ-SIERRA, A., GARCÍA-JIMÉNEZ, J., ABAD-CAMPOS, P. 2007a. First report of leaf spot and twig blight of *Rhododendron* spp. caused by *Phytophthora hibernalis* in Spain. *Plant Disease* **91**: 909.
- ÁLVAREZ, L. A., PÉREZ-SIERRA, A., LEÓN, M., ARMENGOL, J., GARCÍA-JIMÉNEZ, J. 2006. Lavender cotton root rot: a new host of *Phytophthora tentaculata* found in Spain. *Plant Disease*, **90**: 523.
- BABADOOST, M., ISLAM, S. Z. 2003. Fungicide seed treatment effects on seedling damping-off of pumpkin caused by *Phytophthora capsici*. *Plant Disease*, **87**: 63-68.
- BRASIER, C. M., SÁNCHEZ-HERNÁNDEZ, E., KIRK, S. A. 2003. *Phytophthora inundata* sp. nov., a part heterothallic pathogen of trees and shrubs in wet or flooded soils. *Mycological Research*, **107**: 477-484.
- BULAJIĆ, A., DJEKIĆ, I., JOVIĆ, J., KRNJAJIĆ, S., VUČUROVIĆ, A., KRSTIĆ, B. 2010. *Phytophthora ramorum* occurrence in ornamentals in Serbia. *Plant Disease*, **94**: 703-708.
- CACCIOLA, S. O., CHIMENTO, A., PANE, A., COOKE, D. E. L., MAGNANO DI SAN LIO, G. 2005. Root and foot rot of lantana caused by *Phytophthora cryptogea*. *Plant Disease*, **89**: 909.
- COOKE, D. E. L., DRENTH, A., DUNCAN, J. M., WAGELS, G., BRASIER, C. M. 2000. A molecular phylogeny of *Phytophthora* and related oomycetes. *Fungal Genetics and Biology*, **30**: 17-32.
- CREPEL, C., INGELBRECHT, S., BAEYEN, S., MAES, M., BOBEV, S. G. 2005. First Report of leaf spots on *Laurus nobilis* caused by *Phytophthora citricola* in Belgium. *Plant Disease*, **89**: 107.

- DONAHOO, R. S., LAMOUR, K. H. 2008. Characterization of *Phytophthora* species from leaves of nursery woody ornamentals in Tennessee. *HortScience*, **43**: 1833-1837.
- E.P.P.O. 2002. Alert List- *Phytophthora ramorum* Sudden Oak Death. <http://www.eppo.org>
- ERWIN, D. C., RIBEIRO, O. K. 1996. *Phytophthora* Diseases Worldwide. A.P.S. Press. St. Paul. Minnesota, 55121-2097 USA.
- FERGUSON, A. J., JEFFERS, S. N. 1999. Detecting multiple species of *Phytophthora* in container mixes from ornamental crop nurseries. *Plant Disease*, **83**: 1129-1136.
- GALLEGLY, M., HONG, C. 2008. *Phytophthora*: Identifying species by morphology and DNA fingerprint. American Phytopathological Society Press, St. Paul, Mn. 158pp.
- GARIBALDI, A., BERTETTI, D., GULLINO, M. L. 2004. First report of *Phytophthora nicotianae* on *Skimmia japonica* in Italy. *Plant Disease*, **88**: 905.
- GHIMIRE, S. R., RICHARDSON, P. A., KONG, P., HU, J., LEA-COX, J. D., ROSS, D. S., MOORMAN, G. W., HONG, C. 2011. Distribution and diversity of *Phytophthora* species in nursery irrigation reservoir adopting water recycling system during winter months. *Journal of Phytopathology*, **159**: 713-719.
- HARDY, G. E., SIVASITHAMPARAM, K. 1988. *Phytophthora* spp. associated with container-grown plants in nurseries in Western Australia. *Plant Disease*, **72**: 432-437.
- HENDRIX, F. F., CAMPBELL, W. A. 1970. Distribution of *Phytophthora* and *Pythium* species in soils in the continental United States. *Canadian Journal of Botany*, **48**: 377-384.
- HENRICOT, B., WAGHORN, I., DENTON, G., PÉREZ SIERRA, A. M. 2004. First report of fruit rot caused by *Phytophthora syringae* on *Pyracantha* in the UK. *New Disease Reports*, **9**: 27.
- HERRERO, M. L., DE COCK, A. M., KLEMSDAL, S., TOPE, B. 2008. *Phytophthora niederhauserii* in greenhouse pot plants in Norway. *Journal of Plant Pathology*, **90**: S2.188.
- HONG, C., GALLEGLY, M. E., RICHARDSON, P. A., KONG, P., MOORMAN, G. W., LEA-COX J. D., ROSS, D. S. 2008. *Phytophthora irrigata* and *Phytophthora hydropathica*, two new species from irrigation water at ornamental plant nurseries. *Phytopathology*, **98**: S68.
- HONG, C., GALLEGLY, M. E., RICHARDSON, P. A., KONG, P., MOORMAN, G. W., LEA-COX J. D., ROSS, D. S. 2010. *Phytophthora hydropathica*, a new pathogen identified from irrigation water, *Rhododendron catawbiense* and *Kalmia latifolia*. *Plant Pathology*, **59**: 913-921.
- HUSSON, C., DELATOUR, C., FREY, P., MARÇAIS, B., SAURAT, C., SCHENCK, N. 2007. First report of *Phytophthora ramorum* on ornamental plants in France. *Plant Disease*, **91**: 1359.
- JEFFERS, S. N., MARTIN, S. B. 1986. Comparison of two media selective for *Phytophthora* and *Pythium* species. *Plant Disease*, **70**: 1038-1043.
- JÓZSA, A., NAGY Z. Á., SZIGETHY, A., FISCHL, G., BAKONYI J. 2011. First report of *Phytophthora citro-*
- phthora* causing root and basal stem rot of woody ornamentals in Hungary. *Plant Disease*, **95**: 1193.
- JUNG, T., BURGESS T. I. 2009. Re-evaluation of *Phytophthora citricola* isolates from multiple woody hosts in Europe and North America reveals a new species, *Phytophthora plurivora* sp. nov. *Persoonia*, **22**: 95-110.
- LINDERMAN, R. G., DAVIS, E. A. 2006. Survival of *Phytophthora ramorum* compared to other *Phytophthora* in potting media components, compost, and soil. *HorTechnology*, **16**: 502-507.
- LINDERMAN, R. G., DAVIS, E. A., MARLOW J. L. 2006. Response of selected nursery crop plants to inoculation with isolates of *Phytophthora ramorum* and other *Phytophthora* species. *HorTechnology*, **16**: 216-224.
- MACDONALD, J. D., ALI-SHTAYEH, M. S., KABASHIMA, J., STITES, J. 1994. Occurrence of *Phytophthora* species in recirculated nursery irrigation effluents. *Plant Disease*, **78**: 607-611.
- MORALEJO, E., BELBAHRI, L., CALMIN, G., LEFORT, F., GARCÍA, J. A., DESCALS, E. 2005. First report of *Phytophthora hedraiaandra* on *Viburnum tinus* in Spain. *New Disease Reports*, **12**: 28.
- MORALEJO, E., PÉREZ-SIERRA, A., ÁLVAREZ, L. A., BELBAHRI, L., LEFORT, F., DESCALS, E. 2009. Multiple alien *Phytophthora* taxa discovered on diseased ornamental plants in Spain. *Plant Pathology*, **58**: 100-110.
- MORALEJO, E., PUIG, M., MAN IN'T VELD, W.A. 2004. First report of *Phytophthora tentaculata* on *Verbena* sp. in Spain. *New Disease Reports* **9**: 38.
- MORALEJO, E., WERRES, S. 2002. First Report of *Phytophthora ramorum* on *Rhododendron* sp. in Spain. *Plant Disease*, **86**: 1052.
- MRAZKOVA, M., CERNY, K., GABRIELOVA, S., TOMSOVSKY, M. 2007. First report of leaf spot, shoot blight, and stem and collar canker of *Rhododendron* spp. caused by *Phytophthora citricola* in the Czech Republic. *Plant Disease*, **91**: 1515.
- MUNDA, A., ŽERJAV, M., SCHROERS, H.-J. 2006. *Phytophthora hedraiaandra* occurs on rhododendron in Slovenia. *New Disease Reports*, **14**: 16.
- ORLIKOWSKI, L., PTASZEK, M. 2010. First notice of *Phytophthora* stem base rot on *Syringa vulgaris* in a Polish field nursery. *Journal of Plant Protection Research*, **50**: 442-445.
- PAEZ J. I., BERRA D., VEGA J. M. A., TELLO J. 1993. Identificación de *Phytophthora palmivora* Butler en los jardines de la Exposición Universal de Sevilla (EXPO-92). *Boletín Sanidad Vegetal Plagas*, **19**: 633-647.
- PINTOS VARELA, C., MANSILLA-VÁZQUEZ, J. P., AGUÍN-CASAL, O. 2003. First report of *Phytophthora ramorum* on *Camellia japonica* in Spain. *Plant Disease*, **87**: 1396.
- PINTOS VARELA, C., MANSILLA-VÁZQUEZ, J. P., AGUÍN-CASAL, O. 2004. *Phytophthora ramorum* nuevo patógeno en España sobre *Camellia japonica* y *Viburnum tinus*. *Boletín Sanidad Vegetal Plagas*, **30**: 97-111.
- SCOTT, P. M., BURGESS, T. I., BARBER, P. A., SHEARER, B. L., STUKELY, M. J. C., HARDY, G. E. ST. J.,

- JUNG, T. 2009. *Phytophthora multivora* sp. nov., a new species recovered from declining *Eucalyptus*, *Banksia*, *Agonis* and other plant species in Western Australia. *Persoonia*, **22**: 1-13.
- SCHWINGLE, B. W., BLANCHETTE, R. A. 2008. Host range investigations of new, undescribed, and common *Phytophthora* spp. isolated from ornamental nurseries in Minnesota. *Plant Disease*, **92**: 642-647.
- SCHWINGLE, B. W., SMITH, J. A., BLANCHETTE, R. A. 2007. *Phytophthora* species associated with diseased woody ornamentals in Minnesota nurseries. *Plant Disease*, **91**: 97-102.
- SCHLENZIG, A., CAMPBELL, R., MULHOLLAND, V. 2011. *Thuja occidentalis*: a new host for *Phytophthora lateralis*. *New Disease Reports*, **24**: 8.
- TELLO MARISCAL, M. L., ALONSO, A., MATEO-SAGASTA AZPEITIA, E. 1995. Algunos hongos patógenos detectados en raíces de diferentes plantas ornamentales en viveros de la Comunidad de Madrid. *Boletín Sanidad Vegetal Plagas*, **21**: 517-526.
- TSOPELAS, P., PAPLOMATAS, E. J., TJAMOS, S. E., ELENA, K. 2011. First record of *Phytophthora nicotianae* causing leaf blight on *Rhododendron* in Greece. *Plant Disease*, **95**: 777.
- VETTRAINO, A. M., ANTONACCI, L., FLAMINI, L., NIPOTI, P., ROSSINI, E., RIGHI, M., VANNINI, A. 2005. First report of crown rot of *Photinia fraseri* caused by *Phytophthora cactorum*. *New Disease Reports*, **12**: 32.
- WERRES, S., MARWITZ, R., MAN IN'T VELD, W. A., DE COCK, A. W. A. M., BONANTS, P. J. M., DE WEERDT, M., THEMANN, K., ILIEVA, E., BAAAYEN, R. P. 2001. *Phytophthora ramorum* sp. nov., a new pathogen on *Rhododendrom* and *Viburnum*. *Mycological Research*, **105**: 1155-1165.
- WHITE, T. J., BRUNS, T., LEE, S., TAYLOR, J. 1990. Amplification and direct sequencing of fungi ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, White TJ, eds. *PCR Protocols. A Guide to Methods and Applications*. San Diego, CA, USA: Academic Press, 315-22.
- YAKABE, L. E., BLOMQUIST, C. L., THOMAS, S. L., MACDONALD, J. D. 2009. Identification and frequency of *Phytophthora* species associated with foliar diseases in California ornamental nurseries. *Plant Disease*, **93**: 883-890.

(Recepción: 6 febrero 2012)
(Aceptación: 20 abril 2012)

Dinámica de la humedad del suelo bajo encinas decaídas y no decaídas en focos de *Phytophthora cinnamomi*

T. CORCOBADO, M. A. DELGADO, E. CUBERA, A. PÉREZ, E. JUÁREZ, G. MORENO, A. SOLLA

Las oscilaciones del nivel freático y humedad edáfica y la abundancia de raíces finas son posibles factores de decaimiento de las masas de *Quercus* en la Península Ibérica, especialmente si los árboles crecen en suelos infectados con *Phytophthora cinnamomi*. Sin embargo, no se ha hecho ningún estudio en campo y con árboles adultos que pruebe esta hipótesis. El estudio se realizó en Extremadura e incluyó 101 masas de *Quercus ilex* en las cuales se comparó la humedad edáfica, el nivel freático y la abundancia de raíces finas bajo árboles decaídos y no decaídos. La exposición de las raíces a encharcamiento (durante 2 meses), las fluctuaciones estacionales de la profundidad del nivel freático (aproximadamente 3,5 m) o los valores de humedad edáfica observados (25% vol. durante el verano) no justifican el decaimiento de los árboles. Sin embargo, la densidad de raíces finas fue aproximadamente un 16,2% menor en árboles decaídos que en árboles no decaídos y significativamente menor en árboles infectados con *P. cinnamomi* que en árboles no infectados (59,1 y 84,8 raíces m⁻², respectivamente; $p < 0.001$). Esta podredumbre radical combinada con las circunstancias habituales de encharcamiento durante el período de brotación y de estrés hídrico durante el verano determinará el estado de salud de los árboles.

T. CORCOBADO, M. A. DELGADO, E. CUBERA, A. PÉREZ, E. JUÁREZ, G. MORENO, A. SOLLA. Ingeniería Técnica Forestal. Universidad de Extremadura. Avenida Virgen del Puerto 2, 10600 PLASENCIA (Cáceres, España). asolla@unex.es

Palabras clave: *P. gonapodyides*, *Quercus ilex*, decaimiento, nivel freático, densidad radical.

INTRODUCCIÓN

El decaimiento de *Quercus* en la Península Ibérica ha sido atribuido al patógeno de suelo *P. cinnamomi* como principal factor biótico (BRASIER, 1996; TUSET *et al.*, 1996). Sin embargo, muchos estudios realizados en focos de árboles decaídos con presencia de *P. cinnamomi* apuntan al estrés hídrico como principal causa del decaimiento (COSTA *et al.*, 2010), especialmente en suelos arenosos poco profundos y con una baja capacidad de retención de agua, y cuando el estrés es prolongado. Ambas causas de decaimiento, separadas o combinadas originan los mis-

mos síntomas y además pueden dar lugar a la muerte súbita de los árboles (JUNG *et al.*, 2000). Además de la interacción entre *P. cinnamomi* y los periodos de sequía periódicos o prolongados, hay otro factor abiótico que interviene en este proceso: el encharcamiento del suelo. El encharcamiento del suelo favorece la infección de especies leñosas por parte de *P. cinnamomi*, especialmente de especies mediterráneas de *Quercus* (SÁNCHEZ *et al.*, 2002) ya que este patógeno requiere de la existencia de agua libre para la dispersión de sus zoosporas. En condiciones controladas de invernadero se ha comprobado que la pudrición de raíces y los síntomas

foliares de decaimiento son más acusados bajo un encharcamiento continuo que periódico (ROMERO *et al.*, 2007). La falta de estudios que evalúen los efectos combinados de la presencia de *P. cinnamomi* y las condiciones cambiantes de sequía y encharcamiento dan lugar a un gran desconocimiento en torno a las causas primarias del decaimiento.

Aunque la dinámica de la humedad edáfica parece jugar un papel importante en el decaimiento de *Quercus* existen todavía numerosas incógnitas sin resolver. Estas incógnitas hacen referencia a preguntas como (i) ¿está el decaimiento relacionado con variaciones extremas del nivel freático? (ii) ¿está el decaimiento relacionado con bajos niveles de humedad edáfica? o (iii) ¿está asociado a la pérdida de raíces finas? El presente estudio pretende responder estas preguntas a través de dos experimentos independientes pero complementarios llevados a cabo en campo. Este estudio se centra en la encina (*Quercus ilex* L.), especie dominante de los ecosistemas mediterráneos europeos y considerada la más susceptible a *P. cinnamomi*. Las hipótesis que se plantean a partir de las anteriores incógnitas son: (i) las encinas decaídas están sometidas a largos periodos de encharcamiento y fuertes oscilaciones del nivel freático, (ii) en el decaimiento de la encina está implicado un déficit estival de humedad edáfica y (iii) la densidad radical de los árboles decaídos es menor que la densidad de los no decaídos debido a la acción de *P. cinnamomi*.

MATERIAL Y MÉTODOS

Área de estudio

El estudio fue realizado en Extremadura donde se seleccionaron 101 focos de decaimiento repartidos por toda la región. Estos focos fueron seleccionados a partir de 420 dehesas que presentaban decaimiento (DEL POZO, 2006) de las cuales se excluyeron aquellos focos cuyas encinas estaban dañadas

debido a la acción de *Botryosphaeria corticola* o *Cerambyx* sp., o aquellos con abundancia de alcornoques (*Q. suber* L.). El clima del área de estudio se corresponde con un clima mediterráneo seco con una precipitación media anual de 630 mm, que se concentra desde diciembre hasta mayo. Las temperaturas mínimas y máximas ocurren durante enero (7,4°C) y agosto (28,7°C), respectivamente.

Diseño experimental

El material vegetal consistió en la selección de seis árboles por foco, tres árboles no decaídos ($\leq 5\%$ de defoliación) y tres árboles decaídos (21-40% de defoliación) clasificados con un grado 0 y 3 según las categorías designadas por FERNÁNDEZ-ESCOBAR *et al.* (1999), respectivamente. En cada foco, los árboles se distribuían en 3 parejas a lo largo de una vaguada, una ladera y un alto, en un gradiente de elevación (factor orografía). Cada pareja constaba de un árbol decaído y un árbol no decaído. Los árboles tenían una edad comprendida entre los 60 y 100 años de antigüedad, su altura oscilaba entre los 6 y 10 m, con un diámetro de tronco de 30 a 90 cm y un diámetro de copa de 7,5 a 12 m.

Se llevaron a cabo 2 experimentos. El primer experimento incluye 5 focos seleccionados al azar del total ($n = 101$), en los cuales *P. cinnamomi* fue aislada. Se estudiaron 30 árboles bajo los cuales se realizaron mediciones periódicas del nivel freático, de la humedad edáfica y de la presencia de *Phytophthora* spp. El segundo experimento se desarrolló en 96 focos incluyendo 576 árboles, en los cuales se realizó un análisis de la densidad radical.

Experimento 1

En cada uno de los 30 árboles a 3 m de la base del tronco se instaló una sonda para poder medir el nivel freático. Estas sondas

consistían en tubos de PVC perforados (13 cm de diámetro) que se instalaron en el suelo mediante perforaciones de 6 m de profundidad. El nivel freático se midió con una cinta métrica que contiene un sensor que emite una señal acústica en contacto con el agua. Las mediciones se realizaron mensualmente desde marzo de 2009 hasta febrero de 2011 durante 1 o 2 días consecutivos.

La humedad edáfica (θ) de los 30 árboles fue medida a través de un tubo de PVC de 9 cm de diámetro por árbol. Este tubo se instaló a 2 m del otro tubo hasta una profundidad de 3 m. Con el fin de asegurar un buen contacto entre el tubo y el suelo y así evitar la formación de burbujas de aire, se rellenó el espacio libre entre el tubo y el suelo con caolinita (película $< 0,5$ cm de ancho como máximo). Las medidas de la humedad se realizaron mensualmente a intervalos de 10 cm con una sonda Diviner 2000 series II (Sentek, Australia), desde marzo de 2009 hasta febrero de 2011 durante 1 o 2 días consecutivos.

En cada uno de los 30 árboles se recogieron muestras de rizosfera y de raíces para estudiar la presencia de *P. cinnamomi* y *Pythium spiculum*. Estas muestras consistían en 300 ml de rizosfera y aproximadamente 25 raíces por árbol que se recogían a 1-2 m del tronco, a profundidades de 10 a 50 cm. La presencia de *P. cinnamomi* y *Py. spiculum* en la rizosfera se evaluó según el método de ROMERO *et al.* (2007). El aislamiento a partir de raíces se realizó mediante la esterilización (2 min en hipoclorito sódico acuoso), el lavado y secado de fragmentos de raíces de 1 cm que posteriormente fueron colocados en medio selectivo. Se prepararon 5 placas por árbol y se incubaron a 24°C en oscuridad durante 2-3 días, tras lo cual estas colonias fueron transferidas a un medio de zanahoria-agar. Para identificar los aislados se llevaron a cabo observaciones a través del microscopio de estructuras típicas de *P. cinnamomi* como son los hinchamientos hifales y micelio coraloide-botrioso, o en el caso de *Py. spiculum*, de gametangios y oosporas. Estos muestreos se llevaron a cabo estacio-

nalmente cada 3 meses, desde otoño de 2008 hasta primavera de 2010.

Experimento 2

El análisis radical de los 576 árboles, localizados en los 96 focos, se llevó a cabo mediante la excavación de una calicata por árbol. El hoyo se realizó con la ayuda de una pala retroexcavadora y tenía una anchura de 2,5 m y 1,5 m de profundidad (cuando era posible). Las calicatas se hicieron 2-3 m vaguada abajo respecto al tronco del árbol y estuvieron orientadas tangencialmente a la copa del árbol. En el perfil del suelo se superponía una cuadrícula transparente de 30 cm de ancho y sobre él se contabilizaba el número de raíces finas (< 2 mm de diámetro) y raíces gruesas (≥ 2 mm) cada 20 cm de profundidad.

Se recogieron muestras de raíces y rizosfera en cada uno de los 6 árboles por foco siguiendo el procedimiento comentado anteriormente. En este caso, se recogían muestras de rizosfera y de raíces a 3 profundidades distintas: 10-49 cm, 50-99 cm y 100-150 cm aprovechando el hoyo excavado. Se prepararon 10 placas y 3 placas con medio selectivo NARPH por muestra de rizosfera y de raíces, respectivamente, para el aislamiento de *P. cinnamomi* y *Py. spiculum*. El experimento se realizó durante los meses de abril, mayo y principios de junio de 2008 y 2009.

Análisis de los datos

Para una mejor interpretación, los valores de nivel freático y humedad se agruparon en estaciones obteniendo así cuatro lecturas por año. Dentro de las estaciones se observó la ausencia de diferencias significativas de nivel freático y de humedad entre meses y años. La relación entre el nivel freático y el decaimiento se analizó mediante el procedimiento MIXED (mixed linear model ANCOVA), usando el estado del árbol como un factor

fijo, el foco como un factor al azar, la elevación respecto al nivel del cauce como covariable y las estaciones como medidas repetidas. Los valores de humedad, previamente transformados para alcanzar la normalidad, se analizaron también con un MIXED ANCOVA usando el estado del árbol y la profundidad como factores fijos, el foco como factor al azar, la elevación como covariable y las estaciones como medidas repetidas. Se aplicaron test de Tukey a posteriori cuando existían diferencias significativas. Las fluctuaciones estacionales de humedad y nivel freático se analizaron mediante un General Lineal Model (GLM) tomando el estado del árbol y la profundidad como factores y la elevación como covariable. En el análisis de las medidas repetidas la significación se estableció para valores de p inferiores a 0,002 según la corrección de Bonferroni. Para el análisis de las raíces se calculó la densidad de raíces finas (n/m^2) en una profundidad de 1,5 m. Se realizó un análisis de la varianza (ANOVA) utilizando el estado del árbol como factor fijo y el foco como factor al azar anidado en orografía. Los análisis se realizaron con los programas STATISTICA (versión 7.0, Stat-

soft, Tulsa, OK) y SAS (version 9.2, SAS Institute, Cary, NC).

RESULTADOS

Durante el año 2009 y 2010 el nivel freático mostró una alternancia de periodos secos y húmedos siguiendo la dinámica de precipitaciones (Figura 1). El nivel freático medio de los árboles decaídos y no decaídos fue similar ($3,37 \pm 2,07$ y $3,43 \pm 2,16$ m, respectivamente) y no se observaron diferencias de fluctuaciones entre árboles decaídos y no decaídos ($5,15 \pm 1,42$ y $5,20 \pm 1,28$ m, respectivamente). Las máximas fluctuaciones se observaron en un foco ubicado en Vegaviana ($5,96 \pm 1,34$) y además, en general, estas fluctuaciones fueron significativamente mayores en las partes altas que en las laderas o en las zonas cercanas a las vaguadas ($5,20 \pm 0,52$, $4,35 \pm 0,40$ y $4,09 \pm 0,39$ m, respectivamente; $p = 0,010$).

La humedad del suelo (θ) varió significativamente aunque de forma ligera entre árboles decaídos y no decaídos ($30,65 \pm 0,11$ y $30,48 \pm 0,12\%$ respectivamente; $p \leq 0,0001$).

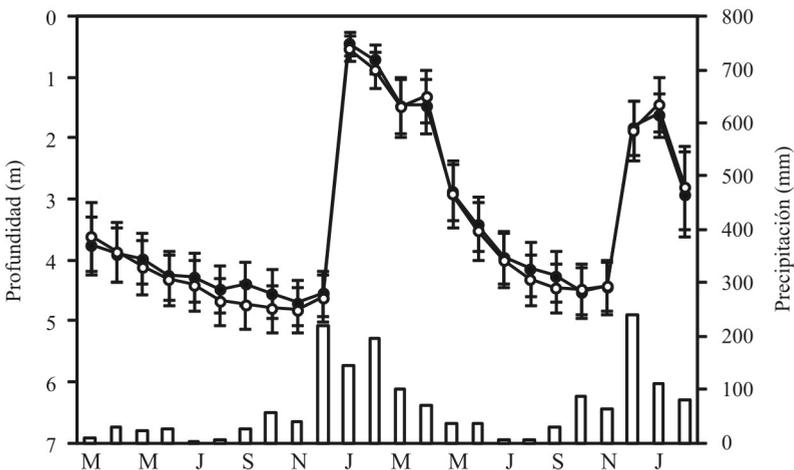


Figura 1. Valores medios del nivel freático bajo árboles decaídos (●) y no decaídos (○) desde marzo de 2009 hasta febrero de 2011. Las barras corresponden al error estándar; $n = 15$

Estas diferencias fueron dependientes de las estaciones (interacción estado del árbol × estación; $p = 0,0004$). Durante el invierno y la primavera los árboles decaídos tenían valores más bajos de θ que los árboles no decaídos ($p \leq 0,0001$), pero durante el verano y el otoño esta tendencia se invertía ($p \leq 0,002$; Figura 2). Durante el verano y el otoño, especialmente en las partes altas, el suelo estaba más húmedo bajo árboles decaídos que bajo árboles no decaídos (interacción estado del árbol × elevación × estación; $p \leq 0,0001$). Este patrón, sin embargo, no se observó en la ladera o en zonas cercanas a vaguada ni durante las estaciones de invierno y primavera. Los valores medios de θ aumentaron de forma acusada con la profundidad ($p \leq 0,0001$), especialmente en los primeros 0,5 m de profundidad (Figura 3). Durante las estaciones secas (verano y otoño) esta observación se extendía por todo el perfil, sin embargo durante el invierno y la primavera θ era constante a medida que la profundidad aumentaba desde los 0,5 hasta los 3 m (interacción estado del árbol × profundidad × estación; $p \leq 0,0001$).

Así, durante la primavera (marzo) a profundidades intermedias (0,5-2,0 m) el suelo estaba más seco bajo árboles decaídos que bajo árboles no decaídos ($p = 0,0004$), mientras que a profundidades mayores (2,0-3,0 m) θ era similar bajo ambos grupos de árboles ($p = 0,08$; Figura 3). Durante el otoño a profundidades intermedias (0,5-1,0 m) el suelo estaba menos húmedo bajo árboles decaídos que bajo árboles no decaídos, mientras que a profundidades mayores (1,0-3,0 m) el suelo estaba más seco bajo árboles no decaídos ($p \leq 0,0001$; Figura 3). Las fluctuaciones de θ fueron mayores bajo árboles no decaídos que bajo árboles decaídos ($p = 0,013$).

En el experimento 1, se aisló *P. cinnamomi* de muestras (raíces o rizosfera) recogidas bajo 13 árboles decaídos y 11 no decaídos ($n = 15$). Además, en un foco ubicado en Malpartida de Plasencia en un árbol decaído, *P. gonapodyides* fue también aislada. Los aislamientos fueron más exitosos en primavera que en otoño o invierno, mientras que en verano no se obtuvo ningún aislado. *Py. spiculum* se aisló bajo 14 árboles decaídos y

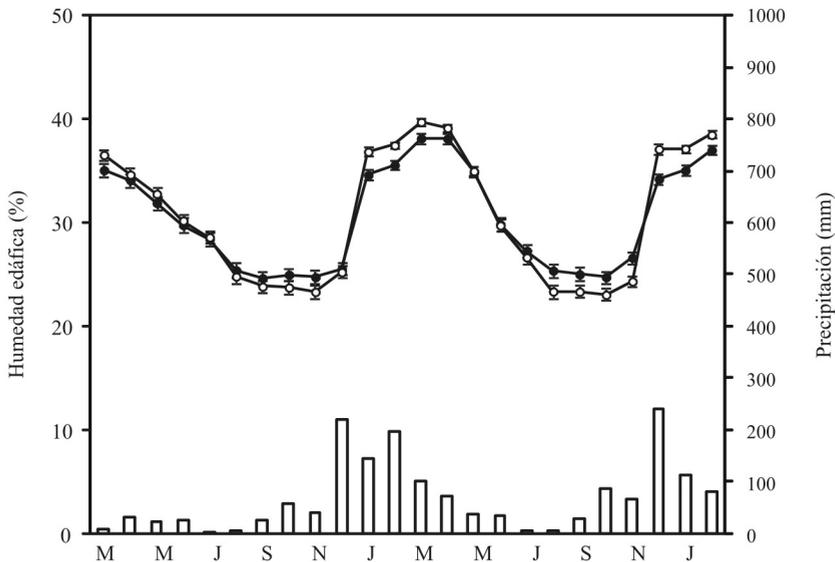


Figura 2. Valores medios de la humedad edáfica bajo árboles decaídos (●) y no decaídos (○) desde marzo de 2009 hasta febrero de 2011. Las barras corresponden al error estándar; $n = 15$

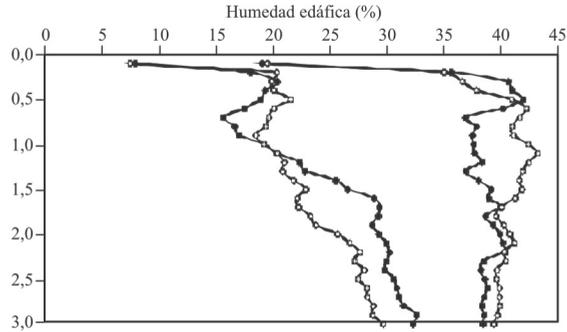


Figura 3. Perfil de la humedad edáfica (m) durante el mes más húmedo (derecha) y el mes más seco (izquierda) (marzo y octubre de 2010, respectivamente) bajo árboles decaídos (●) y no decaídos (○); n = 15

10 no decaídos (n = 15), y la frecuencia de aislamiento fue independiente de la estación.

En el experimento 2, *P. cinnamomi* se aisló de 65 focos y su presencia fue significativamente mayor bajo árboles decaídos que no decaídos ($p = 0,008$). Los aislamientos eran también más frecuentes en muestras recogidas en zonas cercanas a vaguadas que en ladera o en las partes altas ($p < 0,001$). *Py. spiculum* se aisló en 46 focos. La presencia de *Py. spiculum* fue mayor bajo árboles decaídos que bajo árboles no decaídos en los casos en los que las muestras eran recogidas en zonas cercanas a vaguadas (interacción estado del árbol \times elevación; $p = 0,012$). La máxima profundidad del suelo y el número de raíces gruesas en el perfil del suelo fue similar bajo árboles decaídos y no decaídos (1,18 y 1,23 cm; 7,9 y 6,7 raíces m^{-2} , respectivamente; $p > 0,1$), con independencia de la elevación. Sin embargo, la densidad de raíces finas fue significativamente menor en árboles decaídos que en no decaídos (73,7 y 82,9 raíces m^{-2} , respectivamente; $p = 0,016$), y significativamente menor en zonas cercanas a vaguadas que en laderas o en partes altas (73,1; 80,5 y 78,5 raíces m^{-2} respectivamente; $p = 0,048$). La densidad de raíces finas fue también significativamente menor en árboles infectados con *P. cinnamomi* que en árboles no infectados con *P. cinnamomi* (59,1 y 84,8 raíces m^{-2} , respecti-

vamente; $p < 0,001$) pero similar entre árboles no infectados e infectados con *Py. spiculum* (80,9 y 77,3 raíces m^{-2} , respectivamente; $p = 0,6$).

DISCUSIÓN

En relación a la primera cuestión que nos planteamos en la introducción, no se puede concluir que el decaimiento de *Q. ilex* esté asociado a variaciones extremas del nivel freático. En ninguno de los focos las fluctuaciones fueron mayores bajo árboles decaídos que bajo no decaídos. A nivel de foco, sin embargo, Vegaviana, con las mayores tasas de mortalidad de árboles, mostró las máximas fluctuaciones del nivel freático. En otros estudios se ha observado un decaimiento más severo de *Quercus* sp. en sitios donde había grandes fluctuaciones de nivel freático (SOLLA *et al.*, 2009). El efecto de las fluctuaciones del nivel freático en el vigor del árbol dependerá del periodo de tiempo en el cual las raíces estén expuestas al agua y de si bajo estas condiciones se favorecerá la acción de patógenos. El encharcamiento produce la inhibición del crecimiento de los árboles, especialmente el desarrollo de las raíces y la alteración del metabolismo y de diferentes parámetros fisiológicos (GÉRARD *et al.*, 2009). Si en los cinco focos estudiados asumimos que las raíces alcanzan

una profundidad de 1,2 m, durante dos meses en 2010 aproximadamente un tercio de las raíces habrían estado sufriendo encharcamiento. Por otra parte, si asumimos que las raíces alcanzan una profundidad de 5 m como el constatado en *Q. ilex* en fincas cercanas (MORENO *et al.*, 2005), durante 4 meses en 2010 y durante dos meses en 2011, en torno a un tercio de las raíces habrían estado encharcadas. Durante la estación seca, la captación de agua de las raíces depende de las capas profundas. Si las raíces localizadas en estas capas profundas sufren daños por la exposición a periodos prolongados de encharcamiento, el árbol tendrá más dificultades para absorber agua durante la estación seca, periodo que se extiende hasta noviembre o diciembre (Figura 2). Por otra parte, el encharcamiento también favorece la esporulación de *Phytophthora* spp. y la dispersión de las zoosporas facilitando así la infección (ROBIN *et al.*, 2001), especialmente en épocas cálidas. Estos periodos de encharcamiento podrían explicar en el experimento 1 la presencia de *P. cinnamomi* de forma similar en árboles decaídos y árboles no decaídos y la presencia de *P. gonapodyides* (CORCOBADO *et al.*, 2010).

¿Está el decaimiento directamente relacionado con valores bajos de θ ? Los valores observados de θ en este estudio no generan normalmente estrés hídrico en *Q. ilex* como se observó en fincas cercanas a los focos estudiados aquí (CUBERA y MORENO, 2007). Además, el hecho de que durante los periodos secos, θ sea mayor bajo árboles decaídos invalida nuestra segunda hipótesis. Esta interpretación debe ser tomada con cautela, ya que como se discute abajo, como los árboles decaídos tienen un 10% menos de raíces finas por metro cuadrado que los no decaídos, esto supone una reducción de la densidad de raíces finas de un 16,2% (en volumen).

Bajo árboles no decaídos θ aumentó desde la parte alta hacia la vaguada mientras que en árboles decaídos, sin embargo, θ aumentó desde la vaguada hacia la parte alta, patrón que se manifestaba también en las ob-

servaciones de NAGLE *et al.* (2010). La abundancia de raíces observada en la parte alta, mayor que en vaguada, tal vez explique esta diferencia. La relación inversa entre raíces y θ también revela la mayor fluctuación de θ bajo árboles no decaídos que decaídos. Diferencias en las fluctuaciones de θ son atribuidas a un uso más activo del agua por parte de los árboles no decaídos, especialmente bajo 1 m donde el sistema radical está bien desarrollado (MORENO *et al.*, 2005). De 0-2 m de profundidad se midieron valores más altos de θ lejos de la copa de *Q. ilex* que debajo de la copa (CUBERA y MORENO, 2007). Desde este punto de vista es razonable hallar diferencias de θ entre árboles con diferentes densidades de hojas y raíces. Los árboles decaen no por falta de agua edáfica, sino por su incapacidad a utilizarla por falta de raíces finas.

Los resultados obtenidos en el muestreo extensivo confirman la hipótesis de que hay menos raíces finas bajo encinas decaídas que bajo las no decaídas debido al daño causado por *P. cinnamomi*. Muestreos similares confirman la destrucción de las raíces finas en otros árboles decaídos (JUNG *et al.*, 2000; SÁNCHEZ *et al.*, 2003). Bajo estas circunstancias la falta de agua jugaría un rol definitivo en la supervivencia del árbol, ya que el mínimo valor de θ , necesario para una suficiente absorción de agua ante menos raíces aumentaría. En febrero de 2012 se contabilizó la muerte de dos árboles decaídos en Cuartón, un árbol decaído en San Esteban y otro árbol decaído en Haza (3 de los focos monitorizados en experimento 1). Antes de la muerte, estos árboles decaídos probablemente se enfrentaron a dos tipos de situaciones: (i) una intensa pudrición radical combinada con una ligera falta de agua, y (ii) una ligera pudrición radical con una severa falta de agua. La primera circunstancia probablemente ocurrió en zonas cercanas a vaguada, donde θ es elevada y los árboles normalmente están sometidos a un encharcamiento temporal (BRASIER, 1996), circunstancias que favorecen la infección de *P. cinnamomi*. La segunda situación posiblemente ocurrió en

ladera y en las partes altas, donde *Phytophthora* es menos activa y θ y la capacidad de retención de agua es menor. El decaimiento severo de *Quercus* ha sido observado tanto en laderas como en vaguadas (SÁNCHEZ *et al.*, 2002).

Atendiendo a nuestros resultados, las fluctuaciones y el déficit de θ no son factores de predisposición al decaimiento como se sugiere en otros trabajos (JÖNSSON *et al.*, 2005). Las fluctuaciones y el déficit de θ pueden ser causas directas de la muerte de la planta una vez que ésta tiene su sistema radical dañado por la acción de patógenos de raíz. La supervivencia de árboles infectados en los ecosistemas dependerá de la cantidad de raíces finas disponibles, de la capacidad de retención del suelo y de la suficiente θ para permitir la captación de agua. Asumiendo que la capacidad de retención de agua en el suelo se mantuviera constante en un sitio, la supervivencia dependerá de las estrategias que desarrolle el genotipo del árbol para resistir la infección de *Phytophthora* y de la capacidad para reemplazar las raíces finas dañadas y para tolerar la sequía. Estas consideraciones podrían ser válidas para otras especies leñosas que sufren decaimiento en la Península Ibérica (por ejemplo, *Q. suber* y *Q. robur*) y deberían tenerse en cuenta en los programas de mejora.

De este estudio se concluye que *Q. ilex* en el suroeste de España (decaído o no) está

sometido a largos periodos de encharcamiento y a fluctuaciones extremas del nivel freático, lo cual puede contribuir a la esporulación e infección del patógeno. El déficit de θ detectado durante el verano no genera decaimiento, pero si los árboles sufren una pérdida de sus raíces finas, como es habitual debido sobre todo a la acción de *P. cinnamomi*, un déficit de θ sí originaría decaimiento. En el contexto actual de dispersión de *Phytophthora spp.* y de cambio climático, se espera un aumento del decaimiento de *Q. ilex* en España.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos la ayuda recibida de Dra. Miren Lorente, Dr. Thomas Jung, Dra. M.^a Esperanza Sánchez (Universidad de Córdoba) y de Dra. M.^a Carmen Rodríguez-Molina (Centro de Investigación Finca La Orden). Los profesores Manuel Madeira, João Santos Pereira y Nuno Cortez (Instituto Superior de Agronomía, Lisboa) también prestaron una importante ayuda gracias a una Acción Integrada hispano-lusa financiada por MEC-UE. El estudio fue financiado a través de un acuerdo entre la Universidad de Extremadura y la Junta de Extremadura, y con los fondos ofrecidos por la Junta de Extremadura y la UE (proyectos regionales del III y IV PRI).

ABSTRACT

CORCOBADO, T., M. A. DELGADO, E. CUBERA, A. PÉREZ, E. JUÁREZ, G. MORENO, A. SOLLÀ. 2012. Soil water content dynamic under declining and non-declining trees in *Phytophthora cinnamomi* stands. *Bol. San. Veg. Plagas* **38**: 157-165.

Soil water table fluctuations, soil water content and fine roots abundance seem to play a role in the decline of oak forests in Iberia, especially if trees grow in *Phytophthora cinnamomi* infested soils. No experimental research has been conducted in the field, however, to test this hypothesis in mature trees. The study was performed in western Spain and included 101 *Quercus ilex* forest stands in which the soil water dynamic and the abundance of fine roots between declining and non-declining trees were compared. Exposure of roots to waterlogging (during 2 months maximum), annual fluctuations of the soil water table depth (about 3.5 m) or values of soil water content observed (about 25% vol during summer) could not explain alone the decline of trees. However, fine root density was about 16.2% lower in declining than in non-declining

trees, and significantly lower in *P. cinnamomi*-infected trees than in non-infected trees (59.1 and 84.8 roots m⁻², respectively; $p < 0.001$). Root damage caused by *P. cinnamomi* in combination with usual circumstances of waterlogging during bud-break period or water stress during summer will determine the health status of trees.

Key words: *P. gonapodyides*, *Quercus ilex*, decline, soil water table, root density.

REFERENCIAS

- BRASIER, C. M. 1996. *Phytophthora cinnamomi* and oak decline in southern Europe. Environmental constraints including climate change. *Ann. For. Sci.*, **53**: 347-358.
- CORCOBADO, T., CUBERA, E., PÉREZ-SIERRA, A., JUNG, T., SOLLA, A. 2010. First report of *Phytophthora gonapodyides* involved in the decline of *Quercus ilex* in xeric conditions in Spain. *New Disease Reports*, **22**: 33-33.
- COSTA, A., PEREIRA, H., MADEIRA, M. 2010. Analysis of spatial patterns of oak decline in cork oak woodlands in Mediterranean conditions. *Annals of Forest Science*, **67**: 204.
- CUBERA, E., MORENO, G. 2007. Effect of land-use on soil water dynamic in dehesas of Central-Western Spain. *Catena*, **71**: 298-308.
- DEL POZO, J. L. 2006. Prospección de la seca en Extremadura. Análisis de los resultados. En: M. ESPEJO, M. MARTÍN, C. MATOS, S. J. MESÍAS (eds.), *Gestión Ambiental y Económica del Ecosistema Dehesa en la Península Ibérica*: 131-143. Junta de Extremadura, Mérida.
- FERNÁNDEZ-ESCOBAR, R., GALLEGU, F. J., BENLLOCH, M., MEMBRILLO, J., INFANTE, J., PÉREZ DE ALGABA, A. 1999. Treatment of oak decline using pressurized injection capsules of antifungal materials. *Eur. J. Forest Pathol.*, **29**: 29-38.
- GÉRARD, B., ALAOU-SOSSÉ, B., BADOT, P. M. 2009. Flooding effects on starch partitioning during early growth of two oak species. *Trees*, **23**: 373-380.
- JÖNSSON, U., JUNG, T., SONESSON, K., ROSENGREN, U. 2005. Relationships between health of *Quercus robur*, occurrence of *Phytophthora* species and site conditions in southern Sweden. *Plant Pathol.*, **54**: 502-511.
- JUNG, T., BLASCHKE, H., OBWALD, W. 2000. Involvement of soilborne *Phytophthora* species in Central European oak decline and the effect of site factors on the disease. *Plant Pathol.*, **49**: 706-718.
- MORENO, G., OBRADOR, J. J., CUBERA, E., DUPRAZ, C. 2005. Fine root distribution in Dehesas of Central-Western Spain. *Plant Soil*, **277**: 153-162.
- NAGLE, A. M., LONG, R. P., MADDEN, L. V., BONELLO, P. 2010. Association of *Phytophthora cinnamomi* with white oak decline in southern Ohio. *Plant Dis.*, **94**: 1026-1034.
- ROBIN, C., CAPRON, G., DESPREZ-LOUSTAU, M. L. 2001. Root infection by *Phytophthora cinnamomi* in seedlings of three oak species. *Plant Pathol.*, **50**: 708-716.
- ROMERO, M., SÁNCHEZ, J., JIMÉNEZ, J., BELBAHRI, L., TRAPERU, A., SÁNCHEZ, M. 2007. New *Pythium* taxa causing root rot on mediterranean *Quercus* species in south-west Spain and Portugal. *J. Phytopathol.*, **155**: 289-295.
- SÁNCHEZ, M. E., CAETANO, P., FERRAZ, J., TRAPERU, A. 2002. *Phytophthora* disease of *Quercus ilex* in southwestern Spain. *For Path*, **32**: 5-18.
- SÁNCHEZ, M. E., SÁNCHEZ, J. E., NAVARRO, R. M., FERNÁNDEZ, P., TRAPERU, A. 2003. Incidencia de la podredumbre radical causada por *Phytophthora cinnamomi* en masas de *Quercus* en Andalucía. *Bol. San. Veg. Plagas*, **29**: 87-108.
- SOLLA, A., GARCÍA, L., PÉREZ, A., CORDERO, A., CUBERA, E., MORENO, G. 2009. Evaluating potassium phosphonate injections for the control of *Quercus ilex* decline in SW Spain: implications of low soil contamination by *Phytophthora cinnamomi* and low soil water content on the effectiveness of treatments. *Phytoparasitica*, **37**: 303-316.
- TUSET, J. J., HINAREJOS, C., MIRA, J. L., COBOS, J. M. 1996. Implicación de *Phytophthora cinnamomi* Rands en la enfermedad de la seca en encinas y alcornoques. *Bol. San. Veg. Plagas*, **22**: 491-499.

(Recepción: 30 marzo 2012)
(Aceptación: 20 abril 2012)

SUMARIO DEL VOL. 38 (1)

ENTOMOLOGÍA

- R. LÓPEZ, J. E. ARAYA, L. SAZO. Colectas de Syrphidae (Diptera) en alfalfa en Colina, Región Metropolitana, Chile, y clave de identificación de seis especies de *Allograpta* 3
- A. R. MACHI, G. J. MORAES, V. ARTHUR, R. V. ARAÚJO. Controle biológico do ácaro rajado (*Tetranychus urticae* Koch) em morangueiro, utilizando o ácaro predador *Phytoseiulus fragariae* Denmark & Schicha (Acari: Tetranychidae, Phytoseiidae) 17
- L. E. R. PANNUTI, L. S. MARCHI, E. L. L. BALDIN. Use of vegetable powders as alternative to control of *Callosobruchus maculatus* 33
- E. S. SOUZA, E. L. L. BALDIN, T. L. M. FANELLA. Desenvolvimento de *Nezara viridula* (L., 1758) (Hemiptera: Pentatomidae) em genótipos de soja 41
- J. QUINTO, A. PINEDA, J. M. MICHELENA, M. A. MARCOS-GARCÍA. Dinámica poblacional de parasitoides Aphidiinae (Braconidae, Hymenoptera) en cultivos de pimiento de invernadero 51
- A. HERMOSO DE MENDOZA, R. ESTEVE, J. M. LLORENS, J. M. MICHELENA. Evolución global y por colonias de los pulgones (Hemiptera, Aphididae) y sus enemigos naturales en clementinos y limoneros valencianos 61
- M. MIÑARRO, S. KREITER. Fitoseidos en los viñedos de la denominación Vino de Calidad de Cangas (Asturias). 73
- V. CASTRO, J. E. ARAYA. Clave de identificación de huevos, larvas y pupas de *Allograpta* (Diptera: Syrphidae) comunes en la zona central de Chile. 83
- R. M.^a Saelices, A. LÓPEZ, F. AMOR, P. BENGOCHEA, M.^a M. FERNÁNDEZ, A. GARZÓN, I. MORALES, E. VELÁZQUEZ, P. MEDINA, Á. ADÁN, P. DEL ESTAL, E. VIÑUELA, F. BUDIA. Ecotoxicidad de insecticidas de uso frecuente en el cultivo del tomate, en el enemigo natural *Trichogramma achaeae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) 95
- D. GALLEGO, F. J. SÁNCHEZ-GARCÍA, H. MAS, M. T. CAMPO, J. L. LENCINA. Estudio de la capacidad de vuelo a larga distancia de *Monoctonus galloprovincialis* (OLIVIER 1795). (Coleoptera: Cerambycidae) en un mosaico agro-forestal 109
- M. NAYA, A. AGUADO. Seguimiento de *Leptoglossus occidentalis* Heidemann durante la anualidad 2011 en el Centro Nacional de Recursos Genéticos Forestales "Alaquàs" - Valencia 125

PATOLOGÍA

- F. J. GEA, M. C. LAINEZ, M. J. NAVARRO. Eficacia de diferentes fungicidas en el control de la mole húmeda del champiñón (agente causal: *Mycogone perniciosa*) 133
- A. PÉREZ-SIERRA, B. MORA-SALA, M. LEÓN, J. GARCÍA-JIMÉNEZ, P. ABAD-CAMPOS. Enfermedades causadas por *Phytophthora* en viveros de plantas ornamentales 143
- T. CORCOBADO, M. A. DELGADO, E. CUBERA, A. PÉREZ, E. JUÁREZ, G. MORENO, A. SOLLA. Dinámica de la humedad del suelo bajo encinas decaídas y no decaídas en focos de *Phytophthora cinnamomi* 157



GOBIERNO
DE ESPAÑA

MINISTERIO DE AGRICULTURA,
ALIMENTACIÓN
Y MEDIO AMBIENTE