

VOLUMEN 38
Adenda al núm. 2
2012

DIRECTOR

Valentín Almansa

DIRECTOR ADJUNTO

José Antonio González

REDACTOR JEFE

José M.ª Cobos

CONSEJERO 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: MAGRAMA

SUMARIO

ENTOMOLOGÍA

- S. G. DE SANIDAD E HIGIENE VEGETAL Y FORESTAL, D. G. DE SANIDAD DE LA PRODUCCIÓN AGRARIA. Red de Seguimiento para el Control, Alerta y Evaluación de los Niveles de Población de la Mosca del Olivo “RED DACUS”; 22 años de historia (1990-2011) 169
- L. LARA, M. CANO, E. SALVADOR, Mª M. TÉLLEZ. Evaluación de la eficacia de *Amblyseius andersoni* (Chant) en el control biológico de *Aculops lycopersici* (Masse) en cultivo de tomate de invernadero 203
- J. M. VELA, J. R. BOYERO, M. E. WONG, V. J. MONSERRAT. Neuropteroides (Insecta: Neuroptera, Raphidioptera) en plantaciones de aguacate en el sur de España..... 213
- C. GARCÍA, G. ALBENDÍN, J. Mª MOLINA. Potencial de uso de extractos vegetales disponibles comercialmente en el manejo integrado de plagas de la fresa 223
- G. MAREGGIANI, N. BARTOLONI, N. B. GOROSITO, C. LAFFAYE. Flight detection of *Caliroa cerasi* L. (Hymenoptera: Tenthredinidae) adults in the Andean Region of Parallel 42, Argentina ... 233
- J. C. GUERREIRO, F. B. SERRANO, A. C. BUSOLI, M. G. RUIZ. Proximidad de rodales forestales y factores climáticos influyendo en la incidencia estacional de *Mahanarva fimbriolata* 239
- L. M. MARTINS, R. P CARVALHO, M. A. SOARES, M. C. M. CRUZ, E. M. PIRES. Ataque da cochonilha negra *Saissetia oleae* (Olivier) (Hemiptera: Coccidae) em duas cultivares de oliveira (*Olea europaea* L.) introduzidas no Brasil 249
- M. G. DONATTI RICALDE, A. ENIMAR LOECK, M. PERRONE RICALDE. Ocorência de ninhos de formigas cortadeiras em área de vinhedo no Rio Grande do Sul, -Brasil 257
- M. T. MARTÍNEZ-FERRER, J. M. CAMPOS, J. M. FIBLA. Aplicación de aceite mineral para el control de la araña roja *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) en huertos de clementinos 269
- J. A. MONREAL MONTROYA, R. M. MUÑOZ GÓMEZ, M. L. LERMA TOBARRA, P. CASTILLO ORTIZ, C.A. GRANDA WONG. Estudio de los niveles poblacionales de *Thrips tabaci* Lind. (Thysanoptera: Thripidae) y sus enemigos naturales en el cultivo de la cebolla en Albacete 281

A. ALONSO MUÑOZ, F. GARCIA-MARÍ. Eficacia del trapeo masivo en el control de la mosca del olivo <i>Bactrocera oleae</i> (Diptera: Tephritidae): determinación del daño al fruto y de la pérdida económica en cantidad y calidad del aceite	291
M. CANO, E. VILA, E. SALVADOR, D. JANSSEN, L. LARA, M.M. TÉLLEZ. Utilización de <i>Mentha suaveolens</i> Ehrh y <i>Ocimum basilicum</i> Linnaeus como plantas refugio para adelantar la instalación de <i>Orius laevigatus</i> Fieber (Hemiptera: Anthocoridae) en cultivo de pimiento	311
A. M. A. REDA, A. E. HATEM. Biological and eradication parameters of the tomato leafminer, <i>Tuta absoluta</i> (Mayrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) affected by two biopesticides	321
C. BAÑOL PÉREZ, J. PIÑOL, J. A. BARRIENTOS, N. PÉREZ HIDALGO, J. PUJADE-VILLAR. Abundancia estacional y efecto de los parasitoides sobre los pulgones de un cultivo ecológico de cítricos	335
A. HERMOSO DE MENDOZA, P. DEL ÉSTAL, M. D. ALCÁZAR, R. PÉREZ-OTERO, P. MANSILLA. COMUNICACIÓN. Diferenciación entre <i>Scaphoideus titanus</i> Ball, vector de la Flavescencia Dorada de la vid, y una especie próxima, <i>Osbornellus horvathi</i> (Matsumura), recientemente encontrada en España (Hemiptera, Cicadellidae) ...	349
J. A. RINGUELET, M. I. URRUTIA, R. M. YORDAZ, C. P. HENNING. Actividad insecticida y repelente de aceites esenciales de laurel y lemongrass sobre <i>Bemisia tabaci</i>	353
E. GONZÁLEZ-ROSA, S. C. SABAH-MAZZETTA, D. GALLEGO. Experiencias de atracción de <i>Tomicus piniperda</i> (Linneo, 1758) usando atrayentes cairomonales	361

PATOLOGÍA

J. A. HERRERA VÁSQUEZ, M. C. CEBRIÁN, A. A. FERNÁNDEZ, M. C. CÓRDOBA SELLÉS, C. JORDÁ. Identificación y diferenciación morfológica y molecular de <i>Olpidium spp</i>	371
J. A. HERRERA VÁSQUEZ, M. C. CÓRDOBA SELLÉS, M. C. CEBRIÁN, A. A. FERNÁNDEZ, C. JORDÁ. Transmisión por semilla del virus de las manchas necróticas del melón (MNSV) y eficacia de tratamientos de desinfección de semilla	387

Red de Seguimiento para el Control, Alerta y Evaluación de los Niveles de Población de la Mosca del Olivo “RED DACUS”; 22 años de historia (1990-2011)

S. G. DE SANIDAD E HIGIENE VEGETAL Y FORESTAL

D. G. DE SANIDAD DE LA PRODUCCIÓN AGRARIA

La red de seguimiento para el control, alerta y evaluación de los niveles de población de la mosca del olivo (*Bactrocera oleae* Gmel.) “RED DACUS”, tiene como objetivo principal proporcionar, a los responsables de las principales provincias olivereras españolas, la información necesaria relativa al estado de la plaga, a la fenología y a la previsión de cosecha del olivar, así como sobre las condiciones climáticas existentes en las zonas de control, para de este modo determinar sobre la conveniencia de realizar tratamientos contra este insecto, escoger el momento óptimo para realizarlos y, una vez ejecutados, estudiar la eficacia alcanzada en función del producto fitosanitario y la metodología empleados.

Durante los 22 años de vigencia de la RED DACUS, aparte de la mayor cualificación técnica proporcionada al sector oliverero español, en cuanto a medios humanos y materiales empleados, se ha reducido considerablemente la aplicación de productos fitosanitarios, reduciendo las aplicaciones de tratamientos a las estrictamente necesarias, reduciendo el impacto medioambiental y trabajando en pro de la obtención de aceites de calidad procedentes de aceitunas sanas. Paralelamente, se han diseñado las aplicaciones informáticas precisas para la gestión de la base de datos generada durante estos 22 años en el seguimiento de más de un millón de hectáreas de olivar por campaña; en los que se han recogido datos tanto biológicos de la plaga, como del cultivo, así como de las condiciones agroclimáticas registradas y de los tratamientos dirigidos contra la mosca del olivo. Actualmente se está gestionando la próxima publicación de dichos datos en la web del MAGRAMA.

Del análisis de los datos históricos, se estima que la media nacional de las 22 campañas ha sido del 12,7% de picada total final. A tenor de los resultados obtenidos parece que valores anuales superiores al 15% de picada pueden condicionar que el porcentaje de Aceite Virgen Extra obtenido en la campaña sea como máximo el 50% del total procesado.

A su vez, el estudio de causas de caída indica que, en las 10 campañas de realización completadas (2001-2010), las pérdidas por caída anticipada de frutos achacable directamente a la puesta de la mosca del olivo, suponen como media el 1,4% de la cosecha total de aceitunas. Tan sólo cae, como media, el 10% de la aceituna picada.

S. G. DE SANIDAD E HIGIENE VEGETAL Y FORESTAL, D. G. DE SANIDAD DE LA PRODUCCIÓN AGRARIA. MAGRAMA, c/ Almagro, 33 - 28010 Madrid.

Palabras clave: *Bactrocera oleae*, plagas, monitoreo, bases de datos.

INTRODUCCIÓN

Desde el inicio del siglo pasado, la Dirección General de Agricultura transmite, mediante las “Hojas divulgadoras” (MAGRAMA

1913), las experiencias que en la lucha contra la mosca del olivo, se llevan a cabo en nuestro país y limítrofes, a través de los Consejos Provinciales en España (MAGRAMA 1915), el Servicio Francés de Oleicultura en Francia

(CHAPELLE, J. 1912), o la Cátedra Ambulante de Agricultura del Distrito de Roma en Italia (LOTRIONTE, G. 1912).

En junio de 1923 se celebra en Madrid la "Conferencia Internacional De La Lucha Contra La Mosca De La Aceituna" (MAGRAMA 1923), amparada por el Instituto Internacional de Agricultura de Roma, con participación de las delegaciones de España, Francia, Grecia, Italia, Perú, Portugal, del propio Instituto y el "Reino de los Servios, Croatas y Slovenos".

La pertenencia desde 1951, año de su fundación, a la Organización Europea y Mediterránea de Protección de las Plantas (EPPO), en el marco de la Convención Internacional para la Protección de los Vegetales (IPPC) de la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO), ha mantenido y potenciado los contactos entre los expertos en el cultivo, designados por la respectiva organización nacional de protección de los cultivos de los países EPPO, continuando la participación en grupos internacionales de trabajo para la elaboración de estrategias internacionales contra la introducción y la propagación de plagas peligrosas para el cultivo, así como la promoción de métodos eficaces para combatir las que no sean nocivos.

Mediante resolución publicada en el Boletín Oficial del Estado (BOE), anualmente desde 1962, la Dirección General de Agricultura fija las zonas de tratamiento obligatorio contra la mosca del olivo. Cada Jefatura Agronómica determina la fecha en que las respectivas Hermandades Sindicales de Labradores y Ganaderos procederán a la colocación de los mosqueros (trampa de atracción olfativa) para conocer el momento de aparición del insecto.

De este modo, en 1979, el Servicio de Defensa contra Plagas e Inspección Fitopatológica inició un plan de investigación coordinado a nivel nacional: el Plan Nacional Mosca del Olivo. En 1980 dicho Plan Nacional, conocido como "Plan Dacus" adquiere una concreción técnica precisa en lo referente a la metodología de trabajo seguida y a la de-

finición de las distintas líneas de trabajo, establecidas en función de los trabajos previos de los colegas del Ministerio de Agricultura Italiano (BALLATORI *et al.* 1979; CIRIO, U.; VITA, G. 1978).

En los ochenta, estas líneas de trabajo (MONTIEL, A.; MORENO, R. 1982), consistían en:

- Estimación cuantitativa de las poblaciones naturales de *B. oleae* (Gmel.), tanto a nivel de los estados evolutivos adultos como de los preimaginales
- Estudio de la dinámica de sus poblaciones adultas y preimaginales, analizando prioritariamente las relaciones existentes entre las capturas y las infecciones posteriores observadas en fruto
- Estudio de la capacidad de atracción de diferentes sistemas de observación de las poblaciones adultas

Al completarse la transferencia de competencias a las Comunidades Autónomas implicadas, y considerando que se debe mantener el carácter de campaña fitosanitaria de interés nacional, en 1984 se declara obligatorio el tratamiento contra la mosca del olivo. Las zonas de olivar a tratar serán las que determinen la Junta de Andalucía, Diputación General de Aragón, Junta de Comunidades de Castilla-La Mancha, Generalidad de Cataluña, Junta Regional de Extremadura, Comunidad Autónoma de Madrid y Comunidad Valenciana.

A finales de los 80 el Plan Nacional de Mosca del Olivo, permite:

- Fijar los momentos óptimos de tratamientos (DEL RÍO, G. 1985; MONTIEL, A. 1986), cuando el fruto es receptivo para la oviposición, al conocer los periodos exactos en que se presenta actividad sexual en *B. oleae*
- Comprobar la eficacia de los tratamientos realizados contra la plaga, midiendo los niveles de captura de adultos, antes y después de aquellos
- Utilizar las correlaciones entre las capturas en las trampas y las infestaciones en fruto (BALLATORI *et al.* 1980; MON-

TIEL, A. Y MORENO, R. 1982; CROVETTI *et al.* 1983), para definir los umbrales de tratamiento (DEL RÍO, G. 1985) o establecer modelos de previsión del riesgo (MONTIEL, A. Y MORENO, R. 1982)

- Aproximar los criterios de seguimiento y actuación ante la plaga a nivel nacional, al contar con el asesoramiento y participación del Grupo de Trabajo de Fitosanidad del Olivo, integrado por técnicos de los Servicios de Sanidad Vegetal de las principales Comunidades Autónomas productoras

Con la aplicación del Plan Nacional de Mosca del Olivo se adquiere un mejor conocimiento de la especie, fundamentalmente en relación con el medio ambiente en que se desarrolla, básico para el establecimiento de modelos matemáticos simples de previsión, fácilmente transferibles a los agricultores a quienes, por medio de las Estaciones de Aviso Agrícolas se concienciaba para que aplicasen los tratamientos en el momento idóneo, empleando técnicas de control integrado, evitando así los tratamientos a “calendario fijo”.

En 1986 se produce la adhesión de España a la Comunidad Económica Europea (CEE), cuya organización común de mercados en el sector de las materias grasas se estableció mediante el Reglamento nº 136/66/CEE. Por ello, cuando en junio de 1989 la CEE, adopta medidas destinadas a mejorar la calidad de la producción de aceite de oliva para la campaña 1989/90, siendo la primera de ellas la lucha contra la mosca del olivo, la adaptación del Plan Nacional de Mosca del Olivo a los requisitos exigidos a los Estados miembros es prácticamente automática.

El reparto de los recursos para financiar estas medidas se hace en función de la cuantía retenida previamente en cada Estado miembro: un 2 % de la ayuda a la producción asignada a los productores de aceite de oliva será el dedicado a la financiación de acciones específicas dirigidas a la mejora de la calidad del aceite de oliva en cada Estado miembro.

Este impulso de la actual Unión Europea (U.E.) a la puesta en marcha de un Programa Nacional Anual en los Estados miembros productores de aceite de oliva, es aprovechado en España desde 1990, convirtiendo el anterior Plan Nacional de Mosca del Olivo en el “Programa de Mejora de la Calidad de la Producción de Aceite de Oliva”. La financiación mediante fondos de la Unión Europea a través del Fondo Europeo de Orientación y Garantía Agrícola (FEOGA) completaría la ayuda a la producción compensando la retención efectuada desde la adhesión de España a la U.E.

A partir de noviembre del 2001, la Comisión posibilita la ampliación del Programa convirtiéndolo en el “Programa de Mejora de la Calidad de la Producción de Aceite de Oliva y de Aceitunas de Mesa”. El porcentaje de la ayuda a la producción asignada a los productores de aceite de oliva y aceitunas de mesa, ahora fijado en un 1,4%, se destina a la financiación de las acciones que deben llevarse a cabo en los Estados miembros para mejorar la calidad de la producción de aceite de oliva y aceitunas de mesa y su repercusión en el medio ambiente.

El Programa desarrolla una serie de actuaciones que se agruparon en siete subprogramas distintos; el primero de ellos la “Lucha contra la mosca del olivo y otros organismos nocivos”. La coordinación y gestión del Programa siempre ha correspondido al Ministerio, encargándose la Dirección General de Sanidad de la Producción Agraria de la “Red de control, alerta y evaluación de la mosca del olivo”.

En 2005 concluye la financiación del Programa, siendo de nuevo el Ministerio quien, con cargo a los Presupuestos del Estado, ha ampliado el “Plan Dacus” inicial y, desde 2006 en adelante, ha mantenido el sistema de control, alerta y evaluación de la plaga (RED DACUS) para detectar el momento de aparición del insecto, valorar el riesgo para el cultivo y controlarlo aplicando los tratamientos adecuados en los momentos más eficaces.

La mosca del olivo (*Bactrocera oleae* Gmelin, 1790 = *Dacus oleae*) es considerada la principal plaga del cultivo del olivo (ALVARADO *et al.* 2001) en todos los países de la cuenca mediterránea, debido a que los daños causados al fruto tienen repercusiones económicas importantes en toda la región y se precisa realizar un control anual sobre la plaga para atenuar los efectos de la misma (HANIOTAKIS, G. E. 2005).

El daño es consecuencia de la oviposición de este díptero, perteneciente a la familia de

los tefritidos, bajo la cutícula del fruto del olivo, una drupa compuesta fundamentalmente por tres tejidos, endocarpo, mesocarpo y exocarpo correspondientes con el hueso, la pulpa y la piel respectivamente. Incluso en el caso de aquellas puestas que no prosperan, la marca dejada en el exocarpo deprecia e incluso descarta la producción como aceituna de mesa. Si la puesta se desarrolla con normalidad, completará sus estados larvarios en el mesocarpo, a expensas del cual se alimentará.



Figura 1. *B. oleae* ovipositando

Según progresa la galería de alimentación se incrementa el daño al fruto: de forma directa por la pérdida de pulpa y la caída precoz de frutos causada por la ruptura de vasos que también acelera la maduración (MONTIEL, A. Y MADUEÑO, C. 1995; NEUENSCHWANDER *et al.* 1958); y de forma indirecta al constituir la vía de entrada de microorganismos (GONZÁLEZ *et*

al. 2006) que alteran gravemente las cualidades organolépticas de los aceites obtenidos a partir de los frutos dañados, ya descartados como aceituna de mesa. Incluso las picadas en las que finalmente no se deposita el huevo, pueden constituir la vía de infección de hongos al fruto (BIURRUN *et al.* 2009) favoreciendo también su caída.



Figura 2. Parcela de olivar. *B. oleae* abandonando el fruto tras completar su evolución larvaria

Una vez abandonado el fruto como adulto, pupa o larva, se incrementa la aerobiosis en el interior del fruto por los agujeros de emergencia de la mosca. La microflora saprofita encuentra condiciones de nutrientes y humedad óptimas para su desarrollo (TORRES-VILA *et al.*, 2003). Como efecto de la proliferación microbiana se

produce la hidrólisis de los triglicéridos, catalizada por las lipasas de la microflora establecida, lo que se traduce en un incremento, a veces grave, de la acidez del aceite (MÜLLER, G. 1981).

La cuantía del daño puede multiplicarse exponencialmente al tratarse de un insecto multi-voltino, cuyo número de generaciones anuales

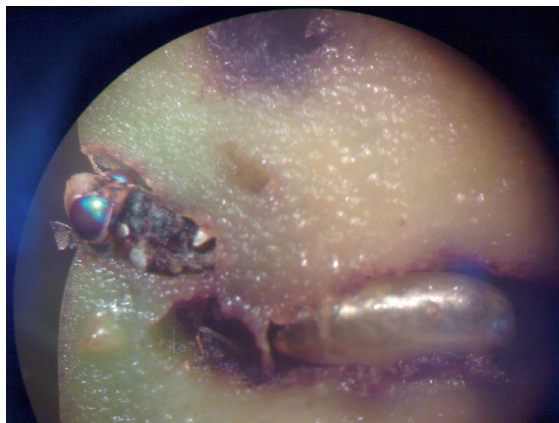


Figura 3. *B. oleae* abandonando el fruto (vista de binocular). Se observa el *ptilinum*, membrana ubicada en la parte frontal de la cabeza que, al dilatarse, permite romper la piel de pupario y fruto para la emergencia del adulto

varía en función de las condiciones ambientales (DELRIÓ, G.; CAVALLORO, R.; 1977).

Así pues, en la preparación de una adecuada campaña de tratamientos para salvaguardar la producción oleícola, son vitales el conocimiento de las condiciones climáticas y la cuantificación de los niveles de población de *B. oleae*. Especialmente si las condiciones son favorables para el desarrollo de esta plaga endémica.

El cultivo del olivo, emblemático en España, supone para nuestra economía una importante fuente de riqueza económica, cultural y medioambiental; permaneciendo desde hace años como reseña internacional, al haber convertido al país en el principal productor de aceituna y aceite a nivel mundial. Según datos del Consejo Oleícola Internacional (COI, 2013), como media se supera el 40% de la

producción mundial de aceite y el 23% de la producción de aceituna de mesa.

La producción definitiva, a nivel mundial para la campaña 2010/11, de este organismo intergubernamental, se sitúa en las 3.075.000 toneladas de aceite de oliva y 2.563.000 toneladas de aceituna de mesa. De ellas, 1.391.900 toneladas corresponden al aceite de oliva español y 608.600 toneladas a las aceitunas de mesa nacionales.

La superficie olivarera en España alcanza las 2.475.466 hectáreas, sin tener en cuenta los árboles diseminados (MAGRAMA 2011).

MATERIAL Y MÉTODOS

En las zonas olivareras consideradas prioritarias para la lucha contra la mosca del olivo, se establecen las correspondientes re-

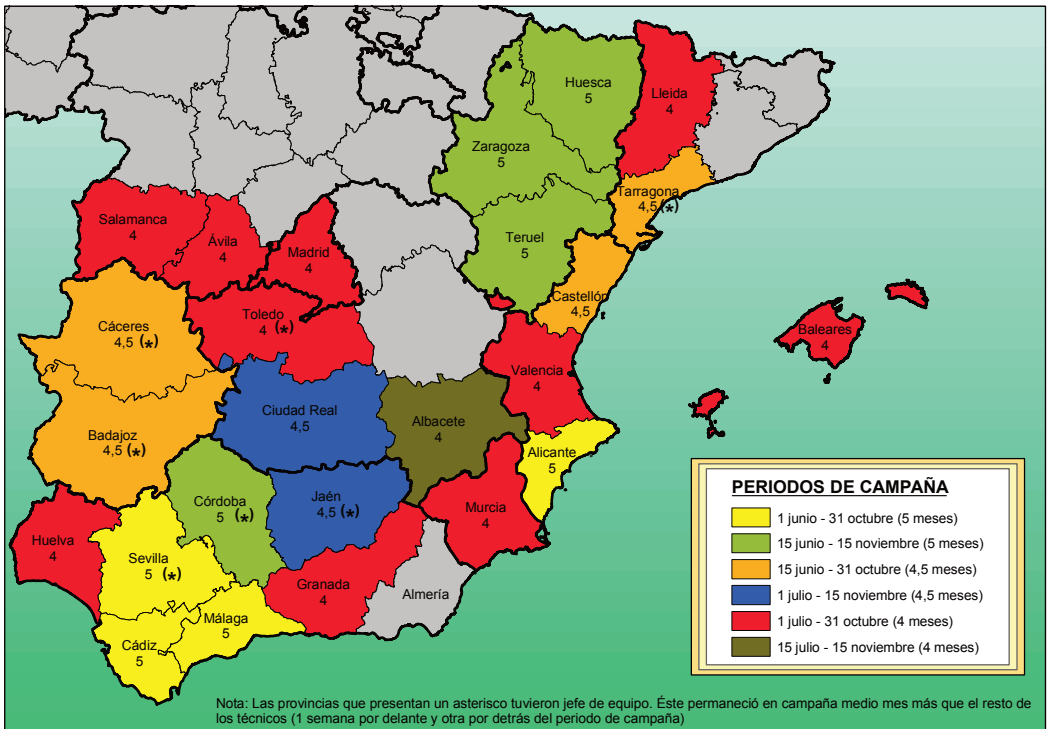


Figura 4. Mapa de Periodos Tipo de Campaña de la RED DACUS

Cuadro 1. Dimensionamiento de la “RED DACUS” y evolución a lo largo de sus 22 Campañas

	1990	1991	1992	1993	1994	1995	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005-2007	2008	2009-2010	2011
Observadores de campo	49	49	55	57	60	63	63	64	70	78	83	86	89	94	94	94	96	95	53
Estaciones de control	325	430	561	588	664	828	828	828	858	1.142	1.134	1.336	1.577	1.627	1.647	1.690	1.710	950	490
Estaciones agrometeorológicas	30	34	44	46	52	64	64	69	71	82	85	90	91	95	95	95	95	95	95
Ordenadores	22	22	22	23	23	23	23	23	25	25	24	24	24	24	24	24	24	24	24
Provincias implicadas	22	21	21	21	21	21	21	21	23	24	26	26	26	26	26	26	26	26	26
Comunidades Autónomas implicadas	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10

des de estaciones de control estratégicas y de estaciones agrometeorológicas automáticas (EMAS), constituyendo la RED DACUS.

Esta Red, establecida en todas las zonas olivereras con existencia declarada de la plaga, comprende 26 provincias de 10 Comunidades Autónomas (Andalucía, Aragón, Castilla y León, Castilla-La Mancha, Cataluña, Extremadura, Islas Baleares, Comunidad de Madrid, Comunidad Valenciana y Región de Murcia), cubriendo en 2010 un total de 1.416.191 ha de olivar. La evolución de la RED DACUS se detalla a continuación en el Cuadro nº 1: “Dimensionamiento de la RED DACUS y Evolución a lo Largo de sus 22 Campañas”

La duración media de la campaña es de 4,2 meses a nivel nacional, adaptándose en cada provincia al estado fenológico del olivar y de la plaga.

Cada técnico de campo realiza sus observaciones en 10 estaciones de control o parcelas de 5 hectáreas de olivar que son representativas de una superficie aproximada de 1.000 ha. La estación de control consta de 5 parcelas muestrales, con una superficie de olivar mínima de 1 ha cada una de ellas, en las cuales se instalan las trampas de captura para monitoreo. Cada zona de control dispone de una EMA que proporciona los datos climáticos a considerar en los modelos matemáticos de previsión de evolución de la plaga.

El tipo de trampas empleadas en la RED DACUS es el heredado del Plan Nacional de la Mosca del Olivo, el cual ya había realizado trabajos preliminares para establecer las concentraciones óptimas para monitorización y aplicación en campo (MONTIEL *et al.* 1982), instalándose por parcela muestral:

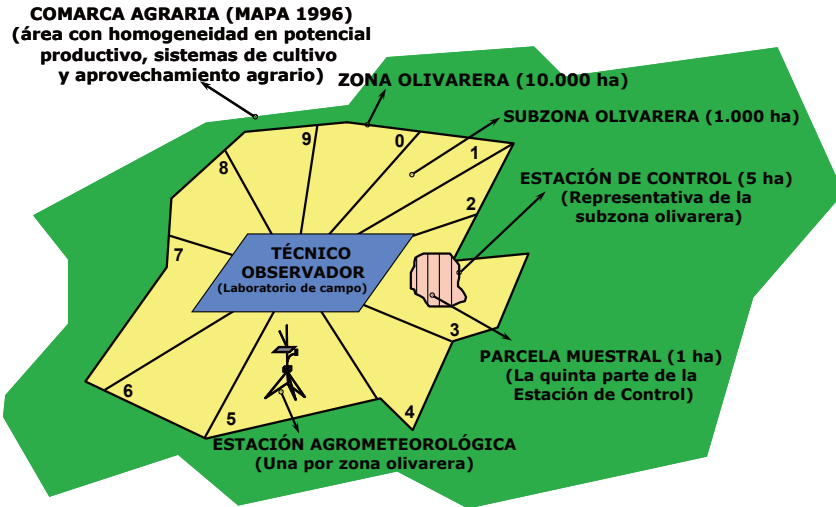


Figura 5. Zonificación de la RED DACUS

Un mosquero troncocónico de cristal tipo Mac-Phail, con una capacidad de 150 cm³, cargado con amonio fosfato diamónico técnico [(NH₄)₂HPO₄] en disolución al 4% como atrayente alimenticio. El agua actúa como insecticida por ahogamiento. Se coloca en el interior de la copa del árbol, con orientación Sur y a una altura entre 1,5 y 2,0 m (altura del operador). La solución se renueva cada semana, al retirar y guardar en un bote, con su procedencia perfectamente identificada, las capturas de *B. oleae* que se recogen del interior del mosquero.



Figura 6. Colocación de mosquero Mac-Phail en el interior del olivo, orientación Sur

Una trampa cromotrópica cebada con feromona específica de larga duración de *B. oleae*. Consiste en una placa de plástico amarillo, engomada por ambas caras con goma sintética de larga duración, tamaño de 14 x 23 x 0,1 cm, y colocada en la orientación Sur-Oeste del árbol, en la zona exterior de la copa, e igualmente a una altura entre 1,5 y 2,0 m. Para mantener su atracción cromática y adherencia la placa se renueva al menos cada 8 semanas y siempre que se detecte pérdidas de eficacia. El principal componente de la feromona, 80 mg de espiroacetal [1,7 dioxaspiro (5,5) undecano] al 4%, sintetizado en la Universidad de Southampton (JONES *et al*, 1983), se encuentra en el interior de una cápsula resistente a la radiación solar ultravioleta, produciendo la liberación de feromona de forma homogénea durante los 120 días de vida útil de la cápsula.

Las actuales estaciones agrometeorológicas de la RED DACUS (EMAS) constituyen sistemas modulares de funcionamiento autónomo (autómata programable), alimentados mediante un panel solar auxiliado con una batería recargable, que asegura el funcionamiento de las estaciones en horas nocturnas y días nublados. Están compuestas por el módulo central o



Figura 7. Colocación de trampa cromotrópica en el exterior del olivo, orientación Sur-Oeste. Detalle de capturas

Datalogger (en el que se instala el programa informático que gestiona el funcionamiento de los distintos sensores y almacena los datos registrados por la estación), los sensores para los parámetros meteorológicos a registrar (pluviómetro, piranómetro y sensor de humedad y temperatura), trípode de sujeción, pararrayos y cercado protector; desde 2002 disponen de un sistema automático de captura de datos diario mediante telefonía GSM, aunque se mantiene la posibilidad de recogida de datos a través de un terminal portátil.

Cada zona olivarera dispone igualmente de un sencillo laboratorio de campo para el



Figura 8. Estación Agrometeorológica de Loeches (Madrid)

análisis de muestras, consistente en una lupa estereoscópica con oculares de 10X aumentos asociados a un zoom de 1X a 4X aumentos y haces de luz incidente y luz transmitida que se pueden emplear de forma conjunta o por separado.

1. Sistemática de trabajo en campo

Las observaciones de campo se realizan a través de técnicos (ingenieros agrónomos, agrícolas y biólogos) contratados a través de la Empresa Pública Tragsatec (Tecnologías y Servicios Agrarios, S.A.), empresa filial de la matriz Grupo Tragsa (Empresa de Transformación Agraria, S.A.).

Para reforzar el seguimiento, amparadas por su respectiva normativa y apoyadas todas ellas por la administración correspondiente, los técnicos de las Agrupaciones para el Tratamiento Integrado en la Agricultura (ATRIAS) de Andalucía, las Asociaciones de Sanidad Vegetal (ASV) en Castilla-La Mancha y Asociaciones de Defensa Vegetal (ADV) de Cataluña siguen la misma sistemática de trabajo recogidas en el “Protocolo de Trabajo” y “Manual de Campo” de la RED DACUS.

Esta sistemática de trabajo en campo se divide en tres actividades principales: muestreo de frutos, retirada de capturas en las trampas de monitoreo y estudio de las causas de caída de la aceituna; completándose con las observaciones del técnico sobre fenología del olivar, receptividad del fruto y estimaciones de cosecha así como con los registros climáticos de las EMAS.

1.1. Muestreo aleatorio de frutos

Con el fin de detectar las primeras aceitunas picadas, cuantificar el porcentaje de frutos afectados y evaluar el estado de la población larvaria de *B. oleae* en la aceituna; semanalmente en la parcela muestral se lleva a cabo un muestreo de frutos, desde el endurecimiento del hueso hasta el inicio de la recogida de la aceituna o la finalización de las campañas de tratamientos.

Tras la elección al azar de cuatro olivos, contiguos y distintos cada semana, la toma de muestras de aceituna se realiza siempre a una altura comprendida entre 1,5 y 2,0 m; rodeando el árbol para obtener frutos en las cuatro orientaciones (N, S, E, O). Se cogen un total de 50 frutos por árbol, que se guardan en bolsas identificadas y perforadas para que la aceituna no se estropee por la transpiración antes de ser analizada en el laboratorio. Se deben manejar y conservar adecuadamente para mantener la viabilidad de las puestas, larvas y ninfas hasta el examen en laboratorio. En total se obtienen 200 frutos por parcela muestral. Esta sistemática se repite para cada una de las 5 parcelas muestrales de la estación de control, obteniéndose un total de 1.000 frutos por estación de control.

Una vez obtenidos frutos picados en dos semanas consecutivas, se reduce la muestra de frutos. Entonces el muestreo se limita a 10 frutos por árbol, es decir, 40 frutos por parcela muestral y 200 frutos por estación de control.

1.2. Retirada de capturas en las trampas de monitoreo

Durante la campaña, al renovar semanalmente la solución de fosfato diamónico, el técnico recoge todas las capturas de *B. oleae*, identificando inequívocamente el mosquero de procedencia y conservando las moscas en una solución de agua y alcohol al 50% hasta el conteo diferenciado por sexos, y examen de hembras en laboratorio.

También semanalmente se retiran y cuentan, diferenciándolas por sexo, las capturas de *B. oleae* en cada una de las placas cromotrópicas, anotando igualmente con precisión la procedencia del dato. La trampa se limpia de otros restos (otros insectos, flores, hojas caídas, etc.), eliminando la masa foliar en la periferia de la placa que se pueda engomar, para mantener la atracción cromática y adherencia. Los ejemplares de *B. oleae*, una vez hecho el recuento, se desechan al resultar impracticable su manipulación.

Con la finalización de la campaña ambos tipos de trampa se retiran del cultivo para no interferir en las labores propias del olivar ni estrangular en su engrosamiento las ramas portadoras.

1.3. Estudio de Causas de Caída de la Aceituna

Con el propósito de obtener una estimación sobre las pérdidas directas por caída del fruto debidas a la mosca del olivo, desde el año 1998 en que se realizó por primera vez, durante la Campaña se efectúa un estudio para determinar la causa que ha provocado el desprendimiento de frutos: plagas, enfermedades, agentes externos, causas fisiológicas e incluso maduración; estableciendo el porcentaje que supone cada causa respecto al total de aceituna desprendida. Desde 2001 el estudio distingue, además, el porcentaje ocasionado por cada causa respecto al total de la cosecha.

Puesto que, como se ha indicado, en algunos casos es difícil identificar la causa final que ha provocado la caída del fruto, siempre que uno de los frutos recogidos muestra picada, se contabiliza como caída debida a *B. oleae*.

Los Responsables Provinciales eligen dos Estaciones de Control de entre las asignadas a cada técnico de campo destinado en la provincia. Este último, en cada una de las Estaciones de Control seleccionadas elige dos árboles representativos de la misma. En las zonas en las que la heterogeneidad es alta, tanto por su orografía como por su diversidad varietal, se procura que la elección sea lo más representativa posible.

El seguimiento se realiza durante toda la Campaña con controles semanales. En la primera visita a las Estaciones de Control, en la que se hace la elección de los árboles, se aprovecha para realizar el primer control, visualizando la aceituna del vuelo y limpiando el suelo de aceituna de la pasada campaña.

Posteriormente en visitas semanales se realizan tanto el estudio de la aceituna en árbol (vuelo) como en suelo:

— Estudio de la aceituna en el árbol (vuelo): Se estudian visualmente 50 aceitunas de cada árbol sin necesidad de arrancar esos frutos, recorriendo todo el perímetro de la copa del árbol, a fin de que las aceitunas que se observen pertenezcan a todas las orientaciones del mismo. Durante este estudio visual se anota el número de aceitunas sanas, de aceitunas picadas sin orificio de salida y de aceitunas picadas con orificio de salida. En el caso de encontrarse diferentes infestaciones en una misma aceituna, se calificará el fruto dentro de la infestación que sea más perjudicial para el mantenimiento de la aceituna en el árbol, teniendo en cuenta que la ruptura de vasos y la exposición a infecciones evoluciona en paralelo al desarrollo evolutivo.

— Estudio de la aceituna caída en el suelo: Se recogen todas las aceitunas caídas en el área de proyección de la copa del árbol, introduciéndolas en una bolsa perfectamente identificada (anotando tanto el código de la Estación como el del árbol) para su posterior estudio en laboratorio.

Toda las muestras recogidas en campo (frutos muestreados, aceitunas caídas y hembras capturadas en las trampas Mac-Phail) se someten a posterior análisis en laboratorio y la información obtenida será finalmente grabada, procesada y transmitida.

2. Trabajo en laboratorio

En laboratorio, mediante disección, se determina la fertilidad de las hembras de *B. oleae* sobre un máximo de 30 hembras por cada mosquero Mac-Phail, contando los huevos de 10 de ellas. Se analiza también la presencia de los diferentes estados evolutivos de la plaga en las aceitunas que presentan picada (huevos, larva de 1º, 2º o 3º estado, pupa, pupario o galería abandonada), así como su viabilidad, contabilizando en caso de coexis-

tencia el estado más perjudicial para el fruto, tal y como se ha mencionado anteriormente.

Con estos datos por estación de control, junto con el recuento de capturas obtenido en campo, se obtienen finalmente los índices de control de la población, los cuales definen las condiciones que aconsejan el tratamiento.

2.1. Determinación de índices de control de la población

Por Estación de Control se determinan los siguientes índices:

- Índice de aceituna picada con formas vivas I_{PFV} (%): es el número de frutos infestados con formas vivas dividido por el número de frutos de la muestra, expresado como porcentaje.

$$I_{PFV} = \frac{\text{Nº de frutos infestados con formas vivas}}{\text{Nº de frutos de la muestra}} \times 100$$

- Índice de picada total I_{PT} (%): es el número de frutos infestados con formas vivas o muertas, dividido por el número de frutos de la muestra, expresado como porcentaje.

$$I_{PT} = \frac{\text{Nº total de frutos infestados}}{\text{Nº de frutos de la muestra}} \times 100$$

- Índice de riesgo I_R (huevos/trampa x día): se obtiene de la fórmula

$$I_R = \frac{\frac{Tb}{Ta} \times \frac{Td}{Tc} \times Th}{N \times t}$$

Siendo,

Ta= Nº total de ♀ observadas en trampas Mac-Phail por Estación de Control

Tb= Nº total de ♀ con huevos

Tc= Nº total de ♀ con huevos observadas

Td= Nº total de huevos contados

Th= Nº total de ♀ en Mc-Phail

N = Nº Mosqueros (=5 si no hay roturas o pérdidas)

t = Nº días observados

Tm= Nº total de ♂ en Mac-Phail

- Índice de capturas por trampa y día I_{CTD} : la trampa puede ser el mosquero Mac-Phail o la placa cromotrópica cebada con feromona

$$I_{CTD} = \frac{[N^{\circ} \text{ total de } \text{♀} + n^{\circ} \text{ total de } \text{♂}]}{N \times t}$$

- Índice de fecundidad I_F : obtenido para las hembras procedentes del mosquero Mac-Phail

$$I_F = \frac{N^{\circ} \text{ total de } \text{♀} \text{ con huevos}}{N^{\circ} \text{ total de } \text{♀} \text{ observadas por estación de control}} \times 100$$

2.2. Condiciones que aconsejan el tratamiento

- Primera aplicación:

Si se ha detectado picada, cuando $I_{CTD} > 1$ (en Mac-Phail) y $I_F > 60\%$

Si **no** se detecta picada, cuando $I_{CTD} > 5$ (en Mac-Phail o cromotrópica) y $I_F > 60\%$

- Sigüientes aplicaciones:

Con capturas en Mac-Phail, cuando $I_{CTD} > 1$ en Mac-Phail, $I_F > 60\%$ y $I_{PFV} > 1\%$

Sin capturas en Mac-Phail, cuando $I_{CTD} > 3$ en cromotrópicas y $I_{PFV} > 1\%$

3. Apoyo informático

Para el cálculo de los anteriores índices por estación de control, agrupados por municipio, comarca, o provincia se dispone de:

- Aplicación Datbio: herramienta informática instalable en el ordenador personal de cada técnico en la que se graban semanalmente los datos biológicos obtenidos en la zona asignada. Contiene numerosos filtros para evitar la introducción de datos erróneos.
- Dacus 2000: en esta aplicación se vuelcan, a través de correo electrónico, memoria extraíble, etc., los datos zonales grabados por los técnicos en el Datbio. Dacus 2000 gestiona tanto información sobre índices poblacionales de la mosca como sobre los datos climáticos. Mediante los listados y gráficos generados, los responsables provinciales de campaña en la administración autonómica reciben información del estado de la plaga

en cada una de las zonas olivereras de su provincia.

- Módulo Nacional: Recoge, a nivel municipal, comarcal, provincial y nacional, los porcentajes y evolución de picada, superficie con seguimiento, superficie finalmente tratada, así como los registros climáticos recogidos por las EMAS.

Los datos climáticos se incorporan a la aplicación Dacus 2000 con la periodicidad establecida por los responsables provinciales, generalmente 7 días, mediante correo electrónico enviado desde el Servidor Central de Tragsatec, tras haber sido recogidos los registros capturados por los sensores de las 95 EMAS de la RED mediante el programa *Loggernet* de *Campbell Scientific*[®], a través de telefonía móvil GSM en tiempo real de forma automática y directa.

Previo al envío, el Servidor Central, incorpora los registros a una base de datos donde se realiza un filtrado automático que hace una primera detección de los valores anormales o las desviaciones registradas en las lecturas de los sensores, eliminando todos aquellos datos climáticos que se encuentran fuera de rango, establecidos en función de los valores normales, extremos y de superación de umbrales de la Agencia Estatal de Meteorología (AEMET, 2013). Esta depuración se basa en 2 niveles de filtrado establecidos por AEMET: el primero basado en los mismos filtros lógicos que este organismo del Ministerio de Agricultura utiliza para su red de estaciones automáticas, y un segundo basado en la comparación de los registros capturados con los existentes en la base de datos de las efemérides registradas por las Estaciones Meteorológicas AEMET más cercanas a la EMA correspondiente de la RED DACUS.

Mediante esta depuración de datos, se descubren aquellos componentes averiados o en mal estado en cada una de las Estaciones para ser posteriormente sustituidos en la mayor brevedad de tiempo, y se garantiza una mayor fiabilidad de los valores incorporados.

Entre los receptores de la información climática de la RED DACUS se encuentran ac-

tualmente la Red de Alerta e Información Fito-sanitaria de Andalucía (RAIF), ATRIAS, APIS, ADV, ASV, cooperativas agrícolas y otros interesados e implicados en el seguimiento.

Las actividades desarrolladas semanalmente por los técnicos de campo, trabajo de campo, trabajo de laboratorio, y grabación de datos; se traducen en los distintos informes por municipio, comarca y provincia, extraídos por los técnicos de la Aplicación Dacus

2000. Toda la información es analizada con el responsable provincial de la administración autonómica y demás técnicos de la provincia, en una reunión también semanal, para decidir la conveniencia de realizar los tratamientos recomendados y, en su caso, la prioridad o efectividad de los mismos.

El funcionamiento de la RED DACUS se recoge en la figura 9: “Esquema de funcionamiento de la RED DACUS”

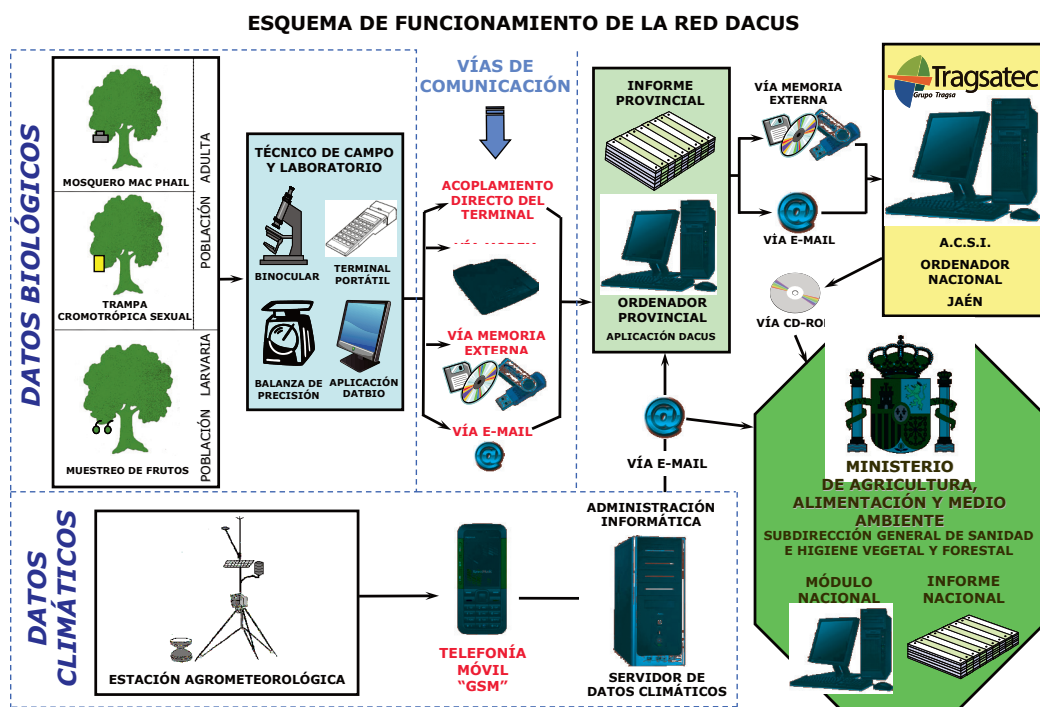


Figura 9. Esquema de funcionamiento de la RED DACUS

RESULTADOS

1. Herramientas informáticas

El Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente está gestionando el acceso público, a través de su página web (www.magrama.es), a las aplicaciones informáticas “Curvas de vuelo” y “Datos His-

tóricos”, que permitirán previa descarga de los datos generados anualmente, dentro del periodo 1993-2011, gestionar la información biológica y climática generada dentro de la RED DACUS.

- “Curvas de vuelo” representa gráficamente la evolución, en el año o varios años, de datos numéricos, facilitando la visualiza-

ción de la relación existente entre los datos comparados. Los datos (índices calculados, estados poblacionales, registros meteorológicos) se pueden obtener a nivel municipal, comarcal, provincial o nacional.

- “Datos Históricos” proporciona en formato PDF el listado de datos biológicos o climáticos generados en la campaña seleccionada en un determinado municipio, comarca o provincia.

Los datos descargados en .pdf, .mdb o fácilmente transformados a .xls, una vez relacionados entre sí o con datos obtenidos de otras fuentes, permitirán al usuario elaborar cuadros y gráficos para una más fácil aproximación a la experiencia en campo relativa a la biología de la mosca del olivo y de la climatología registrada en las zonas olivareras.

A continuación se incluyen algunos ejemplos.

2. Porcentaje de picada

En el Cuadro nº 2: “Distribución Provincial de la Media Ponderada por Superficie de Picada Total al Finalizar la Campaña (1993-

2011)”, obtenido a partir de la descarga de las bases de datos, se adjunta el dato de picada total registrado por provincias, comunidades autónomas y a nivel nacional, extraídos de desde 1993 hasta la última campaña 2011.

Al procesar dichos datos se obtiene, en el periodo de referencia, el porcentaje medio de picada. El porcentaje medio de picada nacional resultante se sitúa en el 12,7%.

Se observa gran variación anual en los niveles de picada tanto provincial como de comunidad autónoma y nacional. En la superficie nacional controlada, los niveles de picada variaron desde el 4,1% obtenido en la campaña 2003 hasta el 30,0% obtenido en la campaña 2008.

En la Figura 10: “Comparación del Porcentaje Medio de Picada de las Campañas 2008, 2009, 2010, 2011 y Curva de Tendencia (1993-2011)”, se compara la evolución anual del porcentaje de picada entre las 4 últimas campañas, incluida la 2008 que registró el máximo histórico de la RED DACUS. Como referencia también se inserta la curva de tendencia o media de las campañas descargables en la web.

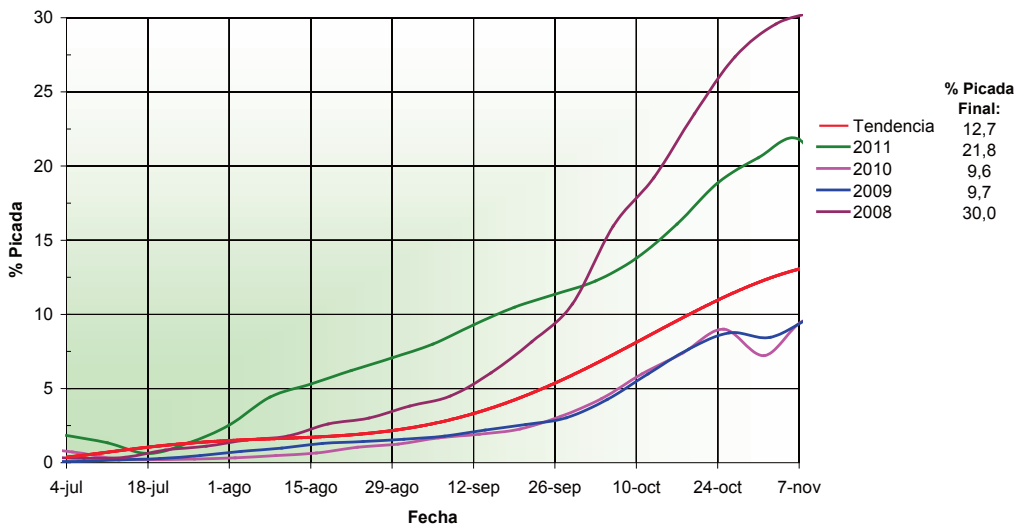


Figura 10. Comparación del Porcentaje Medio de Picada de las Campañas 2008, 2009, 2010, 2011 y Curva de Tendencia (1993-2011)

Cuadro 2. Distribución Provincial de la Media Ponderada por Superficie de Picada Total al Finalizar la Campaña (1993-2011)

CC.AA.	% Frutos picados totales																	MEDIA RED				
	1993	1994	1995	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009		2010	2011		
ANDALUCÍA	5,9%	3,3%	3,5%	3,8%	7,9%	6,0%	4,0%	1,7%	7,8%	14,8%	2,7%	4,3%	3,1%	6,5%	10,7%	21,4%	7,4%	6,9%	14,9%	7,2%		
ALMERÍA	S/D	S/D	S/D	S/D	S/D	S/D	S/D	S/D	S/D	S/D	S/D	S/D	S/D	S/D	8,3%	S/D	S/D	S/D	S/D	S/D	11,9%	
CÁDIZ	29,2%	9,7%	9,9%	28,0%	21,2%	3,9%	8,3%	3,4%	6,0%	2,4%	6,6%	13,9%	5,8%	13,8%	50,0%	20,6%	7,8%	22,4%	32,2%	15,5%	5,1%	
CÓRDOBA	4,2%	2,7%	2,2%	1,5%	3,0%	1,2%	0,5%	0,5%	11,9%	11,9%	1,4%	2,5%	2,5%	3,9%	8,1%	15,4%	5,9%	7,6%	14,1%	5,1%	5,1%	
GRANADA	2,9%	4,5%	5,0%	1,7%	3,9%	4,8%	1,2%	0,9%	3,5%	9,7%	5,5%	6,2%	3,0%	6,5%	10,9%	26,2%	12,8%	7,9%	10,2%	6,7%	6,7%	
HUELVA	85,3%	27,6%	66,5%	42,0%	26,8%	6,6%	24,4%	28,5%	34,7%	30,0%	6,2%	16,0%	7,0%	9,9%	35,2%	31,3%	5,7%	3,5%	20,3%	26,8%	26,8%	
JÁEN	1,7%	2,4%	1,3%	1,3%	6,8%	10,3%	3,4%	1,4%	9,1%	17,9%	3,0%	3,9%	2,9%	6,2%	4,6%	22,8%	8,5%	5,9%	11,2%	6,6%	6,6%	
MÁLAGA	5,6%	1,1%	6,3%	5,0%	19,0%	6,7%	3,3%	3,3%	8,2%	7,3%	3,5%	3,2%	3,8%	7,7%	10,0%	11,0%	3,4%	5,0%	13,8%	6,5%	6,5%	
SEVILLA	9,3%	4,3%	3,5%	15,5%	14,4%	4,3%	10,1%	2,6%	8,5%	17,7%	2,9%	8,4%	4,5%	11,9%	34,3%	36,7%	6,8%	6,6%	56,6%	13,6%	13,6%	
ARAGÓN	17,0%	6,9%	19,5%	14,0%	50,8%	8,9%	5,3%	8,1%	5,5%	13,5%	3,1%	14,0%	5,0%	9,1%	6,4%	14,2%	4,2%	1,1%	11,7%	11,5%	11,5%	
HUESCA	S/D	S/D	S/D	S/D	S/D	S/D	S/D	S/D	S/D	S/D	S/D	S/D	S/D	S/D	S/D	S/D	S/D	S/D	S/D	S/D	S/D	9,8%
TERUEL	14,4%	7,0%	19,6%	14,0%	49,3%	9,7%	3,7%	10,6%	4,3%	11,9%	4,1%	16,4%	5,8%	8,9%	6,6%	18,0%	4,8%	4,2%	11,3%	11,3%	11,3%	11,3%
ZARAGOZA	25,2%	6,6%	18,6%	13,0%	55,8%	5,5%	7,6%	6,3%	7,3%	32,0%	0,8%	12,7%	3,2%	8,1%	8,9%	12,2%	3,0%	3,0%	10,4%	11,9%	11,9%	11,9%
CASTILLA-LA MANCHA	2,0%	19,2%	9,3%	14,2%	21,8%	25,0%	7,4%	8,8%	22,6%	32,0%	6,8%	27,7%	7,9%	11,6%	39,2%	52,8%	15,1%	15,6%	36,8%	19,8%	19,8%	
ALBACETE	5,7%	1,9%	4,1%	3,3%	9,3%	20,4%	9,5%	2,6%	19,9%	52,3%	10,4%	37,8%	36,2%	24,7%	11,7%	21,5%	12,1%	5,6%	9,9%	15,7%	15,7%	
CIUDAD REAL	3,0%	28,3%	5,6%	16,0%	21,7%	34,6%	11,0%	4,0%	20,3%	30,3%	6,2%	10,7%	2,8%	7,1%	25,7%	56,4%	21,8%	17,3%	16,5%	17,9%	17,9%	
TOLEDO	0,7%	13,7%	13,6%	14,4%	24,0%	17,0%	3,1%	15,4%	24,6%	29,6%	6,8%	37,4%	7,1%	12,2%	53,2%	54,8%	9,9%	15,5%	47,8%	21,1%	21,1%	
CASTILLA-LEÓN	4,7%	72,5%	28,2%	44,8%	32,7%	81,1%	9,6%	57,7%	26,4%	39,5%	1,5%	30,1%	8,4%	3,9%	66,0%	37,7%	11,3%	7,3%	30,3%	31,2%	31,2%	
SALAMANCA	S/D	S/D	S/D	S/D	S/D	S/D	S/D	24,8%	3,5%	19,5%	1,4%	8,5%	5,7%	1,4%	8,4%	14,0%	3,9%	2,9%	9,6%	8,6%	8,6%	
CATALUNA	13,5%	19,1%	18,1%	26,1%	59,1%	13,4%	12,6%	9,3%	22,8%	78,0%	3,6%	20,2%	17,0%	29,0%	47,0%	16,8%	12,6%	15,2%	33,7%	24,6%	24,6%	
LÉRIDA	S/D	S/D	S/D	S/D	S/D	S/D	S/D	2,4%	13,2%	S/D	2,2%	12,4%	8,7%	9,3%	21,7%	3,6%	6,6%	4,7%	19,3%	9,5%	9,5%	
TARRAGONA	13,5%	19,1%	18,1%	26,1%	59,1%	13,4%	12,6%	10,5%	24,4%	78,0%	3,6%	20,2%	17,0%	29,0%	47,0%	16,8%	12,6%	15,2%	33,7%	24,6%	24,6%	
C. DE MADRID	4,7%	10,4%	33,5%	25,0%	97,8%	7,7%	5,5%	5,6%	7,8%	16,1%	5,5%	40,0%	1,4%	11,3%	29,1%	47,5%	6,3%	19,9%	15,1%	20,5%	20,5%	
MADRID	4,7%	10,4%	33,5%	25,0%	97,8%	7,7%	5,5%	5,6%	7,8%	16,1%	5,5%	40,0%	1,4%	11,3%	29,1%	47,5%	6,3%	19,9%	15,1%	20,5%	20,5%	
C. VALENCIANA	24,1%	68,7%	52,9%	26,0%	59,7%	14,3%	27,2%	18,6%	33,4%	73,1%	11,2%	32,0%	19,8%	46,7%	47,5%	43,8%	18,1%	14,5%	39,0%	35,3%	35,3%	
ALICANTE	S/D	S/D	S/D	S/D	S/D	S/D	S/D	6,9%	39,8%	71,6%	10,4%	29,4%	12,3%	42,2%	35,9%	46,6%	24,3%	19,4%	31,3%	28,3%	28,3%	
CASTELLÓN	24,1%	68,7%	52,9%	26,0%	59,7%	14,3%	27,2%	18,6%	33,4%	73,1%	11,2%	32,0%	19,8%	46,7%	47,5%	43,8%	18,1%	14,5%	39,0%	35,3%	35,3%	
VALENCIA	S/D	S/D	S/D	S/D	S/D	S/D	S/D	15,6%	36,4%	83,6%	12,0%	30,1%	23,2%	41,9%	58,5%	46,5%	19,3%	16,5%	32,3%	32,3%	32,3%	
EXTREMADURA	20,2%	38,9%	29,1%	58,4%	18,7%	33,1%	32,4%	24,8%	51,5%	51,7%	6,8%	28,5%	12,9%	14,0%	49,7%	55,2%	12,2%	9,1%	40,2%	30,4%	30,4%	
BADAJOS	34,0%	60,6%	36,9%	73,4%	24,6%	14,8%	37,0%	25,3%	49,0%	47,6%	6,9%	28,9%	11,9%	14,1%	49,0%	54,5%	10,9%	7,2%	20,5%	29,9%	29,9%	
CÁCERES	8,6%	24,5%	16,8%	25,7%	10,8%	33,1%	16,2%	22,4%	59,2%	63,4%	6,5%	28,9%	18,7%	13,5%	53,6%	59,0%	18,2%	20,5%	60,1%	32,5%	32,5%	
ISLAS BALEARES	9,2%	4,5%	19,3%	44,0%	32,5%	18,5%	21,2%	19,8%	35,3%	27,2%	5,5%	14,6%	0,3%	17,0%	21,8%	11,4%	13,7%	13,4%	25,9%	18,7%	18,7%	
ISLAS BALEARES	9,2%	4,5%	19,3%	44,0%	32,5%	18,5%	21,2%	19,8%	35,3%	27,2%	5,5%	14,6%	0,3%	17,0%	21,8%	11,4%	13,7%	13,4%	25,9%	18,7%	18,7%	
REG. DE MURCIA	7,7%	24,0%	17,9%	6,5%	39,0%	5,5%	3,2%	1,9%	S/D	34,2%	6,5%	22,2%	10,9%	41,5%	17,0%	30,7%	0,8%	4,8%	0,7%	15,3%	15,3%	
MURCIA	7,7%	24,0%	17,9%	6,5%	39,0%	5,5%	3,2%	1,9%	S/D	34,2%	6,5%	22,2%	10,9%	41,5%	17,0%	30,7%	0,8%	4,8%	0,7%	15,3%	15,3%	
ESPAÑA	7,1%	9,4%	8,0%	9,4%	17,9%	9,0%	8,3%	6,0%	14,5%	25,0%	4,1%	11,6%	6,2%	12,0%	20,8%	30,8%	9,7%	9,6%	21,8%	12,7%	12,7%	

■ Picada total mínima del periodo 1993-2011

■ Picada total máxima del periodo 1993-2011

Se advierte la continua evolución al alza del porcentaje de picada, con un incremento general en la pendiente de la curva una vez finalizado el verano, a partir de la 2ª quincena de septiembre. También la curva de tendencia, recoge este incremento en la pendiente desde la 2ª quincena del mes de septiembre, señalando el habitual incremento general de la oviposición desde estas fechas.

El descenso en el porcentaje de picada, notable en 2009 y 2010, o la atenuación de pendiente registrados a finales de octubre en las curvas de campaña y tendencia, se deben fundamentalmente la finalización del seguimiento en la mayoría de las provincias, aunque otros factores, como la caída de frutos picados pueden provocar este comportamiento anómalo en el trazado final de la curva de picada.

2.1. Relación porcentaje de picada y calidad de los aceites obtenidos

En la Figura 11: “Relación entre el Porcentaje de Picada Total Nacional y Porcentaje de cada Categoría de los Aceites Obtenidos (1996-2010)”, se muestra un ejemplo de relación entre datos de la RED DACUS y datos

obtenidos a través de otras fuentes, puesto que el diagrama incluye datos de producción disponibles en el Anuario de Estadística (MAGRAMA, 2011).

Se aprecia cómo, a nivel nacional, aquellos años en que la picada total final alcanza o supera el 15%, el porcentaje de aceite de oliva de categoría Virgen Extra no llega al 50% del total envasado.

Este daño indirecto de la plaga, limitando la obtención del aceite más cotizado, causa importantes pérdidas económicas al sector.

2.2. Relación porcentaje de picada y caída de la aceituna

El Cuadro nº 3: “Causas Principales de Caída de Fruto a Nivel Nacional, Expresado en %, Respecto a la Cosecha Total (2001-2010)”, elaborado a partir de los datos descargables de la RED DACUS y de los datos del “Estudio de Causas de Caída de la Aceituna” llevado a cabo en el periodo 2001-2010, muestra que la caída de aceituna atribuible a la mosca del olivo durante el periodo de seguimiento ha sido el 1,4% del total de la cosecha.

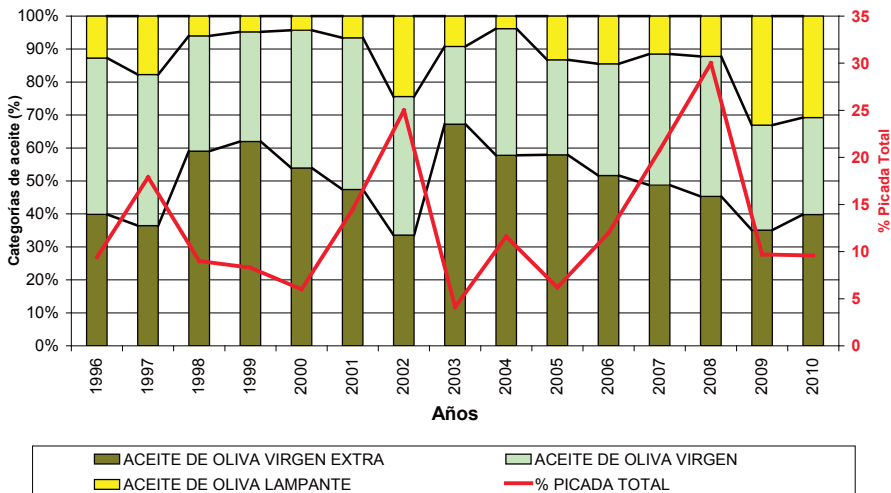


Figura 11. Relación entre el Porcentaje de Picada Total Nacional y Porcentaje de cada Categoría de los Aceites Obtenidos (1996-2010)

Cuadro 3. Causas principales de caída de fruto a nivel nacional, expresado en % respecto a la cosecha total (2001-2010)

CAUSA DE CAÍDA	AÑO										
	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	Media
Climática	3,5	6,4	4,8	3,3	3,7	5,0	5,9	6,4	2,2	1,0	4,2
<i>Prays oleae</i>	2,6	4,1	2,4	2,6	2,1	2,3	3,2	3,1	1,8	7,0	3,1
Fisiológica	3,2	2,5	2,5	1,5	2,9	3,8	4,1	2,3	2,5	3,1	2,8
<i>Bactrocera oleae</i>	1,5	5,0	0,3	0,3	0,4	1,0	1,8	2,8	0,4	0,2	1,4
Maduración	1,1	1,8	0,7	0,3	1,3	1,9	0,7	1,0	0,1	0,1	0,9
(*)Otros	0,8	0,8	0,7	0,7	0,5	0,7	0,4	1,0	0,5	1,1	0,7
Repilo	0,1	0,2	0,1	0,1	0,3	0,3	0,4	0,3	0,2	0,0	0,2
(**)Gloeosporium	0,2	0,4	0,1	0,1	0,0	0,1	0,1	0,1	0,0	0,0	0,1
CAÍDA TOTAL	13,0	21,2	11,6	8,9	11,2	15,1	16,6	17,0	7,7	12,5	13,5

(*) Desde la campaña 2007 en adelante se diferenció la caída causada por Barrenillo, hasta entonces se recogía en el apartado "Otros". Los valores obtenidos fueron 2007: 0,3; 2008: 0,7; 2009: 0,3; y 2010: 1,1

(**) *Gloeosporium* = *Colletotrichum*

Se puede observar que existen otros factores que influyen en la caída de la aceituna, como son las causas climáticas, la polilla del olivo (*Prays oleae*, Bern.), fisiológica, etc.

La aceituna caída por el conjunto de causas analizadas respecto al total de la cosecha se sitúa, como media del periodo, en el 13,5%. La mosca del olivo supone sólo la cuarta causa de caída de aceituna entre las estudiadas, aproximadamente el 10% del total de aceituna caída.

Puesto que la picada total nacional media del periodo 2001-2010 es el 14,4% (Cuadro nº 2), la aceituna caída debido a la mosca del olivo representa el 10% del fruto total picado.

Al añadir el porcentaje de aceituna picada existente en el suelo al porcentaje de aceituna picada en la copa del árbol se obtiene el

diagrama de la Figura 12: "Distribución Nacional de la Media Ponderada de Picada Total en Vuelo y Suelo (2001-2010)". Ahora, el porcentaje medio de frutos picados durante el periodo asciende al 15,8% (14,4% de picada en vuelo más el 1,4% de picada en el suelo).

Como recoge la Figura 13: "Relación del % de Aceituna Picada por *Bactrocera* Caída (Suelo) Respecto al % Total de Aceituna Picada (Vuelo+Suelo)", la ordenación de los datos en función del porcentaje resultante de picada (vuelo+suelo) indica que no hay una clara relación entre el porcentaje de picada y el porcentaje final de caída de esas aceitunas picadas pues, siendo el mejor un ajuste lineal ($y = 0,289x + 2,6231$), la fiabilidad de esta línea de tendencia no alcanza el 45% de los casos ($R^2 = 0,4473$).

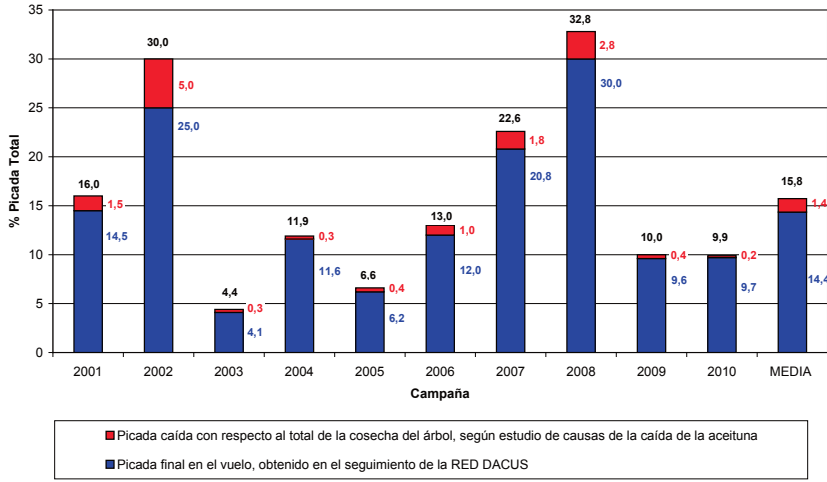


Figura 12: Distribución Nacional de la Media Ponderada de Picada Total en Vuelo y Suelo (2001-2010)

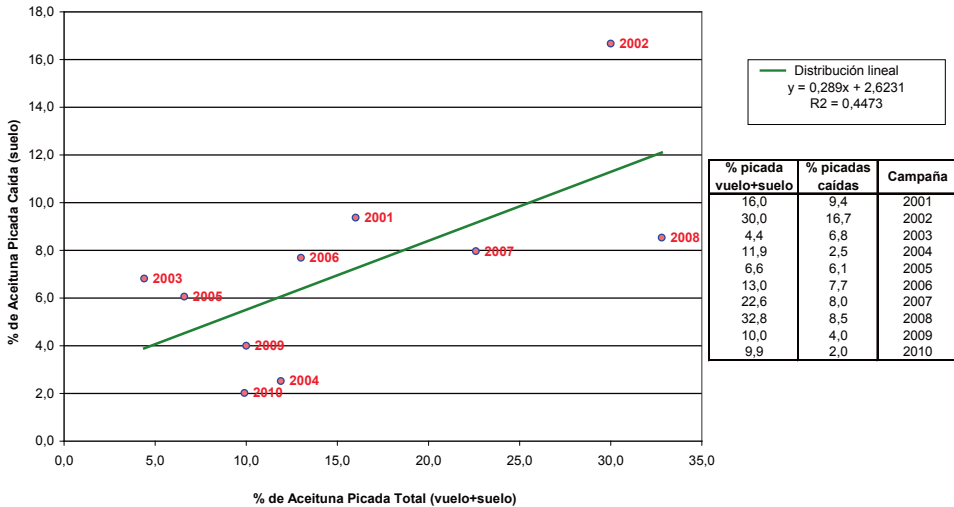


Figura 13. Relación del % de Aceituna Picada por Bactrocera Caída (Suelo) Respecto al % Total de Aceituna Picada (Vuelo+Suelo)

2.3. Relación del rendimiento en kilos de aceituna por árbol con el porcentaje de picada

Con los datos anuales de aforo, se pueden elaborar sencillas tablas o gráficas, como la mostrada en la Figura 14: “Aforo medio (1993-2011)”, la cual muestra la producción nacional, expresada en kilogramos por olivo,

que en dicho periodo oscila entre los 15 kilos/árbol de la campaña 1995 y los 43,6 kilos/árbol de 2003. El aforo medio se sitúa en 31,7 kilos/árbol.

Con el fin de profundizar en la relación existente entre la picada total, alcanzada a final de campaña, y la producción obtenida, medida en kilogramos por árbol, se ha re-

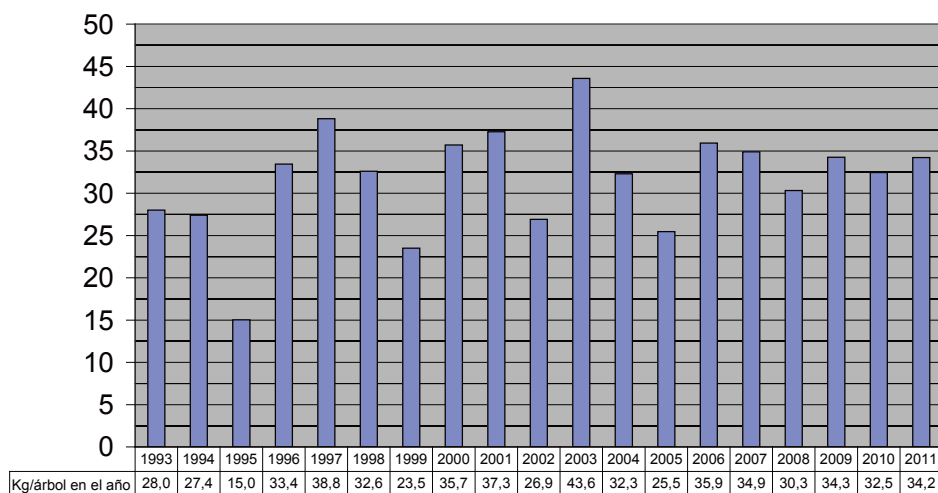


Figura 14: Aforo medio (1993-2011)

lizado una estratificación del olivar nacional, para las campañas 2005 a 2011, en 5 tramos productivos tal como recoge la Figura 15 “Media Ponderada de Picada Total por Intervalos de Producción en Kilos/Árbol (2005-2011)”.

Se observa que:

- En general el % de picada final disminuye según se incrementa la producción
- El % de picada final registrado en la superficie cuya producción supera los 20 kg/árbol es inferior a la media nacional registrada
- En el tramo productivo de 20 a 40 kg/árbol se encuentra el valor medio de picada total nacional para el conjunto de tramos productivos
- En el tramo cuya producción es inferior a 20 kg/árbol la picada total supera la media nacional
- En años con bajos porcentajes de picada, como 2005, no hay diferencias significativas entre la picada registrada en los distintos estratos productivos

En la Figura 16: “Porcentaje de Superficie Media por Tramo Productivo (2007-2011)” se indica la superficie que cada estrato productivo ocupa del total de hectáreas con

seguimiento de la RED DACUS hasta la finalización de dichas campañas. Únicamente se ha tenido en cuenta el olivar con destino a almazara, por lo que en las 1.322.951 hectáreas, no se contabiliza la superficie destinada a verdeo.

En la Figura 15 se observa que:

- El 65% de la superficie olivarera en España tiene producción superior a los 20 kg/árbol
- El 13% de la superficie total nacional obtiene rendimientos inferiores a 10 kg/árbol.

3. Índices de capturas (I_{CTD})

En la Figura 17: “Comparación del Índice Medio de Capturas en Trampa Mac-Phail de las Campañas 2008, 2009, 2010, 2011 y Curva de Tendencia (1993-2011)”, se compara la evolución anual de dicho índice entre las 4 últimas campañas, la gráfica puede generarse a través de la aplicación “Curvas de Vuelo”. Como referencia se inserta también la curva de tendencia o media de las campañas 1993-2011. La figura incluye el valor medio del índice por campaña, el dato de porcentaje de picada final anual y la picada final media del periodo 1993-2011. Se observa que:

- Contrariamente a la idea de que el mosquero deja de capturar ante la llegada de las prime-

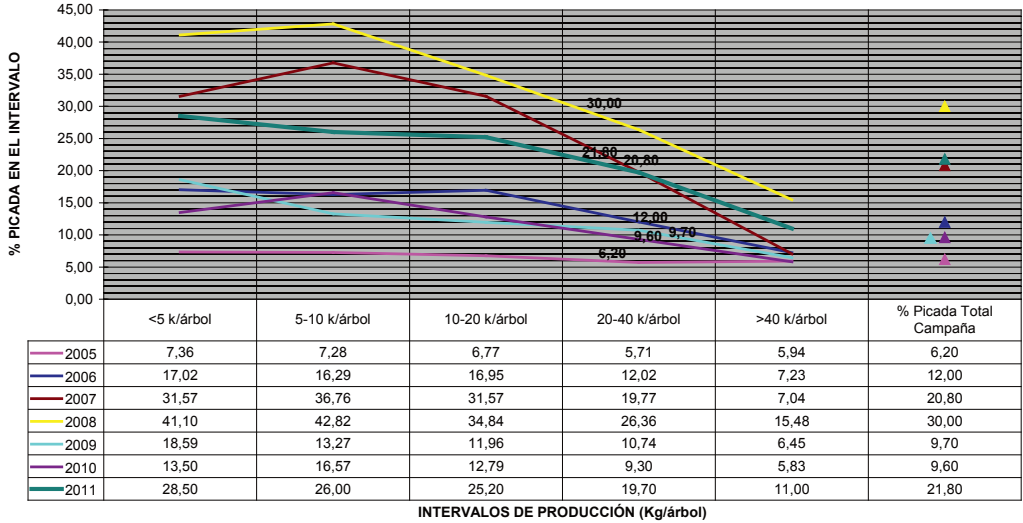


Figura 15. Media Ponderada de Picada Total por Intervalos de Producción en Kilos/Árbol (2005-2011)

ras lluvias tras el verano, es desde mediados de septiembre cuando las capturas superan una mosca por mosquero y día, como media de todas las campañas, manteniéndose el incremento de capturas hasta la finalización de la campaña.

- El intervalo de variación para este tipo de curva es reducido, oscila entre 0 y 3,5 moscas por mosquero y día.

- No hay relación directa entre la media de capturas y porcentaje final de picada registrado, como muestran los valores obtenidos para las diferentes campañas y la curva de tendencia; así el doble de capturas no implica necesariamente el doble de picada.

La evolución de capturas en la placa cromotrópica se observa en la Figura 18: “Comparación del Índice Medio de Capturas

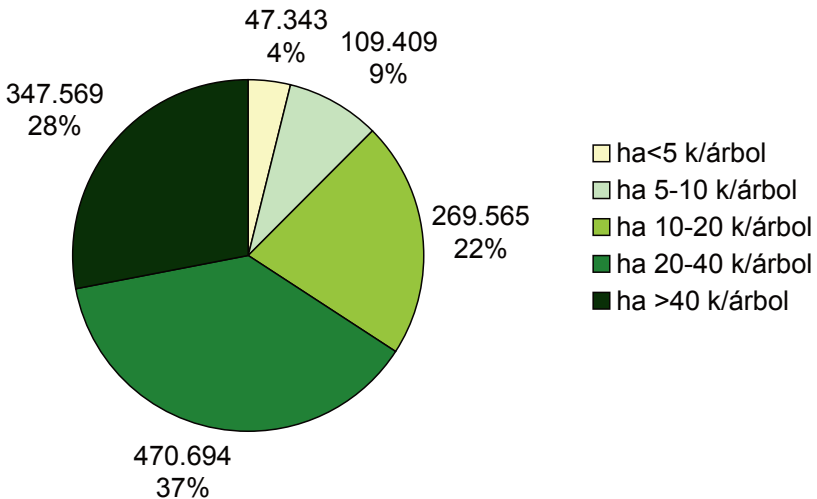


Figura 16. Porcentaje de Superficie Media por Tramo Productivo (2007-2011)

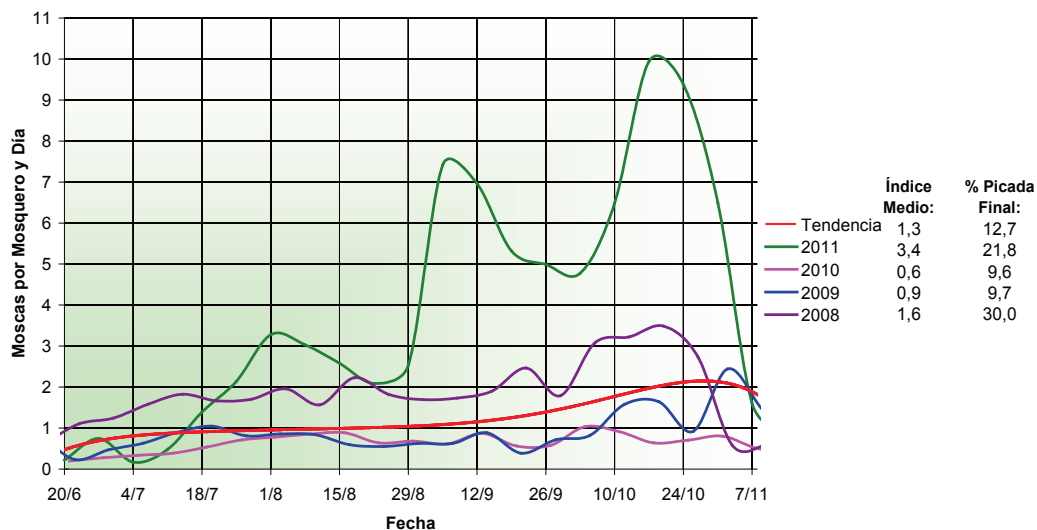


Figura 17. Comparación del Índice Medio de Capturas en Trampa Mac-Phail de las Campañas 2008, 2009, 2010, 2011 y Curva de Tendencia (1993-2011)

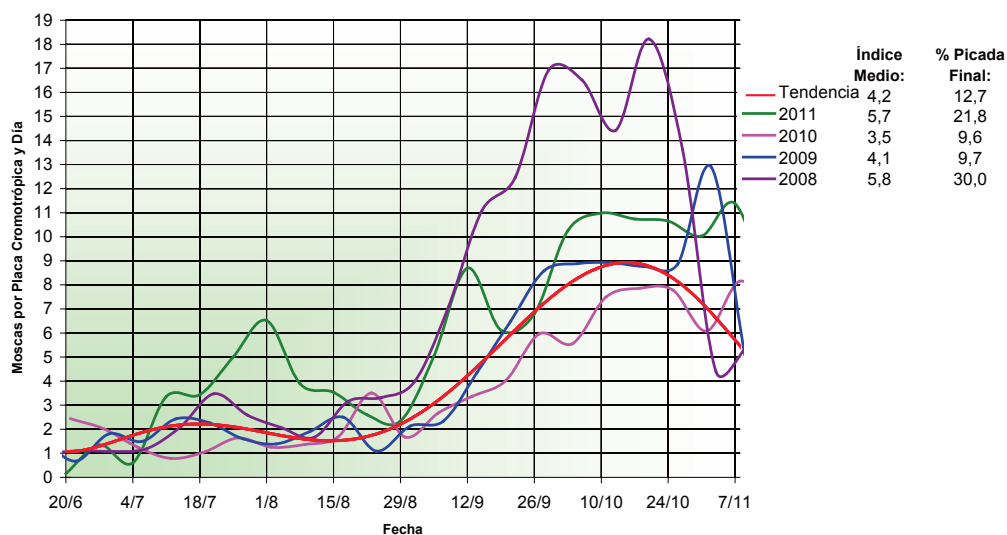


Figura 18. Comparación del Índice Medio de Capturas en Trampa Cromotrópica de las Campañas 2008, 2009, 2010, 2011 y Curva de Tendencia (1993-2011)

en Trampa Cromotrópica de las Campañas 2008, 2009, 2010, 2011 y Curva de Tendencia (1993-2011)”. La figura incluye el valor medio del índice por campaña, el dato de porcentaje de picada final anual y la picada final

media del periodo 1993-2011. Análogamente se advierte que:

- Se produce un continuado incremento de las capturas desde la finalización del mes de agosto, pero el intervalo de variación es

bastante más amplio; pudiendo alcanzar diferencias de capturas de varias decenas de moscas por placa y día a lo largo de la campaña o comparando las capturas del mismo periodo entre diferentes campañas.

- No hay relación directa entre la media de capturas (presión de plaga) y porcentaje final de picada registrado, como muestran los valores obtenidos para las diferentes campañas y la curva de tendencia; así el doble de presión de plaga no implica necesariamente el doble de picada.

4. Índice de riesgo (I_R)

En la Figura 19: “Comparación de los Índices Medios de Riesgo de las Campañas 2008, 2009, 2010, 2011 y Curva de Tendencia (1993-2011)” se observa la evolución de este índice que representa los huevos potenciales por estación de control, y por tanto el porcentaje potencial de picada. Se ha incluido el valor medio del índice por campaña, el dato de porcentaje de picada final anual y la picada final media del periodo 1993-2011.

Se aprecia que:

- El valor máximo de riesgo por campaña se suele registrar en el mes de octubre. Un

análisis detallado a través de la aplicación “Curvas de Vuelo” muestra las excepciones registradas: campañas 1995, 2002 y 2005, cuyos máximos se alcanzaron en la primera quincena de noviembre, y campañas 1993 y 1998 con máximos en agosto.

- El valor máximo alcanzado por el Índice de Riesgo para la media de las 19 últimas campañas es inferior a 9 y se registra a mediados del mes de octubre.
- El Índice de Riesgo presenta un periodo de estabilidad (IR » 3), coincidente con el periodo estival, para la media de las 19 últimas campañas.
- Para el conjunto de campañas, tras dicho periodo estival, el incremento del índice se acelera desde primeros de septiembre hasta mediados de octubre.

La Figura 20: “Evolución del Número Medio Nacional de Hembras Fértiles Observadas por Estación de Control en las Campañas 2008, 2009, 2010, 2011 y Curva de Tendencia (2003-2011)” y Figura 21: “Evolución del Número Medio Nacional de Huevos Contabilizados en las Hembras Fértiles por Estación de Control en las Campañas 2008, 2009,

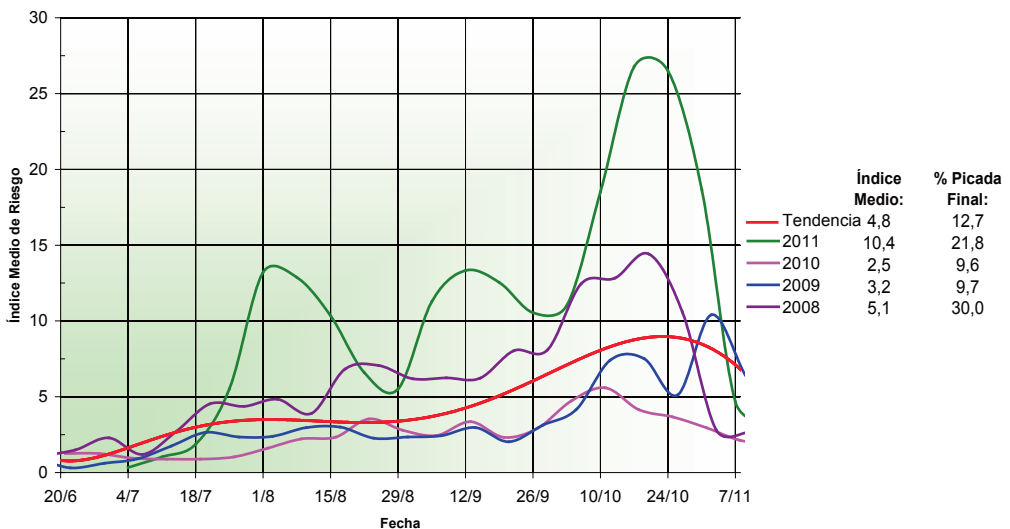


Figura 19. Comparación de los Índices Medios de Riesgo de las Campañas 2008, 2009, 2010, 2011 y Curva de Tendencia (1993-2011)

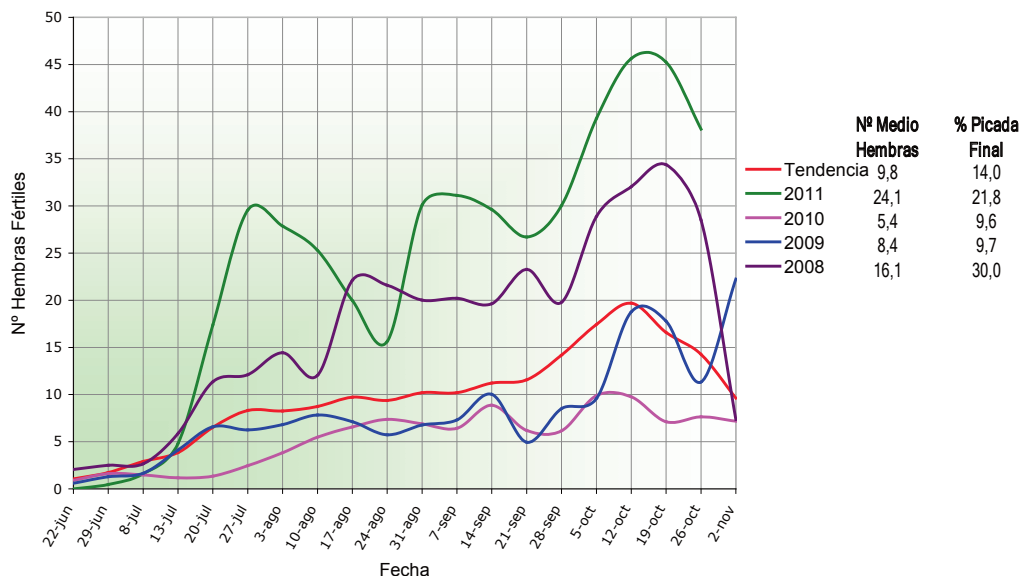


Figura 20. Evolución del Número Medio Nacional de Hembras Fértiles Observadas por Estación de Control en las Campañas 2008, 2009, 2010, 2011 y Curva de Tendencia (2003-2011)

2010, 2011 y Curva de Tendencia (2004-2011)”, elaboradas procesando los “Datos Históricos” para dichos años, muestran mayor variación entre el número de hembras fértiles presentes por estación de control que entre el número de huevos que, como media, presentan dichas hembras.

En la evolución del número medio de huevos se advierte bastante uniformidad a lo largo de la campaña, así como entre las diferentes campañas, consistiendo la máxima diferencia en 8 huevos a lo largo de la campaña y de 5 huevos entre las campañas 2008 y 2010 para el mes de julio. Por el contrario, el nº medio de hembras fértiles observadas por estación de control varía ampliamente a lo largo de cada campaña y entre las diferentes campañas; pudiendo consistir la diferencia en varias decenas de hembras (ej: en octubre de 2008 se capturan 39 hembras fértiles por estación de control como media nacional).

Como recoge la Figura 22: “Relación del Nº Medio de Hembras Fértiles por Estación de Control y el % de Picada Final (2003-

2011)”, se puede establecer una relación lineal entre ambos parámetros, con fiabilidad del 69% ($y = 1,0415x + 3,7297$; $R^2 = 0,686$).

A su vez, la Figura 23: “Relación del Nº Medio de Huevos por Estación de Control y el % de Picada Final (2004-2011)” muestra similar correlación entre ambos parámetros, también con fiabilidad para el 69% de los casos ($y = 10,744x - 43,539$; $R^2 = 0,6906$).

Que la pendiente de la recta obtenida en la Figura 23 (10,744) y Figura 22 (1,0415), indica que la razón de cambio en y (% Picada Final) con respecto al cambio en x (Nº Medio de Huevos) es diez veces mayor que la razón de cambio respecto al Nº Medio de Hembras.

Las Figura 22 y 23 pueden ayudar a determinar el valor de alarma, respecto a hembras fértiles capturadas y número de huevos por hembra respectivamente, para mantener el porcentaje de picada por debajo de determinados umbrales:

- Que el porcentaje de picada sea inferior al porcentaje medio de picada (13,97%) en el periodo de estudio (2003-2011), en principio

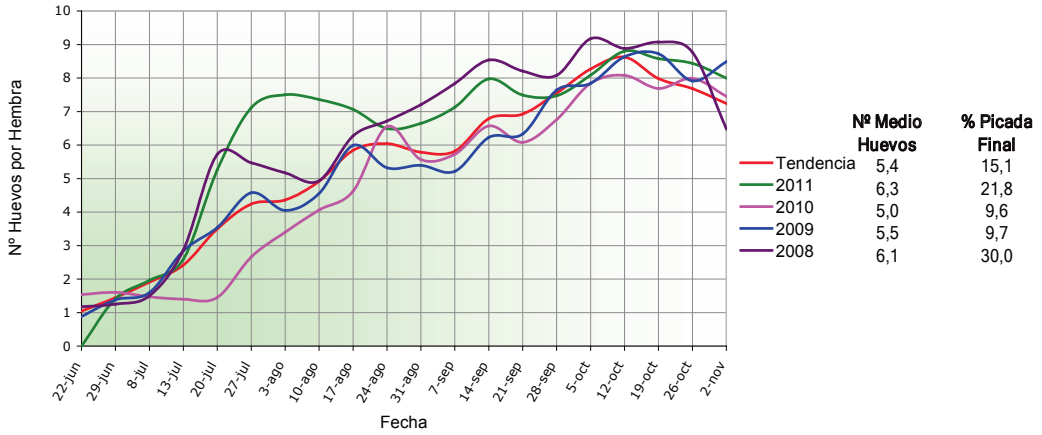


Figura 21. Evolución del Número Medio Nacional de Huevos Contabilizados en las Hembras Fértiles por Estación de Control en las Campañas 2008, 2009, 2010, 2011 y Curva de Tendencia (2004-2011)

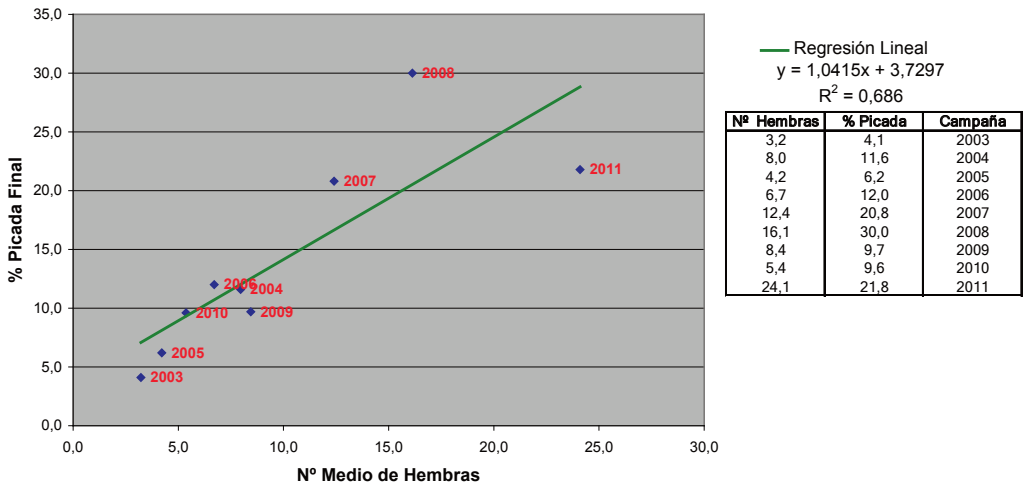


Figura 22. Relación del Nº Medio de Hembras Fértiles por Estación de Control y el % de Picada Final (2003-2011)

debería asegurarse manteniendo el número de Hembras Fértiles por Estación de Control de la RED DACUS por debajo de 9,83:

$$13,97 = 1,0415x + 3,7297; x=9,83$$

- Análogamente, que el porcentaje de picada sea inferior al porcentaje medio de picada (15,08%) en el periodo (2004-2011) debería asegurarse manteniendo el número de Huevos por Hembra por debajo de 5,46:

$$15,08 = 10,744x - 43,539; x = 5,46$$

El hecho de que, en la relación % de Picada - Nº de Hembras Fértiles por Estación de Control, la ordenada en el origen sea positiva indica que al capturar la primera hembra fértil ya se habría producido una picada superior al 3%:

$$y = 1,0415(0) + 3,7297; y=3,7297$$

Por el contrario, en la relación % de Picada - Nº Medio de Huevos por Estación de Control, el hecho de que la ordenada en el origen sea negativa indica que cuando se de-

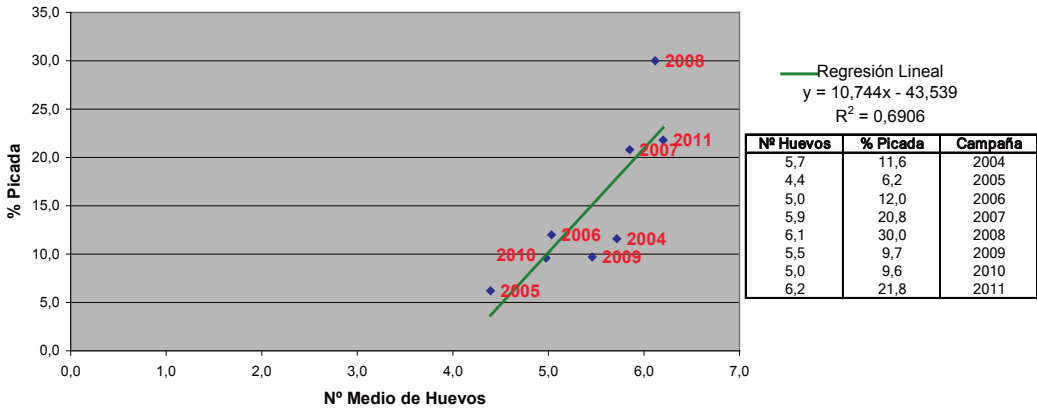


Figura 23. Relación del Nº Medio de Huevos por Estación de Control y el % de Picada Final (2004-2011)

tecta picada ($y \geq 0$) ya hay un mínimo de 4,1 Huevos por Estación de Control:

$$x \geq 43,539/10,744; x \geq 4,1$$

En el momento de las primeras capturas de Hembras Fértiles por Estación de Control (picada 3,7%), el Nº Medio de Huevos por Estación de Control sería similar: 4,4 Huevos por Estación de Control.

5. Temperaturas limitantes

Agrupar los datos climáticos extraídos de la base de “Datos Históricos” según los intervalos establecidos para la mosca del olivo como críticas por frío o por calor ($<17^\circ\text{C}$ ó $>35^\circ\text{C}$), limitantes por frío ($17-23^\circ\text{C}$) o por calor ($29-35^\circ\text{C}$) y favorables para su desarrollo ($23-29^\circ\text{C}$) (AVIDOV, 1954); permite elaborar diagramas como el representado en la Figura 24: “Porcentaje de Horas Diurnas en los Intervalos de Temperaturas establecidos por Z. Avidov. (2008-2011)”. Se aprecia cómo los intervalos que realmente tienen mayor repercusión sobre la evolución de la plaga y sobre el porcentaje de picada obtenido, son aquellos con temperaturas críticas por calor, que se registran fundamentalmente en los meses de junio a agosto. En ellos se produce además mayor continuidad en estas elevadas temperaturas.

El acumulado de horas críticas por frío y por calor es similar en 2008 y 2010, mientras que el valor de picada de 2008 triplicó el de 2010. Esto ratifica que las decisivas para la plaga son las temperaturas críticas por calor. Por el contrario, la mayor o menor amplitud de los intervalos favorables apenas repercute en los porcentajes finales de picada alcanzados, como demuestra el hecho de que 2008 (30% de picada final) dispusiera del menor porcentaje de horas favorables para el desarrollo del insecto que el resto de campañas estudiadas.

Del análisis de la Figura 25: “Evolución del Porcentaje de Picada Total según Temperaturas Críticas por Calor (2005-2011)”, se podría esperar que, para los años estudiados, cuando la suma de porcentajes mensuales de temperaturas limitantes por calor supera el valor 16,4, la picada total media al finalizar la campaña se mantiene por debajo del 12%. Análogamente, si la suma de porcentajes de temperaturas limitantes por calor no supera el valor 10,5 se pueden alcanzar porcentajes de picada finales superiores al 20% si no se realizan las adecuadas campañas de tratamientos.

6. Otras aportaciones

Resultados de la RED DACUS, difíciles de cuantificar pero que constituyen mejoras manifiestas para el sector olivarero español son:

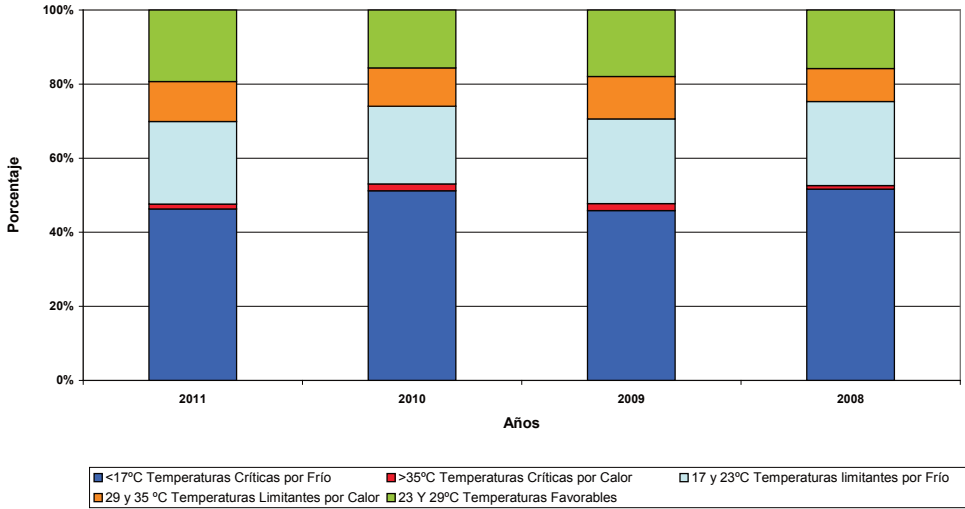


Figura 24. Porcentaje de Horas Diurnas en los Intervalos de Temperaturas establecidos por Z. Avidov. (2008-2011)

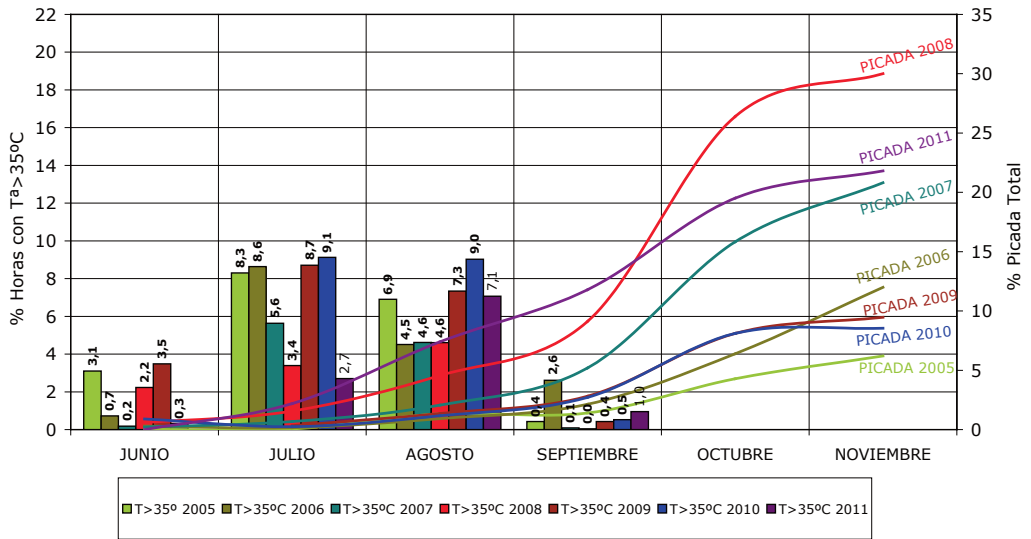


Figura 25. Evolución del Porcentaje de Picada Total según Temperaturas Críticas por Calor (2005-2011)

- Proporcionar al Servicio de Sanidad Vegetal provincial, semanalmente, el dato de cantidad y estado evolutivo de población de la plaga, estado fenológico y cosecha en el cultivo del olivo, porcentaje de daño acumulado, eficacia de los tratamientos realizados

e índice de riesgo asociado a los parámetros anteriores.

- Unificación de los criterios de seguimiento y actuación ante la plaga a nivel nacional, al aportar la información generada al Grupo de Trabajo de Fitosanidad del Olivo, que en

cada campaña valora y estudia los datos generados por la RED DACUS.

- Formación de técnicos, ingenieros agrónomos, ingenieros técnicos agrícolas y licenciados en biología, mayoritariamente, especializados en el seguimiento y control de plagas y enfermedades del olivar; superando a día de hoy el medio millar.
- Disponibilidad de la información climática diaria de las principales regiones olivareras nacionales, el hábitat de la plaga, con la cual anticipar el daño futurible mediante el Modelo Matemático de simulación de los niveles de población de la plaga.
- Reducción del impacto ambiental y del gasto provocado por la aplicación sistemática de tratamientos “a calendario”.
- Mejora en el conocimiento de las distintas causas que provocan la caída de la aceituna y detección de nuevas plagas que la provocan, como el barrenillo negro (*Phloeotribus scarabaeoides*, Bern.) y el barrenillo del olivo (*Hylesinus oleiperda* F.), cuya importancia como causantes de caída de frutos se ha ampliado geográfica y cuantitativamente en las últimas campañas.
- Mayor conocimiento de la adaptación de la mosca del olivo a las nuevas condiciones ambientales y de cultivo: óptima viabilidad de la picada múltiple en fruto, picada en fruto teóricamente no receptivo (por falta de endurecimiento de hueso y/o tamaño mínimo), mayor resistencia a temperaturas limitantes y críticas, etc.
- Mayor conocimiento por parte de los agricultores de la plaga y de su incidencia en la aceituna y en la calidad de los aceites y entamados que se van a elaborar posteriormente.
- Verificación de que, a nivel nacional, la trampa cromotrópica cebada con feromona es el mejor estimador de la población en vuelo de la mosca del olivo desde finales de septiembre a finales de octubre, coincidiendo con la receptividad del fruto y la mayor humedad ambiental. Por el contrario, antes de la receptividad general del fruto y coincidiendo con el periodo estival, es el



Figura 26. Picadas múltiples en una misma aceituna (provincia de Castellón)



Figura 27. Aceituna con múltiples larvas en su interior (provincia de Jaén)



Figura 28. Picada en aceituna antes de endurecimiento de hueso (provincia de Cádiz)

mosquero el que va a alertar sobre posibles explosiones demográficas de la plaga.

- Realización del calendario más aproximado de la fenología del olivo en España, durante los meses de seguimiento (floración, cuajado, endurecimiento del hueso, enverado y maduración).

DISCUSIÓN

Los resultados cuantificables expuestos y validados a nivel nacional, pueden no confirmarse en un estudio más local, debido a que, por la amplitud de datos manejados, se amortigüen las desviaciones puntuales; por lo que se requiere la ejecución de estudios particularizados a cada zona.

Además, las gráficas generadas y manejadas, incluyen la aplicación puntual de tratamientos, presencia o liberación masiva de insectos parásitos de la mosca (JIMENEZ *et al.* 1990), (SÁNCHEZ *et al.* 2002), existiendo la posibilidad de que hayan alterado ligeramente el trazado de las líneas de tendencia manejadas.

A la vista de los resultados obtenidos, parece oportuna una revisión y posible actualización y adaptación de los umbrales establecidos como de alarma o tratamiento. Específicamente, el Índice de Riesgo debería complementarse mediante un factor de corrección que tenga en consideración los índices de capturas en placas cromotrópicas.

1. Porcentaje de picada

El crecimiento de la superficie de olivar controlada por la RED DACUS hasta 2010 y el consecuente crecimiento en el número de observadores, desde los 49 del año 1990 a los 95 de 2010, y del número de estaciones de control englobadas en la RED, 325 en 1990 frente a 1710 en 2008, así como la reducción puntual en 2011; sin duda tienen influencia en la comparación de los diferentes índices biológicos obtenidos a lo largo de los años.

Sin embargo, en lo que a los índices de picada total se refiere, se observa que tanto el mínimo valor histórico, 4,1% de picada, como el máximo, 30,0%, se produjeron en años en que el dimensionamiento de la RED era prácticamente idéntico: 94 y 95 observadores y 1627 y 1710 estaciones de control, respectivamente (ver Cuadro nº1).

El hecho de que las mayores variaciones de picada se produzcan con dimensionamiento semejante hace pensar que la diferencia de

recursos entre las distintas campañas no tiene una influencia importante respecto a otros factores (poblaciones iniciales, clima, niveles de cosecha y momento y tipo de medidas de mitigación empleadas). Esta afirmación se ve reforzada si se observa la enorme variación en los niveles de picada existentes, de unas campañas a otras, en aquellas provincias en las cuales se ha mantenido la ubicación y número de sus estaciones de control durante toda la historia de la RED, como es el caso de las provincias de Cádiz o Madrid. Los niveles de picada mínimos en estas provincias fueron, respectivamente de 2,4% (2002) y 1,4% (2005), mientras que los valores máximos fueron del 50% (2007) y 97,8% (1997).

1.1. Relación porcentaje de picada y calidad de los aceites obtenidos

Los datos expuestos indican que un elevado daño de mosca en las aceitunas no es condición necesaria ni suficiente para originar una subida significativa de la acidez del aceite. Mientras que las campañas 1996 y 2009 obtuvieron un porcentaje de picada inferior al 10% y proporción de aceite lampante superior al 30%, las campañas 2007 (20,8% de picada) y 2008 (30,0%) produjeron proporción de lampantes inferior al 12%.

Otras variables estarían tras estas anomalías:

- el tiempo transcurrido entre la emergencia larvaria de los frutos y la molturación, pues si la apertura del agujero larvario de salida es reciente, no hay tiempo suficiente para que la proliferación microbiana en aerobiosis hasta la molturación ocasione un incremento significativo de la acidez. En 2008 se prensaron apenas 1.045.000 toneladas de aceite, sin necesidad de almacenar aceituna
- las precipitaciones registradas en el último tramo de la campaña (año 1996), que favorecen la flora microbiana y retrasan las labores de recolección
- las intensas heladas previas a la recolección que deterioran el fruto (año 2009)

1.2. Relación porcentaje de picada y caída de la aceituna

En el estudio se consideró como aceituna caída como consecuencia de la mosca a toda aquella aceituna que presentaba picada, aunque existiera otra causa incluso más probable, por lo cual el dato se podría considerar mayorado. Al mismo tiempo se debe tener en cuenta que el estudio finaliza cuando los observadores cesan sus actividades (en torno al 30 de noviembre), por lo que en aquellas zonas donde se retrasa la recolección de la aceituna, la cantidad de aceituna caída podría incrementarse (por picada de la mosca, maduración o causas climáticas).

1.3. Relación del rendimiento en kilos de aceituna por árbol con el porcentaje de picada

La tendencia a descender del porcentaje de picada registrado según se incrementa la producción en kilos por árbol, presenta algunas alteraciones, principalmente en el olivar menos productivo (<5 kg árbol, 4% de la superficie con seguimiento de la RED DACUS).

Esto puede deberse a varios factores:

- La dificultad inherente al muestreo semanal con poca cosecha, que limita a un número reducido los frutos accesibles. En algunos casos es necesario reducir la cantidad de frutos a muestrear contemplada en el “Protocolo de Trabajo”, lo que produce desviaciones importantes en el dato proporcionado.
- La menor producción en estos olivares suele deberse a que están situados en zonas marginales, con poca profundidad de suelo y por consiguiente menores reservas hídricas y nutrientes. Estos factores se traducen en una producción con menor calibre del fruto y por lo tanto menos apetecibles para la oviposición de la mosca del olivo.
- La habitual presencia de cabras, ovejas, cerdos o vacas en estos olivares marginales puede destruir pupas invernantes en los frutos caídos, normalmente no recolectados, al ser consumida la aceituna por el ganado.

- Estos olivares ocupan una superficie de condiciones climáticas más extremas para el cultivo y por tanto para el díptero.

2. Índices de capturas (I_{CTD})

La Figura 17: “Comparación del Índice Medio de Capturas en Trampa Mac-Phail de las Campañas 2008, 2009, 2010, 2011 y Curva de Tendencia (1993-2011)” parece recomendar que, al inicio de la campaña incluso antes de la receptividad del fruto, los índices en mosquero Mac-Phail se mantengan por debajo de la media (1 mosca por mosquero y día) para evitar explosiones demográficas difíciles de controlar *a posteriori* pese a una correcta aplicación de los tratamientos. Véase el ejemplo de 2008 y 2011 donde el valor de picada final supera el 20,0%. Este control sobre el índice de capturas en Mac-Phail repercute directamente aminorando el Índice de Riesgo.

Análogamente (Figura 18: “Comparación del Índice Medio de Capturas en Trampa Cromotrópica/Sexual de las Campañas 2008, 2009, 2010, 2011 y Curva de Tendencia (1993-2011)”), parece conveniente evitar picos de capturas en trampa cromotrópica superiores a 3 mosca por placa y día para eludir las susodichas explosiones demográficas.

Sería interesante llevar la vigilancia de la población más allá del periodo de campaña; considerando también la población de *B. oleae* existente como adulto o pupa invernante cuando el olivo no tiene fruto, en el denominado “periodo blanco” (TORRES-VILA *et al.* 2003), lo que daría una idea de la población de partida y de los recursos mínimos de los que hay que aprovisionarse para su lucha en campaña. Del conocimiento de esta población latente, heredada de la campaña previa, y los registros meteorológicos invernales en cada zona, se podrían extrapolar nuevos datos sobre la evolución de la plaga en campo y sus estrategias de supervivencia.

También sería conveniente iniciar un estudio en profundidad de cómo afectan los fenómenos meteorológicos y su intensidad

(vientos, lluvias...) al vuelo de la mosca, y por tanto a las capturas registradas por ambos tipos de trampas. Comprobar:

- Si a consecuencia de estos fenómenos, se desprenden capturas en las placas
- Si tras el incremento de capturas general producido desde el inicio del periodo de lluvias se oculta además una elevadísima población enmascarada por las pausas de vuelo y menores capturas producidas por los fenómenos meteorológicos
- Si estos fenómenos meteorológicos precipitan la avidez por el alimento y la reproducción y por ello la atracción de las trampas

3. Índice de riesgo (I_R)

Las campañas que registraron el riesgo máximo fuera del periodo habitual (mes de octubre), se agrupan en dos tipos:

- Campañas que alcanzaron el máximo en la primera quincena de noviembre (1995, 2002 y 2005). Presentan porcentaje de picada final dispar (8,0%; 25,0% y 6,2% respectivamente). Si bien en 1995 y 2002 los datos de noviembre se corresponden al seguimiento de menos de la mitad de provincias de la RED DACUS, en 2005 las 26 provincias de la RED finalizaron el seguimiento a partir del 15 de noviembre, por lo que estos riesgos máximos no constituyen una desviación estadística.
- Campañas que alcanzaron el máximo en agosto (1993 y 1998). Sí tuvieron un porcentaje de picada final parejo (7,1% y 9,0%) y menor a la media de la historia de la RED DACUS (12,7%). Pero esto parece deberse a que los valores máximos alcanzados ($IR \gg 8$) también son inferiores al valor máximo alcanzado por la Curva de Tendencia ($IR \gg 9$) de la Figura 19.

Los datos para establecer las relaciones lineales de la Figura 22: "Relación del N° Medio de Hembras Fértiles por Estación de Control y el % de Picada Final (2003-2011)" y Figura 23: "Relación del N° Medio de Huevos por Estación de Control y el % de Picada Final (2004-2011)" se han obtenido para pocos

años, 8 y 7 respectivamente. Por otra parte, no hay que olvidar que se trata de relaciones establecidas sin incluir datos de aceituna picada desprendida. En cuanto al número de huevos contados en la hembra capturada, no constan las puestas previas a la caída en el mosquero o la reabsorción de folículos ováricos ante condiciones adversas (NEUENSCHWANDER *et al.* 1958), imposibles de cuantificar.

En todo caso, que la razón de cambio en el % Picada Final respecto al cambio en el N° Medio de Huevos decuplique la relativa al cambio en el N° Medio de Hembras parece sugerir que los tratamientos reductores de fertilidad serían más eficaces que los reductores de población.

El hecho de que antes de capturar Hembras Fértiles se esté produciendo picada, puede deberse a que dichas hembras se estén alimentando en sus áreas de origen y se vean obligadas a desplazarse para realizar la puesta, previa a una nueva alimentación.

Que cuando se detecta picada ($y^3 0$) ya haya un mínimo de 4,1 Huevos por Estación de Control podría deberse a que, como media, las hembras fértiles muestran más de 5 huevos en su disección.

4. Temperaturas limitantes

Es probable una adaptación de las poblaciones de mosca del olivo a las temperaturas limitantes si éstas no se mantienen durante un periodo prolongado.

Sería conveniente realizar un estudio sobre el efecto larvicida de las temperaturas limitantes, puesto que la movilidad de los adultos les permite evitar puntas de calor al cambiar de zona.

AGRADECIMIENTOS

Al medio de millar de técnicos de campo de la RED DACUS los cuales, además de realizar las funciones encomendadas, han participado activamente en la formación de los compañeros nuevos, minimizando las perturbaciones del muestreo debidas al individuo que lo realiza. Por el aporte de numerosas y excelentes fotografías y observaciones en

campo, de las que nos han hecho partícipes a través de sus informes.

A los propietarios de las fincas en las que se realiza el muestreo y en las que se localizan las estaciones agrometeorológicas, por las facilidades prestadas.

A los antecesores en el Ministerio, por sus primeros pasos y apoyo a los nuestros.

A Tragsatec, por la gestión y coordinación de los múltiples aspectos del seguimiento, que en algunos casos ha debido ceñirse a plazos muy breves.

ABSTRACT

S. G. DE SANIDAD E HIGIENE VEGETAL Y FORESTAL, S. G. DE LA PRODUCCIÓN AGRARIA. 2012. Monitoring Network for Control, Alert and Evaluation of the Olive Fruit Fly (DACUS NETWORK); 22 years of history (1990-2011). *Bol. San. Veg. Plagas*, **38**: 169-201.

The monitoring network for alert and evaluation of the olive fruit fly (*Bactrocera oleae* Gmel.) population levels, "DACUS NETWORK", has as its main goal to provide the heads of the main Spanish olive producing provinces with all the relevant information regarding pest situation, phenology and expected olive harvest; as well as the weather conditions existing in control areas, in order to decide on the convenience of carrying out treatments against this insect, to choose the best moment to do so, and, once applied, to assess the resulting efficiency, depending on the plant health product and methodology used.

In its 22 years long validity, apart from the greater technical qualification provided to the Spanish olive sector's material and human resources, the utilization of plant health products has been significantly reduced, being kept on the strictly necessary minimum, reducing the environmental impact and aiming to the production of high quality oil from healthy olives. Simultaneously, software applications have been developed for the management of the data generated during these 22 years monitoring of over one million Ha of olive groves per campaign, regarding both pest biology, recorded agro climatic conditions and treatments used against the olive fruit fly. Currently, it is managing the publication of such data on the M-GRAMA website.

Data analysis sets the national average of the 22 campaigns at a final 12,7% of total dimpled fruit. Obtained results lead to deduce that annual values of dimpled fruit above 15% limit the campaign's percentage of Extra Virgin oil to a 50% of the processed total.

Additionally, fall causes study indicate that, in the 10 completed campaigns (2001-2010), losses due to early fruit fall directly attributable to egg laying by the olive fruit fly amount to an average 1,4% of the total olive harvest. As an average, only 10% of dimpled olives fall.

Key words: *Bactrocera oleae*, pests, monitoring, databases.

REFERENCIAS

- AGENCIA ESTATAL DE METEOROLOGÍA (AEMET). 2010. Guía resumida del clima en España 1971-2000. Resumen de extremos climatológicos en España. <http://www.aemet.es/es/serviciosclimaticos/datos-climatologicos> (acceso, febrero 2013)
- ALVARADO, M., CIVANTOS, M., DURÁN, J.M. 2001. Plagas en: El cultivo del olivo (D. Barranco, R. Fernández Escobar y L. Rallo) Eds. Mundi Prensa-Junta de Andalucía. Madrid. pp., 433-493.
- ASOCIACIÓN ESPAÑOLA DE NORMALIZACIÓN Y CERTIFICACIÓN (AENOR). 2002. Norma UNE 500520:2002. Redes de estaciones meteorológicas automáticas: criterios de localización de emplazamientos e instalación de sensores: características de adquisición y muestreo.
- AVIDOV, Z. 1954. *Further Investigations on the Ecology of the Olive Fly (Dacus oleae Gmel.) in Israel*. Ktav, Rehovot, pp. 105-116
- BALLATORI, E., PUCCI, C., RICCI, C. 1980. Relation entre l'infestation des olives et les captures d'adultes de *Dacus oleae* (Gmel.) par pieges chromotropiques. Rapport présenté à la II Session FAO. Tunis. Redia, **63**: 417-439.
- BIURRUN, R., SÁNCHEZ, L., GARNICA, I., LEZAUN, J.A. 2009. La Mosca de la Oliva. Navarra Agraria. julio-agosto 2009. INSTITUTO NAVARRO DE TECNOLO-

- GÍAS E INFRAESTRUCTURAS AGROALIMENTARIAS (Área Agrícola).
<http://www.itga.com/docs/Publicaciones/Plagas/Bactrocera.pdf> (acceso, febrero 2013)
- CIRIO, U., VITA, G. 1978. L'impiego di repellenti ed attrattivi chimici nel controllo delle mosche di lia frutta *Ceratitis Capitata* Wied; *Dacus oleae* Gmel, e *Rhagoletis cerasi* L. Atti Riun. Gruppi Lav. *Ceratitis*, etc. Sassari 15-20 maggio, pp., 91-95.
- CHAPELLE, J. 1912. Bulletin Mensuel de l'Office de Rensegnements Agricoles. Enero, diciembre 1910 y enero y diciembre 1912
- COI. 2013. Consejo Oleícola Internacional. Áreas de Actividad. Economía. Cifras Aceite de Oliva.
<http://www.internationaloliveoil.org/estaticos/view/131-world-olive-oil-figures> (acceso, febrero 2013)
- CROVETTI, A., QUAGLIA, F., MALFFIATI, P., CONTI, B. 1983. Research on different methods for the evaluation of the level of olive-fruit fly infestation. Results obtained in the experiments carried out in Tuscany in the biennium 1980-1981. In: *Fruit Flies of Economic Importance*. R. Cavalloro (Eds.). Proceedings of the CEC/IOBC. International Symposium Athens, Greece, 16-19 november 1982, pp. 330-336.
- DELRIO, G. 1985. Biotechnical methods for olive pest control. In: *Integrated Pest Control in Olive-Groves*. R. Cavalloro and A. Crovetto (Eds.). Proceedings of the CEC/FAO/IOBC. International Joint Meeting, Pisa, 3-6 april 1984, pp. 394-410.
http://www.cimdol.com/FichaAmpliada.asp?id_documento=570&MarcaClave=&IdUsuario=9475465 (acceso, febrero 2013)
- DELRIO, G., CAVALLORO, R. 1977. Reperti sul ciclo biologico e sulla dinamica di popolazione del *Dacus oleae* Gmelin in Liguria. *Redia* 1977, **60**: 221-253
- MAGRAMA. 1913. Dirección General de Agricultura, Minas y Montes del Ministerio de Fomento. La lucha contra la mosca del olivo ("*Dacus oleae*"). Hojas divulgadoras, Año VII, nº5.
http://www.magrama.gob.es/ministerio/pags/biblioteca/hojas/hd_1913_05.pdf (acceso, febrero 2013)
- MAGRAMA. 1914. Dirección General de Agricultura, Minas y Montes del Ministerio de Fomento: Nuevo tratamiento de la mosca de la oliva. Hojas divulgadoras, Año VIII, nº3.
http://www.magrama.gob.es/ministerio/pags/biblioteca/hojas/hd_1914_03.pdf (acceso, febrero 2013)
- MAGRAMA. 1915. Dirección General de Agricultura, Minas y Montes del Ministerio de Fomento. El sistema Berlesse contra "la mosca del olivo". Hojas divulgadoras, Año IX, nº24.
http://www.magrama.gob.es/ministerio/pags/biblioteca/hojas/hd_1915_24.pdf (acceso, febrero 2013)
- MAGRAMA. 1923. Conferencia Internacional de la Lucha contra la Mosca de la Aceituna: Actas de la Conferencia Internacional, Madrid 18-21 de junio de 1923. Organiza, Ministerio de Fomento.
<http://www.magrama.gob.es/es/ministerio/pags/Biblioteca/fondo/49190.htm> (acceso, febrero 2013)
- MAGRAMA. 2011. Anuario de Estadística. Subdirección General de Estadística. Secretaría General Técnica del Ministerio de Agricultura, alimentación y Medio Ambiente.
<http://www.magrama.gob.es/es/estadistica/temas/estad-publicaciones/anuario-de-estadistica/default.aspx#para2> (acceso, febrero 2013)
- GONZÁLEZ, N., TRAPERO CASAS, A., VARGAS-OSUNA, E. 2006. El escudete de la aceituna I: Biología y daños en olivares de la provincia de Sevilla. *Bol. San. Veg. Plagas*, **32** (4.2):709-722
http://www.magrama.gob.es/ministerio/pags/biblioteca/revistas/pdf_Plagas/BSVP_32_04_2_709_722.pdf (acceso, febrero 2013)
- GONZÁLEZ, N., TRAPERO CASAS, A. 2006. El escudete de la aceituna II: Caracterización Morfológica, Fisiológica y Patogénica del agente causal. *Bol. San. Veg. Plagas*, **32** (4.2):723-737
http://www.magrama.gob.es/ministerio/pags/biblioteca/revistas/pdf_Plagas/BSVP_32_04_2_723_737.pdf (acceso, febrero 2013)
- HANIOTAKIS, G. E., 2005. Olive pest control: Present status and prospects. *Integrated Protection of Olive Crops IOBC/wprs*. **28** (9):19-27.
http://www.iobc-wprs.org/expert_groups/15_wg_olive_crops.html (acceso, febrero 2013)
- JIMENEZ, A., CASTILLO, E., Y LORITE, P. 1990. Supervivencia del himenóptero braconído *Opius concolor* Szep. parásito de *Dacus oleae* Gmelin. en Olivares de Jaén. *Bol. San. Veg. Plagas*, **16**: 97-103
http://www.magrama.gob.es/ministerio/pags/biblioteca/revistas/pdf_plagas/BSVP-16-01-097-103.pdf (acceso, febrero 2013)
- JONES, O. T., LISK, J. C., LONGHURST, C., HOWSE, P. E.; RAMOS, P., CAMPOS, M. 1983. Development of a monitoring trap for the olive fly, *Dacus oleae* (Gmelin) (Diptera: Tephritidae) using a component of its sex pheromone as lure. *Bull. Ent. Res.*, **73**.
<http://journals.cambridge.org/action/display-Abstract?jsessionid=BACEDCE5FBC9899D-C29D2CE6D1D1F9D7.journals?fromPage=online&aid=2379816> (acceso, febrero 2013)
- LOTTRIONTE, G. 1905. Sui possibili mezzi di lotta contro la mosca delle olive. — Tivoli, Tip. Majella.

- LOTRIONTE, G., 1912. Metodi per combattere la mosca delle olive (Da CMS oleae). Tivoli, Tip. Majella.
- MONTIEL, A. 1987. The use of sex pheromone for monitoring and control of olive fruit fly. Proc. IOBC/IAEA. Int. Symp. Colymbary. Crete, Greece, 16-21 sept. 1986, pp. 483-497.
- MONTIEL, A., MADUEÑO, C. 1995. Cálculo práctico del umbral de tratamiento para la mosca del olivo (*Bactrocera oleae* Gmel., *Diptera: Tephritidae*) en olivar de producción de aceite en Jaén. *Bol. San. Veg. Plagas*, **21**: 589-596,
http://www.magrama.gob.es/ministerio/pags/biblioteca/revistas/pdf_plagas/BSVP-21-04-589-596.pdf (acceso, febrero 2013)
- MONTIEL, A., MORENO, R. 1982. El Plan Nacional Mosca del Olivo: Metodología utilizada en España para la realización de estudios bioecológicos sobre el *Dacus oleae* (Gmel.) III Sesión of the European Cooperativa network of F.A.O. (subnetwork on olive protection). 29 March to 3rd April 1982, Jaén, Spain. *Bol. San. Veg. Plagas*, **8**: 43-53.
http://www.magrama.es/ministerio/pags/biblioteca/revistas/pdf_plagas/BSVP-08-01-043-053.pdf (acceso, febrero 2013)
- MONTIEL, A., RAMOS, P., JONES, O.T., LISK, J.C., HOWSE, P. E. Y BAKER, R. 1982. Interferencias en el apareamiento de la mosca del olivo (*Dacus oleae* Gmel.) con el principal componente de su feromona sexual. Internacional Symposium on Fruit-Flies of Economic Importance. Atenas. Noviembre 1982. *Bol. Serv. Plagas*, **8**: 193-200.
http://www.magrama.gob.es/ministerio/pags/biblioteca/revistas/pdf_plagas/BSVP-08-02-193-200.pdf (acceso, febrero 2013)
- MÜLLER, G. 1981. Microbiología de los Alimentos Vegetales. Acribia. Zaragoza.
- NEUENSCHWANDER, P; MICHELAKIS, S; KAPATOS, E. 1958. Les insectes ravageurs de l'olivier en Tunisie. Y. Arambourg: TEPHRITIDAE. *Fédération Internationale d'Oliviculture*. 115-159
- SÁNCHEZ, J., GUZMÁN, G., VARGAS, E. 2002. Evaluación de la Incidencia de la Mosca del Olivo (*Bactrocera oleae* Gmelin) y Exploración de sus Parasitoides en diferentes Sistemas de Manejo en Los Pedroches (Córdoba) y Deifontes (Granada). Resultados Preliminares. V Congreso de la SEAE y I Congreso Iberoamericano de Agroecología: La agricultura y ganadería ecológicas en un marco de diversificación y desarrollo solidario. Editores SEAE y SERIDA. Gijón, Asturias (España), 16-21 de septiembre de 2002, tomo II, pp.791-800.
<http://www.expoliva.com/expoliva2003/simposium/comunicaciones/OLI-12-TEXTO.PDF> (acceso, febrero 2013)
- TORRES-VILA, L. M., SÁNCHEZ, A., PONCE, F., DELGADO, E. M., AZA, C., BARRENA, F., FERRERO, J. J., CRUCES, E., RODRÍGUEZ, F. 2006. Dinámica poblacional de *Bactrocera oleae* Gmelin. en Extremadura: Fluctuación estacional en el estado reproductivo y en el tamaño imaginal. *Bol. San. Veg. Plagas*, **32**: 57-69
http://www.magrama.gob.es/ministerio/pags/biblioteca/revistas/pdf_Plagas/BSVP_32_01_57_70.pdf (acceso, febrero 2013)
- TORRES-VILA, L. M.; RODRÍGUEZ-MOLINA, M.C., MARTÍNEZ, J. A. 2003. Efectos del daño de la mosca del olivo y del atroje sobre la microflora en pasta y la acidez del aceite virgen de oliva. *Grasas y Aceites*. **54** (3): 285-294
<http://grasasyaceites.revistas.csic.es/index.php/grasasyaceites/article/viewArticle/244> (acceso, febrero 2013)

(Recepción: 19 julio 2011)

(Aceptación: 23 abril 2012)

Evaluación de la eficacia de *Amblyseius andersoni* (Chant) en el control biológico de *Aculops lycopersici* (Masse) en cultivo de tomate de invernadero

L. LARA, M. CANO, E. SALVADOR, M^a M. TÉLLEZ

La aplicación generalizada de programas de manejo integrado en los cultivos hortícolas en invernadero, ha dado lugar en muchos casos al resurgimiento de algunas plagas secundarias, como es el ácaro del bronceado del tomate *Aculops lycopersici* (Masse). En la actualidad, el control de este ácaro con una estrategia química resulta efectivo, pero puede interferir con los enemigos naturales inoculados en el cultivo para el control de otras plagas. En este trabajo se ha evaluado la eficacia del ácaro depredador, *Amblyseius andersoni* (Chant) en el control biológico de vasates. El ensayo se ha realizado en condiciones locales de semicampo, con inoculaciones artificiales de la plaga sobre cultivo de tomate. De las estrategias evaluadas, sólo las introducciones preventivas retrasan el desarrollo de la plaga, pero no consiguen realizar un control efectivo de la misma.

L. LARA, M. CANO, E. SALVADOR, M^a M. TÉLLEZ. Centro I.F.A.P.A. "La Mojenera- La Cañada". Junta de Andalucía. Autovía del Mediterráneo, Sal. 420.- 04745. La Mojenera (Almería).

Palabras clave: Ácaro depredador, vasates, manejo integrado de plagas, cultivos hortícolas.

INTRODUCCIÓN

En España, la superficie de invernaderos se concentra en la zona de la costa mediterránea, con 45.562 ha., de las cuales 26.958 se encuentran en la provincia de Almería, situada en el sureste peninsular (CASTILLA y HERNÁNDEZ, 2005). Esta zona es probablemente una de las mayores áreas de concentración de invernaderos dedicada a la producción de hortalizas de Europa. El tomate es uno de los cultivos más importante, siendo Almería el primer exportador a nivel nacional (DE PABLO *et al.*, 2008).

Actualmente, en la horticultura almeriense se están aplicando de forma generalizada programas de Manejo Integrado de Plagas (IPM), basados en control biológico junto con la

utilización de materias activas específicas y selectivas, principalmente dirigidas a las plagas primarias que inciden en el cultivo. Como consecuencia, se ha producido en muchos casos un resurgimiento de las plagas secundarias que afectan a los cultivos hortícolas. Una de estas plagas es el ácaro del bronceado del tomate *Aculops lycopersici* (Masse) (Acari: Eriophyidae) (Fig.1). Esta especie es cosmopolita y ocasiona daños en cultivos de tomate en todo el mundo, con incidencia creciente en la zona de Almería, probablemente debido a que las condiciones climáticas de los invernaderos son favorables para su desarrollo, especialmente en ciclos de primavera, ya que tanto la temperatura como la humedad relativa influyen en el crecimiento de sus poblaciones (HAQUE y KAWAI, 2003). Los primeros

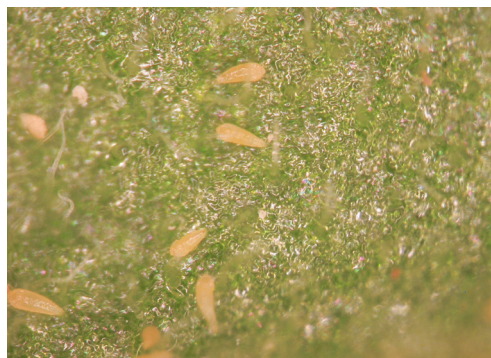


Figura 1. *Aculops lycopersici*

síntomas aparecen en la parte baja de la planta y se identifican por la coloración marrón herrumbrosa del tallo. Las hojas toman un color amarillo al principio, posteriormente un aspecto plateado en el envés, hasta que llegan a secarse y en casos de ataques severos terminan cayéndose (Fig.2). Los síntomas van ascendiendo por la planta, hasta llegar a las zonas apicales (KAWAI y HAQUE, 2004)

En los últimos años se ha producido un notable incremento en la aplicación de técnicas de control biológico de plagas en cultivos hortícolas de invernadero, llegando en la campaña 2008-2009 a una superficie de 11700 ha. (VAN DER BLOM, 2009). Para ello, se utiliza una amplia gama de enemigos

naturales que controlan con éxito a un gran número de especies plaga. Sin embargo, aún hay plagas como *A. lycopersici*, que no están resueltas con control biológico. Generalmente, para el control de este ácaro, una estrategia química resulta efectiva, pero puede interferir con los enemigos naturales inoculados en el cultivo para el control de otras plagas. Por ello cobra especial importancia el estudio de las posibilidades del control biológico de *A. lycopersici*.

Hay citadas varias especies de ácaros depredadores para el control biológico de esta plaga, con diferentes resultados en cuanto a su eficacia, entre los cuales se encuentra citado *Amblyseius andersoni* (Chant) (Acari: Phytoseiidae) (GERSON y WEINTRAUB, 2007).

Dada la gran influencia de los factores climáticos en el desarrollo y reproducción de *A. lycopersici* (HAQUE y KAWAI, 2003), es necesaria la realización de ensayos en las condiciones locales. Este trabajo tiene como objetivo, conocer la eficacia de *A. andersoni* en condiciones de invernadero mediante dos estrategias, una preventiva y otra curativa.

MATERIAL Y MÉTODOS

Instalaciones

El ensayo se llevó a cabo en un invernadero experimental tipo túnel de 225 m² provisto



Figura 2. Daños ocasionados por *A. lycopersici* en tomate. A) Síntomas en la planta. B) Tallo sano (izq.) y tallo afectado por la plaga (der.)

de ventilación automática cenital y lateral, situado en el Centro IFAPA de La Mojonera (Almería). El interior del invernadero estaba compartimentado en 20 jaulones individuales, revestidos de malla tipo Econet-T (35x25 hilos/cm²), cada uno de ellos con capacidad para 10 plantas y equipados con sistema de riego por goteo. Las condiciones climáticas de esta instalación se registraron durante todo el ensayo mediante un Dataloggers.

Cultivo

Se utilizaron plantas de tomate CV. 'Razy-mo' de Rijk Zwaan, cultivadas en macetas de plástico de 15 l, utilizando como sustrato una mezcla de turba y vermiculita al 50%.

El ensayo se realizó en 2009 entre los meses de Abril a Junio, época frecuente de aparición de la plaga en las condiciones de la zona, realizándose el transplante el 21 de abril y la última evaluación el 8 de julio.

Las plantas se entutoraron a un solo tallo, realizándose la labores de poda habituales para este cultivo. Cuando las plantas alcanzaron una altura aproximada de 2 m, se cortaron los ápices.

Inoculación de *Aculops lycopersici*

Para realizar la inoculación de *A. lycopersici*, se utilizaron secciones de tallo de plantas de tomate con alta infestación, recogidas en invernaderos comerciales de la zona.

Se realizaron dos infestaciones con *A. lycopersici* durante dos semanas consecutivas (semanas 4 y 5 después del trasplante), utilizando secciones de tallos con un tamaño de 5 y 10 cm, respectivamente para cada inoculación. Dichas secciones, se fijaron al tallo mediante un hilo de alambre, en la parte basal de la planta.

Introducción de *Amblyseius andersoni*

La introducción se realizó utilizando el producto Anderline, (sobres GEMINI conteniendo 250 ácaros depredadores), suministrado por Syngenta Bioline procedente de crías

comerciales. Los sobres se colocaron en el nivel medio y bajo de la planta.

Para evitar pérdidas de población tanto de la plaga como del enemigo natural, los restos de las podas semanales se mantuvieron sobre las macetas durante una semana.

Diseño experimental

Se realizó un diseño de bloques al azar, con tres tratamientos y dos repeticiones cada uno. Cada repetición consistió en un jaulón con 6 plantas de tomate. Se aplicaron los siguientes tratamientos:

- Control: infestación de *A. lycopersici*, sin introducción del depredador.
- Curativo: infestación con *A. lycopersici*. Liberación de *A. andersoni* dos semanas después de la primera infestación, con una dosis de 2 sobres por planta.
- Preventivo: se realizaron dos introducciones de *A. andersoni* de 1 sobre por planta cada una. La primera (en una hoja baja), una semana antes de la infestación con *A. lycopersici* y la segunda (a nivel de hoja media), simultáneamente con la primera infestación de la plaga.

Evaluación

A nivel de campo, se realizaron semanalmente las siguientes observaciones:

- Incidencia de la plaga en el cultivo: se evaluó la ausencia / presencia de formas vivas de la plaga en el tallo y en dos hojas de cada planta.
- Sintomatología en planta: se estimó el porcentaje de tallo afectado por síntomas del ácaro del bronceado.
- Incidencia del ácaro depredador en el cultivo: se verificó la presencia / ausencia de formas vivas del depredador en el tallo y en dos hojas de cada planta.

La evaluación final se realizó en el laboratorio bajo lupa binocular, ocho semanas después de la primera infestación, valorando:

- Nivel poblacional de la plaga: se contó el número de formas vivas de *A. lycopersici* en una sección de 2 cm de tallo de

cada planta de tomate. En plantas cuyos síntomas no alcanzaban el ápice, la sección de tallo se cortó 10 cm por encima del límite superior del síntoma, ya que la mayor concentración de ácaros está generalmente en esta zona. En aquellas plantas que mostraban síntomas de bronceado en todo el tallo, la sección se tomó de los últimos 10 cm del tallo.

- Nivel poblacional del depredador: se contó el número de *A. andersoni* en 20 cm de tallo y tres hojas de tres niveles (bajo, medio y alto) de cada planta. Para la extracción de los ácaros, se utilizó un embudo de Berlese.

Análisis Estadístico

Debido a que los datos del porcentaje de tallo con síntomas de vasates no cumplían las condiciones de normalidad, se analizaron mediante estadística no paramétrica aplicando el Test de Kruskal – Wallis. Para los datos del nivel poblacional de la plaga y el depredador, se llevó a cabo un análisis de la varianza (ANOVA) para un diseño de bloques al azar. Cuando se encontraron diferencias significativas ($p \leq 0.05$), se aplicó el Test de comparación de medias LSD (Mínima Diferencia Significativa). Previamente al análisis, para el cumplimiento de la normalidad y la homocedasticidad, los datos de la población de la plaga se transformaron mediante el cambio de variable ($[\ln(x)]$) y los datos de la población del depredador mediante $[\sqrt{(x+0.5)}]$. Los análisis se realizaron con el programa estadístico Statistix v. 8.0.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la figura 3 se muestran las condiciones de temperatura y humedad relativa a lo largo del ensayo. La T^a media osciló entre 22 y 28 °C, y la HR entre 35 y 55 %. Los estudios realizados por HAQUE y KAWAI (2003), indican que la tasa neta de reproducción más alta y el tiempo de generación más corto para vasates, se obtiene a una temperatura de 25°C. En cuanto a la HR, los trabajos llevados a

cabo por RICE y STRONG (1962), indican que los valores más favorables para su desarrollo oscilan entre el 30% - 60%. Los parámetros climáticos registrados durante el ensayo, muestran condiciones favorables para el desarrollo de la población de la plaga.

En la figura 4 se muestra la incidencia de la plaga y el enemigo natural tanto en tallo como en hoja a lo largo de las semanas del ensayo, para los tratamientos control, preventivo y curativo.

La evolución de la población de vasates fue similar en el tratamiento control y en el curativo. En ambos, a las tres semanas de la primera infestación, se observó una incidencia de vasates en hoja entre el 70 y el 80% y una incidencia en tallo entre el 80 y 95%. Sin embargo, en el tratamiento preventivo, se observó un retraso en el desarrollo de la plaga, alcanzándose valores de incidencia en hoja y tallo, similares a los tratamientos anteriores, dos semanas más tarde. Al final del ensayo, se observó un 100% de incidencia de vasates tanto en tallo como en hoja, en los tres tratamientos. Como se muestra en la figura 4, la población del depredador en el tratamiento preventivo fue muy alta una semana después de la primera infestación de la plaga (incidencia entorno al 80% tanto en hoja como en tallo), mientras que en el tratamiento curativo, la máxima incidencia del depredador se alcanzó tres semanas después de la primera infestación (40% en hoja y 25% en tallo). Estos valores indican que la introducción del depredador de forma preventiva frenó el desarrollo de la plaga al inicio, pero no fue suficiente para ejercer un adecuado control de la misma.

En la figura 5, se representa el porcentaje de tallo afectado por síntomas del bronceado. Sólo las dos primeras semanas de aparición de los síntomas, se observaron diferencias significativas entre el tratamiento preventivo y el resto de tratamientos (Sem_1 : Test K-W = 12.3, $p = 0.002$; Sem_2 : Test K-W = 10.6, $p = 0.002$), mientras que no se observaron diferencias significativas entre el tratamiento curativo y el control a lo largo de todo el ensayo. En la gráfica se muestra también, que los sínto-

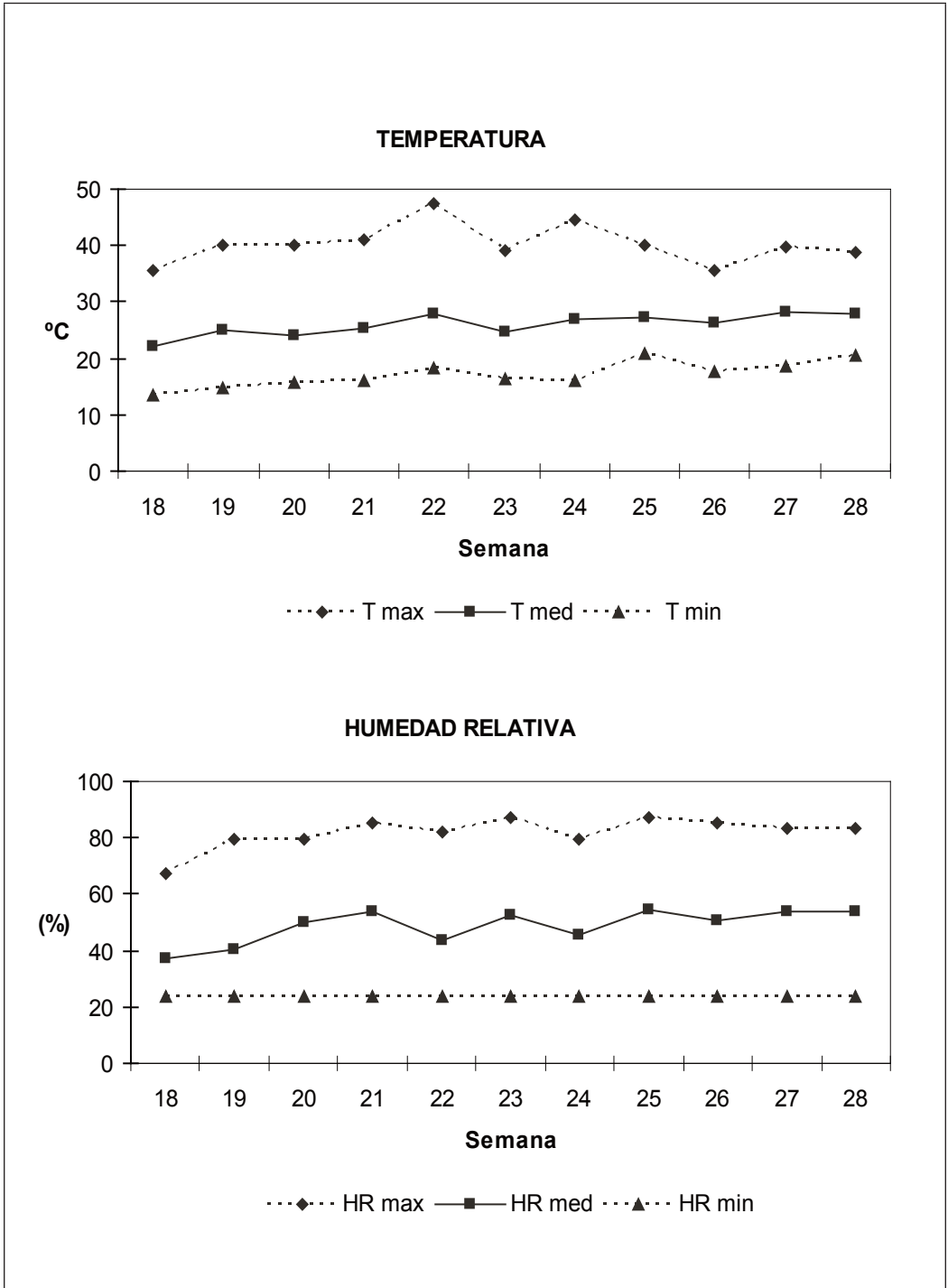


Fig. 3. Evolución de los parámetros climáticos a lo largo del ensayo

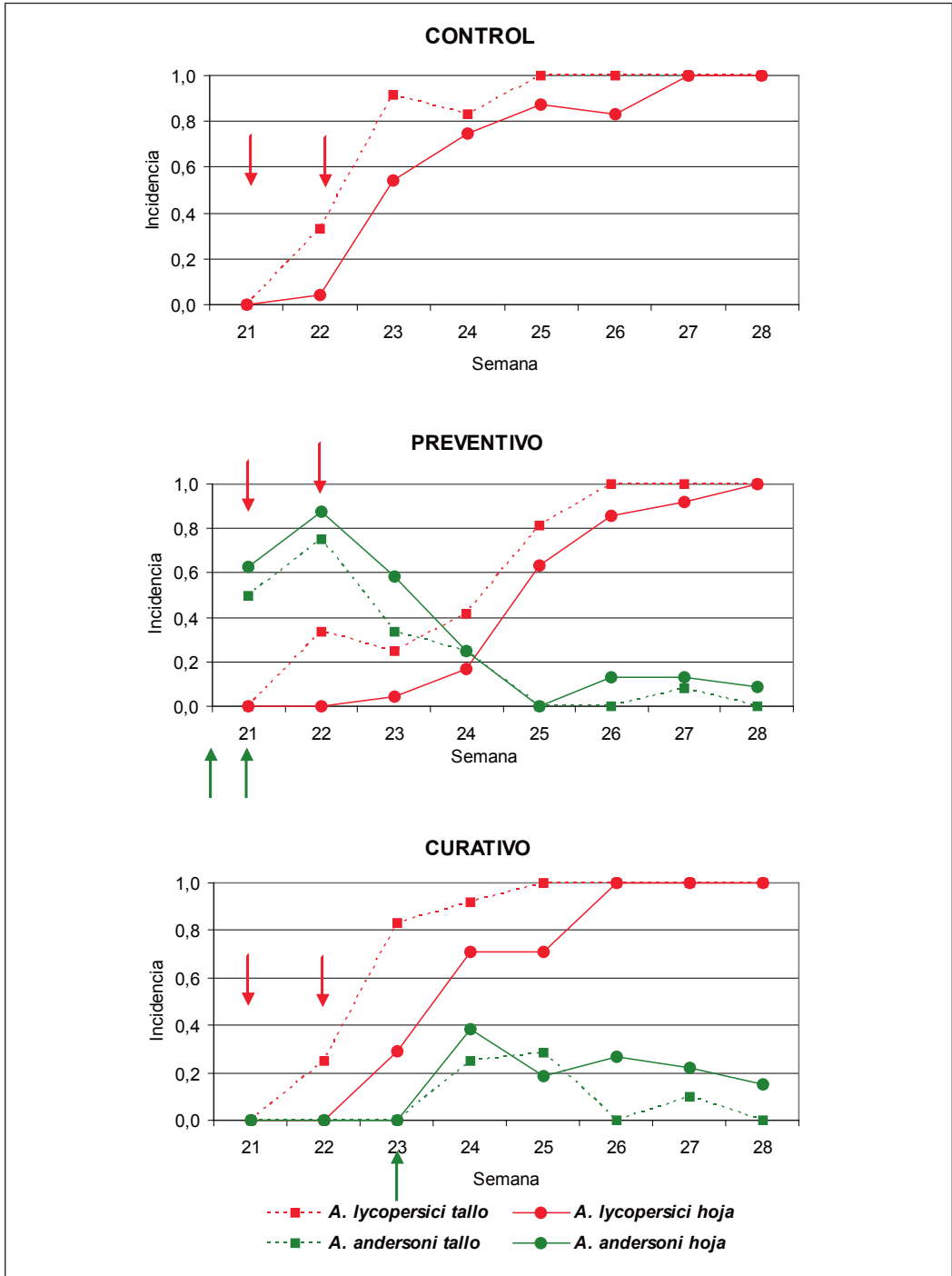


Figura 4. Evolución de la incidencia de la plaga y el depredador en tallo y hoja a lo largo de las semanas de muestreo en los diferentes tratamientos. Las flechas rojas indican la inoculación de la plaga y las flechas verdes la suelta del depredador

% Tallo con síntomas

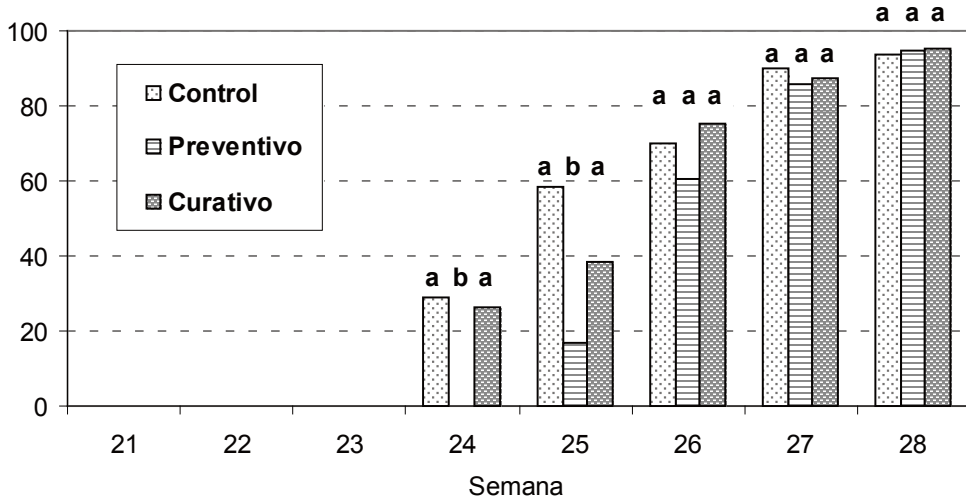


Figura 5. Evolución del porcentaje de tallo con síntomas de vasates en los tratamientos control, preventivo y curativo. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos ($p \leq 0.05$)

mas en la planta en todos los tratamientos, se manifiestan a las tres semanas de la primera infestación de la plaga.

La evaluación final de los niveles poblacionales tanto de la plaga como del depredador, medido como el número medio de formas vivas, se representa en el cuadro 1, para los tres tratamientos. En relación al nivel poblacional de la plaga, se encontraron di-

ferencias significativas entre el control y los tratamientos preventivo y curativo ($F= 10.5$, $gl= 2$, $p= 0.0006$). En cuanto al número de formas vivas del ácaro depredador, no se encontraron diferencias significativas entre la estrategia preventiva y la curativa ($F= 1.35$, $gl= 1$, $p= 0.26$). Estos resultados indican que *A. andersoni* mostró cierta actividad depredadora sobre la plaga, reduciendo sus poblaciones.

Cuadro 1. Evaluación final de la población de la plaga y el depredador en el cultivo de tomate. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos ($p \leq 0.05$)

Tratamiento	Nº med. <i>A. lycopersici</i> .cm ⁻² (± ES) ⁽¹⁾	Nº med. <i>A. andersoni</i> /muestra (± ES) ⁽²⁾
Control	20.5 (± 4.1) a	-----
Preventivo	3.2 (± 0.8) b	3.4 (± 0.8) a
Curativo	4.3 (± 1.2) b	2.2 (± 0.8) a

⁽¹⁾ Conteo realizado en una sección de tallo de 2cm

⁽²⁾ Contero realizado en una muestra de 3 hojas y 20 cm de tallo

Los ensayos llevados a cabo por FISCHER *et al.* (2005) con este depredador mostraron unos resultados muy similares, es decir, cuando se utiliza de forma preventiva hay una reducción de la incidencia de la plaga al inicio del cultivo, pero sin llegar a controlarla.

Varias especies de fitoseidos se alimentan y reducen la infestación de *A. lycopersici* (PERRING y FARRAR, 1986), pero sólo algunos han sido ensayados en condiciones controladas. BRODEUR *et al.* (1997) ensayaron cuatro especie de ácaros depredadores como agentes de control biológico de *A. lycopersici*. De todas las especies estudiadas, *Neoseiulus fallacis* Garman fue la más prometedora, por su adecuado desarrollo y tasa de supervivencia cuando se alimenta de todos los estados de la plaga, mientras que la especie *Neoseiulus cucumeris* (Oudemans) fue la menos adecuada. Los ensayos llevados a cabo por TROTTIN-CAUDAL *et al.* (2003), indican que con introducciones de las especies *Neoseiulus californicus* (Mc Gregor) y *N. cucumeris* en cultivo de tomate bajo invernadero, sólo se consigue un cierto nivel de control de la plaga cuando se sueltan altas tasas de individuos por metro cuadrado.

Aunque las condiciones climáticas fueron favorables para la plaga y por tanto había mucha presa disponible, el depredador no fue capaz de instalarse en el cultivo. Todo parece indicar que esta especie completa su ciclo biológico, pero tiene reducida su capacidad para instalarse sobre planta de tomate. Esta incapacidad sobre tomate se da también en otras especies de ácaros depredadores, como ocurre con *Neoseiulus cucumeris* y *Ambly-*

seius swirskii Athias-Henriot, depredadores que muestran una alta eficacia en otros cultivos, pero que a nivel comercial no son utilizados por su incapacidad para instalarse en cultivo de tomate (ROBLEDO *et al.*, 2009).

Un problema añadido al control de esta plaga, es la dificultad para su detección precoz en campo. Al tratarse de un ácaro de pequeñas dimensiones, su presencia sólo se manifiesta por la aparición de síntomas en el tallo.

Este trabajo muestra que sólo las inoculaciones preventivas del depredador dan lugar a cierto retraso en el desarrollo de la plaga. A nivel práctico, debido a la difícil detección de la plaga y a que las poblaciones del depredador no se mantienen en el cultivo de tomate, sería necesario realizar introducciones preventivas periódicamente. Para poder determinar las dosis, frecuencia y rentabilidad de estas introducciones, sería necesario realizar ensayos mas detallados, con infestaciones naturales de la plaga, en invernaderos con antecedentes de incidencia de vasates.

No obstante, actualmente *A. andersoni*, está siendo utilizado con éxito, para el control biológico de diferentes especies de araña roja en cultivos hortícolas y ornamentales (comunicación personal Syngenta Bioline).

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo se ha realizado en el marco de un Proyecto de Demanda Institucional de la Consejería de Agricultura y Pesca de la Junta de Andalucía (IDF-2009-04): Mejora de los Programas de Lucha Biológica contra insectos vectores en hortícolas, financiado con fondos FEDER.

ABSTRACT

LARA, L., M. CANO, E. SALVADOR, M.^a M. TÉLLEZ. 2012. Evaluating the effectiveness of *Amblyseius andersoni* (Chant) as biological control agent of *Aculops lycopersici* (Massee) in protected tomato crops. *Vol. San. Veg. Plagas*, **38**: 37-45

The widespread use of integrated pest management programs in protected horticultural crops has resulted in many cases the resurgence of some secondary pests such as tomato russet mite, *Aculops lycopersici* (Massee). At present, the control of this mite with a chemical strategy is effective, but may interfere with natural enemies inoculated

to control other pests. In this study we have evaluated the effectiveness of the depredator mite, *Amblyseius andersoni* (Chant) as biological control agent of the tomato russet mite. The experiment was performed in local semi-field conditions with artificial inoculation of pest in tomato. Of the strategies evaluated, preventive introductions only delay the development of the pest but can not effectively control.

Key word: Predatory mite, tomato russet mite, integrated pest management, horticultural crops.

REFERENCIAS

- BRODEUR, J., BOUCHARD, A., TURCOTTE, G. 1997. Potential of four species of predatory mites as biological control agents of the tomato russet mite, *Aculops lycopersici* (Masse) (Eriophyidae). *Canad Entomol*, **129** (1): 1–6.
- CASTILLA, N., HERNANDEZ, J. 2005. The Plastic Greenhouse Industry of Spain. *Cronica Horticulturae*, **45** (3): 15-20.
- DE PABLO VALENCIANO, J., PÉREZ MESA, J. C., LEVY MANGIN, J. P. 2008. The Spanish Tomato Export Sector of the Almería Region: An Econometric Approach. *International Advances in Economic Research*, **14** (3): 316-328.
- FISCHER, S., KLÖTZLI, F., FALQUET, L., CELLE, O. 2005. An investigation on biological control of the tomato russet mite *Aculops lycopersici* (Masse) with *Amblyseius andersoni* (Chant). *IOBC/ WPRS*, **28** (1): 99-102.
- GERSON, U., WEINTRAUB, P. G. 2007. Mites for the control of pests in protected cultivation. *Pest Management Science* **63** (7): 658–676.
- HAQUE, M.M., KAWAI, A. 2003. Effect of temperature on development and reproduction of the tomato russet mite, *Aculops lycopersici* (Masse) (Acari: Eriophyidae). *Appl. Entomol. Zool.* **38** (1): 97-101.
- KAWAI, A., HAQUE, M.M. 2004. Population Dynamics of Tomato Russet Mite, *Aculops lycopersici* (Masse) and Its Natural Enemy, *Homeopronematus anconai* (Baker). *JARQ* **38** (3): 161-166 <http://www.jircas.affrc.go.jp>.
- PERRING, T.M., FARRAR, CA. 1986. Historical perspective and current world status of the tomato russet mite (Acari: Eriophyidae). *Miscel Pub Entomol Soc America*, **63**: 14-19
- RICE, R. E., STRONG, F. E., 1962. Bionomics of the tomato russet mite, *Vasates lycopersici* (Masse). *Ann. Entomol. Soc. Am.*, **55**: 431–435.
- ROBLEDO, A., BLOM, J. VAN DER, TORRES, S., SÁNCHEZ, J.A. 2009. Protocolo de Control Biológico en tomate. En: *Control Biológico en invernaderos hortícolas*. Ed. Coexphal-FAECA, Almería: 129-135.
- TROTTIN-CAUDAL, Y., FOURNIER, C., LEVRE, J.M. 2003. Biological control of *Aculops lycopersici* (Masse) using the predatory mites *Neoseiulus californicus* McGregor and *Neoseiulus cucumeris* (Oudemans) on tomato greenhouse crops, 2003. Proc. Intern. Symp. On Greenhouse Tomato: Integrated Crop Protection and Organic Production, Avignon, France, Ctifl, 153-157.
- VAN DER BLOM, J., ROBLEDO, A., TORRES, S., SÁNCHEZ, J.A., 2009. Consequences of the wide scale implementation of biological control in greenhouse horticulture in Almería, Spain. *IOBC/ WPRS*, **49**: 9-13.

(Recepción: 22 julio 2011)
(Aceptación: 29 mayo 2012)

Neuropteroides (Insecta: Neuroptera, Raphidioptera) en plantaciones de aguacate en el sur de España

J. M. VELA, J. R. BOYERO, M. E. WONG, V. J. MONSERRAT

El estudio de los neuropteroides asociados a dos plantaciones de aguacate de la provincia de Málaga arrojó un total de 6 especies: *Chrysoperla carnea* s.l., *Conwentzia psociformis*, *Semidalis aleyrodiformis*, *Micromus angulatus*, *Dichochrysa flavifrons* y *Harraphidia (Flavoraphidia) laufferi*. Las dos primeras fueron las especies dominantes. *Ch. carnea* fue más abundante en verano. En cambio, mientras que los adultos de *C. psociformis* estuvieron presentes todo el año, sus larvas aparecieron principalmente en otoño. Se discute el papel de estas dos especies como enemigos naturales del ácaro del aguacate *Oligonychus perseae*.

J. M. VELA, J. R. BOYERO, M. E. WONG. IFAPA, Laboratorio de Entomología Agraria, Cortijo de la Cruz, s/n. 29140 Málaga. josem.vela@juntadeandalucia.es

V. J. MONSERRAT. Departamento de Zoología y Antropología Física. Universidad Complutense de Madrid. 28040 Madrid. artmad@bio.ucm.es

Palabras clave: neurópteros, depredadores, control biológico, subtropicales, *Persea americana*.

INTRODUCCIÓN

Hasta 2004 el cultivo de aguacate en España se consideraba exento de plagas de importancia económica (GONZÁLEZ-FERNÁNDEZ y HERMOSO, 2005). Ese año se introduce como plaga el ácaro tetrániquido *Oligonychus perseae* Tuttle, BAKER y ABBATIello (Consejería de Agricultura y Pesca, 2005; HERNÁNDEZ-SUÁREZ *et al.*, 2007; LLORÉNS, 2007; VELA *et al.*, 2007), conocido como ácaro cristalino del aguacate. Este ácaro, nativo de Méjico, se conoce también como plaga en países como EE.UU. (California), Costa Rica e Israel (EPPO, 2003, 2006) y Portugal (Madeira) (FERREIRA *et al.*, 2006). Por otra parte, otras plagas incluso más dañinas amenazan el futuro del cultivo en España: el trips del aguacate (*Scirtothrips perseae* Nakahara), la chinche de encaje del aguacate (*Pseudacysta persea* (Heidemann)),

varias especies de lepidópteros de las familias Geometridae y Tortricidae, o el ácaro marrón (*Oligonychus punicae* (Hirst)), entre otras (WYSOKI *et al.*, 2002; WAITE y MARTÍNEZ-BARRERA, 2002; HODDLE, 2005).

La diversidad de la fauna en las plantaciones de aguacate es muy poco conocida, a nivel mundial. Este conocimiento es básico para la implementación de acciones de control biológico tanto sobre el ácaro del aguacate, como en relación a otras plagas potenciales (VELA *et al.*, 2007). El papel de los enemigos naturales (McMURTRY, 1992), y su promoción a través de la biodiversidad planeada (NICHOLLS y ALTIERI, 2005), es de una gran relevancia para el control biológico por conservación. Si bien existe información sobre los depredadores de las plagas del aguacate en Estados Unidos (YEE *et al.*, 2001;

OEVERING *et al.*, 2002, 2005), faltan estudios globales sobre la composición y función de la artrópodo-fauna autóctona en estos cultivos en el sur de Europa.

Los neurópteros han sido considerados como eficaces depredadores de las plagas agrícolas. Entre ellos, las principales familias de interés como agentes de control biológico en agrosistemas son Chrysopidae, Hemerobiidae y Coniopterigidae (CANARD *et al.*, 1984; VAN DRIESCHE y BELLOW, 2001; MCEWEN *et al.*, 2001).

En este artículo se presentan los resultados referidos a los neurópteros encontrados en plantaciones de aguacate de la provincia de Málaga (sur de España), y forma parte de un estudio más amplio dirigido al conocimiento de la diversidad entomológica presente en estos cultivos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Lugar de estudio

Las muestras fueron tomadas en dos parcelas de aguacates adultos de la variedad Hass sobre patrón Topa-topa, con un manejo libre de aplicaciones fitosanitarias, enclavadas en la mayor zona de aguacates de Europa (costa subtropical de Málaga y Granada). La situación y características de dichas parcelas fueron:

- Parcela “La Alegría”, Vélez-Málaga, Málaga. Coordenadas: 36°47'05.34" N, 4°09'13.91" O. Superficie: 0,48 ha. Altitud: 140m. Distancia a la costa: 7050m.
- Parcela “Estación Experimental la Mayora” (CSIC), Algarrobo-Costa, Málaga. Coordenadas: 36°45'35,05N, 4°02'22.11" O. Superficie: 0,60 ha. Altitud: 92m. Distancia a la costa: 1700m.

Muestreos

En ambas parcelas se aplicaron tres técnicas diferentes, a lo largo de un año, con periodicidad quincenal, resultando un total de

24 muestras por parcela con cada una de las técnicas descritas a continuación:

- Muestreo de las copas arbóreas mediante trampas de interceptación de vuelo. Consisten en dos paneles transparentes cruzados perpendicularmente, de 23 cm de altura y 26 cm de anchura, asentados sobre un embudo de este diámetro. Dicho embudo desemboca en un frasco colector conteniendo etilenglicol (40%), el cual se recambió en cada muestreo. Se emplearon 6 trampas por parcela, colocadas a 2 m de altura, durante el período comprendido entre mayo 2008 y abril 2009.
- Muestreo de copas arbóreas mediante la técnica del “paraguas japonés”, con vareo y recogida del material caído sobre una tela blanca de 1 m². El volumen muestreado por batida fue de 1,2 m³. La operación se repitió 16 veces en la parcela, entre abril 2007 y marzo 2008.
- Muestreo de vegetación arvense mediante manga entomológica. En cada parcela se recorrieron cuatro transectos de 24 m lineales x 1,5 m de anchura (aprox. 36 m²), entre abril 2007 y marzo 2008.

Los artrópodos recogidos fueron conservados en viales con alcohol (70 %).

RESULTADOS

Se han recogido 6 especies de neurop-teroides en las muestras de copas arbóreas (tabla 1): *Chrysoperla carnea* s.l. (Stephens, 1846) (figuras 1 y 2) (adultos asignables a *Ch. pallida* HENRY *et al.*, 2002 y a *Ch. lucasina* (Lacroix, 1912)), *Conwentzia psociformis* (Curtis, 1834) (figuras 3 y 4), *Semidalis aleyrodiformis* (Stephens, 1846), *Micromus angulatus* (Stephens, 1846), *Dichochrysa flavifrons* (Brauer, 1850) y *Harraphidia (Flavoraphidia) laufferi* (Navás, 1915). Sin embargo, las muestras de cubierta vegetal fueron menos diversas, con sólo 3 especies (Tabla 1): *Ch. carnea* s.l., *M. angulatus* y *D. flavifrons*.

Figura 1. Adulto de *Chrysoperla carnea* s.l.Figura 2. Larva de *Chrysoperla carnea* s.l.Figura 3. Adulto de *Conwentzia psociformis*Figura 4. Larva de *Conwentzia psociformis*

La ausencia de *C. psociformis* en la cubierta vegetal y su abundancia relativa en las copas parece señalar una preferencia arborícola de esta especie, al igual que parece ocurrir con *S. aleyrodiformis* y *H. laufferi*. Por el contrario, los adultos de *Ch. carnea* s.l. únicamente se encontraron en las muestras de cubierta vegetal estivales y otoñales.

En la figura 5 se muestra la fenología y densidad de las dos especies más abundantes: *Ch. carnea* y *C. psociformis*. En invierno y primavera las poblaciones de ambas especies presentaron una menor densidad. Sin embargo, en verano abundaron las larvas y adultos de *Ch. carnea*. Por otro lado, los adultos de *C. psociformis* estuvieron presentes todo el año, aunque sus larvas sólo se encontraron en verano y otoño.

En cuanto a las densidad poblacional de las dos especies dominantes, varía con la parcela considerada, y se obtuvo a partir de los datos de los muestreos con vareo en caso de copa arbórea, y con manguero de vegetación en caso de la cubierta vegetal. El método de trampas de interceptación no permite establecer densidades de insectos, sólo abundancias relativas. Así, en verano, el número medio de individuos por muestra de *Ch. carnea* tanto en copa como en cubierta en “La Mayora” fue superior a la encontrada en la parcela “La Alegría”, aunque estas diferencias no fueron significativas ($1,83 \pm 0,79$ y $0,83 \pm 0,48$; $t = 1,08$; $p = 0,30$). Por otro lado, *C. psociformis* fue menos abundante en la “Estación Experimental La Mayora” que en “La Alegría”, tanto en verano ($0,33 \pm 0,21$ y $1,00 \pm 1,00$; $t = 0,65$; $p = 0,53$) como en otoño ($1,33 \pm 1,33$ y $3,00 \pm 1,24$; $t = 0,92$; $n = 6$; $p = 0,38$), aunque estas diferencias tampoco fueron significativas.

DISCUSIÓN

Cuatro de los neuropteroides presentes en las parcelas de aguacate fueron escasamente abundantes: *Dichochrysa flavifrons*, *Semidalis aleyrodiformis*, *Micromus angulatus* y *Harraphidia laufferi*. Al contrario que en el

Tabla 1. Numero de ejemplares recogidos con las diferentes técnicas de muestreo

Familia	Especie	Fase	Método de muestreo			Total
			Copa interceptación	Copa vareo	Cubierta vegetal	
Chrysopidae	<i>Chrysoperla carnea</i> <i>s.l.</i>	Larva	9	20	19	48
		Macho adulto	-	-	1	1
		Hembra adulta	-	-	3	3
	<i>Dichochrysa flavifrons</i>	Larva	-	1	-	1
		Macho adulto	-	-	-	-
		Hembra adulta	-	-	1	1
Coniopterygidae	<i>Conwentzia psociformis</i>	Larva	-	18	-	18
		Macho adulto	15	7	-	22
		Hembra adulta	10	21	-	31
	<i>Semidalis aleyrodiformis</i>	Larva	-	-	-	-
		Macho adulto	2	-	-	2
		Hembra adulta	-	-	-	-
Hemerobiidae	<i>Micromus angulatus</i>	Larva	-	-	-	-
		Macho adulto	1	-	2	3
		Hembra adulta	-	-	2	2
Raphidiidae	<i>Harraphidia laufferi</i>	Larva	-	-	-	-
		Macho adulto	1	1	-	2
		Hembra adulta	-	-	-	-
Total			38	68	28	134

caso presente, *Dichochrysa flavifrons* es la segunda especie más frecuente en olivar de Andalucía (CAMPOS y RAMOS, 1983) y está generalmente asociada a medios mediterráneos (MONSERRAT, 2008). Asimismo, contrasta la situación de *S. aleyrodiformis*, que a pesar de ser el coniopterígido más abundante en árboles de la Península Ibérica (MONSERRAT y MARÍN, 2001), y especialmente en cultivos de cítricos (ALVIS *et al.*, 2003), fue muy escaso en nuestras muestras, posiblemente por ser un depredador más especializado en Hemiptera Diaspididae (BORRÁS *et al.*, 2006),

grupo muy escaso en las parcelas de aguacate estudiadas. Se conoce poco sobre la biología de *Micromus angulatus*, aunque parece que su amplitud de hábitat es más restringida que en *C. psociformis* y en *S. aleyrodiformis* (MONSERRAT y MARÍN, 2001). El hecho de ser una especie afidífaga (MIERMONT y CANARD, 1975) podría explicar su escasa presencia en las parcelas de aguacate, donde los áfidos son poco abundantes. Otra especie escasamente representada fue *Harraphidia laufferi*, endemismo ibérico de biotopos xeroterms cuyas larvas tienen hábitos edáficos, en

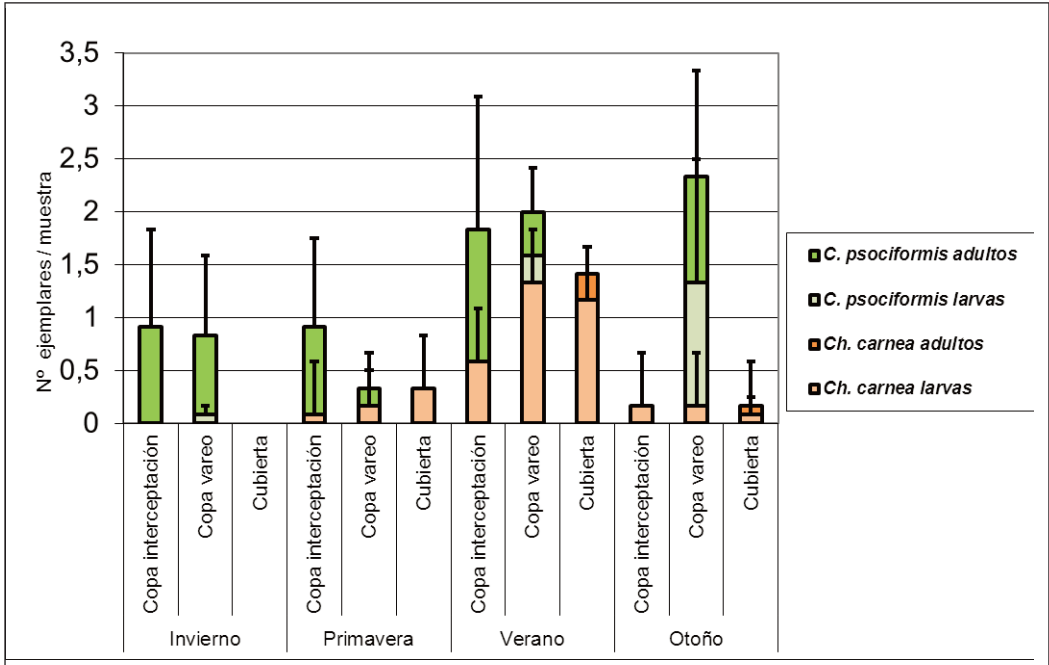


Figura 5. Fenología de *Chrysoperla carnea* y *Conwentzia psociformis*, como número de ejemplares por muestra. La barra representa el error estándar

tanto que los imagos se han encontrado en vegetación arbórea y arbustiva (MONSERRAT y PAPPENBERG, 2006). No se conocen datos acerca de sus preferencias tróficas.

Se encontraron dos especies dominantes en las parcelas: *Chrysoperla carnea* s.l. y *Conwentzia psociformis*. La primera de ellas se considera actualmente como un complejo de especies emparentadas (HENRY *et al.*, 2002), pero dado que la mayoría de los ejemplares fueron recogidos en estado larvario, se ha preferido mencionarlos como *Ch. carnea* en sentido amplio. Es una especie muy voraz y generalista aunque sólo es depredadora en estado larvario (PAPPAS *et al.*, 2011), cuya acción como agente de control biológico ha sido señalada sobre hemípteros coccoideos (LLORENS, 1990a; MILLER *et al.*, 2004), áfidos (LLORENS, 1990b), trips (SABELIS y VAN RIJN, 1997; LACASA y LLORENS, 1998), larvas de lepidópteros (REYNOLDS *et al.*, 1982; URBANEJA *et al.*, 2001) y ácaros (MISZCZAK y

NIEMCZYK, 1978; GARCÍA-MARÍ *et al.*, 1991). En laboratorio se ha observado su actividad depredadora sobre huevos y ninfas del ácaro del aguacate, *Oligonychus perseae* (VELA y BOYERO, no publ.). Es una especie muy común tanto en olivar (CAMPOS y RAMOS, 1983) como en cítricos (CARVALHO, 1997; ALVIS *et al.*, 2003; Franco *et al.*, 2006). En relación a *C. psociformis*, en la Península Ibérica es muy frecuente en las zonas de influencia eurosiberiana, pero en zonas de clima mediterráneo posee preferencia por ambientes mesófilos. Se alimenta principalmente de hemípteros aleyrodidos (RIPOLLÉS y MELIÀ, 1980; LLORENS y GARRIDO, 1992) y de ácaros (GARCÍA-MARÍ *et al.*, 1991; LEÓN y GARCÍA-MARÍ, 2005). Entre los coniopterígididos europeos, es probablemente el depredador de ácaros más importante en huertos de manzano y peral (SOLOMON *et al.*, 2000). Es frecuente en cítricos (RIPOLLÉS y

MELIÁ, 1980; CARVALHO, 1997), pero escaso en olivar (CAMPOS y RAMOS, 1983).

La densidad de los neuropteroides mostró una distribución muy desigual a lo largo del año. Así, las poblaciones de las dos especies dominantes, *Ch. carnea* y *C. psociformis*, tuvieron bajas densidades en invierno y primavera, pero ésta se duplicó en otoño e invierno, por lo que durante determinados momentos dichas poblaciones pueden tener un influencia importante sobre las presas disponibles. Entre ellas sobresale el ácaro del aguacate (*Oligonychus perseae*), que es el único fitófago plaga en este cultivo (VELA *et al.*, 2007).

Se ha detectado una preferencia en los adultos de *Ch. carnea* s.l. por la cubierta vegetal, pues estuvieron ausentes en las muestra de copa arbórea. Ello podría relacionarse con la apetencia de estos ejemplares por polen, néctar y melazas de hemípteros (PAPPAS *et al.*, 2011), más abundantes en verano y otoño en las plantas arvenses, ya que por un lado la época de floración del aguacate ocurre entre marzo y mayo, y por otra parte los hemípteros productores de melazas fueron muy escasos en los árboles de aguacate muestreados. En cambio, las larvas aparecieron tanto en la cubierta como en los árboles, lo que indicaría que, siendo una especie altamente polífaga, puede alimentarse en ambos estratos. La eficacia de *Ch. carnea* como agente de control biológico ha sido bien estudiada, sobre todo como depredadora de áfidos, moscas blancas, lepidópteros, cochinillas algodonosas y ácaros tetránquidos (NEW, 1975; PAPPAS *et al.*, 2011).

Por el contrario, el importante papel de *C. psociformis* en el control de ácaros fitófagos y de moscas blancas, ya destacado por GARCÍA-MARÍ *et al.* (1991) y LEÓN y GARCÍA-MARÍ (2005) ha sido escasamente investigado. En el agrosistema de aguacate, nuestros datos indican que *C. psociformis* es una especie netamente arborícola, que ataca presumiblemente a la especie herbívora dominante *O. perseae*. LEÓN y GARCÍA-MARÍ

(2005) estiman un consumo de 50 ácaros/día para la larva de *C. psociformis*; extrapolando este dato podría estimarse que la población de *C. psociformis* en los árboles de aguacate, en función de la densidad obtenida, depredan entre 113 presas/día/árbol en verano hasta unas 450 presas/día/árbol en otoño. Por tanto, dado que la máxima abundancia del ácaro del aguacate se presenta a finales de verano y otoño (BOYERO *et al.*, 2007), se puede presumir que *C. psociformis*, cuyo máximo poblacional larvario es asimismo otoñal, está jugando un papel importante en la regulación natural de las poblaciones de la plaga, aún mayor que *Ch. carnea*. En el caso de los cítricos, también se ha relacionado los máximos poblacionales de *C. psociformis* con los máximos del ácaro fitófago *Panonychus citri* (SOLER *et al.*, 2002).

Los depredadores del ácaro del aguacate forman un gremio multiespecífico compuesto, además, por ácaros fitoseidos y anístidos, coleópteros coccinélidos y estafilínidos, trips, hemípteros (míridos, antocóridos, redúvidos), dípteros (bombilidos, taquínidos, sírfidos) y araneidos, principalmente (VELA y BOYERO, no publ.). Esta compleja red de depredadores, si bien no es capaz de controlar completamente las explosiones del ácaro *O. perseae*, que suelen ser unimodales, sí posee una acción moduladora sobre este fitófago. Además, la existencia de esta red podría desempeñar un papel preventivo frente al establecimiento de otras plagas que ya están causando graves daños al sector en EE.UU., como es el caso del trips del aguacate (*Scirtothrips perseae*) (HODDLE y ROBINSON, 2004), o la chinche de encaje del aguacate (*Pseudocysta perseae*) (HUMERES *et al.*, 2009), entre otras.

AGRADECIMIENTOS

A los propietarios y/o responsables de las fincas colaboradoras: Dr. José María Farré (La Alegría) y Dres. Jorge González-Fernández e Ignacio Hormaza (Departamento de Fruticultura Subtropical del IHSM,

La Mayora, CSIC), por su colaboración inestimable. Este trabajo ha sido financiado por el proyecto N° AID06-02 “Biología y

control del ácaro del aguacate (*Oligonychus perseae*) en Andalucía”, de la Consejería de Agricultura y Pesca (Junta de Andalucía).

ABSTRACT

VELA, J.M., J. R. BOYERO, M. E. WONG, V. J. MONSERRAT. 2012. Neuropterans (Insecta: Neuroptera, Raphidioptera) of avocado orchards in southern Spain. *Bol. San. Veg. Plagas*, **38**: 213-221

The study of neuropterans associated with two avocado orchards in the province of Málaga yielded a total of 6 species: *Chrysoperla carnea* s.l., *Conwentzia psociformis*, *Semidalis aleyrodiformis*, *Micromus angulatus*, *Dichochrysa flavifrons* and *Harraphidia (Flavoraphidia) laufferi*. The first two were the dominant species. *Ch. carnea* was more abundant in summer. However, while adults of *C. psociformis* were found throughout the year, the larvae appeared mainly in the autumn. We discuss the role of these two species as natural enemies of avocado mite, *Oligonychus perseae*.

Key words: Neuropterans, predators, biological control, avocado, Spain.

REFERENCIAS

- ALVIS, L., VILLALBA, M., MARZAL, C., GARCÍA-MARÍ, F. 2003. Identification and abundance of Neuropterans species associated with citrus orchard in Valencia, Spain. *IOBC wprs Bulletin*, **26** (6): 185-190.
- BORRÁS, M., SOTO, A., GARCÍA-MARÍ, F. 2006. Evolución estacional de *Chrysomphalus aonidum* (L.) (Hemiptera: Diaspididae) y prospección en Valencia. *Boletín de Sanidad Vegetal, Plagas*, **32**: 313-324.
- BOYERO, J. R., GONZÁLEZ-FERNÁNDEZ, J. J., WONG M. E., MONSERRAT, M., PEÑA, F., VELA, J. M., FARRÉ J. M. 2007. Datos preliminares acerca de la actividad biológica del ácaro del aguacate (*Oligonychus perseae* Tuttle, Baker y Abbatiello) y sus enemigos naturales en el sur de España. *Actas V Congreso Nacional de Entomología Aplicada*, Cartagena: 143.
- CAMPOS, M., RAMOS, P. 1983. Crisópidos (Neuroptera) capturados en un olivar del sur de España. *Neuroptera Internacional*, **2** (4): 219-227.
- CANARD, M., SÉMÉRIA, Y., NEW, T. R. 1984. *Biology of Chrysopidae*. W. Junk, The Hague. 294 pp.
- CARVALHO, M. U. M. M. P. 1997. Contribuição para o conhecimento dos crisopídeos em Portugal. *Agronomia Lusitana*, **45** (supl. 1): 1-41.
- CONSEJERÍA DE AGRICULTURA Y PESCA. 2005. Incidencia de plagas y enfermedades en las Comunidades Autónomas en 2004: Andalucía. *Phytoma España*, **168**: 17-21.
- EPPO. 2003. Two new quarantine pests of avocado introduced in Israel. *EPPO Reporting Service 2003*, n° 03, 2003/044. *European and Mediterranean Plant Protection Organization*.
- EPPO. 2006. *Oligonychus perseae*. European and Mediterranean Plant Protection Organization. [http://www.eppo.org/QUARANTINE/Alert_List/insects/OLIGPA.htm] Consulta en línea: 6/07/2008.
- FERREIRA, M. A., BRAZAC, C. J., AGUIAR, A. M. F. 2006. Ocorrência de *Oligonychus perseae* (Tuttle, Baker y Abbatiello) (Acari: Tetranychidae) na Ilha de Madeira. *Agronomia lusitana* **51** (3): 219-222.
- FRANCO, J. C., SILVA, E. B., COSTA, L., MATEUS, C., RAIMUNDO, A. 2006. Inimigos naturais das pragas dos citrinos. Predadores. Insectos. En: Franco, J.C., Ramos, A. P., Moreira, I. (eds.), *Infra-estructuras ecológicas e protecção biológica*. ISA Press, Lisboa: 82-97.
- GARCÍA-MARÍ, F., COSTA-COMELLES, J., FERRAGUT, F., LLORÉNS, J. M. 1991. *Ácaros de las plantas cultivadas y su control biológico*. Pisa ediciones, Valencia, 175 pp.
- GONZÁLEZ-FERNÁNDEZ, J. J., HERMOSO, J. M. 2005. Control del ácaro cristalino del aguacate. *La Caña*, **10**: 18-20.
- HENRY, C. S., BROOKS, S. J., DUELLI, P., JOHNSON, J. B. 2002. Discovering the true *Chrysoperla carnea* (Stephens) (Insecta: Neuroptera: Chrysopidae) using

- song analysis, morphology, and ecology. *Annals of the Entomological Society of America*, **95**: 172-191.
- HERNÁNDEZ-SUÁREZ, E., TORRES-LUIS, E., VELÁSQUEZ-HERNÁNDEZ, Y. 2007. *Araña cristalina del aguacate. Nueva plaga en Canarias*. Servicio Técnico de Agricultura y Desarrollo Rural, Cabildo de Tenerife, 6 pp.
- HODDLE, M. S. 2005. Invasions of leaf feeding arthropods: why are so many new pests attacking California-grown avocados? *California Avocado Society 2004-05 Yearbook*, **87**: 65-81.
- HODDLE, M. S., ROBINSON, L. 2004. Evaluation of factors influencing augmentative releases of *Chrysoperla carnea* for control of *Scirtothrips perseae* in California avocado orchards. *Biological Control*, **31**: 268-275.
- HUMERES, E. C., MORSE, J. G., STOUTHAMER, R., ROLTSCH, W., HODDLE, M. 2009. Evaluation of natural enemies and insecticides for control of *Pseudocysta perseae* (Hemiptera: Tingidae) on avocados in Southern California. *Florida Entomologist*, **92**: 35-42.
- LACASA, A., LLORÉNS, J. M. 1998. *Trips y su control biológico (II)*. Písa ediciones, Valencia, 312 pp.
- LEÓN, N., GARCÍA-MARÍ, F. 2005. Los neurópteros coniopterigidos como depredadores de plagas en cítricos. *Levante Agrícola*, **44** (378): 377-382.
- LLORÉNS, J. M. 1990a. *Homoptera I. Cochinillas de los cítricos y su control biológico*. Písa ediciones, Valencia, 260 pp.
- LLORÉNS, J. M. 1990b. *Homoptera II. Pulgones de los cítricos y su control biológico*. Písa ediciones, Valencia, 170 pp.
- LLORÉNS, J. M. 2007. El ácaro del aguacate *Oligonychus perseae* (Tuttle, Baker y Abbatiello (Acari: Tetranychidae) en la Comunidad Valenciana. *Agrícola Vergel*, febrero 2007: 100-103.
- LLORÉNS, J. M., GARRIDO, A. 1992. *Homoptera III. Moscas blancas de los cítricos y su control biológico*. Písa ediciones, Valencia, 203 pp.
- MCEWEN, P., NEW, T. R., WHITTINGTON, A. E. 2001. *Lacewings in the Crop Environment*. Cambridge University Press, Cambridge, 546 pp.
- MCMURTRY, J. A. 1992. The role of exotic natural enemies in the biological control of insect and mite pests of avocado in California. En: Lovatt, C.J. (ed.), *Proceedings of Second World Avocado Congress, April 21-26, 1991, Orange, California*: 247-252.
- MILLER, G. L., OSWAL, J. D., MILLER, D. R. 2004. Lacewings and scale insects: a review of predator/prey associations between the Neuropterida and Coccoidea (Insecta: Neuroptera, Raphidioptera, Hemiptera). *Annals of the Entomological Society of America*, **97**: 1103-1125.
- MIERMONT, Y., CANARD, M. 1975. Biologie du prédateur Aphidiphage *Eumicromus angulatus* (Neur.: Hemerobiidae): études au laboratoire et observations dans le sud-ouest de la France. *Entomophaga*, **20**: 179-191.
- MISZCZAK, M., NIEMCZYK, E. 1978. Green lacewing *Chrysopa carnea* Steph. (Neuroptera: Chrysopidae) as a predator of European mite (*Panonychus ulmi* Koch) on apple trees. Part II. The effectiveness of *Chrysopa carnea* larvae in control *Panonychus ulmi* Koch. *Fruit Science Reports*, **5**: 21-30.
- MONSERRAT, V. J. 2008. Nuevos datos sobre algunas especies de crisópidos (Insecta: Neuroptera: Chrysopidae). *Heteropterus, Revista de Entomología*, **8** (2): 171-196.
- MONSERRAT, V. J., MARÍN, F. 2001. Comparative plant substrate specificity of Iberian Hemerobiidae, Coniopterygidae and Chrysopidae. En: Mc Ewen, P. K., New, T. R., Whittington A. E. (eds.). *Lacewings in the crop environment*. Cambridge University Press, Cambridge: 424-434.
- MONSERRAT, V. J., PAPPENBERG, D. 2006. Revisión del género *Harraphidia* Steinmann, 1963 con la descripción de dos nuevas especies de la península Ibérica y de Marruecos (Insecta, Raphidioptera). *Graellsia*, **62** (2): 203-222.
- NEW, T. R. 1975. The biology of Chrysopidae and Hemerobiidae (Neuroptera), with reference to their usage as biocontrol agents: a review. *Transactions of the Royal Entomological Society of London*, **127**: 115-140.
- NICHOLLS, C. I., ALTIERI, M. A. 2005. *Agroecology and the search for a truly sustainable agriculture*. United Nations Environmental Programme, México, 290 pp.
- OEVERING, P., FABER, B., PHILLIPS, P. 2002. Natural enemies associated with Avocado thrips in Ventura County avocado groves: results of a pilot study and year one of a three-year survey. *California Avocado Society 2002 Yearbook*, **88**: 105-126.
- OEVERING, P., FABER, B., PHILLIPS, P. 2005. Natural enemies survey in Ventura County avocado groves in 2003 and 2004. *California Avocado Society 2005 Yearbook*, **88**: 93-122.
- PAPPAS, M. L., BROUFAS, G. D., KOVEOS, D. S. 2011. Chrysopid predators and their role in biological control. *Journal of Entomology*, **8** (3): 301-326.
- REYNOLDS, H. T., ADKISSON P. L., SMITH, R. F., FRISBIE, R. E. 1982. Cotton insect pest management. En : Metcalf, R.L., Luckman W.H. (eds.), *Introduction to insect pest management*, 2nd ed., Wiley, New York: 375-441.

- RIPOLLÉS J. L., MELIÁ, A. 1980. Primeras observaciones sobre la proliferación de *Conwentzia psociformis* (Curt.) (Neuroptera, Coniopterygidae), en los cítricos de Castellón de la Plana. *Boletín del Servicio de Plagas*, **6**: 61-66.
- SABELIS, M. W., VAN RIJN, P. C. J. 1997. Predation by insects and mites. En: Lewis, T. (ed.), *Thrips as crop pests*. CAB International, London: 259-354.
- SOLER, J. M., GARCÍA-MARÍ, F., ALONSO, D. 2002. Evolución estacional de la entomofauna auxiliar en cítricos. *Boletín de Sanidad Vegetal, Plagas*, **28**: 133-149.
- SOLOMON, M. G., CROSS, J. V., FITZGERALD, D., CAMPBELL, C. A. M., JOLLY, R. L., OLSZAK, R. W., NIEMCZYK, E., VOGT, H. 2000. Biocontrol of pests of Apples and Pears in Northern and Central Europe, 3. Predators. *Biocontrol Science and Technology*, **10**: 91-128.
- ÚRBANEJA, A., MUÑOZ, A., GARRIDO A., JACAS, J. A. 2001. Incidencia de *Chrysoperla carnea* (Stephens) (Neuroptera: Chrysopidae) en la depredación de *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera: Gracillariidae). *Boletín de Sanidad Vegetal, Plagas*, **27**: 65-73.
- VAN DRIESCHE, R. G., BELLOW, T. S. 2001. *Biological control*. 3rd. ed. Kluwer Academic Publishing, The Netherlands, 539 pp.
- VELA, J. M., GONZÁLEZ-FERNÁNDEZ, J. J., WONG, E., MONTSERRAT, M., FARRÉ, J. M., BOYERO, J. R. 2007. El ácaro del aguacate (*Oligonychus perseae*): estado actual del problema e investigación en Andalucía. *Agrícola Vergel*, **26**: 301-308.
- WAITE, G. K., MARTÍNEZ-BARRERA, R. 2002. Insect and mite pests. En: Whiley, A. W., Schaeffer, B. B., Wolstenholme, B. N. (eds.), *Avocado: botany, production and uses*. CABI Publishing, Wallingford: 339-361.
- WYSOKI, M., VAN DER BERG, M. A., ISH-AM, G., GAZIT, S., PEÑA, J. E., WAITE, G. 2002. Pests and pollinators of avocado. En: Peña, J. E., Sharp, J. L., Wysoki, M. (eds.), *Tropical Fruit pests and pollinators: biology, economic importance, natural enemies and control*. CABI Publishing, Wallingford: 223-294.
- YEE, W. L., PHILLIPS, P., RODGERS J. L., FABER, B. A. 2001. Phenology of arthropod pests and associated natural predators on avocado leaves, fruits and in leaf litter in Southern California. *Environmental Entomology*, **30**: 892-898.

(Recepción: 21 noviembre 2011)

(Aceptación: 30 octubre 2012)

Potencial de uso de extractos vegetales disponibles comercialmente en el manejo integrado de plagas de la fresa

C. GARCÍA, G. ALBENDÍN, J. M^a MOLINA

Se evaluaron comparativamente 4 productos de origen natural, con acción fitofortificante sobre las plantas, como alternativas para la prevención y tratamiento de las plagas de la fresa en Huelva. Se dispuso un ensayo en forma de bloques completos al azar con 4 repeticiones por tratamiento, con parcelas de control manejadas según las recomendaciones y umbrales contenidos en el reglamento de producción integrada vigente. Se realizó el seguimiento de las principales plagas de la fresa: Araña roja, pulgón, trips y daños provocados por orugas de lepidópteros. Con ligeras diferencias, según el periodo de cultivo, en todos los tratamientos se obtuvieron resultados comparables a los del control. Los productos empleados permitieron sustituir las materias activas insecticidas empleadas en el control de plagas de la fresa, manteniendo un número semejante de aplicaciones pero simplificando el manejo, al reducir el número de compuestos necesarios. La eficiencia de los productos evaluados parece disminuir al avanzar la campaña, probablemente por sus características físico-químicas y el progreso de la estación, ya que, en mayor o menor grado, son todos susceptibles a la degradación por luz solar y menos persistentes que las materias activas habituales. En general, en las parcelas tratadas se obtuvieron porcentajes de ocupación de hojas y flores por parte de especies de fauna auxiliar algo mayores que en las parcelas control. Esta ocupación fue progresiva, se produjo de forma natural a lo largo de la campaña y, prácticamente, en todos los casos superior a la observada en las parcelas de control. Los resultados sugieren un gran potencial de empleo de este tipo de productos en el cultivo biológico u orgánico de la fresa.

J. M^a MOLINA. Laboratorio de Entomología. IFAPA Centro “Las Torres-Tomejil”. Consejería de Agricultura y Pesca. Junta de Andalucía. Ctra. Sevilla-Cazalla, Km 12,2. 41200 Alcalá del Río (Sevilla). e-mail de contacto: josem.molina@juntadeandalucia.es

Palabras clave: fitofortificantes, elifitores, producción integrada, araña roja, trips.

INTRODUCCIÓN

La fresa cultivada (*Fragaria x ananassa* Duchense) ha alcanzado gran importancia social y económica en España, siendo de los productos con mayor cuota de exportación. Nuestro país supera el 10% de la producción mundial, concentrada en la provincia de Huelva, probablemente el núcleo productor más importante del mundo, con más del 90% de la producción nacional (ANÓNIMO, 2010).

Las características de monocultivo de la fresa, con siembras repetidas en años consecutivos, en el mismo suelo, propician la incidencia de ciertas plagas de insectos y enfermedades que pueden provocar pérdidas de producción. Hasta ahora los tratamientos fitosanitarios se basaban en la aplicación de sustancias químicas de efecto directo y rápido. Esta situación está cambiando rápidamente y de manera drástica, debido a las restricciones legales impuestas, basadas

tanto en la seguridad alimentaria, como en una mayor preocupación medioambiental. Como consecuencia se acrecienta el interés en la investigación y desarrollo de técnicas de control sustitutivas de las actualmente en uso, o de incorporarse a estrategias más amplias de control integrado (ALVARADO, 2009).

Son numerosas las plantas que fabrican compuestos susceptibles de ser empleados en el manejo fitosanitario de los cultivos reduciendo los problemas asociados a las sustancias de síntesis química. Entre las que pueden representar una alternativa real de empleo se encuentran los diferentes insecticidas botánicos ya en uso (PRAKASH y RAO, 1997), y los menos conocidos productos fitofortificantes o inductores de defensas vegetales (BLANCHARD y LIMACHE, 2005; MARTÍNEZ, 2009; PAJOT, 2011). Tras el descubrimiento de la capacidad natural de las plantas a defenderse de los ataques de insectos y patógenos, en este último grupo se han llevado a cabo trabajos que evidencian los efectos positivos de diversas sustancias individuales y extractos vegetales, que son capaces de disponer a las plantas en estado de alerta, induciendo el desarrollo de sus defensas, y haciéndolas así menos vulnerables al ataque

de insectos y patógenos. Aunque estos efectos están relativamente bien documentados, mediante trabajos de laboratorio con diversos patógenos e insectos, los estudios sobre insectos y de su aplicación en campo son mucho más escasos (LATEUR, 2002; BONAFOS *et al.*, 2011; DOUMANDJI-MITICHE y DOUMANDJI, 2011; GHAZANFAR *et al.*, 2011; HALLIER, *et al.* 2011).

En este contexto, el presente trabajo resume los resultados de una primera evaluación en campo de cuatro productos disponibles comercialmente como fortificantes e inductores de defensas en plantas, para su empleo en la prevención y control de plagas de insectos de la fresa.

MATERIAL Y MÉTODOS

Diseño experimental y muestreos

Durante la campaña 2009/2010 se dispuso una parcela de ensayo en la Estación Experimental de El Cebollar (Moguer, Huelva). Considerando la variación existente en el terreno se optó por un diseño experimental de bloques completos al azar (Figura 1), con



Figura 1. Campo de experimentación. Finca El Cebollar (Huelva)

4 repeticiones por tratamiento, en el que se distribuyeron por sorteo 4 tratamientos a evaluar: Mix-Forte®, TM-49®, Aphiplan® y TripStop® (en adelante EV 1, EV 2, EV 3, EV 4 respectivamente) y 1 tratamiento Control, en el que se siguieron las recomendaciones para el manejo de plagas contenida en el Reglamento de Producción Integrada (en adelante RPI) para el cultivo de la fresa (ANÓNIMO, 2008). La plantación se realizó la tercera semana del mes de octubre, en macrotúneles, con plantas de fresa procedentes de viveros de altura de la variedad “Camarosa”, la de mayor implantación en la zona fresera onubense (ANÓNIMO, 2010). Como es habitual en la

zona, el cultivo estuvo cubierto durante todo el periodo que duró la campaña.

Se realizaron aplicaciones foliares, utilizando para las mismas una mochila dotada de lanza con 4 boquillas asegurando un buen mojado de toda la planta, se emplearon las dosis máximas y recomendaciones para cada producto. Las aplicaciones se realizaron quincenalmente desde la segunda quincena de noviembre, una vez definitivamente estabilizado el cultivo; hasta la segunda mitad de marzo, a partir de entonces se realizaron aplicaciones semanales hasta el final del ciclo de producción en la tercera semana de mayo (Tabla 1).

Tabla 1. Características de los tratamientos y productos fitosanitarios empleados durante la campaña 2009/10 en las parcelas de ensayo de El Cebollar (Moguer, Huelva)

Parcela	Tratamiento	Materias activas usadas (blanco) y dosis ¹	
Control	Manejo integrado habitual en la zona, según las normas y los productos autorizados en el Reglamento de Producción Integrada de la fresa (BOJA N°4, 5/1/2008 y revisiones)	Clorpirifos 48% (orugas) - 2 cc/L (1) Bupirinato 25% (oidio) - 1 cc/L (1) Azufre polvo (araña/oidio) - 25 kg/ha (2) Fenhexamid 50% (botrytis) - 1,5 g/L (1) Triadimenol 25% (oidio) - 0,5 cc/L (1) Abamectina 1.8% (araña roja) - 1cc/L (3) Clofentezin 20% (araña roja) - 0,5 cc/L (2) Aceite de Neem (pulgones) - 2 cc/L (1) Spinosad 48% (trips) - 0,25 cc/L (2)	
Parcela	Tratamiento	Dosis	Otras materias activas ¹
EV 1 Mix-Forte	Mezcla de extractos vegetales 35%. pH 7,8. Densidad 0,94 g/L.	250 cc/100 L. (13)	
EV 2 TM-49	Extracto vegetal de <i>Thymus zizis</i> 49%. pH 7,8. Densidad 1,07 g/L.	150 cc/100 L. (13)	
EV 3 Aphiplan	Aminoácidos libres 6%. Nitrógeno total 1%. Nitrógeno orgánico 1%. PH 7,8. Extractos vegetales 35%, mezcla de pulpa de cítricos, ajo, ortigas y tanaceto.	300 cc/100 L. (13)	Bupirinato 25%(oidio) - 1 cc/L (1) Fenhexamid 50% (Botrytis) -1,5 g/L (1) Triadimenol 25% (oidio) - 0.5 cc/L (1)
EV 4 TripStop	Aminoácidos libres 6%. Nitrógeno total 1%. Nitrógeno orgánico 1%. PH 7,8. Extractos vegetales 54%.	200 cc/100 L. (13)	

¹ Entre paréntesis el número de aplicaciones realizadas a lo largo de la campaña

Se realizó el seguimiento de las principales plagas de la fresa (ALVARADO, 2009): Araña roja (*Tetranychus urticae* Koch); pulgones (*Aphis* spp., *Myzus persicae* (Sulzer), etc.); trips (*Frankliniella occidentalis* (Pergande)) y la presencia de daños ocasionados por orugas de lepidópteros (*Spodoptera* spp., *Peridroma saucia* (Hbn.) *Helicoverpa armigera* (Hbn.) *Autographa gamma* (L.) y *Chyxodeixis chalcites* (Esp.).

La toma de datos se realizó semanalmente, comenzando transcurrido un mes desde la plantación, excepto para los muestreos de trips que se iniciaron en enero. Cada semana se colectaron al azar 10 hojas por parcela elemental (40 por tratamiento) y 5 flores (20 por tratamiento), registrando según el caso la presencia de daños y/o número de individuos o formas móviles por hoja o por flor. De modo similar se identificaron las especies de fauna auxiliar presentes en el cultivo, registrándose en cada fecha su presencia y número de individuos, prestando particular atención a la aparición de ácaros predadores (Phytoseiidae) y del antocócrido *O. laevigatus* (Fieber) los organismos de control comúnmente empleados en el control biológico de plagas en fresa.

Análisis de datos

En el análisis y presentación de datos, se han seguido los periodos y criterios de intervención establecidos en el RPI de la fresa (ANÓNIMO, 2008); aunque para determinar el nivel de infestación en campo por araña roja se ha sido más estricto, considerando ocupada aquella hoja en la que aparecían huevos y/o formas móviles. En el caso de trips, se analizó el total de las muestras como un único periodo.

Todos los datos se transformaron antes de su análisis empleando la expresión: $x' = \arcsen \sqrt{x+0.5}$, para datos porcentuales; ó $x' = \log(x+1)$, para otros datos. Los valores porcentuales, derivados de datos de presencia/ausencia, se analizaron empleado el test de Kruskal-Wallis, y en caso de significación las medias se separaron utilizando el test Z (GÓMEZ y GÓMEZ, 1984). En el caso de los conteos, se

ha usado análisis de varianza, comparando las medias de cada tratamiento respecto al control mediante el test de Dunnett ($p < 0.05$). Las tablas presentan valores medios seguidos de su error estándar. El análisis estadístico se ha desarrollado empleando el paquete estadístico Statistix 9.0 para Windows.

RESULTADOS

Evaluación de los tratamientos desde aplicación hasta final de febrero

El porcentaje de plantas con daños y/o orugas de lepidópteros aumentó desde la plantación al inicio de las aplicaciones en todos los tratamientos. Durante este periodo no se alcanzaron los umbrales de intervención establecidos en ninguna de las parcelas, no observándose diferencias significativas entre tratamientos; correspondiendo a las parcelas tratadas con EV 3 los valores medios más bajos (Tabla 2; Figura 2).

El nivel de población medio de la araña roja antes de los tratamientos no superó las 25 formas móviles/hoja, fue mayor en EV 1 y EV 2; tras las aplicaciones, en esta fase del cultivo los niveles de infestación se redujeron en EV 1, EV 2 y EV 3 y aumentaron en el control y EV 4, aunque no se apreciaron diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos ($F_{1,179} = 1.23$ N.S.). El umbral de intervención establecido para el periodo no se superó en ninguno de los tratamientos disminuyendo respecto al pretratamiento (Tabla 3; Figura 3).

El porcentaje medio de plantas infestadas por pulgón aumento hasta final de febrero, aunque se mantuvo por debajo del umbral de intervención en todos los tratamientos. Las medias de todos los tratamientos resultaron superiores a la del tratamiento control, excepto en las parcelas tratadas con EV 1 (Tabla 4; Figura 4).

La población de trips durante este periodo osciló entre 1 y 2 trips/flor; los valores medios de flores ocupadas por trips se mantuvieron próximos al 30%, por debajo del umbral de intervención y sin diferencias entre tratamientos (Tabla 5; Figura 5).

Tabla 2. Porcentaje de plantas con daños y/o orugas de lepidópteros en la campaña 2009/10¹

Tratamientos	Pretratamientos ²	Hasta fin febrero	Resto campaña	Totales
Control	7.5±3.7 a	11.1±1.7 a	7.5±1.6 b	9.1±1.1 b
EV 1	10.0±3.8 a	13.3±1.6 a	16.0±1.3 a	14.3±0.9 a
EV 2	7.5±3.7 a	9.4±1.7 a	13.0±1.5 ab	10.9±1.1 ab
EV 3	0.0±0.0 a	8.3±1.7 a	14.0±1.5 ab	10.2±1.1 ab
EV 4	5.0±3.3 a	14.4±1.5 a	15.5±1.3 ab	14.1±1.0 ab
Kruskall-Wallis; $\chi^2_{g1=4}$	5.34 N.S.	9.58 N.S.	20.5***	18.9***

Umbral de intervención $\geq 15\%$ de plantas con daños y/o presencia.

¹Datos expresados como la media \pm e. e. Las distintas letras situadas junto a las medias indican diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos y el control en su respectiva columna (Test Dunnett * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$; N.S.=estadístico no significativo).

² Periodo previo a la aplicación de fitosanitarios y productos evaluados.

Evaluación de los tratamientos desde marzo hasta final de campaña

Las diferencias entre tratamientos en la etapa final del cultivo fueron mayores que en el periodo anterior. Los daños por orugas de lepidópteros, aumentaron ligeramente y se registraron diferencias entre medias, sólo EV

1 mostró medias superiores al control (Tabla 2; Figura 2).

El número medio de formas móviles de araña roja aumentó respecto al periodo anterior en todas las parcelas, correspondiendo el mayor incremento a las parcelas tratadas con EV 2 ($F_{4,199} = 4.33$, $p < 0.01$). No se detectaron diferencias en el porcentaje de hojas

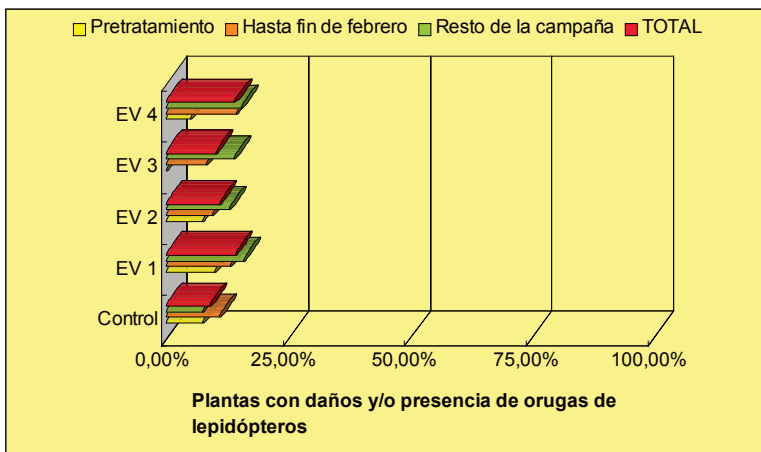


Figura 2. Evolución de los daños y/o presencia de orugas de lepidópteros en cada uno de los tratamientos durante la campaña 2009/10 en el ensayo de El Cebollar (Moguer, Huelva)

Tabla 3. Porcentaje de hojas ocupadas por araña roja en la campaña 2009/10¹

Tratamiento	Pretratamientos	Hasta fin febrero	Resto campaña	Totales
Control	2.5±1.6 a	2.8±0.9 a	35.5±5.2 a	18.3±3.1 a
EV 1	6.3±1.8 a	1.7±0.7 a	34.3±5.3 a	17.6±3.1 a
EV 2	10.0±3.8 a	4.2±1.2 a	52.8±6.6 a	27.9±4.1 a
EV 3	3.8±1.8 a	2.5±0.9 a	42.5±6.3 a	21.7±3.7 a
EV 4	3.8±1.8 a	3.1±1.0 a	36.3±5.5 a	18.9±3.2 a
Kruskall-Wallis; $X^2_{g,1,4} =$	4.5 N.S.	3.3 N.S.	4.8 N.S.	3.7 N.S.

Umbral de intervención $\geq 15\%$ de hojas ocupadas hasta fin de febrero; resto de la campaña $\geq 25\%$, si además el % de hojas con fitoseidos es inferior al 50% del valor.

¹Datos expresados como la media \pm e.e. Las distintas letras situadas junto a las medias indican diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos y el control en su respectiva columna (Test Dunnett, * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$; N.S.=estadístico no significativo).

ocupadas (Tabla 3; Figura 3). Los valores de intervención se sobrepasaron en el periodo que fue de mediado marzo hasta finales de abril; a partir de entonces se observó un aumento en las poblaciones de fitoseidos (Figura 6), y sólo en el caso de EV 2 la media superó el criterio de intervención establecido.

Las poblaciones de pulgones aumentaron en el ensayo respecto a partir de marzo; las parcelas sometidas a tratamientos con EV 1 y EV 3 arrojaron medias de densidad de

población parejas a la del control mientras que las parcelas tratadas con EV 4 y EV 2 éstas fueron significativamente más elevadas ($F_{4,199} = 16.78$, $p < 0.001$). Este aumento general en las poblaciones se reflejó en una incidencia por encima del umbral establecido en las parcelas tratadas con EV 2 y EV 4 respecto al control y resto de tratamientos (Tabla 4; Figura 4).

No se encontraron diferencias significativas entre tratamientos en cuanto a densidad

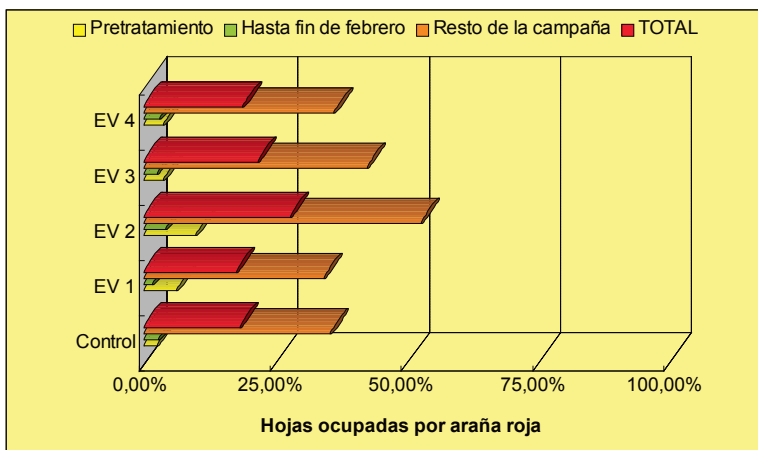


Figura 3. Evolución de la incidencia media de araña roja (*T. urticae*) en cada uno de los tratamientos durante la campaña 2009/10 en el ensayo de El Cebollar (Moguer, Huelva)

Tabla 4. Porcentaje de plantas ocupadas por pulgones en la campaña 2009/10¹

Tratamientos	Pretratamientos	Hasta fin febrero	Resto campaña	Totales
Control	2.5±2.5	0.6±0.6 b	35.0±5.0 b	17.1±3.0 b
EV 1	2.5±2.5	8.3±2.2 ab	52.0±5.1 ab	28.6±3.6 ab
EV 2	5.0±3.3	18.9±3.8 a	63.5±4.6 a	38.8±3.8 a
EV 3	2.5±2.5	13.9±2.9 a	46.5±4.2 ab	28.3±3.1 a
EV 4	0.0±0.0	22.8±4.2 a	64.0±4.9 a	40.2±3.9 a
Kruskall-Wallis; $X^2_{g,l-4} =$	2.2 N.S.	31.3***	23.2***	27.7***

Umbral de intervención $\geq 25\%$ de plantas ocupadas hasta marzo; resto de la campaña $\geq 50\%$.

¹Datos expresados como la media \pm e.e. Las distintas letras situadas junto a las medias indican diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos y el control en su respectiva columna (Test Dunnett, * $p < 0.05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0.001$; N.S.=estadístico no significativo).

de población de trips, subieron de forma general en todo el ensayo, siendo similares en todos los tratamientos ($F_{4,339} = 0.58$, N.S.). Así, los porcentajes de ocupación de flores también subieron respecto al periodo anterior oscilando entre el 75 y 85%, y superando de esta forma el umbral de intervención establecido en todas las parcelas del ensayo (Tabla 5; Figura 5).

DISCUSIÓN

Se han obtenido resultados comparables sustituyendo materias activas insecticidas autorizadas en producción integrada de fresa por compuestos de origen natural basados en extractos vegetales. En control de plagas, los productos utilizados han permitido simplificar las tareas, reduciendo el número de materias

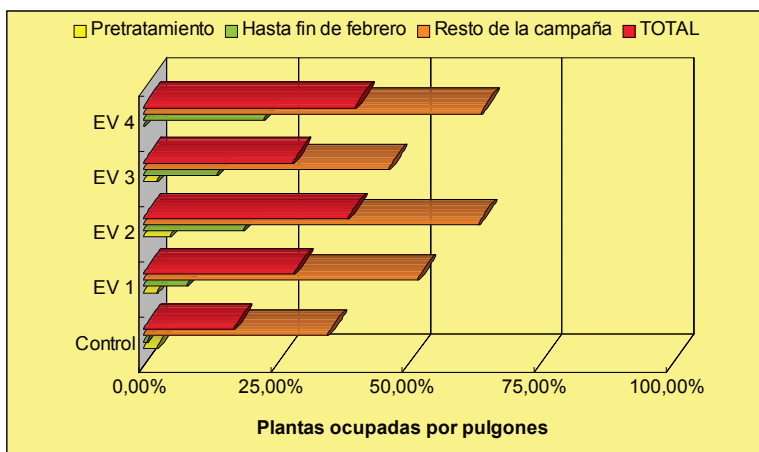


Figura 4. Evolución de la incidencia media de pulgón en cada uno de los tratamientos durante la campaña 2009/10 en el ensayo de El Cebollar (Moguer, Huelva)

Tabla 5. Porcentaje de flores ocupadas por trips en la campaña 2009/10¹

Tratamientos	Pretratamientos	Hasta fin febrero	Resto campaña	Totales
Control	-	27.1±4.6 a	77.5±4.1 a	56.8±4.3 a
EV 1	-	22.1±4.2 a	84.5±2.9 a	58.8±4.5 a
EV 2	-	25.2±4.9 a	86.0±3.6 a	60.9±4.7 a
EV 3	-	18.6±3.6 a	78.5±3.9 a	53.8±4.5 a
EV 4	-	28.6±5.5 a	81.8±1.6 a	58.1±1.9 a
Kruskall-Wallis; $\chi^2_{g,l=4} =$	-	1.9 N.S.	4.4 N.S.	1.9 N.S.

Umbral de intervención $\geq 70\%$ de flores ocupadas con 3 ó más formas móviles.

¹Datos expresados como la media \pm e.e. Las distintas letras situadas junto a las medias indican diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos y el control en su respectiva columna (Test Dunnett, * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$; N.S.=estadístico no significativo).

activas manteniendo un número similar de aplicaciones. Se han observado menos diferencias significativas respecto al control durante la primera fase de la campaña, este es el momento en que la producción de frutos tiene un mayor valor (ANÓNIMO, 2010).

La eficiencia respecto de los productos evaluados mostró mayor variabilidad y parece disminuir al avanzar la campaña. Este hecho puede estar relacionado con sus características físico-químicas intrínsecas

o con el sistema de aplicación elegido (foliar), ya que, en general son productos susceptibles a la degradación por la luz solar y menos persistentes que las materias activas habituales. Esta variabilidad es frecuente en la evaluación de este tipo compuestos, y sus causas muy diversas abarcando aspectos ambientales, culturales y de la propia planta (HALLIER *et al.*, 2011; INBAR *et al.* 2011).

En general, en las parcelas tratadas se observó una mayor presencia de fauna auxiliar

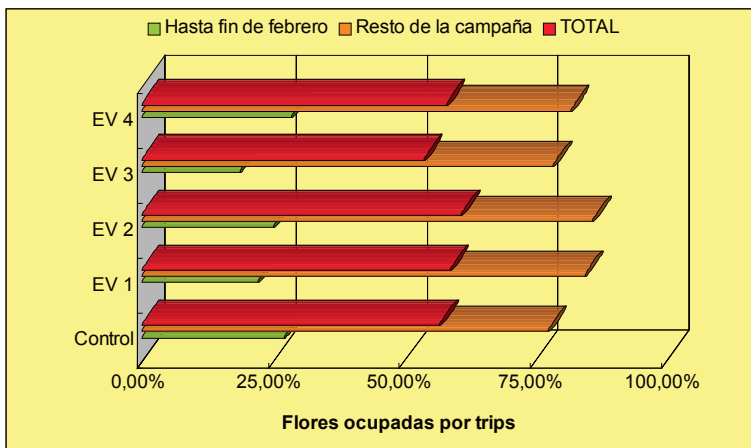


Figura 5. Evolución de la incidencia media de trips (*F. occidentalis*) en cada uno de los tratamientos durante la campaña 2009/10 en el ensayo de El Cebollar (Moguer, Huelva)

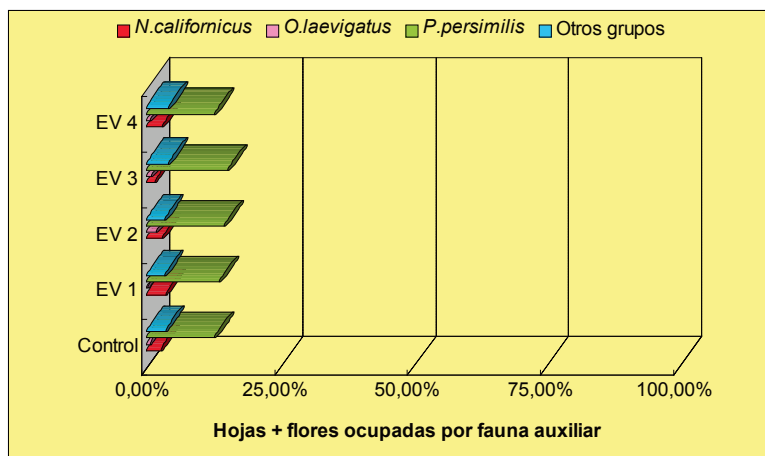


Figura 6. Ocupación por fauna auxiliar en cada uno de los tratamientos durante la campaña 2009/10 en el ensayo de El Cebollar (Moguer, Huelva)

que alcanzó valores medios de ocupación de plantas y densidad de población algo superiores a los observados en las parcelas de control, que, sin duda también contribuyeron a disminuir los valores de incidencia de plagas. Ocupación que se produjo de una forma progresiva y espontánea a lo largo de la campaña. Este resultado, secundario, es sin embargo importante en la valoración del uso de este tipo de productos. Aunque un empleo exclusivo probablemente no proporcionaría, a día de hoy, una protección completa a lo largo de todo del ciclo el cultivo, si permitirían espaciar los tratamientos o bien retardar su aplicación. En este sentido, son necesarios estudios dirigidos a evaluar y comparar programas de control que combinen éstos u otros productos similares con otros métodos de control autorizados en el RPI de la fresa, incluida la suelta de fauna auxiliar. Tales asociaciones permitirían disminuir residuos y aumentar la vida útil de materias activas

convencionales, disminuyendo los riesgos de aparición de resistencias.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo recoge resultados preliminares del Contrato de investigación IFAPA/Zenitram S.L. (CAICEM 86/09) titulado: “Evaluación de los efectos de productos fitofortificantes en el cultivo de la fresa. Incidencia sobre insectos plaga y especies comercialmente disponibles de fauna auxiliar”; y no representa ninguna recomendación de uso. No hubiera sido posible sin la colaboración y ayuda de Dña. Virginia Ramos Hidalgo del IFAPA Centro “Las Torres-Tomejil”; y de D. Juan Jesús Medina Mínguez, D. Luis Miranda Enamorado y resto de personal de la E.E. “El Cebollar”, que colaboraron en el tratamiento de muestras, implantación y mantenimiento de las parcelas de ensayo.

ABSTRACT

GARCÍA, C., G. ALBENDÍN, J. M^a MOLINA. 2012. Potencial use of marketable vegetal extracts in strawberry integrated pest management. *Bol. San. Veg. Plagas*, **38**: 223-232

Four commercial compounds based on natural extracts and sell as plant strengtheners were evaluated as alternative substances for the prevention and treatment of strawberry

pests in Huelva (Andalusia, Spain). A randomised block assay with four replications per treatment and control plots on IPM production were used. Incidence of the main strawberry insect pests as well as their monitoring methods, IPM thresholds and control periods in Andalusian Regulation were used for comparison. Commercial compounds substituted authorised insecticides and no chemical application in treatment plots was done. Minor significant differences in pest incidence were obtained between control and treatments until end of February. A decrease in control efficiency with differences and variability in pest response to treatments appeared later in the crop cycle. A progressive and natural occupation by natural enemies in treated plots was observed. Occupation percentages of leaves and flowers by Phytoseiids and other natural enemies were over the mean of the assay, mean population densities were also slightly higher than in IPM control plots. Evaluated compounds reduced the type and number of chemicals for pest control, simplifying use and improving application safety in the farm, suggesting a great potential of use in strawberry fields on biological or organic exploitation.

Keywords: Phytostrengtheners, elicitors, integrated pest, two spotted mite, thrips.

REFERENCIAS

- ALVARADO, P. 2009. El control integrado en los fresales de Huelva basado en el control biológico, p. 231-248. En: 11^o Symposium Nacional de Sanidad Vegetal: Uso sostenible de fitosanitarios, 27 al 29 de enero de 2009, Sevilla (España).
- ANÓNIMO, 2008. Orden de 5 de diciembre de 2007, por la que se aprueba el Reglamento Específico de Producción Integrada de fresa. 12 p. Consejería de Agricultura y Pesca. BOJA nº 4, 5 de enero de 2008.
- ANÓNIMO, 2010. Cadena de valor de la fresa. 47 p. Consejería de Agricultura y Pesca. Junta de Andalucía.
- BLANCHARD, A., LIMACHE, F. 2005. Les stimulateurs des défenses naturelles des plantes (SDN). 16 p. En : Rapport bibliographique. DAA Protection des plantes et environnement. ENSAM, ENSAR & INA p-G. Francia.
- DOUMANDJI-MITICHE, B., DOUMANDJI, S. 2011. Quelques agents biologiques susceptibles d'être utilisés en lutte anti-acridienne, p. 41-45. En: AFPP-Quatrième conférence internationale sur les méthodes alternatives en protection des cultures, 8, 9 y 10 marzo, Lille (Francia).
- GÓMEZ, K., GÓMEZ, A. 1984. Statistical procedures for agricultural research. 680 p. En: 2d. Ed. John Wiley & Sons. New York.
- HALLIER, S. C., MONOT, M., ALJABAL, A., MENIL, GUERRAND J. 2011. Les stimulateurs des défenses naturelles des plantes: Une solution face aux enjeux actuels de la protection des plantes?. p. 353-361. En: AFPP-Quatrième conférence internationale sur les méthodes alternatives en protection des cultures, 8, 9 y 10 marzo, Lille (Francia).
- INBAR, M., DOOSTDAR, H., SONODA, R. M., LEIBEE, G. L., MAYER, R. T. 1988. Elicitors of plant defensive systems reduce insect densities and disease incidence. *J. Chem. Ecol.*, **24** (1): 135-149.
- LATEUR, M. 2002. Perspectives de lutte contre les maladies des arbres fruitiers à pépins au moyen de substances naturelles inductrices d'une résistance systémique. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.*, **6** (2): 67-77.
- MARTÍNEZ, J. R. 2009. Otros medios de protección fitosanitaria. 11^o Symposium de Sanidad Vegetal: Uso sostenible de fitosanitarios, p. 287-296. Ed. Junta de Andalucía. Consejería de Agricultura y Pesca. Sevilla (España).
- PAJOT, E. 2011. Stimulateurs des défenses naturelles des plantes: Etats des lieux et perspectives de recherche et développement pour sécuriser leur efficacité sur le terrain. p. 342-352. En : AFPP-Quatrième conférence internationale sur les méthodes alternatives en protection des cultures, 8, 9 y 10 marzo, Lille (Francia).
- PRAKASH, A., RAO J. 1997. Botanical pesticides in agriculture. 461 p. En: CRC Press Inc. Boca Raton, FL. USA.
- GHAZANFAR M. U., WAKIL, W., SAHI S. T. 2011. Induction of resistance in chickpea (*Cicer arietinum* L.) against *Ascochyta rabiei* by applying chemicals and plant extracts. *Chilean J. Agric. Res.* **71** (1): 52-62.

(Recepción: 19 diciembre 2011)

(Aceptación: 12 junio 2012)

Flight detection of *Caliroa cerasi* L. (Hymenoptera: Tenthredinidae) adults in the Andean Region of Parallel 42, Argentina

G. MAREGGIANI, N. BARTOLONI, N. GOROSITO, C. LAFFAYE

Caliroa cerasi L., the cherry sawfly or pear slug, is a serious pest that affects cherry crops (*Prunus avium* L.) in the Andean Region of Parallel 42, Argentina. This slug causes an extended damage to the foliage of different Rosaceae species (such as cherry) becoming a serious pest in this region, where orchards under organic management are very common. These orchards require an adequate monitoring to control the pest without the use of synthetic pesticides. Chromotropic yellow sticky traps (12 x 20 cm) were installed at 1.8 m height in the east and west side of *P. avium* CV Stella trees. *C. cerasi* adults were sampled during two consecutive growing seasons (2007/2008 and 2008/2009). A non linear Quasi-Newton multivariate optimization method was used to analyze the results. Data distribution highlighted a typical bicyclical pattern characteristic of a bivoltine species, in the location under study. Adults coming from the winter (whose prepupae and pupae spent winter in the soil) began to emerge in the spring producing the first or spring generation (first peak) in November- December. After that, the second or summer generation belonging to the second peak was observed in February-March. These data are useful to concentrate the efforts to control adults in these months.

G. MAREGGIANI, N. GOROSITO, C. LAFFAYE. Cátedra de Zoología Agrícola, Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires, Av. San Martín 4453 (1417) Ciudad de Buenos Aires, Argentina.

N. BARTOLONI. Departamento de Métodos Cuantitativos y Sistemas de Información, Universidad de Buenos Aires, Av. San Martín 4453 (1417) Ciudad de Buenos Aires, Argentina. Email: mareggia@agro.uba.ar.

Key words: cherry sawfly, pear slug, growing cycles pattern.

INTRODUCTION

Cherry production (*Prunus avium* L.) is a very interesting and profitable crop in the Andean Region of parallel 42 (hereafter ARP42), Argentina, and its cultivated surface has increased 371% over the last years (Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca de la Nación, 2011). The main market is the northern hemisphere, where consumers find products with low agrochemical levels highly desirable. Organic production system requires an adequate monitoring of the pests

and a biologically based control strategy where the use of synthetic pesticides is replaced by entomopathogenic fungi (ASLANTAS *et al.*, 2008), neem oil (SMIRLE and WEI, 1996), other natural insecticides (PINO *et al.*, 2007) and biological control with trichogrammatid and ichneumonid wasps (CARL, 1976).

One of the most serious *P. avium* pests is *Caliroa cerasi* L. (Hymenoptera, Tenthredinidae), the cherry or pear slug, a sawfly which is found widespread through the Northern Hemisphere (Europe, North Africa, North America, Japan) and has been introduced to

Australia, New Zealand, South Africa and also in some South American countries, such as Argentina, Colombia, Chile and Uruguay (NAUMANN *et al.*, 2002). *Caliroa cerasi* slug produces an extended damage to the foliage of different Rosaceae species such as *P. avium* L. (cherry), *Prunus cerasus* L. (sour cherry), *Prunus amygdalus* L. (almond), *Prunus domestica* L. (plum) and *Pyrus communis* L. (pear) (ROCCA *et al.*, 2005). There are also other reports on crops of lesser importance being attacked by this sawfly, such as the ornamental crops *Cotoneaster* spp. and *Crataegus* spp.) (NAUMANN *et al.*, 2002, EDWARDS, 2006). This slug is not a problem in orchards under conventional management, but it becomes a serious pest in organic ARP42.

The sawfly, which emerges in the spring, is a little black wasp with a wingspan of approximately 10 mm. It has thelytokous parthenogenesis and the presence of males is very uncommon in South America and elsewhere. RADDATZ and CARRILLO (2008) have found a sex ratio of 1.27 males: 98.73 females in Chile, with no reports in Argentina. The spring females slit the leaves, laying the eggs inside the leaf tissues with its serrated ovipositor (hence the name sawfly). After 10 to 15 days the larvae emerge. At first, they feed on the upper surfaces of leaves producing a scorched or curled appearance (NAUMANN *et al.*, 2002). The latest instars continue feeding, but large leaf veins and lower surface areas are rarely damaged, producing a skeletonized aspect (SHAW *et al.*, 2003). When the larvae reach 10 mm length at the sixth moult, they form a cocoon (prepupae) in an earthen cell dug in the soil. All these stages, adult, eggs, larvae, prepupae and pupae, CONSTITUTE the first or spring generation. In general, the adults emerge after 18 to 28 days (NAUMANN *et al.*, 2002), giving place to the second or summer generation. Larvae from this second generation continue their damage and generally overwinter in the soil as prepupae, depending on the country (BADO, 2010; CARL, 1972; RADDATZ and CARRILLO, 2008; RAFFA and LINTEREUR, 1988). Later, they emerge as adults in the spring.

A very good knowledge of *C. cerasi* and its dynamics is the best way to achieve an optimum control (SHAW *et al.*, 2003). However, more investigations about adult flight and the number of adult peaks in ARP42 is needed to improve organic management, a condition to participate in international markets. To partially achieve this objective, *C. cerasi* adult sawflies were sampled in one commercial cherry orchard of ARP42 during two consecutive growing seasons (2007/2008 and 2008/2009). This is the first report of sawfly adult flight in this Andean region. Published data from Argentina (BADO, 2010) belong to the Lower Valley of the Chubut River (VIRCH), approximately 800 km far from ARP42. VIRCH belongs to the Atlantic region (43°16' S, 65°18' W, 30 meters above sea level) while ARP42 belongs to the Andean region (42°11' S, 71°42' W, 200 meters above sea level). VIRCH annual medium temperature is 12.7°C and annual precipitation is 196,1mm while ARP 42 annual medium temperature is 16.6°C and annual precipitation is 898 mm. These great geographic and climatic differences between VIRCH and ARP42 show the relevance of research on *C. cerasi* growing cycle pattern in ARP42 region.

MATERIALS AND METHODS

Study Site and Sampling

The work was carried out in ARP 42 (42° 11' S, 71° 42' W), Argentina, in an organic *P. avium* L. CV Stella orchard plot formed by 28 trees, eight years old. Eight trees were selected for sampling, following a "zig-zag" trajectory, avoiding the edges of the plot.

Caliroa cerasi (Hymenoptera: Tenthredinidae) adults were sampled during two consecutive periods (2007/2008 and 2008/2009), from October to April of each period. The data of hanging the traps was selected taking into account previous observations (MAREGGIANI y COLLAVINO, 2008; MAREGGIANI y COLLAVINO, 2009; LAFFAYE *et al.*, 2010). Two chromatographic yellow sticky traps (12 x 20 cm) were

installed at 1.8 m height, in the the east and the west side of each of the eight selected trees. Traps were changed every 15 days and the individuals caught were transported to the laboratory for later identification with a binocular microscope. The number of adults for each date was recorded for the east and the west traps. The number of selected trees and the sampling methodology employed was based upon observations of BADO (2007) and RADDATZ and CARRILLO (2008).

Statistical Analyses

Observed data were used to analyze the growing cycle pattern. Any deviation of an observed score from a predicted score signifies some loss in the accuracy of predictions. Several function minimization methods can be used to minimize any kind of loss function. A non linear estimation procedure was used, the Quasi-Newton multivariate optimization method, which reasonably minimizes inconsistency and errors (PRASAD *et al.*, 2005).

Data distribution showed the existence of two *C. cerasi* generations or growing cycles in both periods (2007/2008 and 2008/2009). Then, data for each sampling period were divided in two sub-set ranges belonging to each period. A symmetric power function with an offset parameter was adjusted to each of the four cases. These function have a general form with four parameters:

$$Y = Y_0 + B * |t - X_c|^p$$

Where Y is the number of *C. cerasi* adults, Y_0 is the vertical displacement, B is the amplitude, t is the observation day, X_c is the center and p is the power.

RESULTS AND DISCUSSION

The number of *C. cerasi* adults in each calendar date for both periods (2007/2008 and 2008/2009) was calculated separately for the east and the west side traps. Adults number showed a similar distribution for both trap groups, and the existence of two *C. cerasi* ge-

nerations or growing cycles in both periods, with a typical bicyclical pattern, characteristic of a bivoltine species. (Figure 1 and 2).

Then, data for each sampling period were divided in two sub-set ranges belonging to each period (Model I and Model II). A symmetric power function with an offset parameter was adjusted to each of the four cases.

Model I (period 2007/2008). The growing cycle was divided in $t < 90$ and $t > 90$, where t denotes time elapsed (in days) from the beginning of the sampling, with a difference of 90 days between both peaks.

For $t < 90$ the adjusted function was: $Y = 15.997 - 6.303 * |t - 45|^{0.243}$

For $t > 90$ the adjusted function was: $Y = 42.020 - 10.999 * |t - 135|^{0.331}$

Model II (period 2008/2009). The growing period was divided in $t < 110$ and $t > 110$, where t denotes time elapsed (in days) from the first observations, with a difference of 90 days between both peaks.

For $t < 110$ the adjusted function was: $Y = 20.989 - 6.221 * |t - 75|^{0.314}$

For $t > 110$ the adjusted function was: $Y = 43.574 - 11.414 * |t - 165|^{0.336}$

The data obtained with both models were plotted to analyze the growing cycle patterns.

In the period 2007/2008 (Model I), two peaks of *C. cerasi* adult flights were observed (Figure 1). The first one ($t < 90$) was produced in November 15 (Spring) while the 2nd ($t > 90$) in February 15 (Summer), with an interval of 90 days between each one. The variance explained was 97.47% ($R^2 = 0.9872$) for the first peak, while for the second, the variance explained was 95.34% ($R^2 = 0.976$).

The period 2008/2009 (Model II) also showed two peaks (Figure 2) along the population growing cycle, with a similar pattern found in 2007/2008 (Figure 1). The first peak was recorded in December 15 (Spring) while the second in March 15 (Summer), with an interval of 90 days between each one. The variance explained for the first peak ($t < 110$) was 86.87% ($R^2 = 0.93$), while for the second was 81.12% ($R^2 = 0.90$).

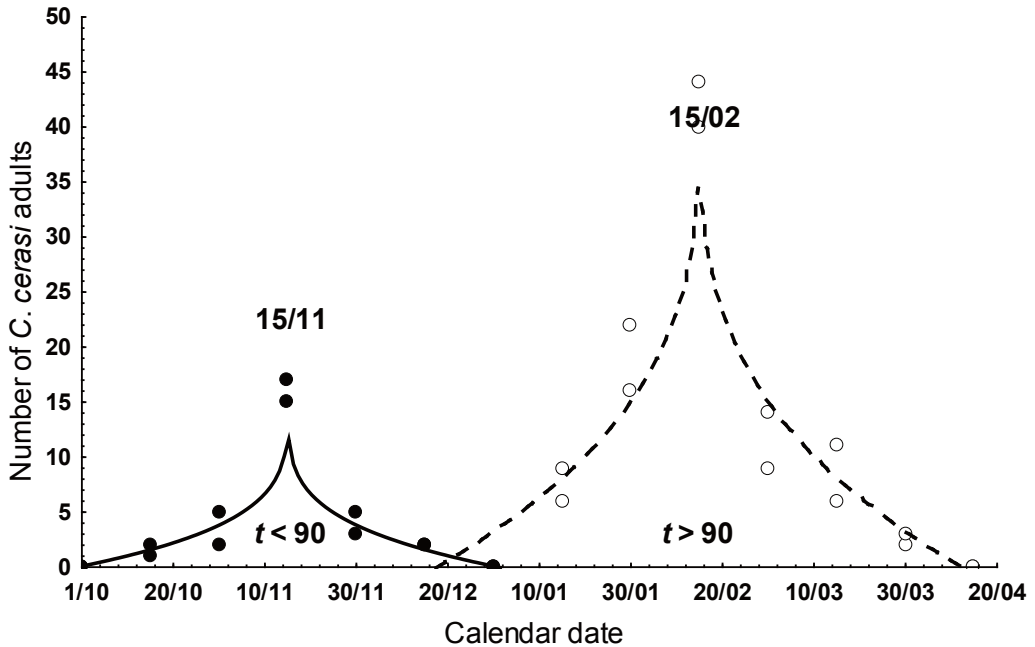


Figure 1. Representation of the number of *Caliroa cerasi* adults during the period 2007/2008 with Quasi-Newton analysis. Each dot, in each calendar date, represents the data corresponding to 8 east and 8 west side traps respectively

Data exposed in figures 1 and 2 show that, in both periods under study, *C. cerasi* adults coming from the summer generation (whose prepupae and pupae spent winter in the soil) begin to emerge in the spring producing the first or spring generation. After that, a second peak belonging to the second or summer generation was observed. Similar results have been obtained by other authors in both hemispheres. In the northern hemisphere Raffa and Lintereur registered two adult flight peaks in May-June and in September-October (1988). In the south hemisphere Van Epenhuijsen and De Silva recorded two peaks in December and in February-MARCH (1991) and RADDATZ (2004) observed also two peaks, the first in October-November and the second in January-February. Other authors from the northern hemisphere (CARL, 1972) and the southern hemisphere (BADO, 2010) have found not only bivoltine populations but also populations with and additional third generation. CARL

(1972) found the first peak in May-July and the 2nd (or the 2nd and 3rd in other cases) in August-September. BADO (2010) found the spring peak in October-November and the second (or the 2nd and 3rd in some populations) in January-March. All these data are fairly similar to ours (Spring peak in November-December and Summer- peak in February-March).

Data presented in this paper could be useful for a successful organic management of *C. cerasi* in ARP42, because they will help to concentrate the efforts to control the pest, during the adult flight peaks.

ACKNOWLEDGMENTS

This work received financial support from Universidad de Buenos Aires, Project UBACYT 20020100100515. We are very grateful to Lic. Laura Vugman (Centro de Idiomas, FAUBA) for english revision.

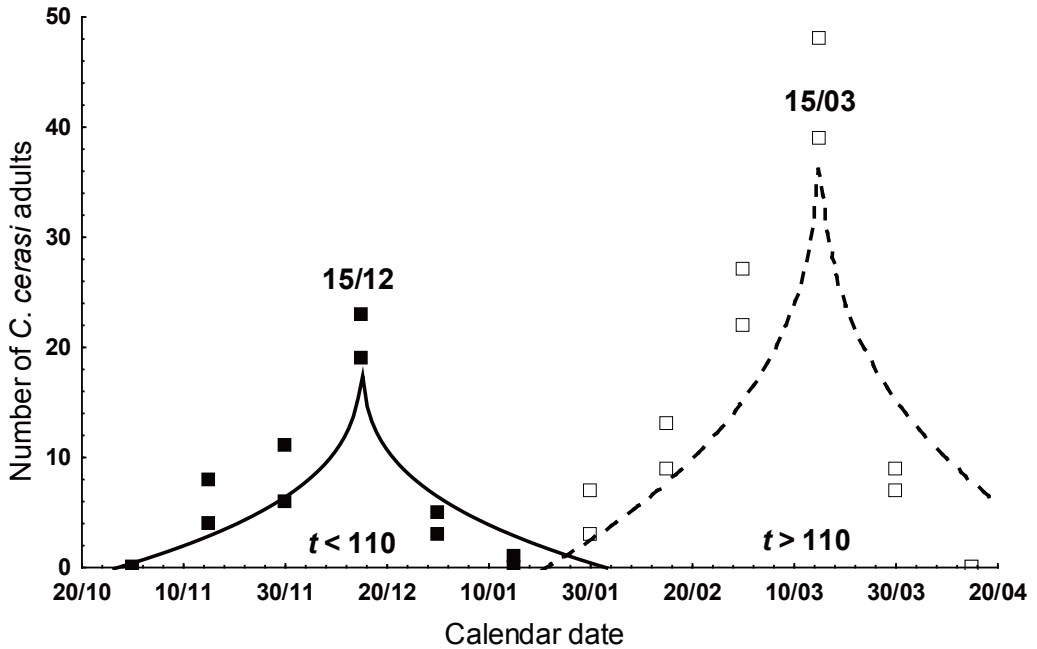


Figure 2. Representation of the number of *Caliroa cerasi* adults during the period 2008/2009 with Quasi-Newton analysis. Each dot, in each calendar date, represents the data corresponding to 8 east and 8 west side traps respectively

RESUMEN

MAREGGIANI, G., N. BARTOLONI, N. GOROSITO, C. LAFFAYE. 2012. Detección del vuelo de adultos de *Caliroa cerasi* L. (Hymenoptera: Tenthredinidae) en la Región Andina del Paralelo 42, Argentina. *Bol. San. Veg. Plagas*, 38: 233-238

Caliroa cerasi L., la mosca sierra del cerezo o babosita del peral, es una plaga importante en los cultivos de cerezo (*Prunus avium* L.) en la Región Andina del Paralelo 42, Argentina. Esta babosita causa intensos daños en el follaje de diversas especies de Rosaceae, como cerezo, convirtiéndose en una grave plaga en esta región donde las producciones orgánicas son muy comunes. Estas producciones requieren un adecuado monitoreo para controlar la plaga sin utilizar insecticidas sintéticos. Se instalaron trampas cromotróficas amarillas adhesivas (12 x 20 cm) a 1.8 m de altura en el lado este y oeste de árboles de *P. avium* CV Stella. Los adultos de *C. cerasi* se muestrearon durante dos temporadas consecutivas (2007/2008 y 2008/2009). Se utilizó el método de optimización multivariado no lineal Quasi-Newton para analizar los resultados. La distribución de datos destacó un patrón típicamente bicíclico característico de una especie bivoltina, en la localidad bajo estudio. Los adultos provenientes del invierno (cuyas prepupas y pupas pasaron el invierno en el suelo) comenzaron a emerger en la primavera produciendo la primera generación, primaveral (primer pico), en Noviembre-Diciembre. Posteriormente, se observó un segundo pico, perteneciente a la segunda generación (estival) en Febrero-Marzo. Estos datos son útiles para concentrar los esfuerzos destinados a controlar los adultos durante esos meses.

Palabras clave: mosca sierra del cerezo, babosita del peral, patrón de crecimiento cíclico.

REFERENCES

- ASLANTAS, R., EKEN, C., HAYAT, R. 2008. *Beauveria bassiana* pathogenicity to the cherry slugworm *Caliroa cerasi* (Hymenoptera: Tenthredinidae) larvae. World Journal of Microbiology and Biotechnology **24**: 119-122
- BADO, S. G. 2007. La "babosita del peral" (*Caliroa cerasi* L.): (Hymenoptera: Tenthredinidae): principal especie perjudicial de cultivos de cerezos en Patagonia Sur. *Infoberry* **18**: 47-51.
- BADO S. G. 2010. Dinámica poblacional de *Caliroa cerasi* L (Hymenoptera: Tenthredinidae) en cultivos de cerezo (*Prunus avium* L) del valle inferior del río Chubut (región Patagonia sur-Argentina). *IDESIA* **28**: 51-60.
- CARL, K.P. 1972. On the biology, ecology and population dynamic of *Caliroa cerasi* (L.) (Hym.: Tenthredinidae). *Zeitschrift für Angewandte Entomologie*, **71**: 58-83.
- CARL, K.P. 1976. The natural enemies of the pear-slug, *Caliroa cerasi* (L.) (Hym., Tenthredinidae). *Zeitschrift für Angewandte Entomologie*, **80**: 138-161.
- EDWARDS, L. 2006. Pear slug (*Caliroa cerasi*), a lot that we don't know. *Tree Talk* 2 (4): 5-8.
- LAFFAYE, C., MAREGGIANI, G., BARTOLONI, N., GOROSITO, N. 2010. Dinámica poblacional de la babosita del cerezo *Caliroa cerasi* (Hymenoptera, Tenthredinidae) en la comarca andina del paralelo 42 (Argentina). Primer simposio internacional sobre frutilla. XXXIII ASAGO, Rosario. p. 186.
- MAREGGIANI, G., COLLAVINO, M. 2008. Fluctuación poblacional de *Caliroa cerasi* (Hymenoptera: Tenthredinidae) en frutales de Lago Puelo, Chubut. Jornadas de Ciencias Naturales en la Patagonia: Biodiversidad y Conservación. Chubut, Argentina. p. 90
- MAREGGIANI, G., COLLAVINO, M. 2009. La babosita del cerezo, *Caliroa cerasi* (Hymenoptera, Tenthredinidae), en cerezos y ciruelos de la Comarca Andina del Paralelo 42. XIII Jornadas Fitosanitarias Argentinas. Santiago del Estero, Argentina. Z 54.
- MINISTERIO DE AGRICULTURA, GANADERÍA Y PESCA DE LA NACIÓN. 2011. www.minagri.gob.ar/SAGPyA/areas.
- NAUMANN, L. D., WILLIAMS, M., SCHMIDT, S. 2002. Synopsis of the Tenthredinidae (Hymenoptera) in Australia, including two newly recorded introduced sawfly species associated with willows (*Salix* spp.). *Australian Journal of Entomology*, **41**: 1-6.
- PINO, C., SILVA, G., HEPP, R., VENEGAS, F. 2007. Eficacia de *Peak Plus* en el control de *Caliroa cerasi* (Hymenoptera: Tenthredinidae). *Ciencia e Investigación Agraria*, **34** (1):23-29.
- PRASAD, A., K., CHAI, L., SINGH, R. P., KAFATOS, M. 2005. Crop yield estimation model for Iowa using remote sensing and surface parameters. *International Journal of Applied Earth Observation and Geoinformation*. On line www.elsevier.com/locate/jag, 8 p.
- RADDATZ, L. 2004. Emergencia de la generación invernante y diapausa de *Caliroa cerasi* (L., 1758), bajo condiciones de campo en Valdivia. Décima Región de Los Lagos. Tesis Lic. Agr. Valdivia., Universidad Austral de Chile. Facultad de Ciencias Agrarias. 83 p.
- RADDATZ, L., CARRILLO, R. 2008. Relación de sexos en una población de chape del cerezo *Caliroa cerasi* (L.) (Hymenoptera: Tenthredinidae) en Valdivia. *AgroSur*, **36**: 178-181.
- RAFFA, K. F., LINTEREUR, G. L. 1988. New host records and developmental notes on the pear slug *Caliroa cerasi* (Hymenoptera: Tenthredinidae), feeding on *Cotoneaster* and *Chaenomeles* species. *The Great Lakes Entomologist.*, **21**: 75-79.
- ROCCA, M., N. GRECO, MAREGGIANI, G. 2005. Consumo diferencial de especies de la familia Rosaceae por *Caliroa cerasi* (Hymenoptera, Tenthredinidae). VI Congreso Argentino de Entomología, Tucumán. Resúmenes p. 199
- SHAW, P., BREWER, L. R., WALLIS, D. R., BUS, V.G.M., ALSPACH, P.A. 2003. Susceptibility of seedling *Pyrus* clones to pear sawfly *Caliroa cerasi* (Hymenoptera: Tenthredinidae) damage. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, **31**: 1-9-14
- SMIRLE, M. J., WEI, S. G. 1996. Effects of neem oil on feeding behaviour and development of the pear sawfly, *Caliroa cerasi*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. **80**: 403-407
- VAN EPENHUIJSEN, C.W., DE SILVA, H. N. 1991. Monitoring and control of pear slug (sawfly) in an organic Nashi orchard, Proc. 44th. N. Z. Weed and Pest Control Conference, p. 80-85

(Recepción: 30 diciembre 2011)

(Aceptación: 29 mayo 2012)

Proximidad de rodales forestales y factores climáticos influyendo en la incidencia estacional de *Mahanarva fimbriolata*

J. C. GUERREIRO, F. B. SERRANO, A. C. BUSOLI, M. G. RUIZ

El objetivo de este trabajo fue conocer la influencia de factores climáticos y de la proximidad de rodales forestales que constituyen áreas de refugio, sobre la incidencia de *Mahanarva fimbriolata* (Hemiptera: Cercopidae). El trabajo fue realizado en un establecimiento rural en Paraguaçu Paulista, SP. Se determinó la densidad poblacional *M. fimbriolata* en puntos de muestreo ubicados en forma perpendicular al rodal forestal y distanciados 3; 6; 9; 12; 15 y 18 de su borde, con 8 repeticiones para cada distancia. El muestreo de *M. fimbriolata* se realizó quincenalmente, de diciembre de 2007 a julio de 2008. Los datos fueron correlacionados con los factores climáticos y con la distancia desde el borde del rodal forestal. Los resultados indicaron que la incidencia de la chicharrita tuvo correlación positiva directa ($t=3,694^{**}$; $r=0,74$ y $p=0,00354$) con la humedad relativa ambiente, pero no se encontró la misma tendencia para temperatura y precipitación ($t=1,193^{NS}$; $r=-0,3386$ y $p=0,25797$; $t=-0,038^{NS}$; $r=-0,0114$ y $p=0,97037$). La distancia desde el borde del rodal forestal influyó parcialmente ($R^2=0,5013$) a lo largo de todo el periodo experimental el número de chicharritas observadas, ajustándose una ecuación de regresión de segundo grado. También se observó un efecto lineal positivo de la distancia sobre el número medio de chicharritas en algunos muestreos, ajustándose ecuaciones lineares en ocasión del tercero, cuarto y último muestreo, realizados los días 12/01/2008, 26/01/2008 y 01/06/2008 respectivamente. Se observó mayor incidencia de esta plaga en los puntos distantes 15 m del borde del rodal forestal, factor que fue probablemente influenciado por la presencia de mayor cantidad de material vegetal remanente.

J. C. GUERREIRO. Professor Doutor da Fatec - Ourinhos. Av. Vitalina Marcusso, 1400 - Campus Universitário CEP 19910-206, Ourinhos, SP, Brasil; e-mail: juliocguerreiro@yahoo.com.br

F. B. SERRANO. ESAPP - Paraguaçu Paulista

A. C. BUSOLI, M. G. RUIZ. Departamento de Entomologia Agrícola - UNESP, Jaboticabal, SP.

Palabras clave: área de refugio, efecto de borde, predadores, material vegetal remanente, caña de azúcar.

INTRODUCCIÓN

La progresiva restricción de la práctica de la quema controlada de las hojas de las plantas de caña de azúcar antes de la cosecha del cultivo, tiene como efectos benéficos la disminución de la emisión de contaminantes atmosféricos y la formación de una capa de material

vegetal remanente que, al degradarse, puede ser considerado como una fuente de nutrientes para el cultivo (GARCIA *et al.*, 2006).

Esa práctica ha provocado alteraciones en las poblaciones de insectos presentes en ese agro ecosistema, haciendo que plagas anteriormente consideradas secundarias pasaran a tener importancia económica relevante en

el cultivo, como es el caso de la *Mahanarva fimbriolata* (Stal) (Hemiptera: Cercopidae) (DINARDO-MIRANDA *et al.*, 2001).

En el Estado de Sao Paulo, Brasil, el ciclo anual de *M. fimbriolata* se inicia con las primeras lluvias de primavera, en Septiembre. La primera generación está compuesta por huevos que se encuentran en diapausa. La segunda generación es la responsable de la mayor proporción de daños y se inicia generalmente en el transcurso de periodos de mayor humedad y temperatura, condiciones encontradas en verano.

En la actualidad, *M. fimbriolata* es responsable de la reducción de la productividad de ese cultivo debido a que altera la calidad de la caña de azúcar y reduce los contenidos de azúcar en los tallos. Los perjuicios son resultado de la continua succión de savia de raíces y hojas que realizan ninfas y adultos, respectivamente, cuyas consecuencias son la disminución de la capacidad de molienda y la introducción de contaminantes que dificultan la recuperación del azúcar e inhiben la fermentación (GONÇALVES *et al.*, 2003; DINARDO-MIRANDA y GIL, 2007).

En el sistema de cosecha “de caña cruda”, que se realiza con cosechadoras mecánicas en cultivos que no son sometidos a la quema controlada de hojas, la chicharrita se desarrolla y multiplica en un microclima ideal, beneficiada por el aumento de la humedad del suelo y la disminución de la exposición de sus huevos y ninfas a los rayos solares que se produce como resultado del cúmulo de material vegetal remanente en el suelo tras la cosecha. Además, la ausencia del fuego implica la no destrucción de los huevos en condiciones de diapausa, que permanecen en el cultivo durante la estación seca del año (DINARDO-MIRANDA *et al.*, 2004; GUIMARÃES *et al.*, 2008).

De acuerdo con DINARDO-MIRANDA *et al.* (2004), la chicharrita de las raíces tiene mayor presencia en regiones y estaciones del año con alta temperatura y humedad. Según MACEDO y MACEDO, (2004) y MADALENO *et al.* (2008), la infestación del cultivo por *M.*

fimbriolata tiene su inicio con las primeras lluvias de primavera y se extiende hasta el final del verano.

Además de los factores climáticos, la diversidad y la densidad poblacional de las especies de insectos presentes en los cultivos puede estar influenciada por la proximidad de áreas adyacentes no cultivadas, que actúan como áreas de refugio para las plagas y sus enemigos naturales (ALTIERI *et al.*, 2003).

La mayoría de las veces, cultivos como la caña de azúcar están emplazados en campos cuyos márgenes y proximidades se componen de porciones de terreno no cultivado, tales como áreas de preservación permanente, áreas destinadas a reserva legal y áreas abandonadas. Esas áreas no están sometidas a la alteración constante de su flora y fauna y pueden actuar como áreas de abrigo para diversas especies de animales (ASTERAKI *et al.*, 1995).

Según NASS (2002) y ALTIERI *et al.* (2003), la presencia de bosquetes forestales próximos a los terrenos cultivados es beneficiosa para ciertas características biológicas y etológicas de los invertebrados, principalmente porque les proveen de abrigo y alimento en épocas de escasez.

El presente trabajo tuvo como objetivo evaluar la incidencia estacional de la chicharrita de las raíces debido a la influencia de factores climáticos (temperatura, humedad y precipitación) y de la proximidad de bosquetes forestales próximos al cultivo de la caña de azúcar.

MATERIAL Y MÉTODOS

El trabajo fue realizado en el establecimiento rural Dona Lina, propiedad de la Usina Nova América, situada en el municipio de Paraguaçu Paulista (Estado de São Paulo, Brasil); latitud 22° 29' 13.21" S y longitud 50° 31' 3.03" O, en una parcela de 3 ha, próxima a un rodal forestal, plantada con caña soca con 3 meses de rebrote. Para el experimento se utilizó la variedad SP 80-1816 susceptible a la plaga, que fue sometida a cosecha mecanizada de la caña cruda.

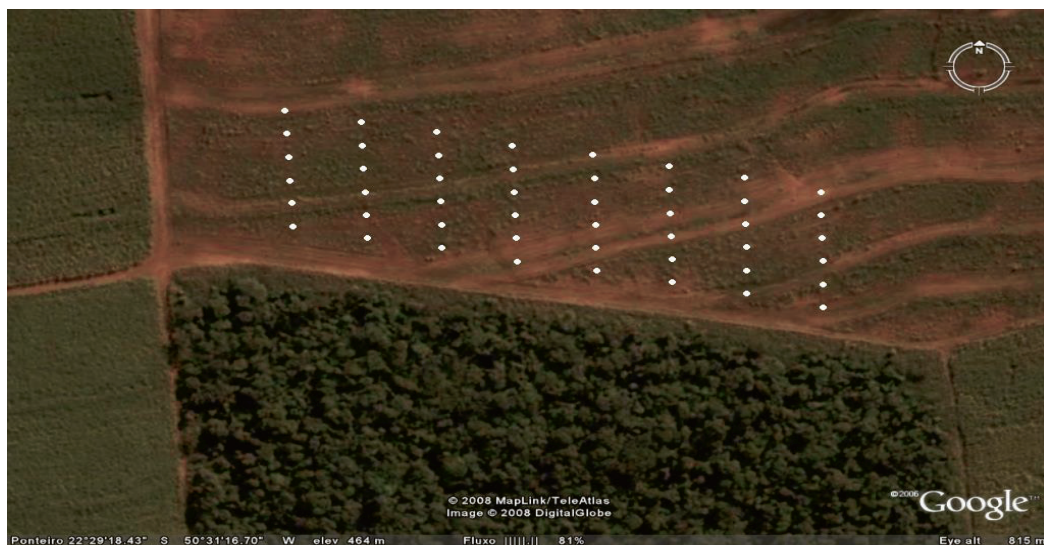


Figura 1. Vista aérea de la localización del experimento en el establecimiento Dona Lina, mostrando la disposición de los puntos de muestreo (imagen satelital provista por Google Earth). Paraguaçu Paulista, São Paulo, 2008

Para evaluar la incidencia y la densidad poblacional de *M. fimbriolata* en la parcela, se eligieron puntos de muestreo en forma perpendicular a la ubicación del rodal forestal, distanciados 3; 6; 9; 12; 15 y 18 m de su borde (tratamientos), con ocho repeticiones para cada distancia, en un diseño experimental de bloques al azar (Figura 1). Cada punto de muestreo estuvo compuesto por tres metros de surco del cultivo, se observó la presencia de la chicharrita en la base de los macollos de las plantas de caña y en la entrelínea del cultivo; de esta manera se evaluó la región comprendida entre una línea del cultivo y otra, calculándose posteriormente el número medio de chicharritas por metro lineal de surco.

Los datos fueron recolectados quincenalmente, entre los meses de diciembre de 2007 y junio de 2008 (hasta la cosecha del cultivo) en cada uno de los puntos de muestreo. Se observó la dinámica poblacional en el período considerado y la incidencia poblacional se correlacionó con los factores climáticos (temperatura, humedad y precipitación medias), cuyo registro fue proporcionado por la estación meteorológica de la Usina Nova

América, situada a 500 m del lugar en que se desarrolló el experimento.

Con el auxilio del programa de computación ESTAT® - UNESP/ FCAV, se realizó el análisis de varianza (prueba de F) y en aquellos casos en que hubo diferencias significativas al 5% de probabilidad, se realizó el análisis de correlación de la incidencia de *M. fimbriolata* con los factores climáticos. Se realizaron, además, tests de regresión polinomial entre los valores de incidencia de la plaga y la distancia desde el borde del rodal forestal, optándose por la ecuación significativa con mayor coeficiente de ajuste (R^2).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Durante el período de evaluación, se observó que el número medio de chicharritas fue variable según fecha y punto de muestreo. Se observaron picos de población de *M. fimbriolata*, siendo los principales los registrados en la quinta y sexta evaluación, realizadas los días 09/02/08 y 23/02/08, con valores medios de $2,47 \pm 0,55$ y $2,93 \pm 0,25$ chicharritas por metro lineal, respectivamente (Figura 2). En la misma

figura puede observarse que hubo un aumento poblacional sostenido a partir de 22/12/07 y hasta 22/03/08, con una disminución temporal probablemente ligada al descenso de los valores de Humedad Relativa Ambiente (HRA) en la fecha de muestra 08/03/08. A partir de fin de marzo se produjo un sostenido descenso de los valores poblacionales, hasta alcanzar un mínimo de $0,34 \pm 0,06$ chicharritas por metro lineal en el último muestreo realizado.

Estos datos, obtenidos en las condiciones de Paraguaçu Paulista, corroboran los obtenidos por DINARDO-MIRANDA *et al.* (2007), quienes también notaron una mayor incidencia de *M. fimbriolata* en los meses de enero y febrero, y clasificaron el ataque de la chicharrita como más intenso durante los períodos del año con mayor temperatura y humedad.

Merece resaltarse que en ninguno de los muestreos realizados durante el trabajo se alcanzó el Nivel de Daño Económico determinado por DINARDO-MIRANDA y GIL (2007), que varía de 3 a 5 chicharritas por metro lineal, aunque la variedad utilizada (SP 80-1816) es considerada susceptible a *M. fimbriolata*. Sin embargo, se observó que en el mes de

febrero la plaga alcanzó el Umbral de Daño Económico, que de acuerdo con el trabajo de GARCIA *et al.* (2006) es de 2 a 3 chicharritas por metro lineal.

En relación con la influencia de los factores climáticos en la incidencia estacional de *M. fimbriolata*, se observó una correlación positiva y significativa ($t=3,694^{**}$; $r=0,74$ y $p=0,00354$) con el valor medio de Humedad Relativa Ambiente (HRA) en el período considerado (Figura 3).

Con el aumento de la HRA, básicamente influenciada por las precipitaciones registradas en la mayoría de los muestreos, se observa una mayor humedad en la base de los macollos; de acuerdo con GARCIA *et al.* (2006) se producen condiciones microclimáticas favorables al desarrollo de la chicharrita.

Además, el estado fenológico del cultivo, que fue cosechado en junio de 2008, contribuyó al mayor sombreado del suelo alrededor de las plantas y al mantenimiento de la HR en la base de los macollos. Resultados similares fueron encontrados por DINARDO-MIRANDA *et al.* (2001), al evaluar la influencia de la época de cosecha y del genotipo de la caña de

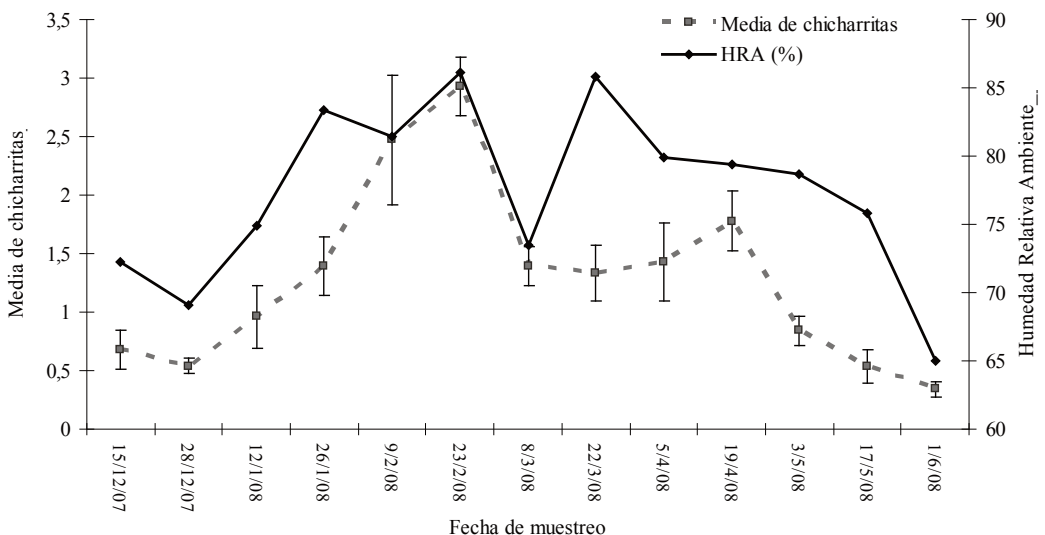


Figura 2. Media de chicharritas *M. fimbriolata* por metro lineal de cultivo en cada fecha de muestreo y el respectivo valor de Humedad Relativa Ambiente (%). Paraguaçu Paulista, Estado de São Paulo, 2008

azúcar sobre la infestación de *M. fimbriolata*. De acuerdo con estos autores, el mayor desarrollo de las plantas tiene influencia sobre las condiciones microclimáticas del suelo, favoreciendo el aumento de la población de la plaga.

Por otro lado no hubo correlación directa entre el número medio de chicharritas observadas tanto con los valores de temperatura, como con los de precipitación media registrados durante el período de evaluación ($t=1,193^{NS}$; $r=-0,34$ y $p=0,25797$; $t=-0,038^{NS}$; $r=-0,0114$ y $p=0,97037$) (Figura 4 y 5).

De acuerdo con GARCÍA (2006), la temperatura del suelo (principalmente en la base del macollo de la planta) puede influenciar el comportamiento bioecológico de la plaga, sin embargo la variación producida en las condiciones de este trabajo probablemente haya tenido poca influencia en la incidencia y desarrollo de *M. fimbriolata*.

En relación con la precipitación, los resultados de este trabajo contradicen los obteni-

dos por DINARDO-MIRANDA (2003), quien reportó la existencia de una correlación positiva entre la precipitación del período considerado y el número medio de chicharritas de la raíz, y los de ROMANO y AGOSTINO (2003), quienes observaron una relación similar para la incidencia de insectos adultos. Contrariamente, CARVALHO (2007) observó una correlación negativa entre la precipitación pluviométrica y la cantidad de adultos de la plaga.

De manera general, se observa que el desarrollo de *M. fimbriolata* se beneficia de condiciones microclimáticas que son influenciadas por el sombreado y la humedad del suelo, debido a las precipitaciones y al aumento de la temperatura, además de las condiciones fenológicas del cultivo.

En cuanto a la relación entre la incidencia de la plaga y la distancia del rodal forestal, se ajustó una ecuación cuadrática ($R^2=0,5013^{**}$), indicando que este factor explica sólo el 50% de la variación encontrada, lo que sugiere la existencia de otros factores en rela-

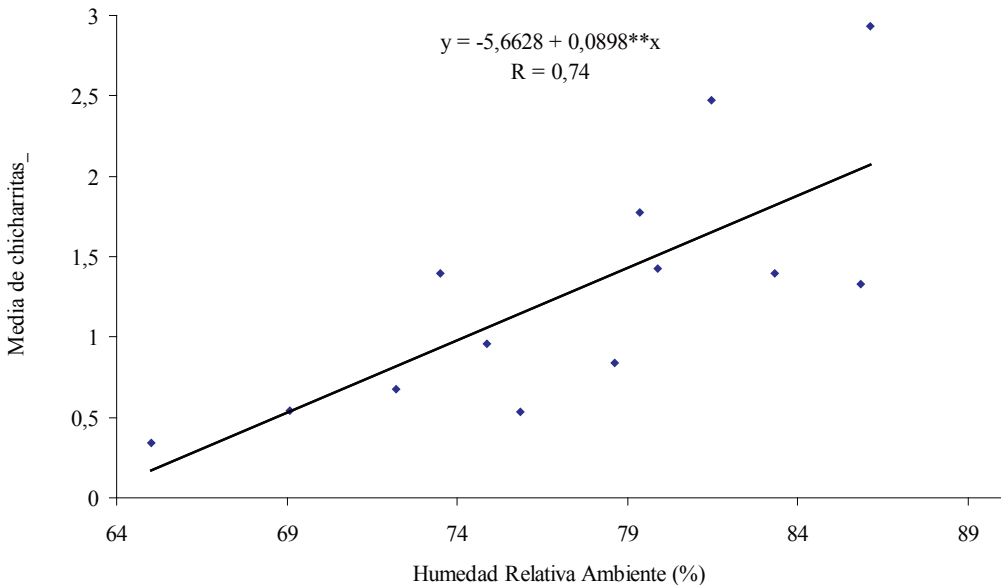


Figura 3. Correlación lineal simple entre el número medio de chicharritas *M. fimbriolata*/ metro lineal de cultivo y la humedad relativa ambiente (%). Paraguaçu Paulista, Estado de São Paulo, 2008

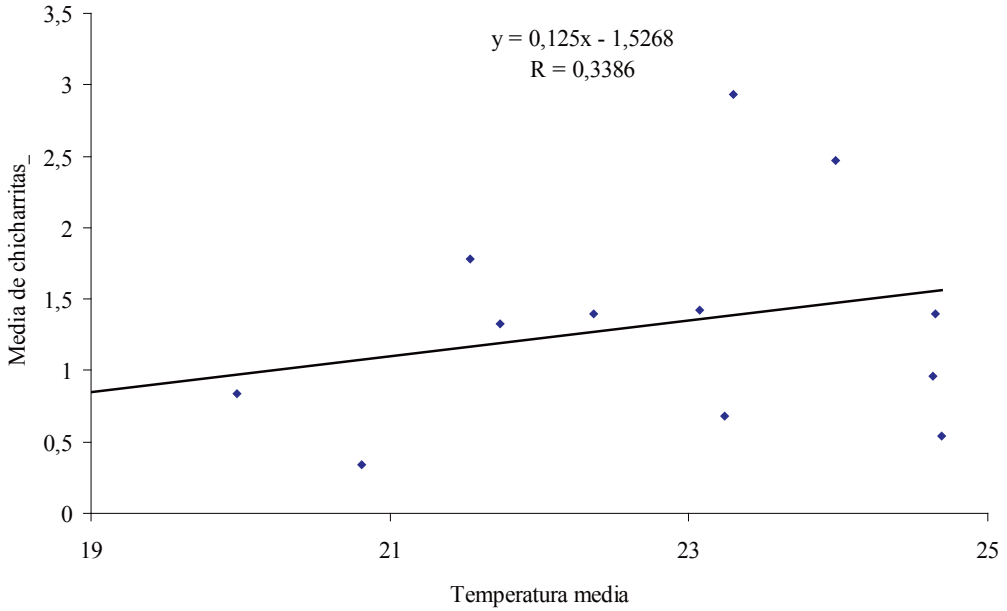


Figura 4. Correlación lineal simple entre el número medio de chicharritas *M. fimbriolata*/ metro lineal de cultivo y la temperatura media (°C). Paraguaçu Paulista, Estado de São Paulo, 2008

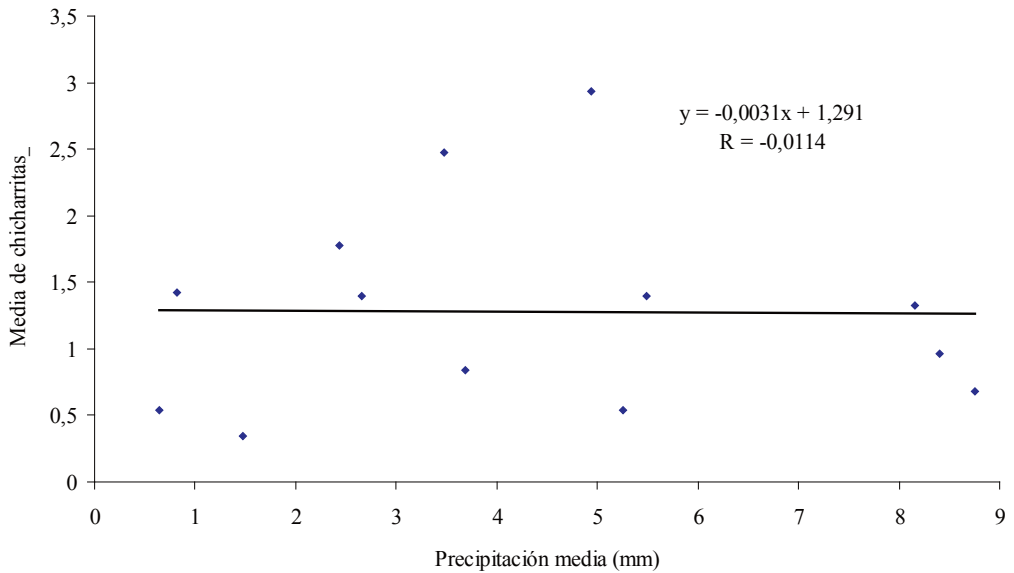


Figura 5. Correlación lineal simple entre el número total medio de chicharritas *M. fimbriolata*/ metro lineal de cultivo y la precipitación media (mm). Paraguaçu Paulista, Estado de São Paulo, 2008

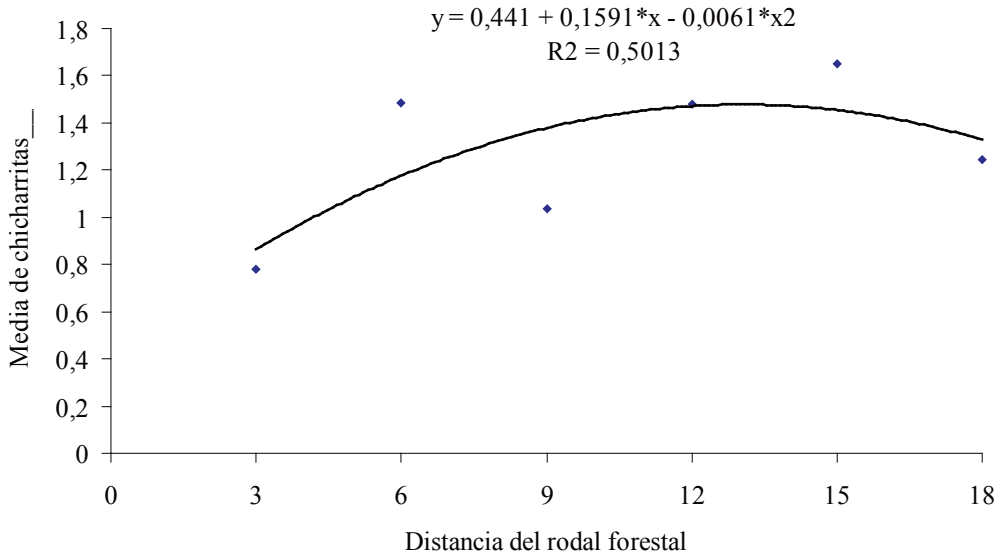


Figura 6. Regresión entre el número total medio de chicharritas *M. fimbriolata* y la distancia desde el borde del rodal forestal, sin considerar fechas específicas de muestreo. Paraguaçu Paulista, Estado de São Paulo, 2008

ción con la densidad poblacional registrada. El punto de mayor densidad de chicharritas se ubicó cercano a los 15 m desde el borde del rodal forestal. A su vez, los puntos más cercanos al rodal forestal presentaron menor densidad de la plaga (Figura 6).

En el mismo sentido, cuando se tomó en consideración el número medio de chicharritas por punto de muestreo en relación con las fechas de muestreo, también se observó el efecto de la distancia respecto del borde del rodal forestal. En este caso, una respuesta lineal creciente del número medio de chicharritas, con el ajuste de ecuaciones lineales significativas en la tercera, cuarta y última fecha de muestreo; 12/01/2008, 26/01/2008 y 01/06/2008 respectivamente (Figura 7).

Estas observaciones pueden haber ocurrido debido al efecto de la proximidad del borde del rodal forestal donde, por un lado, existe una mayor actividad de ciertos insectos (ANTONINI *et al.*, 2003) y, por otro, se ha demostrado mayor abundancia de enemigos naturales y control biológico (ALTIERI, 1999). Estas áreas proveen hábitat y alimento para los enemigos naturales durante los períodos desfavorables a

su manutención en los cultivos con recursos estacionales (LANDIS *et al.*, 2000).

Resultados semejantes a los encontrados en el presente estudio, si bien con otra especie, fueron observados por SUJII *et al.* (2000), quienes notaron un aumento significativo en la cantidad de “chicharrita salvadora” con el aumento de la distancia desde el borde del rodal forestal en pasturas sembradas con *Bra-chiaria ruzizensis*.

Otro factor a ser considerado es que los puntos más distanciados del borde presentan mayor cantidad y uniformidad de material vegetal remanente en el suelo, debido a la acumulación producida por los sucesivos cortes, así como un mayor sombreado, lo que favorece el aumento significativo de la cantidad de raíces superficiales, la mayor protección de las formas inmaduras de la plaga contra el ressecamiento, mayor uniformidad de la temperatura y mayor humedad del suelo, tal como fue observado por STINGEL (2005) y GARCIA (2006).

Puede afirmarse entonces que hay mayor incidencia de la chicharrita en condiciones con alto Humedad Relativa Ambiente, y en

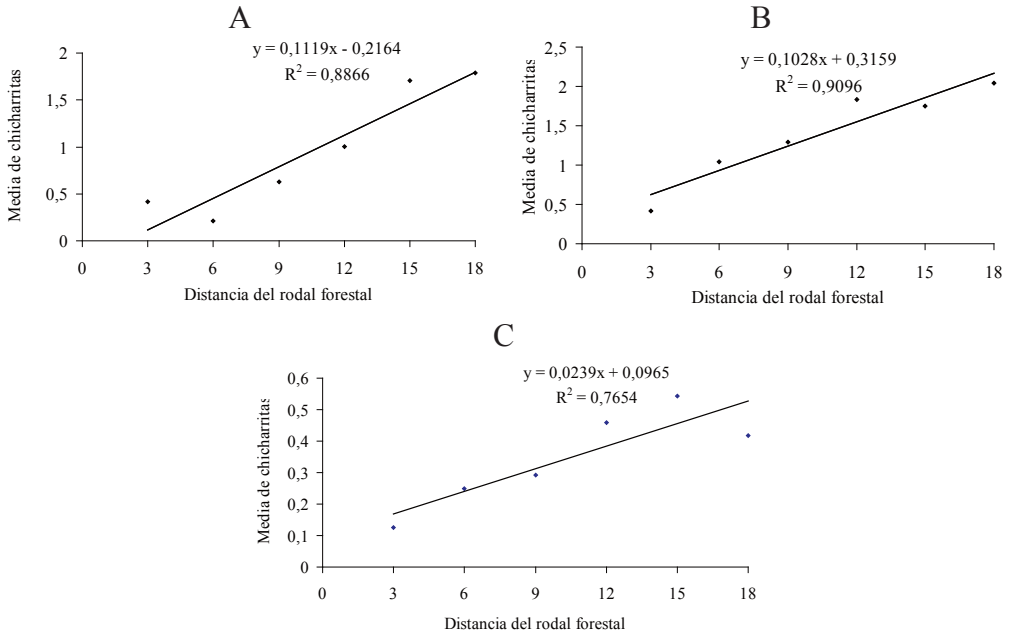


Figura 7. Regresión entre el número medio de chicharritas *M. fimbriolata* / metro lineal y la distancia desde el borde del rodal forestal, en las respectivas fechas de muestreo, A (12/01/2008), B (26/01/2008) y C (01/06/2008). Paraguaçu Paulista, Estado de São Paulo, 2008

condiciones de mayor cantidad de material vegetal remanente, en puntos que en el caso

de este experimento, se situaron alrededor de los 15 m desde el borde del rodal.

ABSTRACT

GUERREIRO, J. C., F. B. SERRANO, A. C. BUSOLI, M. G. RUIZ. 2012. Influence of weather factors and forest patches proximity on the seasonal occurrence of *Mahanarva fimbriolata*. *Bol. San. Veg. Plagas*, **38**: 239-248

The aim of this work was to assess the influence of weather factors and forest patches acting as shelter areas, on the occurrence of *Mahanarva fimbriolata* (Hemiptera: Cercopidae). The experiment was performed in a farm belonging to the firm Usina Nova América, at Paraguaçu Paulista County. *M. fimbriolata* population density was assessed through sampling points perpendicularly placed as regards the edge of the forest patch, within a distance of 3; 6; 9; 12; 15 and 18 m from the edge. There were eight replications for each of the distances. Sampling was performed fortnightly from December 2007 up to July 2008. Data were correlated with weather records (temperature, relative air humidity and rainfall) and the distance from the patch edge. Results showed that the occurrence of the sugarcane root spittlebug was positively correlated ($t=3.694^{**}$; $r=0.74$ and $p=0.168$) with the relative air humidity, but not with both temperature and rainfall ($t=1.193^{NS}$; $r=-0.3386$ and $p=0.25797$; $t=-0.038^{NS}$; $r=-0.0114$ and $p=0.97037$). Distance from the edge of the forest patch showed to have only partial influence ($R^2=0.5013$) on the number of recorded sugarcane root spittlebugs throughout the experiment, being ad-

justed a second grade exponential regression equation. Also, this effect become apparent in some of the sampling dates by means of linear positive regression equations, which were found in the third, fourth and last sampling dates, performed on Jan. 12/08, Jan 26/08, Jun 01/08 respectively. Greater pest occurrence was observed in sampling points placed *circa* 15 m apart from the forest path edge, probably due to the presence of a greater amount of plant debris in that area.

Key words: Shelter area, edge effect, predators, plant debris, sugar cane.

REFERENCIAS

- ALTIERI, M. A. 1999. The ecological role of biodiversity in agroecosystems. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, **74**: 19-31.
- ALTIERI, M. A., SILVA, E.N., NICHOLLS, C. I. 2003. *O papel da biodiversidade no manejo de pragas*. Ribeirão Preto: Holos, 226p.
- ANTONINI, Y., ACCACIO, G. M., BRANT, A., CABRAL, B. C., FONTENELLE, J. C. R., NASCIMENTO, M. T., THOMAZINI, A. P. DE B. W., THOMAZINI, M. J. 2003. Insetos. In: BRASIL. Ministério do meio ambiente secretária de biodiversidade e florestas. *Fragmentação de ecossistemas: causas, efeitos sobre a biodiversidade e recomendações de políticas públicas*. Brasília, sec. **9**: 240-273.
- ASTERAKI, E.J., HANKS, C.B., CLEMENTS, R.O. 1995. The influence of different types of grassland field margin on carabid beetle (Coleoptera, Carabidae) communities. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, **54**: 195-202.
- CARVALHO, L. W. T. 2007. Controle de *Mahanarva fimbriolata* (Stal, 1854) (Hemiptera: Cercopidae) em duas variedades de cana-de-açúcar, no estado de Alagoas. 62 f. *Dissertação (Mestrado em Agronomia, Área de Concentração: Produção Vegetal)* – Universidade Federal de Alagoas, Rio Largo. 2007. Disponível em: < http://bdtd.ufal.br/tde_busca/arquivo.php?codArquivo=296>. Acesso em: 11 set. 2008.
- DINARDO-MIRANDA, L. L., FERREIRA, J. M. G., CARVALHO, P. A. M. 2001. Influência da época de colheita e do genótipo de cana-de-açúcar sobre a infestação de *Mahanarva fimbriolata* (Stal) (Hemiptera: Cercopidae). *Neotropical Entomology*, **30** (1):145-149.
- DINARDO-MIRANDA, L. L. 2003. *Cigarrinha-das-raízes em cana-de-açúcar*. Instituto Agronômico, Campinas, 72 p.
- DINARDO-MIRANDA, L. L., COELHO, A. L., FERREIRA, J. M. G. 2004. Influência da época de aplicação de inseticidas no controle de *Mahanarva fimbriolata* (Stal) (Hemiptera: Cercopidae), na qualidade e na produtividade da cana-de-açúcar. *Neotropical Entomology*, **33** (1): 91-98.
- DINARDO-MIRANDA, L. L., VASCONCELOS, A. C. M., VIEIRA, S. R., FRACASSO, J. V., GREGO, C. R. 2007. Uso da geoestatística na avaliação da distribuição de *Mahanarva fimbriolata* em cana-de-açúcar. *Bragantia*, **66** (3): 449-455.
- DINARDO-MIRANDA, L. L., GIL, M. A. 2007. Estimativa do nível de dano econômico de *Mahanarva fimbriolata* (Stal) (Hemiptera: Cercopidae) em cana-de-açúcar. *Bragantia*, **66** (1): 81-88.
- GARCIA, J. F. 2006. Bioecologia e manejo da cigarrinha-das-raízes, *Mahanarva fimbriolata* (Stal, 1854) (Hemiptera: Cercopidae), em cana-de-açúcar. 99 f. *Tese (Doutorado em Ciências, Área de Concentração: Entomologia)* – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, São Paulo. 2006. Disponível em:< www.teses.usp.br/teses/disponiveis/11/11146/tde-15012007-152427/>. Acesso em: 05 Set. 2008.
- GARCIA, J. F., MACEDO, L. P. M., BOTELHO, P. S. M. 2006. As cigarrinhas da cana-de-açúcar. In: PINTO, A. S. (Ed.). Controle de pragas da cana-de-açúcar. *Boletim Técnico Biocontrol*, **1**: 29-33.
- GONÇALVES, T.D., MUTTON, M.A., PERECIN, D., CAMPANHÃO, J.M., MUTTON, M.J.R. 2003. Qualidade da matéria prima em função de diferentes níveis de danos promovidos pela cigarrinha-das-raízes. *STAB - Açúcar, Alcool e Subprodutos*, **22** (2): 29-33.
- GUIMARÃES, E. R., MUTTON, M. A., MUTTON, M. J. R., FERRO, M. I. T., RAVANELI, G. C., SILVA, J. A. 2008. Free proline accumulation in sugarcane under water restriction and spittlebug infestation. *Scientia Agricola*, **65** (6):628-633.
- LANDIS, D. A., WRATTEN, S. D., GURR, G. M. 2000. Habitat management to conserve natural enemies of arthropod pests in agriculture. *Annual Review of Entomology*, **45**: 175-201.
- MACEDO, N., MACEDO, D. 2004. As pragas de maior incidência nos canaviais e seu controle. *Visão Agrícola*, **1** (1): 38-45.
- MADALENO, L. L., RAVANELI, G. C., PRESOTTI, L. E., MUTTON, M. A., FERNANDES, O. A., MUTTON, M. J. R. 2008. Influence of *Mahanarva fimbriolata* (Stal)

- (Hemiptera: Cercopidae) injury on the quality of cane juice. *Neotropical Entomology*, **37** (1): 68-73.
- NASS, D. P. Mata ciliar: corredor da natureza. 2002: *Revista Eletrônica de Ciências*, São Carlos, n. 14, Dez. 2002. Disponível em: < http://cdcc.sc.usp.br/ciencia/artigo/art_14/mataciliar.html >. Acesso em: 21 jul. 2007.
- ROMANO, F. C., AGOSTINO, F. 2003. *Monitoramento de adultos de cigarrinha da raiz, Mahanarva fimbriolata (Stal, 1854) (Hemiptera: Cercopidae), em cana-de-açúcar, com BIO TRAT amarela*. 2003. Disponível em: < www.biocontrole.com.br/artigos/artigo_biotrap_mahanarva.doc >. Acesso em: 10 set. 2008.
- STINGEL, E. 2005. Distribuição espacial e plano de amostragem para cigarrinha-das-raízes, *Mahanarva fimbriolata* (Stal., 1854), em cana-de-açúcar. 93 f. *Dissertação (Mestrado em Ciência, Área de Concentração: Entomologia)* – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, São Paulo. 2005.
- SUIII, E. R., GARCIA, M. A., FONTES, E. M. G. 2000. Movimentos de migração e dispersão de adultos da cigarrinha-das-pastagens. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, **35** (3): 47-480.

(Recepción: 10 enero 2012)

(Aceptación: 3 diciembre 2012)

Ataque da cochonilha negra *Saissetia oleae* (Olivier) (Hemiptera: Coccidae) em mudas de duas cultivares de oliveira (*Olea europaea* L.) introduzidas no Brasil

L. M. MARTINS, R. P. CARVALHO, M. A. SOARES, M. C. M. CRUZ, E. M. PIRES

Este trabalho foi desenvolvido com o objetivo de avaliar o ataque de *Saissetia oleae* (Olivier) em mudas de duas cultivares de oliveira (Arbequina e Koroneiki), com 57,60 e 52,56 cm de altura média, respectivamente. O experimento foi conduzido em casa de vegetação, com infestação natural e delineamento inteiramente casualizado (DIC). Os tratamentos tiveram 32 repetições, sendo cada repetição uma planta. A população da praga foi avaliada por contagem direta nos terços superior, médio e inferior do dossel das plantas. A cultivar Arbequina apresentou menor nível de ataque da praga, sendo mais recomendada para o plantio na região do estudo.

L. M. MARTINS, R. P. CARVALHO, M. A. SOARES, M. C. M. CRUZ. Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, 39100-000, Diamantina, estado de Minas Gerais, Brasil, E-mail: marcusasoares@yahoo.com.br,

E. M. PIRES. Instituto de Ciências Naturais, Humanas e Sociais, Universidade Federal de Mato Grosso, 78557-000, Sinop, estado do Mato Grosso, Brasil, E-mail: evaldo@ufmt.br

Palavras Chave: fitófago, insetos, praga.

INTRODUÇÃO

A oliveira, *Olea europaea* L. (Oleaceae), teve seu cultivo iniciado na região do Mediterrâneo, há quatro mil anos a.C., sendo depois disseminada e cultivada em todos os continentes (RALLO, 2005). No Brasil, sua introdução é recente, estando restrita aos estados de Minas Gerais e Rio Grande do Sul e testes ainda são necessários para adaptar as cultivares as condições locais. Dentre as cultivares introduzidas, estão a Arbequina, com origem na Espanha, e a Koroneiki, vinda da Grécia.

Um dos principais problemas enfrentados por cultivares introduzidas no Brasil são as pragas, pois o clima tropical e a alta incidência de chuvas, aceleram o ciclo e a reprodução de in-

setos fitófagos neste país. A principal praga da oliveira é a cochonilha negra, *Saissetia oleae* (Olivier) (Hemiptera: Coccidae), já observada no Brasil. Os ataques desta praga ocorrem nos galhos, ramos e folhas. Todos os estádios de desenvolvimento deste inseto podem causar danos, pois ao extrair a seiva da árvore, causam o enfraquecimento dos órgãos atacados. Além disso, a excreção deste inseto favorece o desenvolvimento de fungos, com coloração preta nas folhas, diminuindo a atividade fotossintética e a produção da oliveira (NOGUERA *et al.*, 2003).

O controle desta praga é, normalmente, feito pelo Método Químico, porém esta técnica trás alguns efeitos adversos como a morte de inimigos naturais e contaminação ambiental. Além disso, os inseticidas não são

utilizados de forma eficiente devido à falta de conhecimento do ciclo da praga e seus períodos mais vulneráveis à ação dos produtos por parte dos agricultores (SOARES *et al.*, 2010; OUGUAS & CHEMSEDDINE, 2011). Existem ainda riscos da indução da resistência da praga aos mecanismos de ação dos inseticidas, devido ao uso massivo dos mesmos. A aplicação de inseticidas pode ainda causar a ressurgência de pragas, quando os insetos retornam à área cultivada, no mesmo ciclo de cultivo, com maior número populacional (LAMPSON & MORSE, 1992; SOARES *et al.*, 2009).

Deste modo, a pesquisa tem buscado métodos alternativos de controle da cochonilha *S. oleae*, e entre eles destacam-se o Controle Biológico, com parasitoides como *Metaphycus luteolus* Timberlake (Hymenoptera: Encyrtidae) (SCHWEIZER *et al.*, 2003) e predadores como *Chilocorus bipustulatus* (L.), e *Scymnus (Mimopullus) mediterraneus* Iablokoff-Khnzorian (Coleoptera: Coccinellidae) (SANTOS *et al.*, 2009). Outra técnica alternativa aos inseticidas que vem assumindo grande importância é a Resistência de Plantas a Insetos, pois pode ser trabalhada em conjunto com qualquer outro método de controle (químico, biológico, cultural), além de proporcionar menores riscos aos agricultores, redução dos custos de produção, melhor qualidade do produto, redução das aplicações de agrotóxicos e, conseqüentemente, menor impacto ao meio ambiente (LEITE *et al.*, 2011). Identificar genótipos que apresentam algum grau de resistência à cochonilha-negra é de grande importância para o melhoramento genético de cultivares de oliveira e para aumentar a sua produtividade e reduzir os seus custos de produção neste país.

Assim, este trabalho foi desenvolvido com o objetivo de avaliar o ataque da cochonilha negra, *Saissetia oleae*, em mudas de duas cultivares de oliveira, introduzidas no Brasil.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em casa de vegetação da Universidade Federal dos Vales

do Jequitinhonha e Mucuri, no período de agosto a dezembro de 2011, em Diamantina, estado de Minas Gerais, Brasil. Durante o experimento, medições no interior da casa de vegetação mostraram temperatura máxima de 43,1°C e mínima de 16,5°C e umidade relativa máxima de 63,3% e mínima de 41,1%.

Utilizaram-se mudas das cultivares Arbequina e Koroneiki, do banco de plantas matrizes da Fazenda Experimental da Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais - EPAMIG de Maria da Fé, estado de Minas Gerais, Brasil, obtidas a partir do enraizamento de estacas, com 18 meses de idade. As mudas apresentaram em média 57,60 ± 3,00 cm de altura para cultivar Arbequina e 52,56 ± 2,80 cm para Koroneiki. O delineamento experimental utilizado foi o Inteiramente Casualizado – DIC com 32 repetições para cada cultivar, totalizando 64 plantas. As mudas estavam em vasos de poliestireno, com capacidade de 5 litros, e foram irrigadas diariamente por aspersão.

As avaliações do ataque natural da praga foram feitas aos vinte, quarenta e sessenta dias depois de instalado o experimento. A avaliação consistiu na contagem direta dos insetos (adultos e imaturos) nos caules e folhas das plantas de oliveira, nos terços superior, médio e inferior (LEITE *et al.*, 2008; 2011). Os dados obtidos foram transformados em arcsen de x e submetidos à ANOVA e ao teste de Tukey a 5 % de probabilidade de erro, com o Programa de Análises Estatísticas SAEG 9.1 (Universidade Federal de Viçosa).

RESULTADOS

Observou-se diferenças significativas no ataque de *S. oleae* entre as cultivares, sendo Koroneiki mais atacada durante o período de condução do experimento (Figura 1). Nesta cultivar, foi observado maior ataque no terço médio da muda (Figura 2). As cochonilhas foram encontradas tanto na parte abaxial (maior número), quanto na parte adaxial das folhas, e ainda no caule e ramos das mudas de oliveira.

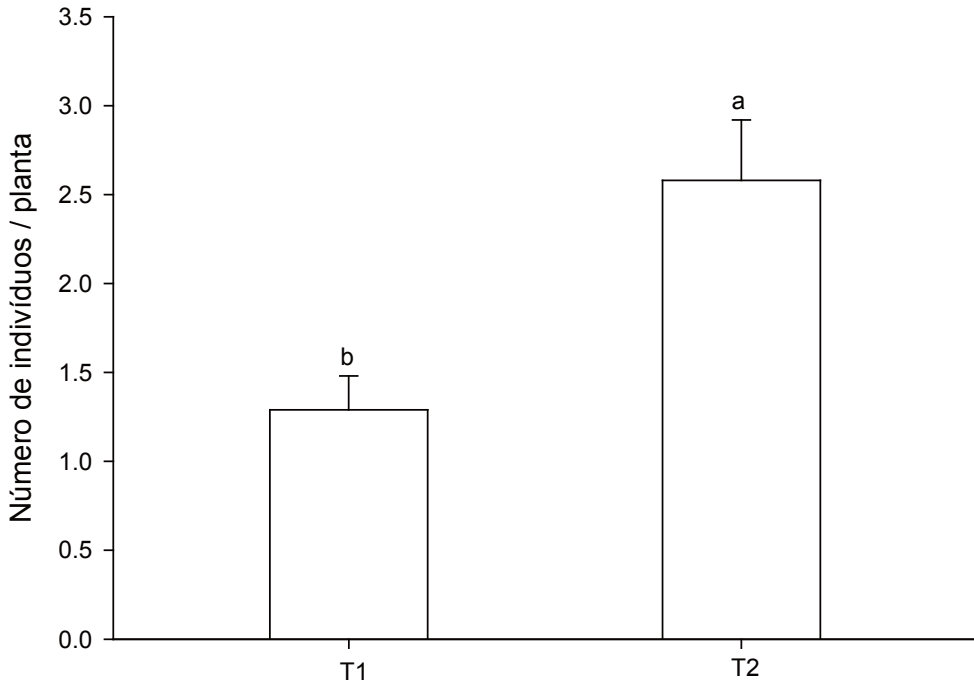


Figura 1. Média \pm erro padrão de indivíduos de *Saissetia oleae* (Olivier) (Hemiptera: Coccidae) em mudas das cultivares Arbequina (T1) e Koroneiki (T2) de oliveira (*Olea europaea* L. Oleaceae), no período de setembro a dezembro de 2011. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

A cultivar Arbequina foi menos atacada por *S. oleae* durante o período de condução do experimento (Figuras 1, 2 e 3).

Imaturos da espécie *S. oleae* foram predominantes em relação aos adultos, durante todo o período avaliado, no entanto, foi observada uma tendência de redução nas proporções entre adultos e imaturos aos 40 e 60 dias do experimento (Tabela 1).

A densidade populacional de *S. oleae* variou ao longo do tempo, com tendência de redução aos 40 e 60 dias do início do experimento, para ambas as cultivares. Durante todo o período avaliado, observou-se maior incidência populacional da cochonilha negra nas mudas da cultivar Koroneiki (Figura 3).

DISCUSSÃO

O menor ataque da cochonilha *S. oleae* nas mudas da cultivar Arbequina, possivelmente,

pode ser atribuído a presença de compostos fenólicos produzidos em maior quantidade nas suas folhas (VICHI *et al.*, 2009). Tais compostos poderiam conferir resistência do tipo antixenose e/ou antibiose à planta (TAVARES *et al.*, 2009). Além disso, segundo PETRIDIS *et al.* (2012), as cultivares Arbequina e Koroneiki possuem compostos fenólicos presentes em maior concentração nas folhas e em menor concentração nas raízes. Esses compostos se diferenciam nas cultivares, Koroneiki produz maior quantidade do composto fenólico oleuropeína e Arbequina produz em maior concentração hidoxitirozol. O composto oleuropeína pode ser indiretamente responsável pelo maior número de indivíduos de *S. oleae* na cultivar Koroneiki, pois sua maior concentração está ligada a maior concentração de glicose na planta.

A cultivar Koroneiki apresentou maior ataque no terço médio das mudas e as cocho-

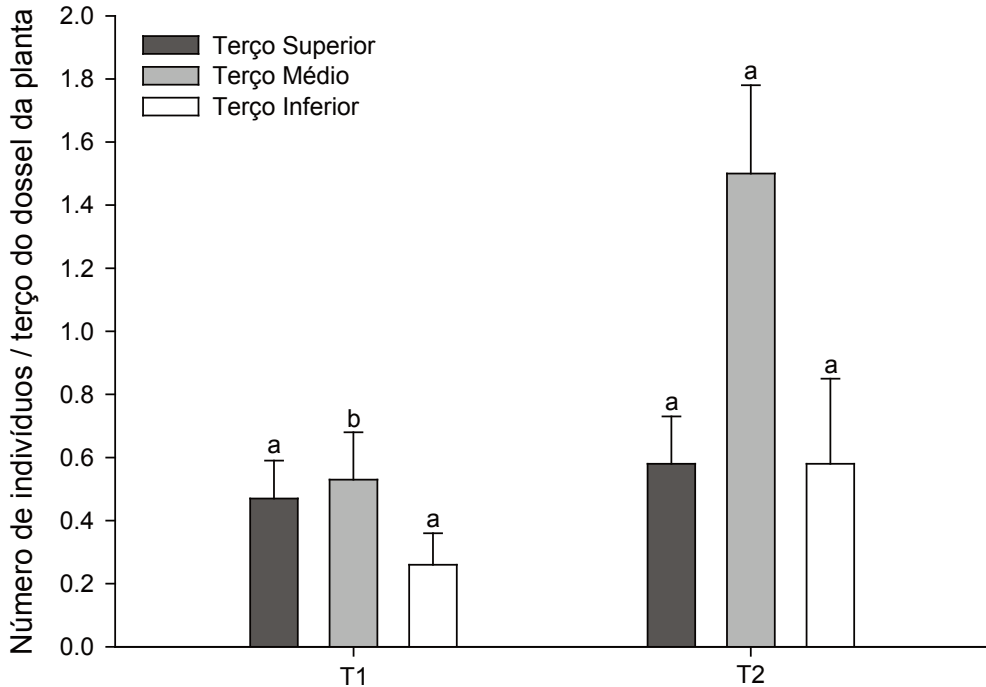


Figura 2. Média \pm erro padrão da distribuição de indivíduos de *Saissetia oleae* (Olivier) (Hemiptera: Coccidae) no dossel de mudas das cultivares Arbequina (T1) e Koroneiki (T2) de oliveira (*Olea europaea* L. Oleaceae). Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

nilhas concentraram-se na parte abaxial das folhas, no caule e nos ramos. Essas informações são importantes, pois o conhecimento da localização das cochonilhas nas diferentes partes das mudas permite direcionar as pulverizações de produtos químicos, em viveiro, para o terço médio da planta. Isto permite

maior economia e eficiência no Controle Químico. Além disso, deve-se dar preferência para produtos com ação translaminar ou sistêmica, para atingir indivíduos na parte abaxial das folhas. O método de Controle Químico é, atualmente, a principal forma de controle desta praga nos países produtores de

Tabela 1. Porcentagem de indivíduos adultos e imaturos de *Saissetia oleae* (Olivier) (Hemiptera: Coccidae) em mudas das cultivares Arbequina e Koroneiki de oliveira (*Olea europaea* L. Oleaceae), nos períodos de 20, 40 e 60 dias após o plantio

Período de Avaliação	Arbequina		Koroneiki	
	Adultos (%)	Imaturos (%)	Adultos (%)	Imaturos (%)
20 dias	8,69	91,30	10,20	89,79
40 dias	8,33	91,60	19,35	80,64
60 dias	46,66	53,33	41,38	58,62

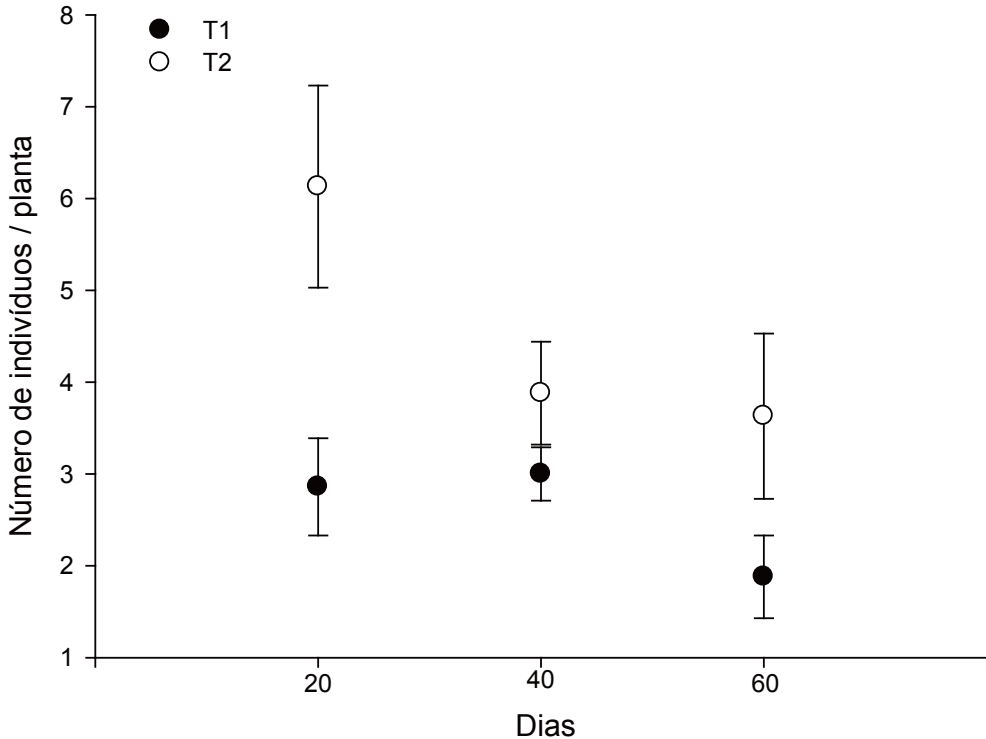


Figura 3. Média \pm erro padrão da flutuação populacional de indivíduos de *Saissetia oleae* (Olivier) (Hemiptera: Coccidae) em mudas das cultivares Arbequina (T1) e Koroneiki (T2) de oliveira (*Olea europaea* L. Oleaceae), nos períodos de 20, 40 e 60 dias após o plantio

oliveiras, especialmente em viveiros (OUGUAS & CHEMSEDDINE, 2011), o que justifica a necessidade de melhorar técnicas de aplicação de agrotóxicos nesta cultura.

A predominância de imaturos da espécie *S. oleae* no início do experimento e sua tendência de redução da proporção entre adultos e imaturos aos 40 e 60 dias de avaliação, podem ser explicadas pelas temperaturas maiores que 30 °C na casa de vegetação. De acordo com PUCCI *et al.*, (1982), esse fator pode causar mortalidade maior que 80% em imaturos de *S. oleae*.

A redução na densidade populacional de *S. oleae* aos 40 e 60 dias do início do experimento, para ambas as cultivares, corrobora com o estudo de TENA *et al.* (2007), que mostra redução da população de *S. oleae* durante

o verão, pois nesse período as temperaturas são mais altas, provocando alta taxa de mortalidade dos primeiros ínstares de *S. oleae*.

A menor densidade populacional de *S. oleae* na região de Diamantina, que aquela observada em oliveiras no leste da Espanha (800 a 1000 indivíduos por planta, durante o pico populacional) (TENA *et al.*, 2007) pode ser explicada por Diamantina ser uma região oleícola nova, com apenas dois anos de cultivo, possuindo assim menor invasão de pragas da oliveira e também por fatores climáticos locais, que podem não favorecer o desenvolvimento da praga (LEITE *et al.*, 2008).

A cultivar Arbequina mostrou-se mais tolerante ao ataque de *S. oleae*, apresentando maior rusticidade e sendo mais recomendada para produção de mudas e plantio na região

de Diamantina. Isto permite acrescentar outra estratégia de controle de pragas nas regiões oleícolas brasileiras, a Resistência de Plantas, importante ferramenta no Manejo Integrado de Pragas. O presente estudo mostra que *S. oleae* já ocorre no município de Diamantina, sendo necessário seu monitoramento, quando da implantação de viveiros de mudas e áreas de cultivo.

AGRADECIMENTOS

Às agências brasileiras Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES e Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de Minas Gerais – FAPEMIG, pelas bolsas e auxílios concedidos.

RESUMEN

MARTINS, L. M., R. P. CARVALHO, M. A. SOARES, M. C. M. CRUZ, E. M. PIRES. 2012. Daño de la cochinilla negra *Saissetia oleae* (Olivier) (Hemiptera: Coccidae) en variedades de olivos (*Olea europaea* L.) introducidas en Brasil. *Bol. San. Veg. Plagas*, **38**: 249-255

Se ha realizado un estudio para evaluar los niveles de ataque de *Saissetia oleae* (Olivier) en dos variedades de olivo (Arbequina y Koroneiki), en estado de planta joven (altura media de 57,60 y 52,56 cm, según variedad). El experimento se realizó en invernadero, con infestación natural y un diseño experimental totalmente aleatorio, con 32 repeticiones por variedad, cada repetición consistió en una planta. Las poblaciones de la plaga fueron evaluadas por conteo directo en la parte superior, media e inferior del dosel de las plantas. En los resultados se ha encontrado que el cultivar Arbequina presentó menor nivel de ataque de la plaga; por lo que es el más recomendado para plantación en la región objeto del presente estudio.

Palabras clave: fitófagos, insectos, plaga.

ABSTRACT

MARTINS, L. M., R. P. CARVALHO, M. A. SOARES, M. C. M. CRUZ, E. M. PIRES. 2012. Attack of black scale *Saissetia oleae* (Olivier) (Hemiptera: Coccidae) in seedlings of two cultivars of olive (*Olea europaea* L.) introduced in Brazil. *Bol. San. Veg. Plagas*, **38**: 249-255

This study was carried out to evaluate the *Saissetia oleae* (Olivier) attack in seedlings of two olive cultivars (Arbequina and Koroneiki), with 57.60 and 52.56 cm of height, respectively. The experiment was conducted in a greenhouse with natural infestation and completely randomized design (CRD). The pest population was assessed by direct counting in the upper, middle and lower parts of the plants. The Arbequina cultivar showed the lowest level of pest attack and it is most recommended for planting in the study region.

Keywords: Phytophagous, insects, pest.

REFERÊNCIAS

- LAMPSON, L. J., MORSE, J. G. 1992. Impact of insect growth regulators on black scale, *Saissetia oleae* (Olivier) (Homoptera: Coccidae), and inter-tree dispersal. *J. Agric. Entomol.*, **9** (3): 199-210.
- LEITE, G. L. D., EVARISTO, A. B., SOARES, M. A., MELO, M. A. V., SOUZA, S. A. 2011. Resistência de oito populações de milho a insetos. *Rev. de Ci. Vida*, **31** (2): 81-86.
- LEITE, G. L. D., PIMENTA, M., FERNANDES, P. L., VELOSO, R. V. S., MARTINS, E. R. 2008. Fatores que afetam artrópodes associados a cinco acessos de ginseng-brasileiro (*Pfaffia glomerata*) em Montes Claros, Estado de Minas Gerais. *Acta. Sci. Agron.*, **30** (1): 7-11.
- NOGUERA, V., VERDÚ, M. J., GÓMEZ-CADENAS, A., JACAS, J. A. 2003. Ciclo biológico, dinámica poblacional y enemigos naturales de *Saissetia oleae* Olivier (Homoptera: Coccidae), en olivares del Alto Palencia (Castellón). *Bol. San. Veg. Plagas*, **29** (4): 495-504.
- OUGUAS, Y., CHEMSEDDINE, M. 2011. Effect of pruning and chemical control on *Saissetia oleae* (Olivier) (Hemiptera, Coccidae) in olives. *Fruits*, **66** (3): 225-234.
- PETRIDIS, A., THERIOS, I., AMOURIS, G., TANANAKI, C. 2012. Salinity-induced changes in phenolic compounds in leaves and roots of four olive cultivars (*Olea europaea* L.) and their relationship to antioxidant activity. *Environ. Exp. Bot.*, **79** (1): 37-43.
- PUCCI, C., SALMISTRARO, D., FORCINA, A., MONTANARI, G. 1982. Incidenza dei fattori abiotici sulla mortalità della *Saissetia oleae* (Oliv.). *Redia*, **65**: 355-366.
- RALLO, L. (Ed.). 2005. Variedades de olivo en España. Sevilla: Consejería de Agricultura y Pesca de la Junta de Andalucía. Madrid: Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación/Mundi-Prensa, cap. 1, p. 17-44.
- SANTOS, S. A. P., PEREIRA, J. A., TORRES, L. M., NOGUEIRA, A. J. A. 2009. Voracity of coccinellid species on different phenological stages of the olive pest *Saissetia oleae* (Homoptera, Coccidae). *Appl. Ecol. Environ. Res.*, **7** (4): 359-365.
- SCHWEIZER, H., MORSE, J. G., LUCK, R. F. 2003. Evaluation of *Metaphycus* spp. for suppression of black scale (Homoptera: Coccidae) on southern California citrus. *Environ. Entomol.*, **32** (2): 377-386.
- SOARES, M. A., ZANUNCIO, J. C., LEITE, G. L. D., WERMELINGER, E. D., SERRÃO, J. E. 2009. Does *Thyrinteina arnobia* (Lepidoptera: Geometridae) use different defense behaviours against predators? *J. Plant Dis. Protect.*, **116** (1): 30-33.
- SOARES, M. A., LEITE, G. L. D., ZANUNCIO, J. C., DE SÁ, V. G. M., PIRES, E. M., FERREIRA, C. S. 2010. Natural Occurrence and ecology of *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) in cotton plantation wit insecticides spraying in Minas Gerais State, Brazil. *Rev. Fac. Cien. bás.*, **6** (2): 142-151.
- TAVARES, W. S., CRUZ, I., PETACCI, F., ASSIS JÚNIOR, S. L., FREITAS, S. S., ZANUNCIO, J. C., SERRÃO, J. E. 2009. Potential use of Asteraceae extracts to control *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) and selectivity to their parasitoids *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) and *Telenomus remus* (Hymenoptera: Scelionidae). *Ind. Crop. Product.*, **30** (3): 384-388.
- TENA, A., SOTO, A., VERCHER, R., GARCIA-MARÍ, F. 2007. Density and structure of *Saissetia oleae* (Hemiptera: Coccidae) populations on citrus and olives: Relative importance of the two annual generations. *Environ. Entomol.*, **36** (4): 700-706.
- VICHI, S., ROMERO, A., GALLARDO-CHACÓN, J., TOUS, J., LÓPEZ-TAMAMES, E., BUXADERA, S. 2009. Volatile phenols in virgin olive oils: Influence of olive variety on their formation during fruits storage. *Food Chem.*, **116** (3): 651-656.

(Recepción: 11 febrero 2012)

(Aceptación: 25 junio 2012)

Ocorrência de ninhos de formigas cortadeiras em área de vinhedo no Rio Grande do Sul,-Brasil

M. G. DONATTI RICALDE, A. ENIMAR LOECK, M. PERRONE RICALDE

As formigas cortadeiras são um sério problema para a viticultura, pois seu hábito alimentar de cortar as folhas e levar para o ninho causa diminuição da fotossíntese e em ataques severos pode causar a morte das plantas. O objetivo do trabalho foi de mapear a ocorrência de formigas cortadeiras (Hymenoptera: Formicidae) em um vinhedo no Rio Grande do Sul, Brasil. Foram escolhidos pomares das cultivares de uva: Cabernet Sauvignon, Merlot, Sauvignon Blanc, Tempranillo, estabelecidos em três tipos de solo: Argissolo, Chernossolo e Vertissolo e em áreas de campo nativo sem cultivo de videiras como testemunha. As coletas foram realizadas em parcelas de um hectare através do método de caminhamento entre as fileiras do vinhedo, no período de setembro de 2008 a março de 2009. Os formigueiros encontrados foram georreferenciados e as formigas foram identificadas. Foram encontradas oito espécies de formigas pertencentes ao gênero *Acromyrmex*: *A. ambiguus*, *A. lundii*, *A. heyeri*, *A. laticeps*, *A. lobicornis*, *A. crassispinus*, *A. balzani* e *A. striatus*. Foi verificada a influência do tipo de solo e das variedades na distribuição das espécies.

M. G. DONATTI RICALDE, A. ENIMAR LOECK, M. PERRONE RICALDE. Departamento de Fitossanidade, FAEM/UFPeL, Cx. Postal 354, 96010-900, Pelotas, RS, Brasil. E-mail: micheledonatti@uol.com.br.

Palavras-chave: *Acromyrmex*, análise faunística, formigas cortadeiras, georreferenciamento, videira.

INTRODUÇÃO

No Brasil, verifica-se um crescimento na produção e no processamento de uvas, sendo que desde 2001 o país supera o volume de um milhão de toneladas colhidas com uma área de aproximadamente 68.323ha (PROTAS, 2004).

A viticultura sul rio-grandense tem aptidão preponderantemente vinícola e pequena participação na oferta de uva de mesa, possuindo uma área cultivada de 40 mil hectares e uma produção de aproximadamente 490 mil toneladas (POMMER, 2003).

O Estado do Rio Grande do Sul é o maior produtor de uva do Brasil, com aproximada-

mente 40.000ha plantados e uma viticultura predominante em pequenas propriedades com mão de obra familiar. Na região da Campanha do Estado do Rio Grande do Sul (PROTAS, 2004) a cultura é uma nova realidade com plantios recentes com cerca de dez anos e sua grande maioria com cultivares para produção de vinhos tintos.

As formigas cortadeiras são insetos que causam elevados prejuízos à agricultura brasileira por atacarem praticamente todas as plantas cultivadas. Estão disseminadas por todo o território nacional e efetuam a sua ação prejudicial durante todo o ano. Além disso, em razão do controle muitas vezes difícil e one-

roso, as formigas cortadeiras representam a primeira preocupação do agricultor por exigir gastos consideráveis com formicidas, equipamentos e mãos de obra (LOECK e GRÜTZMACHER, 2001).

As formigas cortadeiras, tanto as saúvas *Atta* Fabricius, 1804 quanto às quenquéns *Acromyrmex* Mayr, 1865 causam sérios danos à videira devido ao corte de folhas, brotos e cachos. O ataque de formigas é prejudicial em qualquer fase do ciclo, porém, o dano é maior na fase de formação da planta, quando paralisa o crescimento (BOTTON *et al.*, 2003).

As formigas estão agrupadas atualmente em 297 gêneros e 8.804 espécies (HÖLLEDOBLER e WILSON, 1990). São consideradas formigas cortadeiras todas as espécies dos gêneros *Atta*, *Acromyrmex* e ainda espécies dos gêneros *Trachymyrmex* Forel 1893 e *Sericomyrmex* Mayr 1865, sendo o ninho dos dois últimos gêneros muito pequeno e os danos causados pelas formigas insignificantes (ARAÚJO *et al.*, 1997).

As principais espécies de formigas cortadeiras são representadas pelos gêneros *Atta* (saúvas) e *Acromyrmex* (quenquéns) e são responsáveis por prejuízos econômicos consideráveis por atacarem praticamente todas as plantas durante a maior parte do ano e por estarem disseminadas em todo o território nacional (DELLA-LUCIA, 1993; LOECK e GRÜTZMACHER, 2001).

A preocupação com o controle de formigas cortadeiras é constante em muitos agroecossistemas, estimando-se um consumo nacional de aproximadamente 12.000 toneladas/ano de iscas tóxicas, forma mais comum utilizada no combate destes insetos (BOARETTO e FORTI, 1997).

Segundo MARICONI (1970), o gênero *Acromyrmex* é próprio da América do Sul, ocorrendo em quase todos os países do Continente Sul Americano e encontra-se amplamente distribuído no território brasileiro, principalmente no Rio Grande do Sul.

São encontrados vários registros sobre a ocorrência de formigas cortadeiras no Rio Grande do Sul. JURUENA e CACHAPUZ (1980)

publicaram um informe sobre as espécies de formigas ocorrentes; MAYHÉ-NUNES e DIEHL-FLEIG (1994) publicaram nota sobre a ocorrência das principais espécies de formigas; GUSMÃO e LOECK (1999) e GRÜTZMACHER (2003) realizaram levantamento das espécies ocorrentes na região Sul; LOECK e GRÜTZMACHER (2001) e GRÜTZMACHER *et al.* (2002) realizaram estudo sobre a ocorrência de formigas cortadeiras nas principais regiões agropecuárias do estado; e KRÜGER (2008) estudou a ocorrência de formigas cortadeiras em áreas florestadas com *Eucalyptus* spp. nas regiões Sul e Campanha do Rio Grande do Sul. Recentemente foi descrita pela primeira vez a espécie *A. diasii* (GONÇALVES, 1982) no Rio Grande do Sul (RANDO e FORTI, 2005).

Conforme ANDRADE (1991), a distribuição geográfica das formigas do gênero *Acromyrmex* no Estado de São Paulo não é tão influenciada pelo tipo de solo ou temperatura, mas sim pelo tipo de cobertura vegetal e umidade do solo.

Para o sucesso no controle de formigas cortadeiras, torna-se importante o reconhecimento das espécies que ocorrem no local, o que permite executar programas de controle específico. Os prejuízos que as formigas causam levam à intensificação da busca por produtos e métodos de controle de menor custo, mais eficientes e menos agressivos ao meio ambiente (ZANUNCIO *et al.*, 1996).

O fato das formigas cortadeiras atacarem muitas espécies vegetais resulta em altos prejuízos, não só pela competição por esses produtos com o homem e animais domésticos, como pela preferência desses insetos por plantas cultivadas. Além disso, esse efeito prejudicial pode ser indireto, pela enorme quantidade de inseticidas aplicados para o controle e também pelos gastos envolvidos na mão de obra para combatê-las (FOWLER, 1983).

Este trabalho teve como objetivo mapear e identificar as formigas cortadeiras que ocorrem em um vinhedo no município de Candiota na região da Campanha do Estado do RS, estabelecer os índices faunísticos em três tipos de solo e quatro variedades de uva.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado na fazenda Fortaleza do Seival, localizada no município de Candiota na região da Campanha do Estado do Rio Grande do Sul. O estudo foi realizado em quatro variedades de videira: Cabernet Sauvignon, Sauvignon Blanc, Tempranillo e Merlot mais Campo Nativo e três tipos de solo: Argissolo, Vertissolo e Chernossolo, a classificação destes solos segue o descrito no levantamento de reconhecimento dos solos do município de Bagé, RS (MACEDO, 1984). De modo que para cada variedade foram feitas três repetições de 1ha, com os três tipos de solo. Paralelamente, foram realizados levantamentos em áreas de campo nativo, também com três repetições, com situação semelhante àquelas onde os vinhedos foram estabelecidos, no período de setembro de 2008 a março de 2009.

A fazenda Fortaleza do Seival possui área total de 3.000ha, os plantios de videira tiveram início no ano de 2001, com 50ha. Hoje a fazenda conta com 160ha de área plantada, com meta de atingir 400ha. Cada área de estudo foi georreferenciada para demarcação da área bem como todos os formigueiros encontrados, posteriormente foi confeccionado um mapa geral da propriedade com os formigueiros localizados nas parcelas de 1ha. A coleta foi realizada através de caminhamento entre as fileiras. Cada amostra foi composta pelos 10 maiores exemplares, coletados diretamente do ninho, conservados em frascos contendo álcool 70% devidamente etiquetados. As amostras foram identificadas no laboratório de “Mirmecologia” do Departamento de Fitossanidade da Faculdade de Agronomia “Eliseu Maciel” da Universidade Federal de Pelotas, e armazenadas no Museu entomológico “Ceslau Biezanko” pertencente também a este departamento.

A identificação das formigas foi baseada nas descrições originais e nas revisões taxonômicas de (GONÇALVES, 1961; MAYHÉ-NUNES, 1991; LOECK *et al.*, 2003; GRÜTZMACHER e LOECK, 2005, FORTI *et al.*, 2006), utilizando o

maior exemplar de cada amostra. Para a identificação das espécies de *Atta* são utilizados indivíduos da casta dos soldados, o que torna o processo mais fácil. Em *Acromyrmex* essa casta não ocorre, sendo por isso utilizados os maiores indivíduos encontrados o que, muitas vezes podem gerar dúvidas e confusões (JUSTI JÚNIOR *et al.*, 1996). Todas as amostras identificadas foram confirmadas pelo taxonomista da espécie Dr. Alci Enimar Loeck, professor da Universidade Federal de Pelotas especialista no gênero.

O exame do material proveniente das coletas das parcelas foi realizado com auxílio de microscópio estereoscópico. Os índices faunísticos calculados foram à frequência, que foi determinada através do intervalo de confiança (IC) da média com 5% de probabilidade, através da fórmula $IC(5\%) = Média \pm t \times S/\sqrt{n}$, estabelecendo as classificações: Muito Frequente (MF) quando o valor foi superior ao IC (5%); Frequente (F) quando o valor foi dentro do IC (5%) e Pouco Frequente (PF) quando o valor for inferior ao IC (5%), para a dominância adotou-se seguinte classificação: Dominante (D) e Não Dominante (ND), para a abundância dos ninhos, empregou-se a medida de dispersão conforme SILVEIRA NETO *et al.* (1976), através do desvio padrão da média e intervalo de confiança, utilizando-se o teste “t” a 5% de probabilidade, estabeleceu-se as seguintes classes: Muito Abundante (MA) número de amostras maior que o limite superior do IC a 1%; Abundante (A) número de amostras situado entre os limites superiores do IC a 5% e 1%; Comum (C) número de amostras situado dentro do IC a 5%; Dispersa (D) número de amostras situado entre os limites inferiores do IC a 5% e 1%; e Rara (R) número de amostras menor que o limite inferior do IC a 1%. A constância foi determinada através da porcentagem de coletas que continham o táxon em questão, pela fórmula $C=(P \times 100)/N$, onde P é o número de coletas contendo o táxon em questão e N o número total de coletas efetuadas, através do cálculo do intervalo de confiança a 5% de probabilidade, com as seguintes classes: Constantes

(W) quando o valor foi superior ao IC (5%); Acessórias (Y) quando o valor foi dentro do IC (5%) e Acidentais (Z) quando o valor for inferior ao IC (5%). Foram consideradas como espécies predominantes àquelas que foram muito frequentes, dominantes, muito abundantes, ou constantes.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nas áreas estudadas (Figura 1) foram encontradas oito espécies de formigas cortadeiras, (LOECK e GRÜTZMACHER, 2001; LOECK *et al.*, 2003) em levantamento de formigas cortadeiras para região encontraram o mesmo número de espécies, enquanto KRÜGER (2008), em recente estudo encontrou sete espécies do gênero *Acromyrmex* para região.

Todas as espécies encontradas pertencem ao gênero *Acromyrmex*: *A. heyeri* FOREL,

1899, *A. lundii* GUÉRIN-MÉNEVILLE, 1838, *A. ambiguus* EMERY, 1888, *A. striatus* ROGER, 1863, *A. crassispinus* FOREL, 1909, *A. laticeps* EMERY, 1905, *A. balzani* EMERY, 1890 e *A. lobicornis* EMERY, 1888 (Figura 2). LOECK e GRÜTZMACHER (2001), em levantamento sobre a ocorrência de formigas cortadeiras nas principais regiões agropecuárias do Estado do RS, relatam a ocorrência de nove espécies na região Sul do estado. Esses autores observaram ainda a ocorrência de *Acromyrmex coronatus* FABRICIUS, 1804, *A. laticeps* e *Atta sexdens piriventris* SANTSCHI, 1919, contudo neste estudo em vinhedos foram encontrados apenas dois exemplares da espécie *A. laticeps*.

Do total das cinco áreas estudadas foram encontrados 92 ninhos de formigas cortadeiras da espécie *A. ambiguus*, sendo 26 ninhos na variedade de uva Tempranillo, 21 ninhos na variedade Cabernet Sauvignon, 20 ninhos

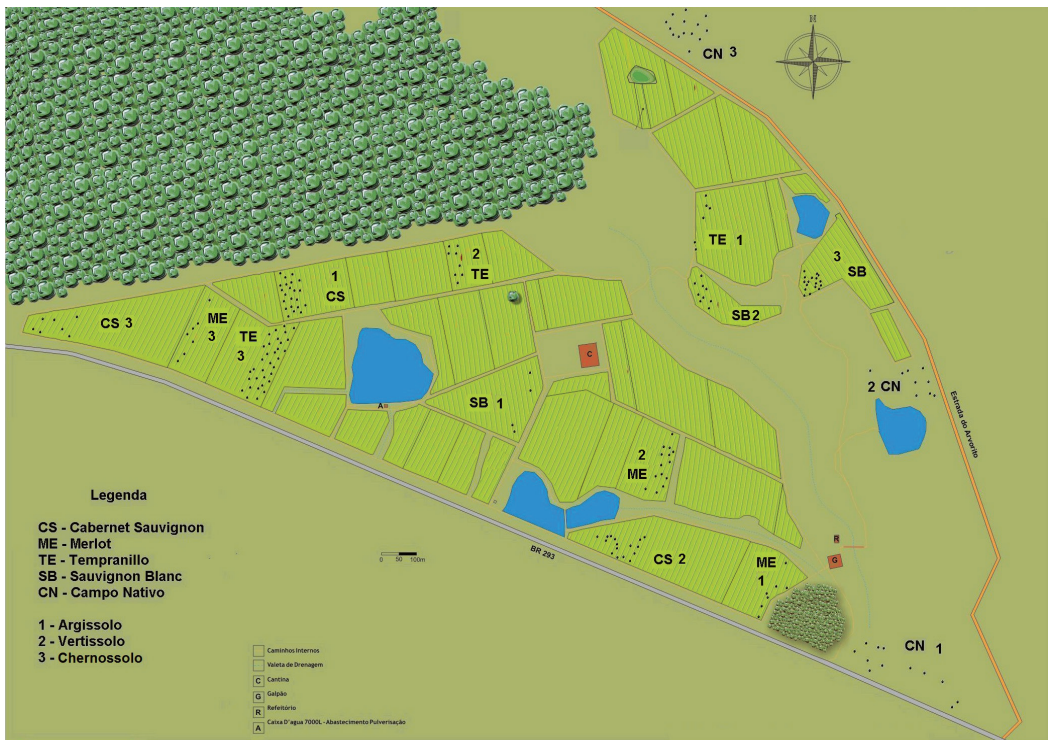


Figura 1: Mapeamento dos formigueiros encontrados em plantios de videira e campo nativo, na fazenda Fortaleza do Seival, município de Candiota, na Região da Campanha do Rio Grande do Sul

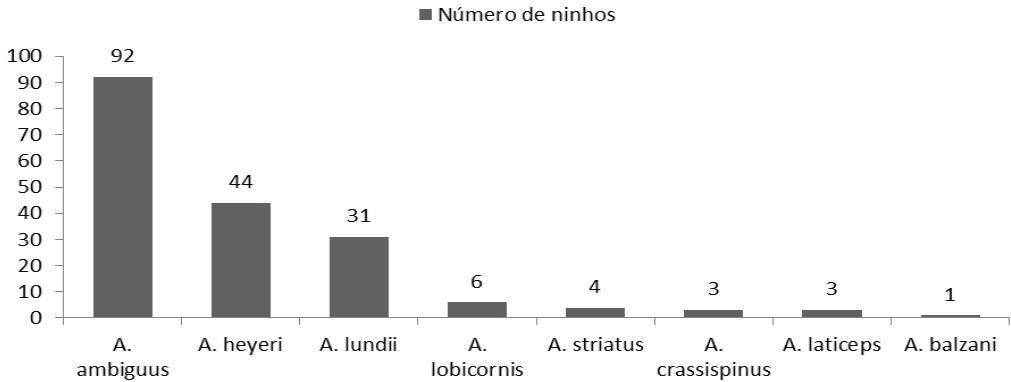


Figura 2: Número de ninhos totais das espécies de *Acromyrmex* encontradas em plantios de videira na Região da Campanha do Rio Grande do Sul

na variedade Sauvignon Blanc, 18 no Campo Nativo e sete ninhos na variedade Merlot. Conforme LOECK *et al.* (2003), essa espécie de formiga cortadeira tem por hábito cortar folhas largas de dicotiledôneas e são presenças constantes em pomares.

Em relação à espécie *A. heyeri*, do total das cinco áreas estudadas foram encontrados 44 ninhos, sendo oito na variedade de uva Tempranillo, seis na variedade Cabernet Sauvignon, quatro na variedade Sauvignon Blanc, nove no Campo Nativo e 17 ninhos na variedade Merlot, sendo essa variedade que mais apresentou ninhos dessa espécie. De acordo com (MAYHÉ-NUNES, 1991; LOECK e GRÜTZMACHER, 2001) essa espécie de formiga cortadeira tem por hábito cortar folhas estreitas de monocotiledôneas. É uma espécie predominante e muito frequente na Região da Campanha.

Já com relação à espécie *A. lundii* nas áreas estudadas foram encontrados no total 31 ninhos, sendo 11 encontrados na variedade de uva Tempranillo e 11 na variedade Cabernet Sauvignon, dois na variedade Sauvignon Blanc, 12 ninhos na variedade Merlot e cinco no Campo Nativo. Conforme (JURUENA e CACHAPUZ, 1980; LOECK e GRÜTZMACHER, 2001) essa espécie de formiga cortadeira tem por hábito cortar folhas largas de dicotiledôneas. LOECK e GRÜTZMACHER (2001) a classificaram

como acessória na Região da Campanha e pouco frequente.

A espécie *A. lobicornis* foi encontrada em todas as áreas plantas com vinhedo com exceção da área testemunha de Campo Nativo. Do total das quatro áreas estudadas em que houve a presença da formiga foram encontrados seis ninhos, sendo dois na variedade de uva Tempranillo, um na variedade Cabernet Sauvignon, um na variedade Sauvignon Blanc e dois na variedade Merlot. Conforme (JURUENA e CACHAPUZ, 1980; MAYHÉ-NUNES, 1991; LOECK e GRÜTZMACHER, 2001) essa espécie de formiga cortadeira tem por hábito cortar folhas estreitas e folhas largas tanto de monocotiledôneas como de dicotiledôneas.

A espécie *A. striatus* foi encontrada em apenas duas áreas estudadas, na variedade Cabernet Sauvignon um ninho, e no Campo Nativo três ninhos. De acordo com JURUENA e CACHAPUZ (1980), MAYHÉ-NUNES (1991) e LOECK e GRÜTZMACHER (2001), essa espécie tem o hábito de cortar folhas largas e estreitas, contudo constrói ninhos pequenos não causando grandes impactos em áreas cultivadas.

Foi encontrado apenas um formigueiro da espécie *A. balzani* na variedade Cabernet Sauvignon. Segundo JURUENA e CACHAPUZ (1980), MAYHÉ-NUNES (1991) e LOECK e GRÜTZMACHER (2001), essa espécie tem o

hábito de cortar folhas estreitas de monocotiledôneas. Segundo levantamento feito por LOECK e GRÜTZMACHER (2001), essa espécie foi descrita em apenas seis municípios da Região da Campanha sendo considerada rara e pouco frequente.

Foram encontrados apenas três formigueiros da espécie *A. laticeps*, dois na variedade Cabernet Sauvignon e um na Sauvignon Blanc. Segundo MAYHÉ-NUNES (1991) e LOECK e GRÜTZMACHER (2001), tem o hábito de cortar folhas largas de dicotiledôneas. É considerada uma espécie pouco frequente para Região da Campanha.

Foram encontrados três ninhos da espécie *A. crassispinus*, na variedade Sauvignon Blanc e um no Campo Nativo. Segundo JURUENA e CACHAPUZ (1980), MAYHÉ-NUNES (1991) e LOECK e GRÜTZMACHER (2001), tem o hábito de cortar folhas largas e estreitas (dicotiledôneas e monocotiledôneas). De acordo com LOECK e GRÜTZMACHER (2001), essa espécie é uma espécie frequente para a região da Campanha. Em estudo sobre densidade e tamanho de formigueiros de *Acromyrmex crassispinus*, NICKELE *et al.* (2009) concluíram que para *Pinus taeda* a densidade varia sazonalmente e de acordo com a idade das plantas, e o tamanho dos formigueiros dessa espécie aumenta de acordo com a idade do plantio de *P. taeda*.

Em um estudo sobre a distribuição geográfica de formigas cortadeiras do gênero *Acromyrmex* na zona sul do RS, GUSMÃO e LOECK (1999) verificaram que *A. heyeri*, *A. lundii*, *A. ambiguus* são predominantes nesta região, dados estes que foram comprovados por LOECK e GRÜTZMACHER (2001), incluindo-se *A. striatus*.

Na área correspondente a variedade Cabernet Sauvignon foram encontrados 31 ninhos de formigas cortadeiras sendo todos pertencentes ao gênero *Acromyrmex* e compreendendo as sete espécies (Tabela 1).

Conforme a análise faunística descrita por SILVEIRA NETO *et al.* (1976) para a área com a variedade Sauvignon Blanc (Tabela 1),

a espécie *A. ambiguus* foi considerada a espécie dominante, apareceu em mais da metade das amostras compreendendo 66% do total das espécies amostradas. Ainda a espécie *A. ambiguus* foi considerada muito frequente enquanto as outras sete espécies descritas nessa área foram consideradas apenas frequentes.

A análise faunística da espécie *A. ambiguus* (Tabela 1) considerou esta espécie como dominante, apareceu em mais da metade das amostras na área com a variedade Cabernet Sauvignon. Conforme LOECK e GRÜTZMACHER (2001), essa é uma espécie considerada frequente na Região da Campanha, sendo encontrada em maior porcentagem em pomares.

Além de predominante *A. ambiguus* foi uma espécie muito frequente, enquanto *A. lundii*, *A. heyeri*, *A. laticeps*, *A. striatus* e *A. lobicornis* foram apenas frequentes.

Acromyrmex ambiguus foi a espécie constante nas cinco áreas estudadas, incluindo Campo Nativo enquanto que *A. lundii* foi considerada como acessória e as quatro demais espécies foram consideradas de ocorrência apenas acidental conforme os índices descritos por SILVEIRA NETO *et al.* (1976). Outro fator a ser considerado foi à abundância das espécies estudadas e *A. ambiguus* foi muito abundante, sendo as demais espécies encontradas apenas de ocorrência comum.

Para LOECK *et al.* (2003), em levantamento que abrangeu a Região da Campanha, as espécies mais frequentes foram *A. heyeri* e *A. lundii*, sendo *A. ambiguus* apenas frequente com 9,3% de ocorrência, enquanto em videira sua ocorrência foi de 51%. Esses dados sugerem que essa espécie adaptou-se muito bem no novo ecossistema e às práticas agrícolas ali adotadas.

Para a variedade Merlot foram registradas apenas quatro espécies de *Acromyrmex* das oito encontradas nas cinco áreas de estudo.

Conforme a análise faunística a espécie *A. heyeri* foi considerada a espécie dominante, apareceu em mais da metade das amostras compreendendo a 61% das amostras identificadas (Tabela 1). Segundo LOECK e GRÜTZMA-

CHER (2001), essa é uma espécie considerada muito frequente na Região da Campanha e um das três espécies dominantes para a região, sendo considerada a formiga das pastagens. Além de predominante, *A. heyeri* foi uma espécie muito frequente, enquanto *A. lundii*, *A. ambiguus*, e *A. lobicornis* foram apenas frequentes.

Acromyrmex heyeri e *A. ambiguus* foram consideradas espécies constantes nessa área de estudo enquanto *A. lundii* e *A. lobicornis* foram consideradas de ocorrência apenas acidental conforme os índices faunísticos.

Segundo DIEHL-FLEIG e DROSTE (1992), *A. heyeri* constrói suas colônias preferencialmente junto a alguma estrutura, como postes, mourões ou junto a árvores, podendo ter morfologia externa do tipo “de monte” ou do tipo “mineira”, não sendo recomendável caracterizar esta espécie como “formiga de monte”. Foi comprovado no estudo, pois a maioria dos ninhos de *A. heyeri* estava localizada perto de rabichos, plantas de videira e em mourões de sustentação do parreiral.

Outro fator considerado foi a abundância das espécies estudadas e *A. heyeri* foi muito abundante, sendo as demais espécies encontradas apenas de ocorrência comum. Segundo LOECK *et al.* (2003), no levantamento que abrangeu toda a Região da Campanha, as espécies mais frequentes foram *A. heyeri*, *A. lundii*, e *A. ambiguus* com isso nessa área de estudo a espécie dominante no vinhedo não difere das já descritas pelos autores em trabalhos anteriores.

Na variedade Tempranillo foram identificados 47 ninhos de formigas cortadeiras sendo de apenas quatro espécies: *A. ambiguus*, *A. heyeri*, *A. lundii* e *A. lobicornis* (Tabela 1). Para essa variedade foram no total coletadas 47 amostras de ninhos de formigas cortadeiras, sendo que a espécie dominante foi à espécie *A. ambiguus*, totalizando 55% do total amostrado que também foi considerada muito frequente, constante e muito abundante.

LOECK e GRÜTZMACHER (2001), em recente trabalho sobre as espécies dominantes para

Região da Campanha, descrevem a espécie *A. ambiguus* como uma das espécies mais presentes e sistemas cultivados e em área de campo nativo.

A espécie *A. lundii* foi considerada frequente, acessória e comum, enquanto *A. heyeri* e *A. lobicornis* foram descritas conforme os índices faunísticos, sendo classificadas como frequentes, acidentais e comuns.

Em áreas onde a vegetação foi classificada como campo nativo a espécie dominante foi novamente *A. ambiguus* que também foi classificada como muito frequente, constante e muito abundante. Nessa área foi identificado um total de 36 ninhos de cinco espécies: *A. ambiguus*, *A. heyeri*, *A. striatus*, *A. crassispinus* e *A. lundii* (Tabela 1).

A espécie *A. heyeri* caracterizada como espécie predominante em campos pelo seu hábito de nidificação e pelo corte de monocotiledôneas (MAYHÉ-NUNES, 1991; LOECK e GRÜTZMACHER, 2001), foi classificada apenas como frequente, acessória e comum. Enquanto *A. lundii* também muito comum na Região da Campanha foi classificada como frequente, acessória e comum. Outra espécie encontrada no campo nativo foi *A. lobicornis* foi classificada como frequente, acidental e comum. Já a espécie *A. crassispinus* que em estudos sobre a distribuição de formigas cortadeiras no estado foi classificada muito frequente e muito abundante por (LOECK *et al.*, 2003; KRÜGER, 2008), nesse estudo foi classificada apenas como pouco frequente, acidental e comum. Para dados de distribuição dessa espécie, NICKLE *et al.* (2010) verificaram que em plantio de *Pinus taeda* essa espécie apresenta distribuição aleatória em diferentes idades de *P. taeda*.

Através do mapeamento do vinhedo pode-se verificar a distribuição dos formigueiros dentro das áreas de cultivo e verificar onde é necessário realizar o controle e em quais áreas a situação é mais preocupante, pois é uma área de produção que gera retorno econômico e o mínimo dano pode acarretar perdas econômicas ao produtor (Figura 2).

Tabela 1: **Dominância, frequência, constância e abundância das espécies de *Acromyrmex* encontradas na fazenda Fortaleza do Seival no município de Candiota, na região da Campanha do RS, entre setembro de 2008 a março de 2009**

Espécie	Amostra (n°)	%	Dominância	Frequência	Constância	Abundância
SAUVIGNON BLANC						
<i>A. ambiguus</i>	20	66	D	MF	W	MA
<i>A. heyeri</i>	4	13	-	F	Y	C
<i>A. lundii</i>	6	6	-	F	Z	C
<i>A. crassispinus</i>	2	6	-	F	Z	C
<i>A. laticeps</i>	1	3	-	F	Z	C
<i>A. lobicornis</i>	1	3	-	F	Z	C
<i>A. balzani</i>	1	3	-	F	Z	C
Total	35	100	-	-	-	-
CABERNET SAUVIGNON						
<i>A. ambiguus</i>	21	50	D	MF	W	MA
<i>A. lundii</i>	11	27	ND	F	Y	C
<i>A. heyeri</i>	6	14	ND	F	Z	C
<i>A. laticeps</i>	2	5	ND	F	Z	C
<i>A. striatus</i>	1	2	ND	F	Z	C
<i>A. lobicornis</i>	1	2	ND	F	Z	C
Total	42	100	-	-	-	-
MERLOT						
<i>A. heyeri</i>	17	61	D	MF	W	A
<i>A. ambiguus</i>	7	25	-	F	W	C
<i>A. lundii</i>	2	7	-	F	Z	C
<i>A. lobicornis</i>	2	7	-	F	Z	C
Total	28	100	-	-	-	-
TEMPRANILLO						
<i>A. ambiguus</i>	26	55	D	MF	W	A
<i>A. lundii</i>	11	24	-	F	Y	C
<i>A. heyeri</i>	8	17	-	F	Z	C
<i>A. lobicornis</i>	2	4	-	F	Z	C
Total	47	100	-	-	-	-
CAMPO NATIVO						
<i>A. ambiguus</i>	18	50	D	MF	W	MA
<i>A. heyeri</i>	9	25	-	F	Y	C
<i>A. lundii</i>	5	14	-	F	Y	C
<i>A. striatus</i>	3	8	-	F	Z	C
<i>A. crassispinus</i>	1	3	-	PF	Z	C
Total	36	100	-	-	-	-

D – dominante, ND – não dominante, MF – muito frequente, F – frequente, W – constante, Y – acessória, Z – accidental, MA – muito abundante, A – Abundante, C – comum

Nas áreas cultivadas com quatro variedades de uva no município de Candiota, Região da Campanha do RS ocorrem oito espécies de formigas pertencentes ao gênero *Acromyrmex* (*A. heyeri*, *A. ambiguus*, *A. lundii*, *A. crassispinus*, *A. balzani*, *A. laticeps*, *A. lobicornis* e *A. striatus*). Nas áreas de campo nativo do estudo ocorrem cinco espécies pertencentes ao gênero *Acromyrmex*: *A. ambiguus*, *A. heyeri*, *A. lundii*, *A. striatus* e *A. crassispinus*. A es-

pécie *A. ambiguus* é a espécie mais frequente e dominante nos plantios de videira e campo nativo. No plantio de videira com a variedade Merlot a espécie mais frequente foi *A. heyeri*. O plantio de videira no local do estudo, com *Vitis vinifera* na Região da Campanha do RS favoreceu o estabelecimento de novas espécies de formigas. O Georreferenciamento permite uma melhor visualização da ocorrência de formigas cortadeiras nas áreas de vinhedos.

RESUMEN

DONATTI RICALDE, M. G., A. ENIMAR LOECK, M. PERRONE RICALDE. 2012. La aparición de nidos de hormigas cortadoras de hojas en la zona de viñedos de Río Grande do Sul, Brasil. *Bol. San. Veg. Plagas*, **38**: 257-267

Las hormigas cortadoras son un gran problema para la viticultura, debido a que su comportamiento alimentario de cortar las hojas y llevarlas al nido provoca disminución en la fotosíntesis y, cuando los ataques severos puede causar la muerte de las plantas. El objetivo de este trabajo fue mapear la presencia de hormigas cortadoras de hojas (Hymenoptera: Formicidae) en un viñedo de Río Grande do Sul, Brasil. Se seleccionaron viñedos de los cultivares Cabernet Sauvignon, Merlot, Sauvignon Blanc, Tempranillo, establecidos en tres tipos de suelo Alfisol, Vertisol y Chemosol y en áreas de pasto nativo, sin cultivo de viñedo, como testigo. Las colectas se realizaron en parcelas de una hectárea utilizando el método del transecto entre las filas del viñedo, en el periodo de septiembre de 2008 a marzo del 2009. Los hormigueros encontrados se georeferenciaron y se identificaron las hormigas. Se encontraron ocho especies de hormigas pertenecientes al género *Acromyrmex*: *A. ambiguus*, *A. lundii*, *A. heyeri*, *A. laticeps*, *A. lobicornis*, *A. crassispinus*, *A. balzani* e *A. striatus*. Se puso de manifiesto la influencia del tipo de suelo y de las variedades de uva en la distribución de las especies.

Palabras clave: *Acromyrmex*, análisis faunístico, hormigas cortadoras de hojas, georeferenciación, viñedo.

ABSTRACT

DONATTI RICALDE, M. G., A. ENIMAR LOECK, M. PERRONE RICALDE. 2012. Occurrence of nests of ants in an area of vineyards in Río Grande do Sul, Brazil. *Bol. San. Veg. Plagas*, **38**: 257-267

The ants are a serious problem for viticulture because their eating habits to cut leaves and bring to the nest causes a decrease in photosynthesis and in severe attacks can kill plants. The objective was to map the occurrence of ants (Hymenoptera: Formicidae) in vineyards in the RS. Orchards were chosen grape cultivars: Cabernet Sauvignon, Merlot, Sauvignon Blanc, Tempranillo, set in three soil types, Argisols, Vertisols and Chernosols and areas of native pasture without cultivation of vines as a witness. Samples were collected in fractions of an acre by the method of walking between the rows of the vineyard, from September 2008 to March 2009. The nests found were georeferenced and ants have been identified. We have found eight species of ants belonging to the genus *Acromyrmex*: *Acromyrmex*: *A. ambiguus*, *A. lundii*, *A. heyeri*, *A. laticeps*, *A. lobicornis*, *A. crassispinus*, *A. balzani* e *A. striatus*. The influence of soil type and variety in species distribution.

Key words: *Acromyrmex*, faunistic analysis, georeferencing, leaf-cutting ants, vine.

REFERÊNCIAS

- ANDRADE, M. L. 1991. Bionomia e distribuição geográfica do gênero *Acromyrmex* Mayr, 1865 (Hymenoptera: Formicidae) no Estado de São Paulo. 120 f. Dissertação (Mestrado em Zoologia) - Universidade Estadual Paulista, Botucatu.
- ARAÚJO, M. S., DELLA-LUCIA, T. M. C., MAYNÉ-NUNES, A. J. 1997. Levantamento de Attini (Hymenoptera: Formicidae) em povoamento de *Eucalyptus* na região de Paraopeba, em Minas Gerais, Brasil. *Revista Brasileira de Zoologia*, **14** (2): 323-328.
- BOARETTO, M. A. C., FORTI, L. C. 1997. Perspectivas no controle de formigas cortadeiras. Série Técnica IPEF, **11** (30): 31-46.
- BOTTON, M., MIELE, A., GUERRA, C. C., HICKEL, E., MANDALLI, F., MELO, G. W., KUHN, G. B., TONIETTO, J., PROTAS, J. F. S., MELLO, L. M. R., GARRIDO, L. R., ZANUS, M. C., SÓNEGO, O. R., SORIA, S. J., FAJARDO, T. V. M., CAMARGO, U. A. Viníferas para processamento em regiões de clima temperado – Sistema de produção. 2003. Disponível em <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Uva/UvasViniferasRegioesClimaTemperado/pragas.htm#formigas>>.
- DELLA-LUCIA, T. M. C. 1993. As formigas cortadeiras. Viçosa: UFV, 262 p.
- DIEHL-FLEIG, E., DROSTE, A. 1992. Localização, morfologia externa e flutuações populacionais ao longo do ano de colônias de *Acromyrmex heyeri* (Hymenoptera: Formicidae). *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, **21** (1): 21-27.
- FORTI, L. C., ANDRADEM, M. L., ANDRADE, A. N. P., LOPES, J. F. S., RAMOS, V. M. 2006. Bionomics and Identification of *Acromyrmex* (Hymenoptera: Formicidae) Through an Illustrated Key. *Sociobiology*, **48** (2): 1-18.
- FOWLER, H. G. 1983. Distribution patterns of paraguayian leaf-cutting ants (*Atta* and *Acromyrmex*) (Formicidae: Attini). *Studies on Neotropical Fauna and Environment*, **18** (1): 121-138.
- GONÇALVES, C. R. 1961. O gênero *Acromyrmex* no Brasil. *Studia Entomologica*. **1** (1): 113-180.
- GRÜTZMACHER, D. D. 2003. Aspectos morfológicos, moleculares e edafoclimáticos relacionados das formigas cortadeiras no Rio Grande do Sul. 121 f. Tese (Doutorado em Fitossanidade) - Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.
- GRÜTZMACHER, D. D., LOECK, A. E. 2005. Caracterização morfológica das formigas do gênero *Acromyrmex* de maior ocorrência nos Estado do Rio Grande do Sul. *Revista Brasileira de Agrociência*, **11** (4): 437-444.
- GRÜTZMACHER, D. D., LOECK, A. E., MEDEIROS, A. H. 2002. Ocorrência de formigas cortadeiras na região da Depressão Central do Estado do Rio Grande do Sul. *Ciência Rural*, **3** (2): 185-190.
- GUSMÃO, L. G., LOECK, A. E. 1999. Distribuição geográfica de formigas cortadeiras do gênero *Acromyrmex* (Hymenoptera: Formicidae) na zona sul do Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. *Revista Brasileira de Agrociência*, **5** (1): 64-67.
- HÖLLDOBLER, B., WILSON, E. O. 1990. The ants. Cambridge: Harvard University Press., 732 p.
- KRÜGER, L. R. 2008. Ocorrência de formigas cortadeiras em áreas florestadas com *Eucalyptus* spp. nas regiões sul e Campanha do Rio Grande do Sul e estudo do controle com iscas das espécies predominantes. 102 f. Dissertação (Mestrado em Fitossanidade) - Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.
- JURUENA, L. F., CACHAPUZ, L. M. M. 1980. Espécies de formigas cortadeiras ocorrentes no Estado do Rio Grande do Sul. *IPAGRO Informa*, Porto Alegre, **23**: 18-24.
- JUSTI JÚNIOR, J., IMENES, S. D. L., BERGMANN, E. C., CAMPOS-FARINHA, A. E. C., ZORZENON, F. J. 1996. Formigas cortadeiras. *Boletim Técnico do Instituto Biológico*, **4**: 5-31.
- LOECK, A. E., GRÜTZMACHER, D. D. Ocorrência de formigas cortadeiras nas principais regiões agropecuárias do Estado do Rio Grande do Sul. Pelotas: Ed. Universitária/UFPeL, 2001. 147 p.
- LOECK, A. E., GRÜTZMACHER, D. D., COIMBRA, S. M. 2003. Ocorrência de formigas cortadeiras do gênero *Acromyrmex* nas principais regiões agropecuárias do Rio Grande do Sul. *Revista Brasileira de Agrociência*, **9** (2): 129-133.
- MACEDO, W. 1984. Levantamento de reconhecimento dos solos do município de Bagé, RS. Brasília: Embrapa-Departamento de Difusão de Tecnologia, 69 p.
- MAYHÉ-NUNES, A. J. 1991. Estudo de *Acromyrmex* (Hymenoptera, Formicidae) com ocorrência constatada no Brasil: subsídios para uma análise filogenética. 122 f. Dissertação (Mestrado em Entomologia) - Universidade Federal de Viçosa.
- MAYHÉ-NUNES, A. J., DIEHL-FLEIG, E. 1994. Distribuição de *Acromyrmex* (Hymenoptera: Formicidae) no Rio Grande do Sul. *Acta Biologica Leopoldensia*, **16** (1): 115-118.
- MARICONI, F. A. M. 1970. As saúvas. São Paulo: Agrônômica Ceres, 167 p.
- NICKELE, M. A., FILHO, W. R., OLIVEIRA, E. B., IEDE, E. T. 2009. Densidade e tamanho de formigueiros de *Acromyrmex crassispinus* em plantios de *Pinus taeda*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, **44** (4): 347-353.

- NICKELE, M. A., OLIVEIRA, E. B., FILHO, W. R., IEDE, E. T., RIBEIRO, R. D. 2010. Distribuição espacial de formigueiros de *Acromyrmex crassispinus* (Forel) (Hymenoptera: Formicidae) em plantios de *Pinus taeda*. *Neotropical Entomology*, **39** (6): 862-872.
- POMMER, C. V. 2003. Uva: tecnologia de produção, pós-colheita, mercado. Porto Alegre: Editora Cinco Continentes, 778 p.
- PROTAS, J. F. S. 2004. Anuário brasileiro da uva e do vinho 2004. Santa Cruz do Sul: Editora Gazeta Santa Cruz, 136 p.
- RANDO, J. S. S., FORTI, L. C. 2005. Ocorrência de formigas *Acromyrmex* Mayr, 1865, em alguns municípios do Brasil. *Acta Scientiarum. Biological Sciences*, **27** (2): 129-133.
- SILVEIRA NETO, S., NAKANO, O., BARBIN, D. Manual de ecologia de insetos. São Paulo: Agronômica Ceres, 1976. 420 p.
- ZANUNCIO, J. C., LARANJEIRO, A. J., SOUZA, O. 1996. Controle de *Acromyrmex subterraneus* Santschi (Hymenoptera: Formicidae) com sulfuramida. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, **25**: 383-388.

(Recepción: 2 marzo 2012)

(Acceptación: 14 junio 2012)

Aplicación de aceite mineral para el control de la araña roja *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) en huertos de clementinos

M. T. MARTÍNEZ-FERRER, J. M. CAMPOS, J. M. FIBLA

Tetranychus urticae Koch es una plaga clave de las variedades de Clementina (*Citrus reticulata* Blanco) en España. Este ácaro se alimenta de las hojas, que caen prematuramente, y de los frutos, cuya calidad y valor comercial disminuyen. En un huerto comercial de Clementina de Nules ubicado en Vinaroz (Castellón) se comparó la eficacia sobre *T. urticae* de la aplicación de aceite mineral con un tratamiento acaricida y un testigo. Tres pulverizaciones de aceite mineral redujeron de forma significativa la población de *T. urticae*, y el porcentaje de frutos no aceptables comercialmente fue muy bajo en todas las tesis, entre 1% y el 3,7%. Así mismo, la producción del año siguiente no se vio afectada por la intensa defoliación producida. Estos resultados podrían permitir mejorar las estrategias de control de *T. urticae* en clementinos, aplicando aceites minerales en verano y estableciendo nuevos umbrales de intervención, de manera que se pueda realizar un manejo más sostenible de este ácaro en cítricos.

M. T. MARTÍNEZ-FERRER, J. M. CAMPOS, J. M. FIBLA. IRTA Amposta. Carretera de Balada, Km. 1. 43870-Amposta (Tarragona), E-mail: Teresa.martinez@irta.es

Palabras clave: plagas, control integrado, cítricos, aceites minerales insecticidas.

INTRODUCCIÓN

La araña roja, *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) es un ácaro polífago que se alimenta de más de 150 especies vegetales. En cítricos en España es una plaga importante en clementinos, *Citrus reticulata* Blanco, y limonero, *Citrus limon* (L). En los cítricos, *T. urticae* vive agrupado en colonias en el envés de las hojas, donde teje una densa telaraña que le proporciona protección frente a las condiciones climáticas adversas y dificulta la eficacia de los tratamientos químicos y de los enemigos naturales. Los síntomas derivados de su alimentación en las hojas son manchas amarillentas cloróticas que pueden provocar su caída prematura, mientras que en los frutos, su ataque causa unas manchas herrumbrosas que se inician en las áreas estilar y peduncular y los deprecian comercialmente.

Algunas especies de fitoseidos se encuentran asociados a *T. urticae* en cítricos en España, principalmente *Euseius stipulatus* (Athias-Henriot), el más abundante, *Neoseiulus californicus* (McGregor), depredador polífago especializado en ácaros Tetranychidae y *Phytoseiulus persimilis* Athias-Henriot especie que también se alimenta casi exclusivamente de los ácaros Tetranychidae (GARCÍA-MARÍ *et al.*, 1985, FERRAGUT *et al.*, 1988, ABAD-MOYANO, 2009). Sin embargo, el control natural de *T. urticae* no siempre es satisfactorio, y sigue siendo una plaga clave en clementinos, llevándose a cabo varios tratamientos acaricidas durante el verano para su control (MARTÍNEZ-FERRER *et al.*, 2006) que pueden propiciar proliferaciones de otras plagas y con el riesgo de la inducción de resistencias. Los aceites minerales son de uso común en el control de plagas de cítricos como ácaros y cochinillas (DAVIDSON *et*

al., 1991, MARTÍNEZ-FERRER *et al.*, 2001, RIPOLLÉS *et al.*, 1995, SOTO *et al.*, 1994), y cuya eficacia sobre hembras adultas de *T. urticae* se recoge en programas de manejo integrado de plagas de varios cultivos (FRANCÉS *et al.*, 1976, NÍCETIC *et al.*, 2001, 2002, BEATTIE *et al.*, 2002). Presentan ventajas respecto a los plaguicidas convencionales: baja toxicidad para animales vertebrados, raramente se crean resistencias y un bajo impacto sobre fauna útil (BEATTIE, 1990, DAVIDSON *et al.*, 1991, EBBON, 2002). Sin embargo también tienen ciertos inconvenientes, como la posible fitotoxicidad (defoliaciones y manchas, o retraso del cambio de color de los frutos) (DAVIDSON *et al.*, 1991), que en muchos casos son atribuibles a unas inadecuadas condiciones de aplicación. En el actual marco legislativo europeo, el número de materias activas disponibles es cada vez más restringido especialmente en el control de ácaros tetránquidos, por lo que se hace necesario el estudio de estrategias alternativas para su control. Si bien se ha demostrado la eficacia de los aceites minerales sobre *T. urticae* en condiciones de laboratorio (CHUECA *et al.*, 2010), es necesario estudiar la eficacia de sus aplicaciones con pulverizador hidroneumático en plantaciones comerciales de cítricos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Planteamiento del ensayo

El estudio se llevó a cabo en 2008 y 2009 en una plantación comercial adulta de 15 años de Clementina de Nules ubicada en Vinaròs (Castellón). El diseño estadístico consistió en tres tesis con tres repeticiones por tesis. Cada repetición estaba formada por 28 (4 x 7) árboles. En el año 2008 se pulverizaron todos los árboles de cada parcela, pero sólo se muestrearon 6 interiores para evitar posibles interferencias en las aplicaciones.

Tesis ensayadas y aplicación de los productos

Tal como es habitual en la zona de estudio (sur de Tarragona y norte de Castellón), las aplicaciones se realizaron con un pulverizador hidroneumático (en nuestro caso, Tifone

Storm® de 1000 litros de capacidad). Las tesis ensayadas fueron: a) Comanche Plus (Tebufenpirad 20% (WP) P/P, Basf) 0,03% + Apolo 20-N (Clofentezin 20% (SC) P/V, Aragonesas Agro S. A.) 0,02%, el 27 de junio, (2.100 l/ha), b) Aceite mineral: Sunspray Ultrafine (aceite de parafina 85% (EC) P/V, Agrichem) 2,5% aplicado dos veces, el 27 de junio y el 10 de julio, (2.100 l/ha), y c) Testigo: agua, el 27 de junio (2.100 l/ha). A finales de agosto la población de *T. urticae* se incrementó hasta el punto que se tuvo que tratar todo el huerto con aceite mineral (Sunspray 2,5%, 2.100 l/ha) el 3 de septiembre. No se llevó a cabo ningún otro tratamiento fitosanitario en el huerto durante el ensayo.

Parámetros de evaluación del ensayo.

Basándose en el método de muestreo desarrollado por MARTÍNEZ-FERRER *et al.* (2006), en estos 6 árboles se muestrearon a) el número de hojas sintomáticas en dos aros de 0,25 m² por árbol y b) el número de hembras adultas de *T. urticae* y ácaros fitoseidos en 12 hojas sintomáticas de la periferia por árbol. Desde el 6 de junio hasta el 19 de noviembre se realizaron 16 muestreos, la cadencia de los cuales fue semanal o quincenal dependiendo de la época. Los días 6 y 26 de junio se extrajeron mediante embudos de Berlese fitoseidos de muestras de 150 hojas sintomáticas de las parcelas testigo. Los individuos extraídos se aclararon y montaron, y se identificaron bajo el microscopio estereoscópico.

Cuando los frutos alcanzaron la madurez se evaluó la sintomatología causada por *T. urticae* en 20 frutos por árbol de los 6 árboles de cada parcela en seis categorías: S0 (fruto sin daños), S1 (pequeñas cicatrices), S2 (cicatriz que cubre menos de 12% del fruto), S3 (cicatriz que cubre entre el 13 y 25% del fruto), S4 (cicatriz que cubre entre el 26 y 50% del fruto), y S5 (cicatrices que cubren más de 50% del fruto). La cosecha fue anormalmente baja en el año 2008 en todo el huerto debido a un severo ataque de *Prays citri* en floración. En 2009, para estudiar la influencia del ataque del ácaro en la cosecha del año siguiente al ataque,

en los 6 árboles por parcela se contaron y pesaron el total de frutos por árbol.

Análisis estadístico

El análisis estadístico se realizó mediante análisis de varianza (SAS Institute Inc, 1998). Los datos que no cumplieron con los supuestos de normalidad y homocedasticidad se transformaron antes del análisis (SOKAL y ROHLF, 1981) (las variables “porcentaje de frutos atacados” y “porcentaje de hojas con colonias de *T. urticae*” se transformaron mediante el arcoseno del valor, y las variables “número de ácaros por hoja”, “número de hojas sintomáticas por aro”, “número de frutos por árbol” y “kg de fruta por árbol” se transformaron mediante la raíz cuadrada del valor). Las medias se compararon mediante el test de rango múltiple de Duncan con un nivel de significación del 95%.

RESULTADOS

Hojas sintomáticas (Fig. 1)

El número de hojas sintomáticas por aro en las parcelas testigo estuvo, durante todo el período, por encima del umbral económico

de daño (4 hojas con síntomas por 0,25 m² (MARTÍNEZ-FERRER *et al.*, 2005)). Se observaron dos caídas severas de hojas sintomáticas: a finales de junio y entre el 2 y el 21 de octubre. Durante el mes de julio el número de hojas sintomáticas se duplicó, y durante la primera quincena de agosto se volvió a duplicar. Durante la siguiente quincena este parámetro se mantuvo estable, mientras que durante septiembre, a pesar de que se había realizado una aplicación general de aceite mineral el 3 de septiembre, el número de hojas sintomáticas se duplicó de nuevo.

Del 2 al 21 de octubre se produjo un importante descenso del número de hojas con síntomas por aro, coincidiendo con una severa defoliación e intensas precipitaciones. A partir de este momento, esta variable permaneció estable hasta finales de noviembre.

En el caso de la tesis de aceite mineral, hasta mediados de julio la evolución fue similar a la descrita (Tabla 1). A partir de esta fecha y hasta mediados de septiembre, fue significativamente menor que en el testigo. Una sola aplicación de acaricidas al inicio del verano consiguió mantener la variable por debajo del umbral económico de daño hasta mediados de

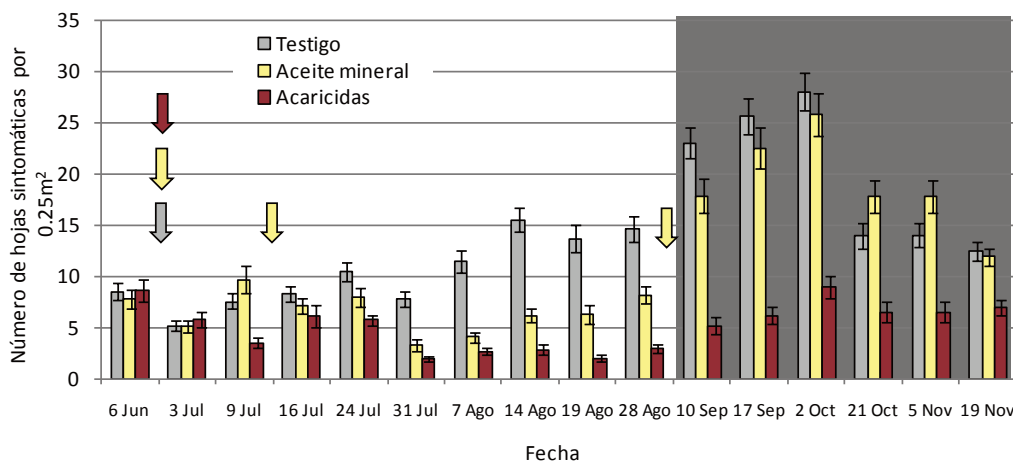


Figura 1. Media y error estándar del número de hojas sintomáticas en un círculo de 0.25 m² en las tesis testigo, aceite mineral y acaricidas en las diferentes fechas. Las flechas indican tratamientos (acaricida: roja; aceite mineral: amarilla; agua: gris)

Tabla 1. Estadísticos, media y error estandar del número de hojas sintomáticas por círculo de 0.25 m² y del número de hembras de *T. urticae* por hoja sintomática. Las medias se compararon mediante el test de rango múltiple de Duncan con un nivel de significación del 95%. Letras iguales en filas indican medias iguales

Fecha	Nº de hojas sintomáticas por aro					Nº de hembras de <i>T. urticae</i> por hoja sintomática				
	Estadísticos		TESIS			Estadísticos		TESIS		
	<i>F</i>	<i>P</i>	Testigo	Aceite	Acaricidas	<i>F</i>	<i>P</i>	Testigo	Aceite	Acaricidas
06-jun	0,25	0,7778	8,5±0,8a	7,8±0,9a	8,6±1,0a	0,91	0,4049	0,49±0,08a	0,47±0,07a	0,41±0,08a
03-jul	0,11	0,9001	5,2±0,5a	5,2±0,6a	5,8±0,8a	34,27	0,0001	1,00±0,13a	0,47±0,12b	0,12±0,04c
09-jul	12,51	0,0001	7,6±0,7a	9,7±1,4a	3,6±0,4b	16,20	0,0001	0,63±0,15a	0,46±0,10a	0,06±0,02b
16-jul	2,85	0,0622	8,3±0,8a	7,2±0,7ab	6,1±1,1b	5,90	0,0029	0,41±0,09a	0,31±0,09ab	0,13±0,05b
24-jul	8,11	0,0005	10,4±0,9a	8,0±1,0b	5,8±0,5b	21,17	0,0001	0,62±0,10a	0,25±0,06b	0,09±0,03b
31-jul	30,48	0,0001	7,8±0,8a	3,3±0,6b	2,0±0,3b	23,94	0,0001	0,50±0,07a	0,20±0,05b	0,06±0,04c
07-ago	49,83	0,0001	11,5±1,1a	4,1±0,5b	2,8±0,3b	15,01	0,0001	0,54±0,08a	0,29±0,06b	0,10±0,03c
14-ago	60,79	0,0001	15,6±1,2a	6,2±0,6b	2,9±0,5c	11,09	0,0001	0,50±0,06a	0,51±0,09a	0,17±0,04b
19-ago	45,50	0,0001	13,7±1,4a	6,3±0,9b	2,1±0,4c	11,22	0,0001	0,55±0,08a	0,61±0,10a	0,18±0,05b
28-ago	46,72	0,0001	14,6±1,2a	8,2±0,8b	3,0±0,4c	4,94	0,0074	0,98±0,11a	1,00±0,13a	0,67±0,11b
10-sep	55,93	0,0001	23,0±1,5a	17,9±1,7b	5,3±0,9c	13,39	0,0001	0,17±0,06c	0,57±0,08a	0,36±0,08b
17-sep	68,70	0,0001	25,7±1,7a	22,5±2,0a	6,3±0,8b	15,24	0,0001	0,03±0,02b	0,52±0,12a	0,30±0,06a
02-oct	24,40	0,0001	28,1±1,8a	25,8±2,1a	9,0±1,1b	5,54	0,0041	0,02±0,02b	0,07±0,02ab	0,17±0,06a
21-oct	14,01	0,0001	14,0±1,3a	17,8±1,6a	6,6±1,0b	1,60	0,2028	0,04±0,02a	0,04±0,01a	0,08±0,03a
05-nov	14,29	0,0001	14,1±1,2a	17,9±1,7a	6,7±1,0b	3,45	0,0322	0,05±0,02b	0,12±0,07ab	0,31±0,12a
19-nov	8,38	0,0001	12,4±1,0a	11,9±0,8a	7,0±0,7b	0,98	0,3758	0,17±0,05a	0,19±0,06a	0,27±0,07a

septiembre. En comparación con el testigo y la aplicación de aceite mineral, esta variable fue significativamente menor desde 10 días después de la pulverización hasta final de noviembre (Tabla 1).

Densidad de *T. urticae* en las hojas sintomáticas (Fig. 2)

Hasta la aplicación general de aceite mineral a todo el huerto, en la representación de las poblaciones encontradas en las muestras de las parcelas testigo se observaron dos picos de hembras adultas en hojas sintomáticas. El primero se produjo el 3 de julio, alcanzando una media de una hembra por hoja. A conti-

nuación, esta variable se estabilizó durante un mes y medio, con una densidad media de 0,5-0,6 hembras por hoja (por encima del umbral económico, que es de 0,48 hembras por hoja sintomática, MARTÍNEZ-FERRER *et al.*, 2005). A finales de agosto se produjo un aumento de esta variable, llegando a niveles similares a los de julio. La aplicación de aceite mineral el 3 de septiembre redujo la población de forma rápida y eficaz por debajo de los umbrales económicos hasta finales de noviembre. En las parcelas tratadas con aceite mineral, los tratamientos redujeron significativamente la densidad de hembras respecto al testigo, con una persistencia de un mes y medio, hasta mediados de

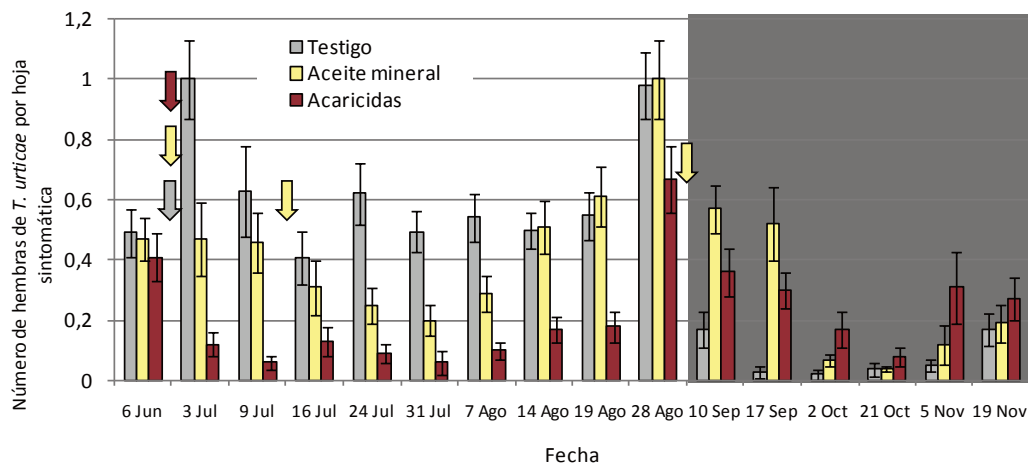


Figura 2. Media y error estándar del número de hembras de *T. urticae* por hoja sintomática en las tesis testigo, aceite mineral y acaricidas en las diferentes fechas. Las flechas indican tratamientos (acaricida: roja; aceite mineral: amarilla; agua: gris)

agosto (Tabla 1). El tratamiento acaricida fue muy eficaz, reduciendo significativamente la población de hembras adultas de *T. urticae*, con una persistencia de dos meses, y mantuvo la población por debajo del umbral económico hasta finales de agosto. En este momento se observó un incremento espectacular.

Después de la aplicación general de aceite mineral del 3 de septiembre, la población disminuyó en todo el huerto. Esta disminución fue más rápida en las parcelas testigo que en las que se aplicaron acaricidas y aceites minerales. Durante los meses de octubre y noviembre la población se mantuvo por debajo del umbral económico en todo el huerto.

Proporción de hojas sintomáticas con colonias de *T. urticae* (Fig. 3)

En las parcelas testigo, hasta la aplicación general de aceite mineral a todo el huerto, la proporción de hojas sintomáticas con colonias activas de *T. urticae* fue superior a 0,3. A principios de julio se alcanzó un pico cercano a 0,5, y a primeros de agosto se produjo un nuevo incremento de la población, alcanzando niveles superiores a los que se produjeron en julio, cerca de 0,6, y éste nivel duró un mes. La aplicación de aceite mineral el 3 de

septiembre redujo la presencia de colonias de manera rápida y eficaz hasta finales de noviembre. En las parcelas de aceite mineral, las dos aplicaciones redujeron significativamente la presencia de colonias respecto al testigo, y el primer pico allí observado no se produjo. Hasta finales de agosto la tendencia fue similar a la de las parcelas testigo, pero siempre con un nivel inferior, con una persistencia de dos meses (Tabla 2). El tratamiento acaricida fue muy eficaz, ya que redujo significativamente las colonias de *T. urticae* con una persistencia de dos meses, hasta finales de agosto. La tendencia fue similar a la de testigo. Después del tratamiento general a todo el huerto con aceite mineral el 3 de septiembre, las colonias disminuyeron en todas las tesis, de manera más pronunciada en las parcelas del testigo. Durante los meses de octubre y noviembre la proporción de hojas sintomáticas con colonias se mantuvo baja.

Densidad de fitoseidos en hojas sintomáticas (Fig. 4)

La población de fitoseidos fue escasa durante el periodo estudiado en todo el huerto. Desde el principio, las poblaciones de fitoseidos en las parcelas testigo disminuyeron debi-

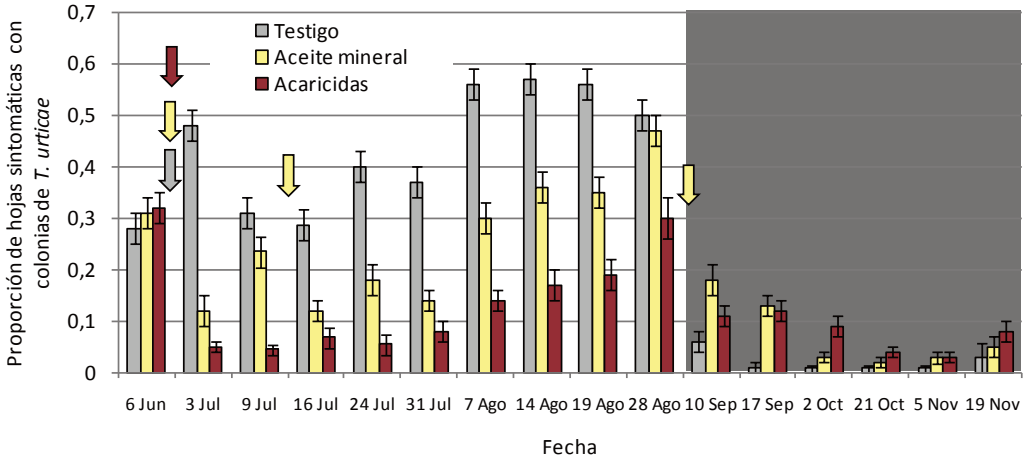


Figura 3. Media y error estándar de la proporción de hojas sintomáticas con colonias activas de *T.urticae* en las tesis testigo, aceite mineral y acaricidas en las diferentes fechas. Las flechas indican tratamientos (acaricida: roja; aceite mineral: amarilla; agua: gris)

do a las altas temperaturas del verano, dando lugar a poblaciones muy escasas en julio y agosto. Aún cuando la población de hembras de *T. urticae* alcanzó un máximo en julio, las poblaciones de fitoseidos continuaron disminuyendo. Solamente durante la primera quincena de septiembre se observó un aumento de su población en hojas sintomáticas. Las

poblaciones de fitoseidos en la tesis con dos aplicaciones de aceite mineral fue similar a las del testigo sin tratar (Tabla 2), aunque la recuperación de las poblaciones en septiembre fue más lenta. Por el contrario, el tratamiento acaricida sí que redujo significativamente la población de fitoseidos respecto al testigo inmediatamente después de la aplicación (Ta-

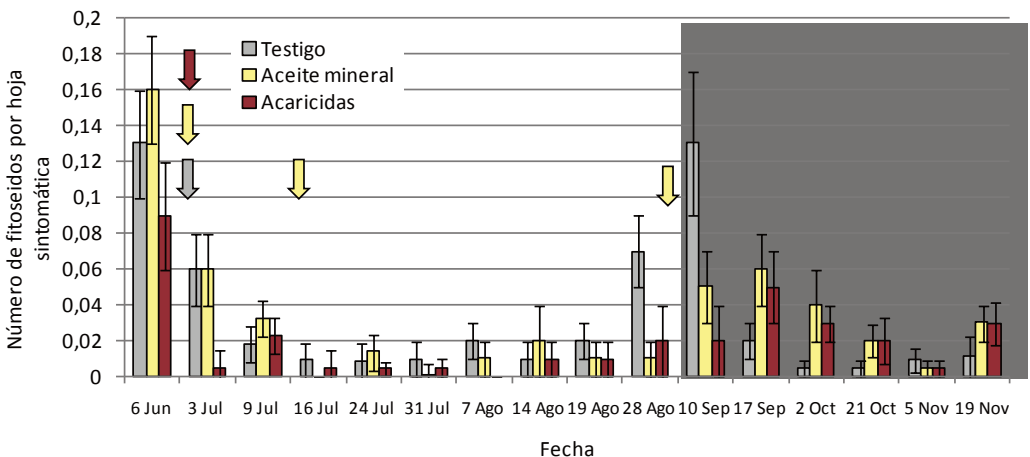


Figura 4. Media y error estándar del número de ácaros fitoseidos por hoja sintomática en las tesis testigo, aceite mineral y acaricidas en las diferentes fechas. Las flechas indican tratamientos (acaricida: roja; aceite mineral: amarilla; agua: gris)

Tabla 2. Estadísticos, media y error estandar del porcentaje de hojas con colonias activas de *T. urticae* y del número de ácaros fitoseidos por hoja sintomática. Las medias se compararon mediante el test de rango múltiple de Duncan con un nivel de significación del 95%. Letras iguales en filas indican medias iguales

Fecha	Proporción de hojas sintomáticas con colonias activas de <i>T. urticae</i>						N° de ácaros fitoseidos por hoja sintomática				
	Estadísticos		TESIS			Estadísticos		TESIS			
	<i>F</i>	<i>P</i>	Testigo	Aceite	Acaricidas	<i>F</i>	<i>P</i>	Testigo	Aceite	Acaricidas	
	<i>gl</i> = 2, 645		<i>gl</i> = 2, 645								
06-jun	0,61	0,5441	0,28±0,03a	0,31±0,03a	0,32±0,03a	1,77	0,1720	0,13±0,03a	0,16±0,03a	0,09±0,03a	
03-jul	87,48	0,0001	0,48±0,03a	0,12±0,03b	0,05±0,01c	4,40	0,0126	0,06±0,02a	0,06±0,02a	0,01±0,01b	
09-jul	26,08	0,0001	0,31±0,03a	0,24±0,03a	0,05±0,01b	0,50	0,6091	0,02±0,01a	0,03±0,01a	0,02±0,01a	
16-jul	22,27	0,0001	0,29±0,03a	0,12±0,02b	0,07±0,02b	1,00	0,3673	0,01±0,01a	0,00±0,00a	0,01±0,01a	
24-jul	44,06	0,0001	0,40±0,03a	0,18±0,03b	0,06±0,02c	0,27	0,7612	0,01±0,01a	0,01±0,01a	0,01±0,00a	
31-jul	35,30	0,0001	0,37±0,03a	0,14±0,02b	0,08±0,02b	0,20	0,8182	0,01±0,01a	0,00±0,01a	0,01±0,01a	
07-ago	48,06	0,0001	0,56±0,03a	0,56±0,03b	0,14±0,02c	2,02	0,1332	0,02±0,01a	0,01±0,01a	0,00±0,00a	
14-ago	40,39	0,0001	0,57±0,03a	0,36±0,03b	0,17±0,03c	0,09	0,9124	0,01±0,01a	0,02±0,02a	0,01±0,01a	
19-ago	34,45	0,0001	0,56±0,03a	0,35±0,03b	0,19±0,03c	2,32	0,0994	0,02±0,01a	0,01±0,01a	0,01±0,01a	
28-ago	11,46	0,0001	0,50±0,03a	0,47±0,03a	0,30±0,04b	3,31	0,0370	0,07±0,02a	0,01±0,01b	0,02±0,02b	
10-sep	7,94	0,0004	0,06±0,02b	0,18±0,03a	0,11±0,02b	3,56	0,0289	0,13±0,04a	0,05±0,02ab	0,02±0,02b	
17-sep	13,16	0,0001	0,01±0,01b	0,13±0,02a	0,12±0,02a	1,18	0,3075	0,02±0,01a	0,06±0,02a	0,05±0,02a	
02-oct	9,35	0,0001	0,01±0,01b	0,03±0,01b	0,09±0,02a	2,22	0,1095	0,01±0,01b	0,04±0,02a	0,03±0,01ab	
21-oct	1,84	0,1589	0,01±0,01a	0,02±0,01a	0,04±0,01a	0,86	0,4226	0,01±0,01a	0,02±0,01a	0,02±0,01a	
05-nov	1,43	0,2394	0,01±0,01a	0,03±0,01a	0,03±0,01a	0,25	0,7784	0,01±0,01a	0,01±0,01a	0,01±0,01a	
19-nov	2,84	0,0594	0,03±0,03b	0,05±0,02ab	0,08±0,02a	1,60	0,2022	0,01±0,01a	0,03±0,01a	0,03±0,01a	

bla 2), y aunque entre mediados de julio y de agosto la población fue similar en ambas tesis, posteriormente la recuperación fue más lenta que en el testigo.

Especies de fitoseidos en hojas sintomáticas

El 6 de junio se encontraron 88 fitoseidos en las hojas de las parcelas testigo. *Euseius stipulatus* fue la especie más abundante (77%). *Phytoseiulus persimilis* y *N. californicus* representaron el 12 y el 9%, respectivamente. El 26 de junio se encontraron 40 ácaros fito-

seidos, de los cuales, *E. stipulatus* fue la más abundante de nuevo, el 88%, y *P. persimilis* y *N. californicus* representaron el 6% cada uno.

Daños en el fruto en 2008 (Fig. 5)

En el momento de la cosecha, aunque el índice de síntomas en fruto fue muy bajo, inferior a 1 en todas las tesis, hubo diferencias significativas entre tratamientos. Las parcelas tratadas con acaricidas presentaron un índice de 0,064 ± 0,010, significativamente menor ($F = 37,15$; $gl = 2, 2432$; $p < 0,0001$) que en las otras dos

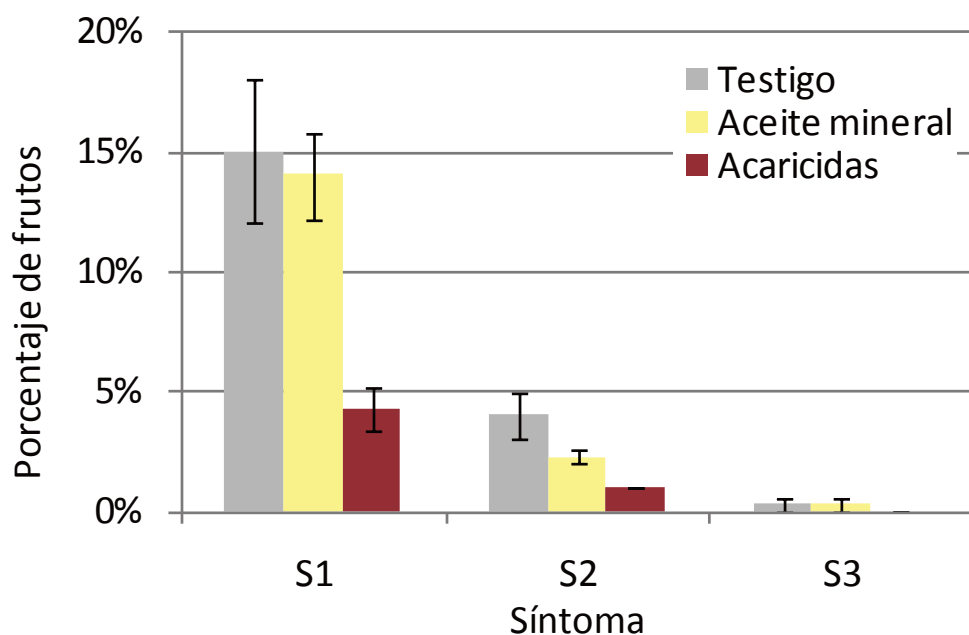


Figura 5. Media y error estándar del porcentaje de frutos dañados con pequeñas cicatrices (S1), cicatrices cubriendo menos del 12% del fruto (S2) y cicatrices cubriendo entre el 13 y el 25% del fruto (S3)

tesis, las aplicaciones de aceite mineral ($0,194 \pm 0,017$) y las parcelas testigo ($0,231 \pm 0,018$).

Hubo diferencias significativas entre las tesis en el porcentaje de frutos sin manchas ($F = 6,93$; $gl = 2, 6$; $p = 0,0276$). En las parcelas testigo y de aceite mineral, el porcentaje de frutos sin manchas fue $81,3 \pm 4,06$ y $84,0 \pm 2,08$ respectivamente, siendo diferente al testigo sólo el tratamiento acaricida, cuyo porcentaje fue $94,7 \pm 0,9$.

En ningún caso se observaron frutos con síntomas superiores a la categoría S3 (con más del 25% de la superficie del fruto afectada). La categoría S1 se definió como presencia de pequeñas cicatrices en la corteza, que en cualquier caso es apta para su comercialización al cumplir los estándares de calidad exigidos. Las parcelas en las que se aplicaron los acaricidas presentaron un menor porcentaje de frutos de esta categoría que el resto ($F = 6,96$; $gl = 2, 6$; $p = 0,0273$). El porcentaje de frutos dentro de las categorías S2 y S3, cuyos síntomas sí que implican una depreciación comercial de

los frutos, fue similar en las tres tesis (S2: $F = 3,43$; $gl = 2, 6$; $p = 0,1016$; S3: $F = 0,50$; $gl = 2, 6$; $p = 0,6297$), y en general en todo el huerto fue inferior al 4%.

Cosecha en el año 2009

Con el fin de determinar si la severa defoliación que provocó *T. urticae* el año anterior afectó al rendimiento por árbol en 2009, se evaluó la cosecha de los árboles de cada tesis (Tabla 3). No se observaron diferencias significativas entre tesis en el número de frutos por árbol ($F = 2,30$; $gl = 2, 49$; $p = 1,105$) ni en el total de peso de frutos por árbol ($F = 1,75$; $gl = 2, 49$; $p = 0,1845$).

DISCUSIÓN

Como era de esperar en los árboles de clementinas de huertos no tratados, la población de *T. urticae* se incrementó progresivamente, siempre por encima del umbral económico, tanto en el número de hojas sintomáticas

Tabla 3. Media y error estándar del número de frutos por árbol y el peso total de frutos por árbol en 2009, un año después de las aplicaciones (n=18). Las medias se compararon mediante el test de rango múltiple de Duncan con un nivel de significación del 95%. Letras iguales en columnas indican medias iguales

	Nº de frutos por árbol	Peso total de los frutos por árbol
Testigo	380,33 ± 27,51 a	50,04 ± 2,77 a
Aceite mineral	374,78 ± 26,05 a	49,50 ± 3,36 a
Acaricidas	441,17 ± 18,25 a	55,92 ± 1,66 a

como en número de hembras adultas por hoja sintomática. A pesar de que existen enemigos naturales, y sin tratamientos químicos, parece que no hay un control natural adecuado, al menos durante un año.

En la zona de estudio, *T. urticae* está presente en el cultivo durante todo el año, si bien sus poblaciones se reducen en gran medida durante el invierno (MARTÍNEZ-FERRER *et al.*, 2006). El cuajado de las clementinas en España se produce durante el mes de junio. Sin embargo, no es hasta agosto cuando se observan los primeros individuos de *T. urticae* sobre ellos, y es en septiembre y octubre cuando se produce una migración importante de las poblaciones de las hojas hacia los frutos (MARTÍNEZ-FERRER *et al.*, 2005). Por lo tanto, con respecto a los daños en el fruto, agosto y septiembre son meses cruciales. Este es el motivo de la importancia del segundo máximo de población observado, el que se produce a final de agosto, respecto al primero, que tiene lugar a primeros de julio.

Cuando *T. urticae* se alimenta, las hojas sintomáticas caen prematuramente del árbol. En las parcelas testigo el número de hojas sintomáticas fue incrementándose de forma constante, especialmente a partir de agosto, y en otoño se produjo una fuerte defoliación. La aplicación de aceites minerales a inicios del verano implicó un menor número de hojas sintomáticas, así como una reducción de la densidad de hembras y de colonias en hojas con respecto al testigo, con una persistencia

de entre un mes y medio y dos meses, corroborando en campo los resultados obtenidos tanto en laboratorio como en invernadero por URBANEJA *et al.* (2008) y CHUECA *et al.* (2010).

La población de fitoseidos en todo el huerto fue escasa durante el periodo estudiado, especialmente durante el verano. El aceite mineral aplicado a todo el huerto el 3 de septiembre no produjo una disminución de sus poblaciones, ya que estas continuaron en aumento. En ensayos de laboratorio se constató que la aplicación de aceite mineral tiene un bajo impacto sobre *N. californicus*, alcanzando la categoría IOBC 2 e IOBC 1 para residuos de 3 y 6 días respectivamente (URBANEJA *et al.* 2008). XUE y colaboradores (2009) observaron que no se producía una disminución significativa de los estados móviles de *P. persimilis* tras aplicaciones de aceite mineral, y que sus huevos eran menos susceptibles que los de *T. urticae*.

En la cosecha no se encontró ningún fruto con síntoma S3 o superior en todo el huerto. Las elevadas poblaciones de *T. urticae* en hoja alcanzadas hasta finales de julio en el testigo no se tradujeron en daños en cosecha tal como cabría esperar; de hecho, más del 80% de frutos no mostraron ningún tipo de síntoma causado por el ácaro y el 96% fueron comercialmente aceptables.

Debido a las elevadas poblaciones de *T. urticae* se produjo una intensa defoliación en las tesis testigo y en la tratada con tres aplicaciones de aceite mineral. Sin embargo,

esta defoliación no tuvo ningún efecto en la producción del año siguiente: ni en el número medio de frutos por árbol ni en el peso total por árbol, siendo similares en todas las tesis.

En plantaciones modernas de cítricos de España las aplicaciones se realizan con pulverizadores hidroneumáticos, y por lo general se aplican de 2.000 a 3.000 l/ha en árboles adultos. En nuestro caso se aplicaron 2.100 l/ha a una concentración de 2,5%, tres veces, lo que implica utilizar 157,5 l/ha. Esta cantidad es inferior a 280 l/ha, umbral de fitotoxicidad señalado por RIEHL Y WEDDING (1959) y HERRON y colaboradores (1995) para aceites de amplio rango. No se observaron síntomas de fitotoxicidad en nuestro caso cuando se aplicó un 7,5% de aceite mineral acumulado en un año.

Las aplicaciones de aceite mineral son una buena estrategia de control de *T. urticae* en clementinos. Dos pulverizaciones de aceite

mineral aplicados al inicio del verano redujeron de forma significativa las poblaciones de *T. urticae* en las hojas. Tanto en estas parcelas como en las parcelas testigo, tratadas una sola vez con aceite mineral a primeros de septiembre, los frutos fueron comercializables en grandes proporciones y el rendimiento del año siguiente no se vio afectado por la defoliación. De los resultados obtenidos en este trabajo se infiere que se deberían revisar los umbrales de intervención utilizados hasta el momento, al menos para las poblaciones de primavera e inicios del verano.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a Rafel Monfort, Marc Martí y Gemma Barrobés su ayuda en el campo, y a Jose Miguel Fibla permitirnos llevar a cabo el ensayo en su huerto.

ABSTRACT

MARTÍNEZ-FERRER, M. T., J. M. CAMPOS, J. M. FIBLA. 2012. Mineral oil spray to control the two-spotted spider mite *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) on Clementine citrus groves. *Bol. San. Veg. Plagas*, **38**: 269-279

Tetranychus urticae Koch is a key pest of citrus varieties Clementine (*Citrus reticulata* Blanco) in Spain. This mite feeds on leaves, that fall prematurely, and on fruits, decreasing the quality and commercial value. In a commercial citrus grove of Clementina de Nules cultivar located in Vinaroz (Castellón), the efficacy of *T. urticae* mineral oil sprays, an acaricide, and control were compared. Three mineral oil sprays significantly reduced the *T. urticae* population on leaves, and, the percentage of fruits commercially unacceptable was very low in all thesis, between 1% and 3.7%. Also, following year's yield was not affected by intense defoliation produced. These results could improve *T. urticae* control strategies in Clementine groves, using mineral oil in summer and setting new treatment thresholds, so a more sustainable management of this mite can be made in citrus.

Keywords: pests, integrated control, citrus, mineral oils insecticides.

REFERENCIAS

- ABAD-MOYANO, R., PINA, T., DEMBILIO, O., FERRAGUT, F., URBANEJA, A. 2009. Survey of natural enemies of spider mites (Acari: Tetranychidae) in citrus orchards in eastern Spain. *Experimental and Applied Acarology*, **47** (1): 49-61.
- BEATTIE G.A.C., WATSON D. M., STEVENS, M. L., RAE, D. J., SPOONER-HART R. N. EDS. 2002. *Spray Oils Beyond 2000: Sustainable Pest and Disease Management*. University of Western Sydney, Sydney, Australia.

- BEATTIE, G.A.C. 1990. Citrus petroleum spray oils. NSW Agriculture. Agfact H2. AE. 5. Rydalmere, NSW, Australia. 8 pp.
- CHUECA, P., C. GARCERÁ, MOLTÓ, E., JACAS, J.A., URBANEJA, A., PINA, T. 2010. Spray Deposition and Efficacy of Four Petroleum-Derived Oils Used Against *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). *Journal of Economic Entomology*, **103**: 386-393.
- DAVIDSON, N. A. , DIBLE J., FLINT, M., MARER, P., GUYE, A. 1991. Managing Insects and Mites with Spray Oils. IPM Education and Publications. Statewide Integrated Pest Management Project. University of California. Publication 3347. pp. 47.
- EBBON, G. P. 2002. Environmental and health aspects of agricultural mineral oils. In *Spray Oils Beyond 2000: Sustainable Pest and Disease Management* (eds: Beattie G.A.C., Watson D. M., Stevens, M. L., Rae, D. J., Spooner-Hart R. N.) pp-232-246. University of Western Sydney, Sydney, Australia.
- FERRAGUT, F., COSTA-COMELLES, J., GARCIA-MARI, F., LABORDA, R, ROCA, D, MARZAL, C. 1988. Dinámica poblacional del fitoseido *Euseius stipulatus* (Athias-Henriot) y su presa *Panonychus citri* (McGregor) (Acari: Phytoseiidae, Tetranychidae), en los cítricos españoles. *Bol. San. Veg. Plagas*, **14**: 45-54.
- GARCIA-MARI, F., LABORDA, R., COSTA-COMELLES, J., FERRAGUT, F., MARZAL, C. 1985: Acaros fitófagos y depredadores en nuestros cítricos. *Cuad. Fitopatología* (2): 54-63.
- MARTÍNEZ-FERRER, M. T., FIBLA, J. M., RIPOLLÉS, J. L., SORIA, L., NARRILLOS, C. 2001. Aplicación de aceites minerales para el control del minador de los brotes tiernos de los cítricos, *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera: Gracillaridae) en plantones de cítricos. *Levante Agrícola*. 2º Trimestre: 208-221.
- MARTÍNEZ-FERRER, M. T, JACAS-MIRET. J. A., AUCEJO-ROMERO, RIPOLLÉS, J. L., FIBLA QUERALT, J.M. 2005. Dinámica poblacional de la araña roja, *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) en hojas y frutos de clementinos. IV CONGRESO NACIONAL DE ENTOMOLOGÍA APLICADA (X Jornadas Científicas de la SEEA), Bragança – Portugal.
- MARTÍNEZ-FERRER, M. T., JACAS-MIRET. J. A., RIPOLLÉS-MOLES, J. L., AUCEJO-ROMERO, S. 2006. Approaches for sampling the twospotted spider mite (Acari: Tetranychidae) on clementines in Spain. *J. Econ. Entomol.*, **99**: 1490-1499.
- NICETIC, O., WATSON, D. M., BEATTIE, G. A. C., MEATS, A., ZHENG, J. 2001. Integrated pest management of two-spotted mite *Tetranychus urticae* on greenhouse roses using petroleum spray oil and the predatory mite *Phytoseiulus persimilis*. *Experimental and Applied Acarology* **25**: 37–53.
- NICETIC, O., WATSON, D. M., BEATTIE, G. A. C., ZHENG J. H. 2002. A horticultural mineral oil-based program for control of two-spotted mite and powdery mildew on roses in greenhouses. In: *Spray Oils beyond 2000: Sustainable Pest and Disease Management* (eds GAC Beattie, DMWatson, ML Stevens, DJ Rae & RN Spooner-Hart), pp. 387–395. University of Western Sydney, Sydney, Australia
- RIPOLLÉS J. L., MARSÀ, M., MARTÍNEZ-FERRER, M. T. 1995. Desarrollo de un programa de control integrado de las plagas de los cítricos en las comarcas del Baix Ebre-Montsià. *Levante Agrícola*. 3er Trimestre: 232-248.
- SAS INSTITUTE INC. SAS/ STAT. 1998. User's Guide, Release 6.03 Edition. Cary, N.C: SAS Institute Inc., 1988. 1028 pp.
- SOKAL, R. R., ROHLF, F. J. 1981. *Biometry: the principles and practice of statistics in biological research*. W. H. Freeman, New York, 887p.
- SOTO, A., COSTA-COMELLES, J., ALONSO, A. 1994. Eficacia de algunos plaguicidas sobre los cóccidos diaspidinos *Lepidosaphes beckii* (Newman) y *Parlatoria pergandii* Comstock (Homoptera: Diaspididae) en cítricos y efectos secundarios. *Bol. San. Veg. Plagas*, **20**: 357-369.
- URBANEJA, A., PASCUAL-RUIZ, S., PINA, T, ABAD-MOYANO R., VANACLOCHA, P., MONTÓN, H., CASTAÑERA, P., JACAS, J.A. 2008. Efficacy of some acaricides against *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) and their side-effects on selected natural enemies occurring in citrus orchards. *Pest Management Science*, **64** (8): 834 – 842
- XUE, Y., BEATTIE, G. A. C., MEATS, A., SPOONER-HART, R., HERRON, G. A. 2009. Relative toxicity of nC24 agricultural mineral oil to *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) and *Phytoseiulus persimilis* Athias-Henriot (Acari: Phytoseiidae) and its possible relationship to egg ultrastructure. *Australian Journal of Entomology*, **48**: 251-257.

(Recepción: 6 marzo 2012)

(Aceptación: 8 junio 2012)

Estudio de los niveles poblacionales de *Thrips tabaci* Lind. (Thysanoptera: Thripidae) y sus enemigos naturales en el cultivo de la cebolla en Albacete

J. A. MONREAL MONTOYA, R. M. MUÑOZ GÓMEZ, M. L. LERMA TOBARRA, P. CASTILLO ORTIZ, C.A. GRANDA WONG

En este trabajo se ha realizado un estudio sobre los niveles poblacionales de *Thrips tabaci* y sus enemigos naturales en el cultivo de la cebolla. Desde junio a septiembre de 2009 se muestrearon dos parcelas localizadas en la provincia de Albacete, con una frecuencia quincenal. De los enemigos naturales de *Thrips tabaci*, la especie más abundante ha sido el tisanóptero *Aeolothrips intermedius*; además, se han observado individuos de los órdenes *Araneae*, *Thysanoptera* (*Aeolothrips* spp.), *Neuroptera* (*Chrysoperla* sp.), *Hemiptera* (*Orius* sp., *Nabis* sp., *Deraeocoris* sp., *Geocoris* sp.) y *Coleoptera* (*Carabidae*, *Staphylinidae*, *Coccinellidae*).

J. A. MONREAL MONTOYA. Departamento de Producción Vegetal y Tecnología Agraria. Universidad de Castilla La Mancha. Campus Universitario s/n. 02071 Albacete.

R. M. MUÑOZ GÓMEZ, M. L. LERMA TOBARRA, P. CASTILLO ORTIZ. Instituto Técnico Agronómico Provincial de Albacete (ITAP). Avda. Gregorio Arcos s/n. 02080 Albacete.

C. A. GRANDA WONG. Departamento Académico de Sanidad Vegetal. Universidad Nacional de Piura (Perú).

Palabras clave: Trips de la cebolla, control biológico.

INTRODUCCIÓN

En los últimos años, Albacete se ha situado como la provincia de mayor superficie y producción dedicada al cultivo de la cebolla, con el 28% de la superficie y el 37% de la producción a escala nacional (MAGRAMA, 2010).

Entre las plagas que afectan al cultivo de la cebolla, el tisanóptero *Thrips tabaci* Lind. (Figura 1), está considerado como una de las más importantes en Castilla-La Mancha. Las picaduras de alimentación de larvas y adultos provocan placas de células vacías, que toman un aspecto blanquecino o plateado y con el tiempo se necrosan (LACASA Y LLORENS, 1996). En hojas jóvenes y con poblaciones elevadas del trips, se producen deformacio-

nes, que en casos extremos pueden llegar a provocar la muerte de algunos centímetros de tejido (GARCÍA MORATÓ, 2003).

El ataque de esta plaga reduce la capacidad fotosintética de la planta (TORRES-VILA *et al.*, 1994) y dado que la cebolla es un cultivo muy sensible a los daños en sus hojas (GARCÍA MORATÓ, 2003), como consecuencia se produce una disminución del calibre comercial del bulbo y por tanto una pérdida de producción (CRANSHAW, 2008).

Thrips tabaci es el trasmisor en el cultivo de la cebolla del virus IYSV (Iris yellow spot virus) (KRITZMAN *et al.*, 2001). La sintomatología de este virus se manifiesta como manchas blanquecinas con forma de uso a

lo largo de las hojas, que evolucionan a una desecación prematura foliar (CÓRDOBA SELLÉS *et al.*, 2005). Este virus asimismo causa disminución del tamaño del bulbo y por tanto pérdidas en la producción (HSU *et al.*, 2010).

Esta plaga requiere con frecuencia intervenciones específicas para su control (LACASA Y LLORENS, 1996), las cuales permiten incrementar beneficios a los agricultores en los años climatológicamente favorables para la producción de cebolla (EDELSON *et al.*, 1989). Según GARCÍA MORATÓ (2003), el control químico es el método más rápido, eficaz y rentable. Sin embargo, en la actualidad se han constatado resistencias de esta plaga a insecticidas piretroides y organofosforados (MARTIN *et al.*, 2003; ALLEN *et al.*, 2005).

Estudios efectuados en Estados Unidos comparando los niveles de control obtenidos mediante tratamientos exclusivamente químicos, con los resultados obtenidos combinando la eficacia de las materias activas más respetuosas con la acción de los enemigos naturales, llegaron a la conclusión de que la lucha integrada aporta claras ventajas de tipo económico, sanitario y medioambiental (EDELSON *et al.*, 1989).

En este sentido, es de gran importancia conocer los enemigos naturales de *T. tabaci* y su posible utilización dentro del Manejo Integrado de Plagas, y entre estos posibles enemigos naturales, destacan en estos momentos por su importancia, los depredadores (LACASA *et al.*, 2008). Hay varios depredadores de trips en el cultivo de la cebolla, como antocóridos, larvas de crisopa, trips depredadores y ácaros depredadores (CRANSHAW, 2008). En la Comunidad Valenciana se han identificado varios enemigos naturales depredadores de esta plaga en el cultivo de la cebolla; en concreto, crisopas, coccinélidos, la especie *Aelothrips intermedius* Bagnall, y *Orius* sp. (GARCÍA MORATÓ, 2003).

En el presente trabajo se ha realizado un estudio sobre los niveles poblacionales de *T. tabaci* y sus enemigos naturales, en el cultivo de la cebolla en la provincia de Albacete.

MATERIAL Y MÉTODOS

Parcelas y tipo de muestreo

Durante el año 2009, se prospectaron dos parcelas cultivadas de cebolla, situadas en el término municipal de Albacete. Una de las parcelas tenía forma rectangular, una superficie de 800 m² y riego por cobertura, mientras que la otra era de forma circular, de 300 m de radio y regada mediante pivot.

La parcela de cobertura fue sembrada con distintas variedades de ciclo de día largo o de tipo “grano”, con una densidad de 550.000 semillas por hectárea. En la parcela pivot, la variedad utilizada fue Morada de Amposta, con una densidad de 600.000 semillas por hectárea. En las áreas circundantes a ambas parcelas se observó flora espontánea, destacando entre las especies más abundantes, *Diplotaxis erucooides*, *Datura stramonium*, *Atriplex* sp. y *Sisymbrium* sp.

Ambas parcelas estaban localizadas en la Finca Experimental “Las Tiesas”, perteneciente a la Diputación Provincial de Albacete y gestionada por el Instituto Técnico Agronómico Provincial.

La siembra se realizó en marzo de 2009, y el periodo de muestreo se inició el 19 de junio, finalizando el 25 de septiembre en la parcela con cobertura, y el 11 de septiembre en la parcela con pivot. El muestreo se realizaba cada dos semanas.

Para la realización del muestreo, la parcela con riego de cobertura se dividió en 40 microparcels rectangulares de aproximadamente 20 m². En el pivot, se optó por seleccionar 10 puntos de muestreo distanciados cada 100 m en un recorrido triangular.

Para llevar a cabo el estudio, debido al tamaño del cultivo y al lugar donde se encuentran los trips, se optó por la recolección de las plantas completas. Se recogía una planta por microparcels en la parcela de riego de cobertura, procurando en el momento del muestreo recoger la planta en el mismo lugar en cada una de las microparcels. En el caso de la

zona del pivot se recogían diez plantas (una por punto de muestreo).

El total de plantas recolectadas en cada muestreo era de 50, excepto en el último muestreo, donde se recogieron 40 plantas de la parcela de cobertura, puesto que la parcela bajo pivot había sido cosechada.

Cada planta se introducía individualmente en una bolsa de plástico cerrada y etiquetada convenientemente. El transporte hasta el laboratorio se llevaba a cabo en una nevera portátil.

Extracción de artrópodos

Una vez en el laboratorio, las muestras se mantenían en cámara frigorífica.

La extracción se efectuaba tanto mediante golpeo como directamente bajo la lupa binocular, tras abrir la planta a la altura del cuello para separar las hojas.

Los artrópodos se recogían con un pincel húmedo. Los trips y estados inmaduros de otras especies se introdujeron en un líquido de conservación compuesto por una disolución acuosa de etanol al 10 % y mojante al 1% (LACASA Y LLORENS, 1998). El resto de insectos se almacenó en frascos de plástico.

La identificación se llevó a cabo con ayuda de la lupa binocular, utilizándose en algunos casos el microscopio óptico.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Fauna asociada al cultivo

Se estudiaron en total 390 plantas de cebolla completas, habiéndose contabilizado 7.046 individuos (larvas y adultos) de *T. tabaci*, 5.701 en la parcela de cobertura y 1.345 en la parcela pivot. Los valores medios de individuos de esta plaga por planta fueron similares en ambas parcelas (18-19 trips por planta). *T. tabaci* fue la especie predominante de trips, alcanzando el 97% del total de trips recolectados (Cuadro 1) (Figura 1). En los muestreos también se observaron otros trips fitófagos, en concreto algunos individuos de *Frankliniella occidentalis*, pero su presencia

resultó casi testimonial (3 individuos en la parcela de cobertura). Estos datos concuerdan con otros estudios previos realizados en Castilla-La Mancha (TORRES-VILA *et al.*, 1994).

En cuanto a enemigos naturales, se recogieron a lo largo de todo el muestreo 409 artrópodos depredadores, 342 en la parcela de cobertura y 67 en la parcela pivot (Cuadro 1). En la parcela de cobertura se detectaron más especies de enemigos naturales, probablemente debido a una mayor presencia de vegetación espontánea. En general, los valores medios de los enemigos naturales detectados en ambas parcelas fueron similares.

Si exceptuamos el orden *Araneae*, el resto de depredadores detectados pertenecieron a la



Figura 1. Adulto de *Thrips tabaci*



Figura 2. Adulto de *Aeolothrips intermedius*

Cuadro 1. *Thrips tabaci* y sus enemigos naturales recogidos en las parcelas muestreadas (en *Aeolothrips* spp. no se incluye *Aeolothrips intermedius*)

	Total parcela cobertura (n=320)	Total parcela pivot (n=70)	Total parcelas (n=390)	Valores medios por planta parcela cobertura	Valores medios por planta parcela pivot	Valores medios por planta ambas parcelas
<i>Thrips tabaci</i>	5.701	1.345	7.046	17,82	19,21	18,07
<i>Aeolothrips intermedius</i>	153	32	185	0,48	0,46	0,47
<i>Aeolothrips</i> spp.	33	12	45	0,10	0,17	0,12
<i>Chrysoperla carnea</i>	80	16	96	0,25	0,23	0,25
<i>Deraeocoris</i> sp.	3	-	3	0,01	-	0,01
<i>Geocoris</i> sp.	2	-	2	0,01	-	0,01
<i>Nabis</i> sp.	3	-	3	0,01	-	0,01
<i>Orius</i> sp.	6	3	9	0,02	0,04	0,02
Carabidae	6	-	6	0,02	-	0,02
Coccinellidae	18	-	18	0,06	-	0,05
Staphylinidae	16	2	18	0,05	0,03	0,05
Araneae	22	2	24	0,07	0,03	0,06

clase *Insecta*, apareciendo representantes de cuatro órdenes, *Thysanoptera*, *Neuroptera*, *Hemiptera* y *Coleoptera* (Cuadro 1).

De los enemigos naturales, la especie más abundante fue *Aeolothrips intermedius* (Figura 2), con 185 insectos recolectados (0,47 por planta), 153 individuos en la parcela de riego de cobertura (0,48 por planta) y 32 en la parcela bajo pivot (0,46 por planta). Estos resultados concuerdan con otros estudios realizados en el cultivo de la cebolla de Castilla-La Mancha (TORRES-VILA *et al.*, 1994) y de la Comunidad Valenciana (GARCÍA MORATÓ, 2003).

Aeolothrips intermedius, así como otros trips depredadores, muestran una cierta predilección hacia *T. tabaci*, mientras que el resto de enemigos naturales son generalistas (LACASA Y LLORENS, 1998). Esta especie está presente en los países cálidos, con hábitos alimentarios

carnívoros. Las larvas (Figura 3), que son de mayor tamaño que las de *T. tabaci*, pueden comenzar muy pronto a alimentarse de las presas que encuentran, dada su rapidez de desplaza-



Figura 3. Larvas de *Aeolothrips intermedius* con las características manchas en el pronoto

Figura 4. Ninfa de *Orius* sp.Figura 5. Adulto de *Deraeocoris* sp.

miento. Su alimentación puede abarcar desde larvas de otros trips, incluso depredadoras, a huevos de artrópodos, ácaros, y polen. Una larva de *A. intermedius* puede consumir de 22 a 24 larvas de *T. tabaci* para completar su desarrollo (LACASA Y LLORENS, 1998).

En los muestreos se detectaron, asimismo, otros *Aeolothrips* depredadores, aunque con una presencia mucho más reducida. Las

especies *Aeolothrips fasciatus* y *Aeolothrips tenuicornis*, han sido citadas también como depredadores de *T. tabaci* en Castilla-La Mancha (TORRES-VILA *et al.*, 1994).

Del orden *Neuroptera* es importante destacar *Chrysoperla carnea*, de la familia *Chrysopidae*, insecto bien conocido en el control natural de plagas, y que se observó y recolectó de forma habitual en sus fases de huevo, larva y adulto.

Otro de los grupos de gran interés en el control natural de trips es el orden *Hemiptera*, del cual destacan por orden de importancia las familias *Anthocoridae*, *Nabidae*, *Miridae* y *Lygaeidae*, las dos primeras de carácter fundamentalmente depredador, aunque en el caso de especificidad hacia trips los *Miridae* superan a los *Nabidae*. Los géneros más importantes encontrados durante los muestreos son *Orius* sp. (*Anthocoridae*), *Nabis* sp. (*Nabidae*), *Deraeocoris* sp. (*Miridae*) y *Geocoris* sp. (*Lygaeidae*) (Figuras 4-7), habiéndose detectado sobre todo en la parcela de cobertura.

Por último, dentro de la clase *Insecta*, cabe destacar los depredadores del orden *Coleoptera*, con representantes de las familias *Coccinellidae*, *Staphylinidae* (Figura 8) y *Carabidae*.

Figura 6. Adulto de *Geocoris* sp.



Figura 7. Ninfa de *Nabis sp.*



Figura 8. Adulto de *Staphylinidae*

El otro grupo de artrópodos beneficiosos de cierto interés es *Araneae*; su importancia se debe a que son conocidos sus hábitos alimentarios, nutriéndose fundamentalmente de insectos, y que mantienen su actividad durante la mayor parte del año, incluso en algunos

momentos en los que no aparecen otro tipo de enemigos naturales (JACAS *et al.*, 2008).

Dinámica poblacional de *T. tabaci* y sus enemigos naturales

La dinámica poblacional de *Thrips tabaci* y sus enemigos naturales, se presenta en las

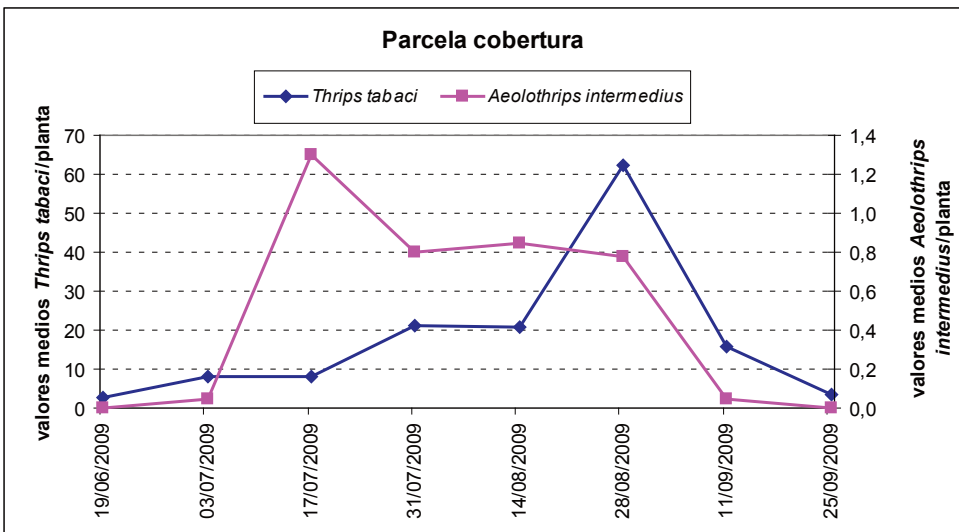


Figura 9. Evolución de las densidades (valores medios por planta) de *Thrips tabaci* y *Aeolothrips intermedius* durante el periodo de muestreo en la parcela de cobertura

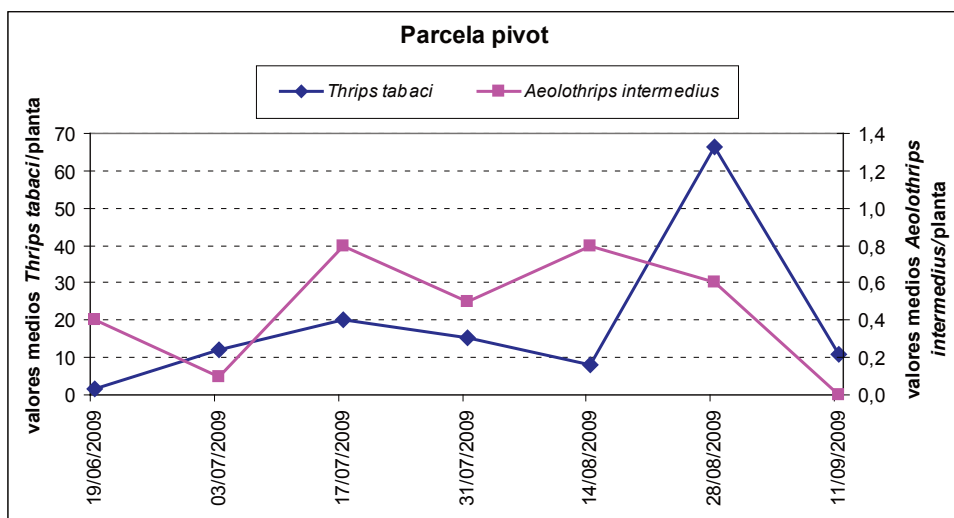


Figura 10. Evolución de las densidades (valores medios por planta) de *Thrips tabaci* y *Aeolothrips intermedius* durante el periodo de muestreo en la parcela bajo pivot

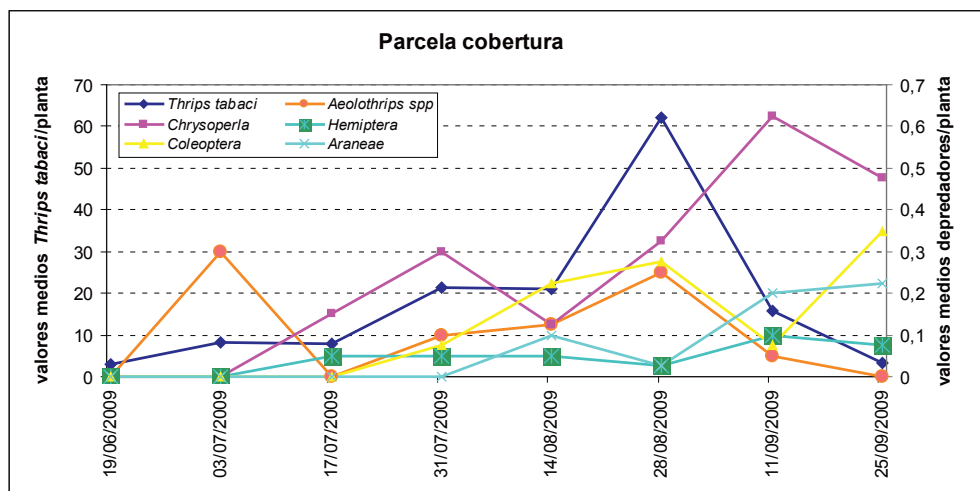


Figura 11. Evolución de las densidades (valores medios por planta) de *Thrips tabaci* y diferentes enemigos naturales durante el periodo de muestreo en la parcela de cobertura (en *Aeolothrips spp.* no se incluye *Aeolothrips intermedius*)

Figuras 9 a 12. En las Figuras 9 y 10 se incluye la especie de depredador más abundante, *A. intermedius*, mientras que en las otras dos figuras se incluye el resto de depredadores.

El máximo poblacional de *T. tabaci* se observó a finales de agosto, con 62 individuos recolectados por planta en la parcela

de cobertura y 66 en la parcela pivot. No se detectaron diferencias importantes de los valores medios por planta de esta especie entre las parcelas muestreadas.

La presencia de *A. intermedius* fue bastante reducida en comparación con la de *T. tabaci*, circunstancia asimismo observada por

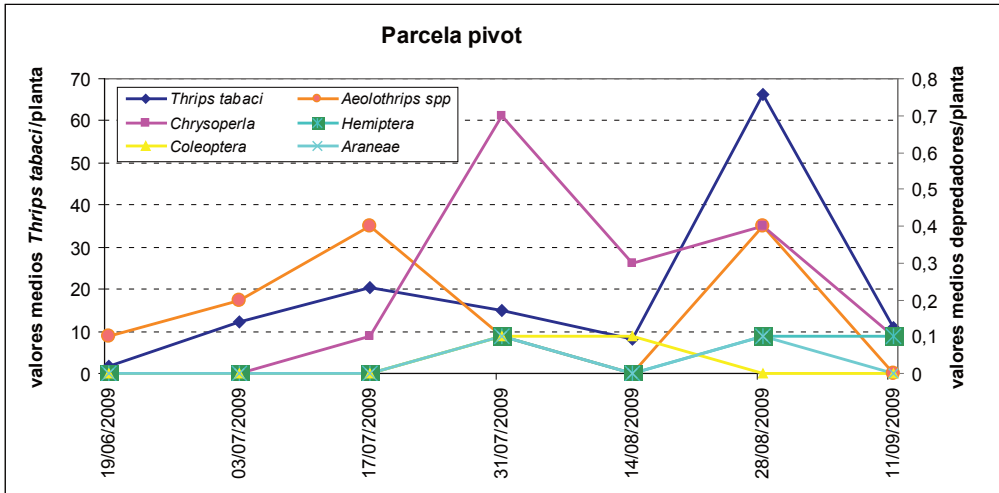


Figura 12. Evolución de las densidades (valores medios por planta) de *Thrips tabaci* y diferentes enemigos naturales durante el periodo de muestreo en la parcela bajo pivót (en *Aeolothrips* spp. no se incluye *Aeolothrips intermedius*)

TORRES-VILA *et al.* (1994). Las poblaciones de *A. intermedius* alcanzaron el nivel máximo el 17 de julio, en el tercer muestreo, detectándose un descenso del nivel poblacional en los momentos de máxima presencia de *T. tabaci* a finales de agosto. Estos resultados apuntan a un limitado control biológico de esta plaga por *A. intermedius*.

Sin embargo, es importante destacar que en los primeros días del verano, las hojas están creciendo y son muy sensibles al ataque de *T. tabaci*, por lo que *A. intermedius* pudo colaborar en la disminución de las poblaciones de esta plaga, y por tanto contribuir al buen desarrollo del bulbo (TORRES-VILA *et al.*, 1994). El número de individuos de *T. tabaci* consumidos por esta especie a lo largo del ciclo de cultivo puede llegar a ser importante (LACASA Y LLORENS, 1998).

En las Figuras 11 y 12 se presenta la dinámica poblacional del resto de los enemigos naturales recogidos durante los muestreos y se observa que, salvo en el caso de *Aeolothrips* spp. que se comporta como *A. intermedius*, el resto de los enemigos naturales de *T. tabaci* tienen en general una dinámica poblacional distinta, observándose los máximos poblacio-

nes más tardíamente, en los meses de agosto o septiembre. Este comportamiento puede ayudar a la disminución de las poblaciones de *T. tabaci* hacia el final del ciclo de cultivo. Según CRANSHAW (2008), los depredadores ejercen poco control al principio del ciclo del cultivo, cuando los trips se encuentran protegidos en la base de las hojas; posteriormente, cuando el crecimiento se detiene y la zona del cuello queda más abierta, los depredadores son mucho más eficientes y pueden promover un control más eficaz.

Los resultados obtenidos muestran la riqueza de fauna útil presente en el cultivo de la cebolla en la principal zona productora de España. Sin embargo, los niveles poblacionales detectados señalan que, a corto plazo, no parece que el control natural sea capaz de disminuir las poblaciones de *T. tabaci* hasta niveles que no causen daños o pérdidas en la producción en el cultivo de la cebolla, coincidiendo con LACASA Y LLORENS (1996) y TORRES-VILA *et al.* (1994).

Es importante tener en cuenta que el control químico con productos de amplio espectro impide el establecimiento de depredadores (CRANSHAW, 2008). Por tanto, es necesario

ser cuidadoso con los productos fitosanitarios que se apliquen, para evitar la mortalidad de

dicha fauna útil y favorecer el establecimiento de la misma.

ABSTRACT

MONREAL MONTOYA, J.A., MUÑOZ GÓMEZ, R.M., LERMA TOBARRA, M.L., CASTILLO ORTIZ, P., GRANDA WONG, C.A. 2012. Study on the population levels of *Thrips tabaci* Lind. (Thysanoptera: Thripidae) and its natural enemies in onion crops in Albacete. *Bol. San. Veg. Plagas*, **38**: 281-289

A study on the population levels of *Thrips tabaci* and its natural enemies in onion crops has been carried out. From June to September 2009, samples were taken every 15 days from two fields in the Province of Albacete. A member of the thysanoptera, *Aeolothrips intermedius*, was found to be the most abundant natural enemy of *Thrips tabaci*. In addition, individuals belonging to the orders *Araneae*, *Thysanoptera* (*Aeolothrips* spp), *Neuroptera* (*Chrysoperla* sp.), *Hemiptera* (*Orius* sp., *Nabis* sp., *Deraeocoris* sp., *Geocoris* sp.) and *Coleoptera* (*Carabidae*, *Staphylinidae*, *Coccinellidae*) were also encountered.

Key words: onion thrips, biological control.

REFERENCIAS

- ALLEN, J.K.M., SCOTT-DUPREE, C.D., TOLMAN, J.H., HARRIS, C.R. 2005. Resistance of *Thrips tabaci* to pyrethroid and organophosphorous insecticides in Ontario, Canada. *Pest Management Science*, **61**: 809-815.
- CÓRDOBA SELLÉS, C., MARTÍNEZ PRIEGO, L., MUÑOZ GÓMEZ, R.M., LERMA TOBARRA, M.L., JORDÁ GUTIÉRREZ, C. 2005. Iris yellow spot virus (IYSV): nuevo virus en el cultivo de la cebolla en España. *Bol. San. Veg. Plagas*, **31**: 425-430.
- CRANSHAW, W. S. 2008. Thrips. En: Compendium of Onion and Garlic Diseases. APS Press. St. Paul, Minnesota (USA). 89-91pp.
- EDELSON, J.V., CARTWRIGHT, B., ROYER, T. 1989. Economics of Controlling Onion Thrips (*Thysanoptera: Thripidae*) on Onions with Insecticides in South Texas. *Journal of Economic Entomology*, **82** (2): 561-564.
- GARCÍA MORATO, M. 2003. *Plagas, enfermedades y fisiopatías del cultivo de la cebolla en la Comunidad Valenciana*. Conselleria de Agricultura, Pesca y Alimentación. 111 pp.
- HSU, C.L., HOEPTING, C.A., FUCHS, M., SHELTON, A.M., NAULT, B.A. 2010. Temporal dynamics of iris of yellow spot virus and its vector, *Thrips tabaci* (*Thysanoptera, Thripidae*), in seeded and transplanted onion fields. *Environmental Entomology*, **39** (2): 266-277.
- JACAS, J.A., URBANEJA, A., GARCÍA-MARÍ, F. 2008. Artrópodos depredadores. En: *Control biológico de plagas agrícolas*. Ed. Phytoma España. Valencia. 39-56 pp.
- KRITZMAN, A., LAMPEL, M., RACCAH, B., AND GERA, A. 2001. Distribution and transmission of Iris yellow spot virus. *Plant Dis.* 85:838-842.
- LACASA, A., SÁNCHEZ, J.A., LACASA, C.M. 2008. Control biológico de trips. En: *Control biológico de plagas agrícolas*. Ed. Phytoma España. Valencia. 179-198 pp.
- LACASA, A., LLORENS, J.M. 1996. *Trips y su control biológico*. Vol. I. Ed. Pisa Ediciones. Alicante. 218 pp.
- LACASA, A., LLORENS, J.M. 1998. *Trips y su control biológico*. Vol. II. Ed. Pisa Ediciones. Alicante. 312 pp.
- MAGRAMA, 2010. Anuario de Estadística Agraria. MAGRAMA (online). http://www.magrama.gob.es/estadistica/pags/anuario/2010/AE_2010_13.pdf (fecha de acceso: 16 abril 2012)
- MARTIN, N.A., WORKMAN, P.J. Y BUTLER, R.C. 2003. Insecticide resistance in onion thrips (*Thrips tabaci*) (*Thysanoptera: Thripidae*). *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science* **31**: 99-106.
- TORRES-VILA, L.M., LACASA, A., BIELZA, P., MECO, R. 1994. Dinámica poblacional de *Thrips tabaci* Lind (*Thysanoptera, Thripidae*) sobre liliáceas hortícolas de Castilla La Mancha. *Bol. San. Veg. Plagas*, **20** (2): 661-677.

(Recepción: 24 abril 2012)

(Aceptación: 29 octubre 2012)

Eficacia del trapeo masivo en el control de la mosca del olivo *Bactrocera oleae* (Diptera: Tephritidae): determinación del daño al fruto y de la pérdida económica en cantidad y calidad del aceite

A. ALONSO MUÑOZ, F. GARCIA MARÍ

En una parcela de olivo situada en Lliria (Valencia) analizamos en 2011 el funcionamiento y valoramos la eficacia del trapeo masivo como método de control de la mosca del olivo *Bactrocera oleae* (Gmelin), determinándose el momento del año en que se producen los daños a los frutos y el nivel que alcanzan, así como la pérdida económica en producción y calidad en la cosecha. Se ha empleado una combinación de trampas Olike y Ecotrap®, instalando 200 trampas/ha (una trampa por árbol de cada tipo). Se comparó el daño en la parcela de trapeo masivo con el observado en parcelas vecinas en que se controló la plaga de forma convencional con plaguicidas. El porcentaje de frutos picados se incrementó de forma gradual entre julio y diciembre. En el momento de la recolección, en diciembre, se llega al 67,3% de frutos picados. En promedio se obtuvieron por árbol 1,7 litros de aceite del 0,8% de acidez de los frutos de la parte aérea y 1,2 litros de aceite del 5,7% de acidez de los frutos caídos al suelo. Las pérdidas en valor económico debidas a *B. oleae* fueron próximas al 10% en cantidad y del 25% en calidad del aceite. Las trampas actúan frenando el avance de la población de adultos de *B. oleae* del exterior al interior de la zona protegida, reduciendo las capturas entre trampas contiguas en cerca del 40%, lo que resultó insuficiente dada la escasa superficie protegida. En 16 parcelas vecinas el porcentaje de frutos picados osciló entre un mínimo del 72% y un máximo del 100%, con una media del 91%. En la parcela de trapeo masivo hubo un 25% menos de frutos picados por *B. oleae*. Se concluye que el trapeo masivo requiere de su instalación en grandes superficies de forma homogénea para funcionar con eficacia.

A. ALONSO MUÑOZ, F. GARCIA MARÍ. Instituto Agroforestal Mediterráneo, Universidad Politécnica de Valencia. Camino de Vera, 14. 46022-Valencia. fgarciam@eaf.upv.es.

Palabras clave: trampas, atrayentes, Olike, Ecotrap®.

INTRODUCCIÓN

Bactrocera oleae (Gmelin) (Diptera: Tephritidae) es la plaga clave del cultivo del olivo (Figura 1). Las pérdidas en la producción causadas por la plaga, en periodos y localizaciones con condiciones favorables de alta densidad poblacional donde no han sido tomadas medidas de control, pueden llegar al 80-90% en cultivares para aceite y al 100% en cultivares de mesa (KAPATOS y

FLETCHER, 1984; BROUMAS *et al.* 2002). Sin embargo, cuando las medidas de control son aplicadas de forma usual las pérdidas varían entre 5-40% (HANIO TAKIS, 2003; TEDESCHINI y STAMO, 2004). Se estima un daño medio anual sobre la producción mundial del olivar de aproximadamente 800 millones de euros según el IOOC (International Olive Oil Council) (QUESADA *et al.*, 2008).

RUIZ TORRES (2009) advierte que en España hay comarcas olivereras que son muy proclives



Figura 1. Hembra adulta de *Bactrocera oleae* sobre una trampa amarilla

a albergar altas poblaciones de mosca todos los años por tener veranos frescos y otras circunstancias ambientales, como es el caso de la Sierra de Segura (Jaén) donde por ejemplo en el año 2008 el porcentaje medio de aceituna picada fue del 70%. También es muy elevada la incidencia de este díptero en zonas de clima benigno como la comarca del río Guadalhorce (Málaga) o el Baix Ebre (Tarragona).

Los daños pueden ser directos, por disminución del peso y rendimiento de la cosecha, del 5% al 25% (KAPATOS y FLETCHER, 1980; MICHELAKIS y NEUENSCHWANDER, 1982), e indirectos, por deterioro de las características organolépticas del aceite, sobre todo a causa del aumento de la acidez debida a los hongos y bacterias que se desarrollan en el interior de las galerías de la mosca dentro de la aceituna. El orificio de salida de la larva o adulto del insecto, e incluso la misma herida de la picadura, es vía de entrada de estos microorganismos que entran en contacto con los frutos atacados (Figuras 2 y 3). Muchos de ellos caen al suelo, donde siguen contaminándose (TORRES VILA *et al.*, 2003). La mayor parte del fruto dañado por *B. oleae* cae al suelo antes de la recolección, siendo necesaria su recogida manual y esto implica un gasto adicional, que depende del número de frutos en el suelo (MONTIEL y MADUEÑO, 1995b) (Figura 4).

Según ALDEBIS y VARGAS (2003) *B. oleae* puede pasar el invierno en todos los estados de desarrollo, aunque predomina el de pupa

enterrada a 3-8 cm de profundidad según textura del terreno, al pie de los olivos. Con menor frecuencia puede invernar en estado adulto en sitios resguardados. A principios de primavera (marzo-abril) aparecen los adultos que emergen de las pupas invernantes que, junto con los ya existentes, se alimentan de sustancias azucaradas y proteicas necesarias para su madurez sexual (polen y néctar de flores, melazas de excreciones de hemípteros, exudados por lesiones o picaduras de frutos, excrementos de aves y otros animales). A los pocos días de la cópula empieza la puesta de huevos en los frutos. La hembra deposita un solo huevo en cada postura, aunque con oscilaciones muy variables de unos años a otros (JIMÉNEZ *et al.*, 1994). Una hembra puede



Figura 2. Aceitunas con la lesión producida por la hembra de *Bactrocera oleae* al realizar la puesta



Figura 3. Daños producidos por larvas de *Bactrocera oleae* en frutos



Figura 4. Caída de frutos en cosecha como consecuencia del daño por *Bactrocera oleae*

poner más de 200 huevos en total y unos 12 huevos al día según RUIZ CASTRO (1948).

GÓMEZ CLEMENTE y BELLOD (1951) observaron que las variedades de olivo tempranas son atacadas por la mosca antes que las tardías y señalaron algunas indicaciones de carácter cualitativo sobre resistencia varietal. En verano la hembra tiene preferencia por los frutos más desarrollados, con un tamaño mínimo de unos 8 mm, que suele coincidir con el endurecimiento del hueso en la mayoría de variedades (ALDEBIS y VARGAS, 2003). En condiciones de campo *B. oleae* tiene preferencia por picar frutos de variedades con mayor calibre, siendo menos infestados los frutos de menor tamaño (BURRACK y ZALOM, 2008). Las aceitunas picadas se reconocen fácilmente por la pequeña herida hecha por el oviscapto, aunque en algunos casos la hembra realiza picaduras de prueba sin depositar huevo (Figura 2).

CROVETTI *et al.* (1987) determinan que el número de grados días necesario para completar el ciclo de huevo a adulto es de 379. El tiempo de cada generación oscila desde 32 a 143 días dependiendo de la temperatura (ALDEBIS y VARGAS, 2003). El número de generaciones anuales puede variar entre dos y cinco

potenciales según ARMENDÁRIZ *et al.* (2009). El periodo de receptividad del fruto es muy amplio, lo que facilita la oviposición de los adultos originados de las pupas invernantes, y el estado larvario puede desarrollarse desde principios de julio hasta pasado el periodo de recolección, en abril del año siguiente (JIMÉNEZ *et al.*, 1994). Los adultos en sus primeras generaciones pican los frutos receptivos que se encuentran en las variedades tempranas, por lo que éstas son más afectadas al principio; en cambio en las generaciones últimas la mosca pica en mayor medida los frutos de variedades tardías porque se conservan más tiempo verdes (RODRÍGUEZ y BALLESTER, 1990). La recolección tardía tiene un efecto multiplicador sobre la población de mosca ya que conlleva un incremento de las picadas y por lo tanto más generaciones de mosca (DUATIS y PEDRET, 1997). CIRIO y CALVITTI (2005), en un estudio plurianual en Italia, registran de media 2,5 generaciones en las variedades precoces y 1,5 en la tardía, iniciándose la infestación en esta última 35 días después que en las primeras.

La mosca del olivo se puede mantener en niveles poblacionales apreciables en situaciones de escasez de hospedante debido a la

gran longevidad y supervivencia del adulto, de hasta un año de vida según ARAMBOURG (1978) y de ocho a nueve meses según TORRES VILA *et al.* (2006). En California los adultos pueden vivir más de seis meses, dependiendo de la disponibilidad de alimento y temperatura, refugiados en otras especies de árboles (RICE, 2000; YOKOYAMA *et al.*, 2006).

El control de esta plaga se realiza habitualmente con plaguicidas. Estos tratamientos tienen el problema de los residuos del insecticida en el fruto o aceite, la toxicidad para los aplicadores y la contaminación ambiental que producen. Dentro del plan nacional de la mosca del olivo por medio de la red *Dacus* se estudian las poblaciones naturales de *B. oleae*, información útil para determinar el riesgo de ataque de la plaga. En trampas McPhail con fosfato biamónico y amarillas pegajosas con feromona se recogen datos de capturas de adultos y se observan también frutos para calcular el número de frutos picados, que junto a factores climáticos y fenológicos son fundamentales para precisar el momento óptimo de tratamiento y umbrales (MONTIEL y MORENO, 1982; MONTIEL y MADUEÑO, 1995a). En California la actividad de los adultos se estudia con trampas amarillas más feromona y con trampas McPhail cebadas con la levadura alimenticia torula (BURRACK *et al.*, 2011), y en Grecia se utilizan las trampas de cristal Elkophon® con atrayente Entomela® (QUE-SADA *et al.*, 2008). Según CIVANTOS y JIMÉNEZ (1994) para aplicar un tratamiento insecticida contra la mosca del olivo se debe alcanzar un índice poblacional de una mosca por trampa y día (mtd) en mosqueros cebados con fosfato biamónico, junto a otras condiciones. Generalmente se tolera un nivel de daño del 10% de frutos afectados por *B. oleae*.

El desarrollo del trapeo masivo (en adelante TM) como método alternativo al uso de insecticidas contra *B. oleae* ha sido posible gracias a la disponibilidad de trampas y atrayentes potentes (BROUMAS *et al.*, 2002). El TM es un método de control preventivo que consiste en la instalación de gran cantidad de

trampas con atrayentes en las parcelas, que reducen de forma acusada la población de adultos de *B. oleae* y por tanto los daños. En muchos casos los adultos son capturados en trampas con un recipiente y mueren al poco tiempo. Las trampas de atracción y muerte (Attract and Kill, A&K) son un caso particular de trampas con atrayentes impregnadas a su vez de un insecticida, de forma que los adultos que acuden hacia ellas entran en contacto con el insecticida y mueren en las 24 horas posteriores sin ser capturados (TOMAZOU *et al.*, 1995). La mayoría de estudios de TM en el área mediterránea se han realizado con trampas A&K (BROUMAS *et al.*, 2002; MAZOMENOS *et al.*, 2002; PETACCHI *et al.*, 2003; TEDESCHINI y STAMO, 2004; RIZZI *et al.*, 2005; CALECA *et al.*, 2007; BJELIS, 2009; TSOLAKIS *et al.*, 2011), aunque también se han ensayado otros tipos de mosqueros y atrayentes, diferentes a las trampas A&K, que capturan a las moscas en dispositivos de diversos tipos (ZERVAS, 1982; ALTOLAGUIRRE *et al.*, 2003; RUIZ TORRES *et al.*, 2010).

Para que el TM resulte eficaz las trampas deben colocarse a una elevada densidad, en extensas superficies de olivo y desde antes del inicio de picadas en fruto (junio) hasta la recolección (diciembre). La emisión de atrayentes en el difusor debe tener una persistencia de al menos seis meses en las condiciones de campo para ser eficaz (BROUMAS *et al.*, 2002).

BROUMAS *et al.* (2002) destacan las ventajas de las trampas A&K en comparación con los tratamientos convencionales para el ecosistema del olivar ecológico, ya que se reduce mucho la cantidad de insecticida usada. TEDESCHINI *et al.* (2003) indican que la técnica del TM con A&K en olivo con una trampa por árbol equivale a cinco tratamientos cebo terrestres con insecticidas; sin embargo en años con niveles de plaga alto hay que combinar los dos métodos para conseguir una protección adecuada, obteniendo mejores resultados en parcelas aisladas. Según BROUMAS *et al.* (2002) el coste del sistema A&K era algo mayor que el sistema tradicional con pulverizaciones

cebo terrestres aunque con la extensión de su uso se conseguiría una considerable reducción económica. En España, la CAPA (2011) realizó ensayos con trampas A&K en cuatro zonas representativas del olivar valenciano a razón de 100 trampas/ha (Magnet® Oli) y obtuvieron eficacias desiguales. En algún caso de fuerte ataque de mosca y en variedades muy susceptibles el TM no fue suficiente para asegurar una buena protección en la cosecha, pero en general se consiguió evitar o disminuir la aplicación de insecticidas en todas las zonas. Actualmente el método de TM con A&K en olivo no suele aplicarse en nuestro país debido a su elevado coste.

También se han empleado para el control de la mosca del olivo con TM las trampas caseras tipo Olipe cebadas con fosfato biamónico que destacan por su simplicidad y bajo coste económico, 0,12 €/unidad (ALTO-LAGUIRRE *et al.*, 2003), además de su mayor facilidad de preparación y eficacia (DUATIS *et al.*, 2006) (Figura 5), así como las placas cromáticas engomadas con o sin atrayente (ECONOMOPOULOS, 1979).

El objetivo de este trabajo es analizar el funcionamiento y valorar la eficacia del TM para el control de la mosca del olivo en las condiciones del olivar valenciano. Para ello compara el daño en la parcela de TM con el observado en las parcelas vecinas en que se

ha controlado la plaga de forma convencional con plaguicidas.

MATERIAL Y METODOS

Diseño experimental

El experimento se llevó a cabo en una parcela de 0,5 ha con 79 olivos (variedad Villalonga) de 13 años de edad (4 m de diámetro de copa), con un marco de plantación de 7x6 m, situada en el término municipal de Lliria (comarca “Camp de Turia”) (latitud 39° 43’ 13,07” N, longitud 0° 40’ 33,26 W, altitud 340 m). El olivar se desarrolla en régimen de regadío a goteo y se encuentra en una zona de clima litoral mediterráneo semiárido donde el olivo es el cultivo mayoritario, intercalándose con almendros, algarrobo, vid y cítricos. En concreto la parcela de ensayo está rodeada de otras plantaciones de olivo. Las prácticas culturales aplicadas son las recomendadas por la norma de producción integrada en olivar en la Comunidad Valenciana (DOGV, 2002) con poda anual y fertirrigación habitual. No se aplicaron los tratamientos fitosanitarios de cobre y dimetoato habituales en la zona para no interferir en la experiencia.

Se aplicó la técnica de captura masiva de adultos contra *B. oleae* instalando dos tipos de trampas a razón de una trampa por árbol de cada tipo, desde el 15 de julio de 2011 hasta el 15 de mayo de 2012. Se instalaron trampas A&K Ecotrap® (Vioryl S.A., Grecia) comercializadas por Probodelt S.A. (España), que se componen de un envoltorio de papel color verde (15x20 cm) conteniendo un atrayente alimenticio (bicarbonato amónico 99,8%), impregnado externamente de insecticida (deltametrina 0,02%) y un dispensador de feromona sexual de machos (espiroacetato 0,1%). Se han colocado una en cada árbol y orientadas al sur, a 1,5 m de altura. Se instalaron también trampas tipo Olipe, botellas reutilizables de agua mineral de 1,5 l de plástico tipo PET transparente y forma cilíndrica (32x9 cm), en las que se practicaron 4 agujeros de 1 cm de diámetro a dos tercios de su altura, rellenando-



Figura 5. Disposición de las trampas Olipe en la parcela de ensayo

se hasta 4 cm por debajo de los agujeros con una disolución de fosfato biamónico cristalizado (producto técnico 21-53-0, $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$, Prayon S.A., Bélgica) en agua al 4%, que actúa de cebo alimenticio (en adelante DAP). Su disposición ha sido de la misma forma que el caso anterior, una en cada árbol y orientadas al sur, a 1,5 m de altura, y separada al menos un metro de la otra trampa (Figura 5).

Además de las dos trampas anteriores, se colocó en diez árboles un tercer tipo de trampa cromática engomada ColorTrap® (Kollant) de dimensiones 40x20 cm, sin atrayentes químicos, con efecto atractivo del color amarillo únicamente y un matiz específico para capturar mosca del olivo. Su disposición en la parcela fue de cinco en árboles exteriores de la periferia (separadas 30-40 m) y otras cinco en árboles del centro de la parcela (separadas 6-7 m).

La renovación o relleno del atrayente alimenticio (DAP) en las trampas Olipe y el repaso con el pegamento en spray Tangle-trap® (Tanglefoot Co, USA) en las trampas amarillas se realizó cada dos semanas. En el caso de las trampas A&K no fue necesario ningún mantenimiento durante todo el periodo de ensayo.

El análisis de la variación espacial de las capturas se ha realizado considerando las capturas de las trampas Olipe situadas en cada árbol de la parcela. Se han comparado las capturas medias de todas las trampas situadas en el perímetro de trampas exterior de la parcela (a la que denominamos la capa externa, considerando como capa una fila perimetral de árboles), con las capturas medias de las dos capas de trampas situadas hacia el interior de la parcela (la capa intermedia y la capa interna).

Toma de datos

El recuento de las moscas capturadas en todas las trampas que formaban el sistema de trapeo masivo se realizó con periodicidad mensual. En las trampas Olipe se filtraba el líquido atrayente en un colador de malla 2x2

mm y se contaban las capturas (Figura 6). Las trampas amarillas se reemplazaban en cada muestreo por otras nuevas. Se diferenció entre machos y hembras en toda la muestra o en una parte proporcional cuando las capturas eran abundantes, y se anotó también la presencia de otros artrópodos no objetivo en los dos tipos de trampas.



Figura 6. Capturas de adultos de *Bactrocera oleae* en una trampa Olipe

La valoración de los frutos infestados en la parcela de ensayo se ha hecho de dos formas, con una observación mensual, desde julio a noviembre, y con otra final en el momento de la recolección, en diciembre. En el primer caso, cada mes de julio a noviembre se eligieron al azar 10 árboles de la parcela y se recogieron también al azar 20 frutos por árbol de la copa y otros 20 del suelo en el caso de que los hubiera, dando así una muestra total de 200 frutos de la copa y, en su caso, 200 frutos del suelo. Además, para determinar el porcentaje total de frutos picados por árbol cada mes (teniendo en cuenta que el porcentaje de frutos picados era distinto en los frutos de la copa y en los del suelo) se realizó una evaluación mensual del número de frutos por árbol en el suelo en un árbol representativo de la parcela, obteniéndose el porcentaje mensual de frutos caídos cuando se contó en ese árbol el número total de frutos en la cosecha en diciembre.

Las muestras de 200 frutos convenientemente identificadas se llevaron al laboratorio, donde se contaron los aparentemente sanos (sin síntomas) y los picados (con síntomas). Todos los frutos aparentemente sanos se colocaron en evolucionarios durante siete días, por si aparecía alguno más con síntomas. Los frutos con síntomas se observaron uno a uno bajo la lupa binocular, apuntando el estadio del insecto o tipo de infestación (picadura, huevo, larva, pupa y exuvio pupal). Cuando un fruto presentaba más de un estadio se consideraba el más avanzado.

Al final de la experiencia se hizo un último muestreo de frutos que coincidió con la recolección, durante la primera semana de diciembre. La recolección se efectuó de forma manual, recogiendo y pesando por separado en cada uno de los 79 árboles de la parcela la totalidad de los frutos de la copa y del suelo.

De cada grupo de frutos de la copa o el suelo de cada árbol se tomaron 100 frutos al

azar, que se trasladaron inmediatamente al laboratorio. Allí, cada grupo se separó en dos, frutos con síntomas y frutos sin síntomas de plaga. Se pesó y contó el número de frutos de cada grupo. De nuevo los frutos aparentemente sanos se dejaron siete días en evolucionario por si alguno de ellos manifestaba síntomas, en cuyo caso se incorporaba a los frutos con síntomas.

Para la determinación de la calidad del aceite se tomaron muestras representativas de frutos, 1 a 2 kg de cada uno de los cuatro tipos de frutos en el momento de la cosecha (sanos de la copa, con síntomas de la copa, sanos del suelo y con síntomas del suelo), con tres repeticiones en cada caso correspondientes a tres zonas iguales en que se dividió la parcela de ensayo (Figura 7). La determinación organoléptica del aceite obtenido se realizó para las doce muestras de frutos en dos laboratorios simultáneamente, el Departamento de Tecnología Alimentos de la Universitat



Figura 7. Aspecto de los cuatro tipos de frutos que se contaron y analizaron en la cosecha. (A) frutos sanos de la parte aérea del árbol. (B) frutos picados de la parte aérea del árbol. (C) frutos sanos del suelo. (D) frutos picados del suelo

Politécnica de Valencia y el Servei d'anàlisi Agroalimentari de la Conselleria de Agricultura de la Generalitat Valenciana. En ambos laboratorios se determinaron los porcentajes de aceite (sobre muestra fresca), de humedad y de acidez (grado de ácido oleico) siguiendo la metodología habitualmente empleada en dichos laboratorios. Los resultados, que fueron muy similares, se han expresado como media de los dos análisis realizados.

Para el estudio comparativo de los daños en la cosecha entre la parcela de ensayo (donde se realizó el TM) y las parcelas colindantes (en que se empleó el tratamiento convencional con insecticidas a criterio del agricultor, que consistía en varios pases de pulverización total en turboatomizador con dimetoato al 0,15%) se seleccionaron 16 fincas de olivo vecinas que se encontraban en un radio de 400 m, con orografía, variedad de olivo y prácticas de cultivo similares. Durante la primera semana de diciembre se eligieron tres árboles al azar del centro de cada una de las parcelas y en ellos se hizo un único muestreo de 200 frutos por parcela (100 de la copa y 100 del suelo). En el laboratorio, cada muestra se separó en frutos aparentemente sanos (sin síntomas) y picados (con síntomas). Se contaron los frutos en cada caso y a continuación se pesaron. Posteriormente, los frutos aparentemente sanos se dejaron evolucionar por si se observaban síntomas durante siete días en evolucionario, rectificando en su caso. La cosecha total de cada parcela, por separado para frutos de la copa y para frutos del suelo, la obtuvimos de los datos proporcionados por el agricultor.

Análisis estadístico

Los valores medios obtenidos se han expresado en todos los casos acompañados de su error estándar. Para la comparación de capturas de adultos de *B. oleae* y del porcentaje de frutos picados entre capas perimetrales de trampas/árboles se ha realizado un análisis de varianza simple, con las capturas en cada trampa o el porcentaje de frutos dañados en cada árbol como repetición. El porcentaje de reducción de capturas entre capas de trampas externas, intermedias

o internas se ha comparado entre meses con un análisis de varianza factorial, con los factores mes (a diez niveles, los diez meses comparados) y capa (a tres niveles, las tres capas). La calidad del aceite se comparó entre los cuatro tipos de frutos según sus orígenes (sanos de la copa de árbol, sanos del suelo, picados de la copa del árbol y picados del suelo) mediante un análisis de varianza simple para los porcentajes de aceite, de humedad y de acidez. A los porcentajes se les aplicó la transformación angular antes del análisis. Las medias se han comparado en todos los casos por el test de mínima diferencia significativa.

RESULTADOS

Evolución estacional del insecto y de los daños

La abundancia de adultos de *B. oleae* en la parcela se incrementa de agosto a octubre, reduciéndose posteriormente en invierno. A la salida del invierno, en marzo-abril, se observa un nuevo incremento. En el máximo de octubre se alcanzan niveles próximos a cuatro moscas por trampa y día (mtd) y en el máximo de marzo llega a 2 mtd (Figura 8A). Según estudios anteriores, *B. oleae* presenta normalmente un máximo de captura de adultos en septiembre-octubre, tanto en España (GARCÍA ROJAS *et al.*, 2001; TORRES VILA *et al.*, 2006; ARMENDÁRIZ *et al.*, 2009; BEITIA, *et al.*, 2010; JUNTA ANDALUCÍA, 2010) como en otros países (BURRAK *et al.*, 2011; GONÇALVES *et al.*, 2005; PEROVIC *et al.*, 2009; LOPES *et al.*, 2010) y según algunos autores se observa otro máximo en primavera, en marzo-abril (DELRIO y CAVALLORO, 1977; RASPI *et al.*, 2005; TORRES VILA *et al.*, 2006; YOKOHAMA *et al.*, 2006; ARMENDÁRIZ *et al.*, 2009; BURRAK *et al.*, 2011), descendiendo la densidad poblacional desde mayo a agosto (MAZOMENOS *et al.*, 2002).

En nuestra parcela de TM, la proporción de hembras en los adultos capturados oscila ligeramente a lo largo del periodo de muestreo y en ambos tipos de trampas, desde el 23% en septiembre al 52% en enero, con una

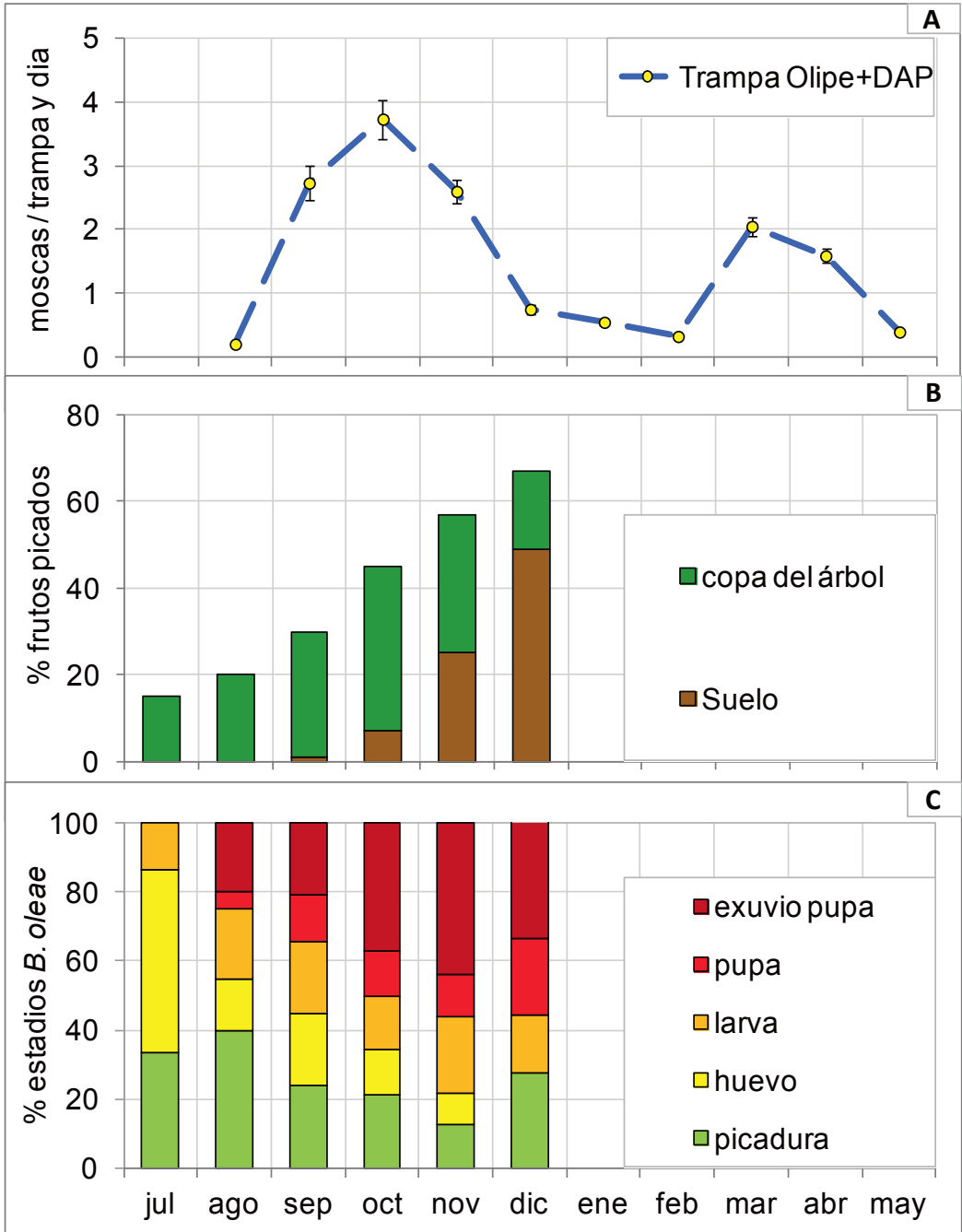


Figura 8. Evolución estacional de la población y los daños de mosca del olivo *Bactrocera oleae* en la parcela de ensayo en Valencia entre julio de 2011 y mayo de 2012. (A) Capturas de adultos en trampas Olipe con DAP. Valores medios de 79 trampas. La línea vertical indica el error estándar. (B) Porcentaje de frutos picados hasta la recolección. Para frutos de la copa se muestrearon 10 árboles al azar, para frutos del suelo se muestreó un árbol representativo. (C) Distribución de estadios de *B. oleae* en los frutos infestados de la copa del árbol

media anual del 37%. Proporciones parecidas de hembras encontraron otros autores que utilizaron diferentes tipos de trampas, obteniendo mayor porcentaje de hembras en invierno y principios de primavera (JIMÉNEZ *et al.*, 1994; KATSOYANNOS y KOULOSSIS, 2001; ALTOLAGUIRRE *et al.*, 2003; OLIVERO *et al.*, 2004; HANIOTAKIS, 2003; YOKOYAMA *et al.*, 2006).

El porcentaje de frutos picados aumenta progresivamente a lo largo de todo el periodo de muestreo, de julio a diciembre. En el momento de la recolección, en diciembre, se llega al 67,3% de frutos picados como media de todos los árboles de la parcela. Los frutos son picados de forma continua entre julio y diciembre y cada mes el porcentaje de frutos picados se incrementa entre el 5% y el 17%, sin tendencias estacionales definidas en este incremento (Figura 8B). Los frutos picados se encuentran casi todos en la copa del árbol hasta octubre, produciéndose una caída masiva de estos frutos picados al suelo en noviembre y diciembre. Los daños producidos por *B. oleae* en cada árbol fueron relativamente uniformes al comparar los 79 árboles de la parcela, con ocho árboles de alrededor del 50% de frutos con daños, 21 con el 60%, 26 con el 70% y 24 con el 80%. Según otros autores la puesta en frutos comienza de forma temprana cuando éstos aún son pequeños, iniciándose en general a final de junio o principios de julio (YOKOYAMA *et al.*, 2006; BJELIS, 2009; ZALOM *et al.*, 2009).

Los síntomas o estadios de desarrollo de *B. oleae* presentes en los frutos picados que se encuentran en la copa del árbol también evolucionan con el tiempo de forma muy acusada entre julio y diciembre. En julio casi todos los frutos picados de la copa tienen huevos o simplemente la incisión de la picada. En diciembre los frutos picados de la copa contienen casi exclusivamente exuvios de la pupa (Figura 8C). Entre estos dos extremos existe una evolución gradual en los meses intermedios desde fases iniciales hasta las últimas fases del desarrollo del insecto. SPERANZA *et al.* (2004) encuentran una evolución

similar en olivos de Italia. Por otra parte, más del 80% de los frutos picados caídos al suelo, que empiezan a ser abundantes desde octubre, contienen exuvios de pupas.

Estudios anteriores varían en la observación del momento en que se producen los daños. Algunos consideran que es septiembre y octubre, coincidiendo con el máximo del vuelo de adultos (NEUENSCHWANDER y MICHELAKIS, 1979; SPERANZA *et al.*, 2004; YOKOYAMA *et al.*, 2006; TSOLAKIS *et al.*, 2011), pero en otros casos se observa un incremento gradual a lo largo de todo el periodo de crecimiento y maduración del fruto (JIMÉNEZ *et al.*, 1994; BJELIS, 2009). Las altas temperaturas estivales pueden interrumpir temporalmente la puesta induciendo una diapausa reproductiva en las hembras (ALDEBIS y VARGAS, 2003; TZANAKAKIS, 2003; BJELIS, 2009). Desde el verano hasta la recolección las aceitunas que contienen larvas en su interior caen en doble cantidad que las aceitunas no infestadas y estas últimas van cayendo de forma natural al acercarse a la maduración (NEUENSCHWANDER y MICHELAKIS, 1978). Los frutos atacados por la generación estival de mosca del olivo se pierden totalmente, pero los frutos atacados por las generaciones otoñales sufren en su mayoría daños indirectos, tales como la pérdida de calidad de los aceites obtenidos y el encarecimiento de la recolección de los frutos caídos precozmente (MONTIEL y MADUEÑO, 1995a). Sin embargo, no siempre la mayoría de frutos atacados por *B. oleae* caen al suelo; en una experiencia realizada por MONTIEL y MADUEÑO (1995b) estos autores observan que la fracción media de aceituna atacada caída fue del 58,3% y la fracción media de aceituna sana caída (de forma natural por madurez del fruto) fue del 32,1%, por lo que el porcentaje de aceituna caída debido exclusivamente a mosca era del 39,6% de los frutos atacados.

TSOLAKIS *et al.* (2011) se refieren a infestación activa (frutos con huevos y larvas vivas) y pasiva (frutos con pupas vivas y muertas más agujeros de salida). Esta última es la responsable de la pérdida de calidad del aceite

ya que los agujeros de salida en los frutos son la vía de entrada de microorganismos que aumentan la acidez. Calculan un umbral del 25% de infestación pasiva para que la calidad del aceite se vea afectada. Sin embargo se pueden obtener aceites de calidad con altos porcentajes de infestación activa siempre que se recolecte anticipadamente, extrayendo el aceite antes de la pudrición.

Acción del trampeo masivo

En general, los resultados obtenidos en nuestra experiencia demuestran que, aunque existe gran variabilidad en la población de adultos capturados por trampa dentro de la parcela, se observa claramente un gradiente descendiente de población de moscas capturadas desde el exterior al interior de la parcela. De ello podemos deducir que el TM frena el avance de infestación de *B. oleae* creando un efecto borde. En las trampas amarillas, las capturas medias de los diez muestreos mensuales realizados (de agosto a mayo) en las cinco trampas situadas en los árboles del exterior de la parcela fue de 8,0 moscas por trampa y día (mtd), mientras que en las cinco trampas situadas en los árboles del interior fue de 3,4 mtd (Figura 9.1). Respecto a las trampas Olipe, las capturas medias de los mismos diez muestreos del perímetro exterior fue de 2,1 moscas por trampa y día (mtd), mientras que en la capa intermedia fue de 1,5 mtd y en la capa interior de 0,8 mtd (Figura 9.2). Ello implica que la población se reduce un 30% entre la primera y la segunda capa de trampas, y un 45% entre la segunda y la tercera, sin diferencias significativas entre ambos valores de reducción (ANOVA factorial; $F=4,23$; $P=0,0788$; g.l.= 1 y 7). El porcentaje de frutos picados por *B. oleae* también disminuye al comparar las tres capas perimetrales de árboles, aunque en mucha menor medida que en el caso de las capturas. Dicho porcentaje de daños es del 73% en los árboles externos de la parcela, y se reduce significativamente al 62% en los árboles más interiores (Figura 9.3). Ello representa una reducción media de daños entre capas contiguas próxima al 8%.

En general los diez muestreos mensuales realizados ofrecen reducciones de capturas de moscas entre capas contiguas de trampas parecidas, sin diferencias significativas entre meses. Globalmente, la reducción media de capturas de adultos de *B. oleae* entre capas es próxima al 40% (Figura 10). TSOLAKIS *et al.* (2011) encuentran también este efecto borde en la distribución de capturas cuando se aplica el TM en olivos de Sicilia, de forma que las trampas actúan frenando el avance de la población de adultos del exterior al interior de la zona protegida por trampas. COHEN y JUVAL (2000) en Israel utilizando el TM perimetral contra *Ceratitis capitata* demostraron que esta estrategia es válida dado que previene de la invasión de moscas desde el exterior hacia el interior de la parcela, aunque depende de la eficacia de los mosqueros utilizados.

Las capturas de otros artrópodos no objetivo en las trampas han sido poco importantes. Las mayores capturas se han observado en crisópidos (1,5 ejemplares de *Chrysopa* spp. por trampa y mes). Para el resto de fauna útil (coniopterígidios, dípteros sírfidos, himenópteros parasitoides, coccinélidos, arañas, abejas, avispas), la media de capturas ha sido inferior a un individuo por trampa y mes. La suma de todos los artrópodos anteriores juntos respecto al total de capturas de *B. oleae*, supone sólo un 2,5%. Otros autores indican también la inocuidad de las trampas de *B. oleae* frente a la mayoría de insectos beneficiosos y su bajo impacto ambiental respecto al control químico (RAGOISSIS, 2005; PORCEL *et al.*, 2009). Según SÁNCHEZ ESCUDERO *et al.* (2002), LUQUE y PEREDA (2003) y BEITIA *et al.* (2010) la incidencia de las trampas Olipe sobre la fauna auxiliar depende mucho de la zona olivarera y la presencia o no de cubierta vegetal espontánea.

Daños en cosecha

En los 79 árboles muestreados se han obtenido en el momento de la recolección 4.279 frutos en promedio por árbol, que equivalen a 14,3 kg por árbol (Cuadro 1). De ellos, solo el 32,7% de los frutos estaban sanos, sin sínto-

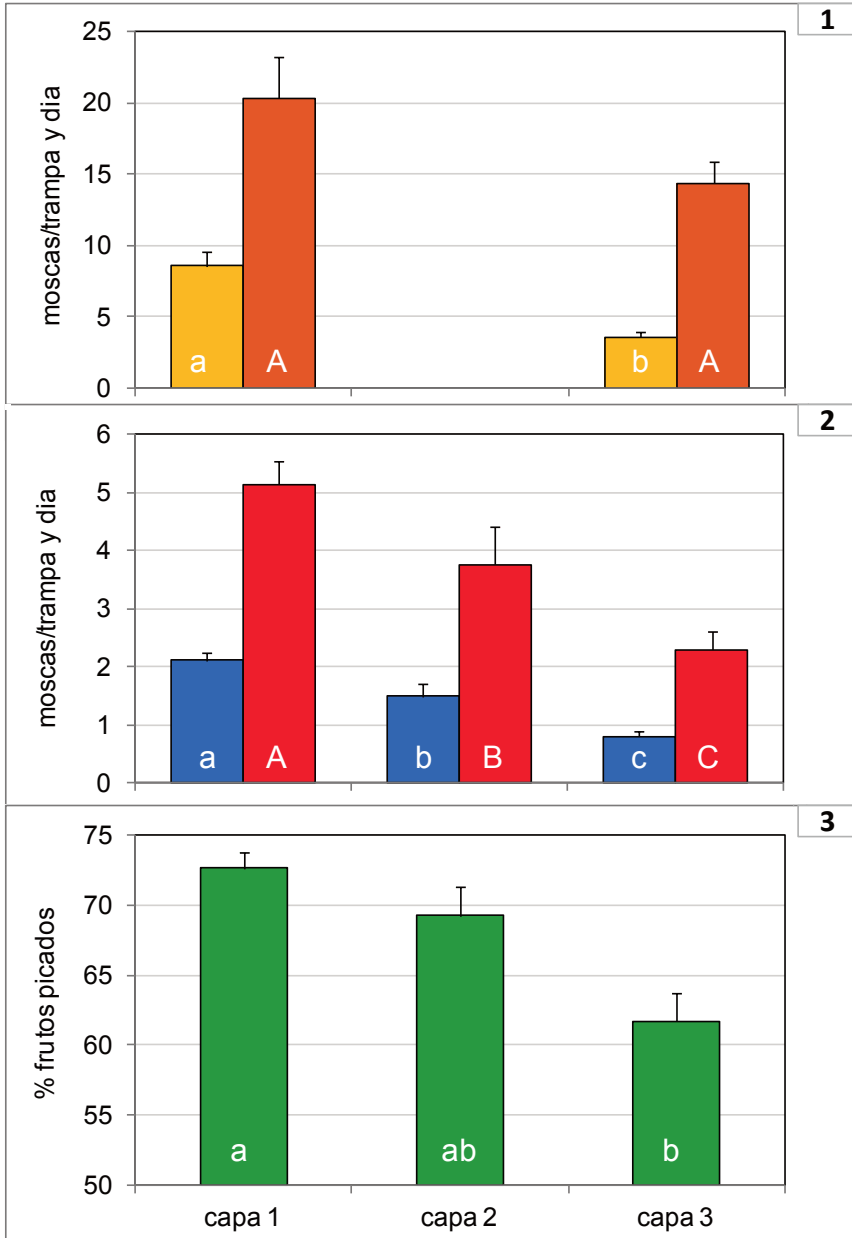


Figura 9. Comparación espacial de capturas y daños de la mosca del olivo *Bactrocera oleae* en la parcela de ensayo, considerando la capa perimetral exterior de árboles de la parcela (capa 1), la intermedia (capa 2) y la interior (capa 3). Capturas medias y máximas diarias por trampa en trampas amarillas (1) y en trampas Olipe con DAP (2), y porcentaje de frutos picados por árbol (3). En la misma figura, la letra común mayúscula (para máximas) o minúscula (para medias) indica que no existen diferencias significativas (ANOVA y test MDS; $P < 0,05$; Figura 9.1, para capturas máximas: $F = 3,4$; $P = 0,1025$; g.l. = 1, 8; para capturas medias: $F = 20,88$; $P = 0,0018$; g.l. = 1, 8; Figura 9.2, para capturas máximas: $F = 7,39$; $P = 0,0012$; g.l. = 2, 69; para capturas medias: $F = 11,52$; $P = 0,0001$; g.l. = 2, 69; Figura 9.3: $F = 11,26$; $P = 0,0001$; g.l. = 2, 69). Las líneas verticales indican error estándar

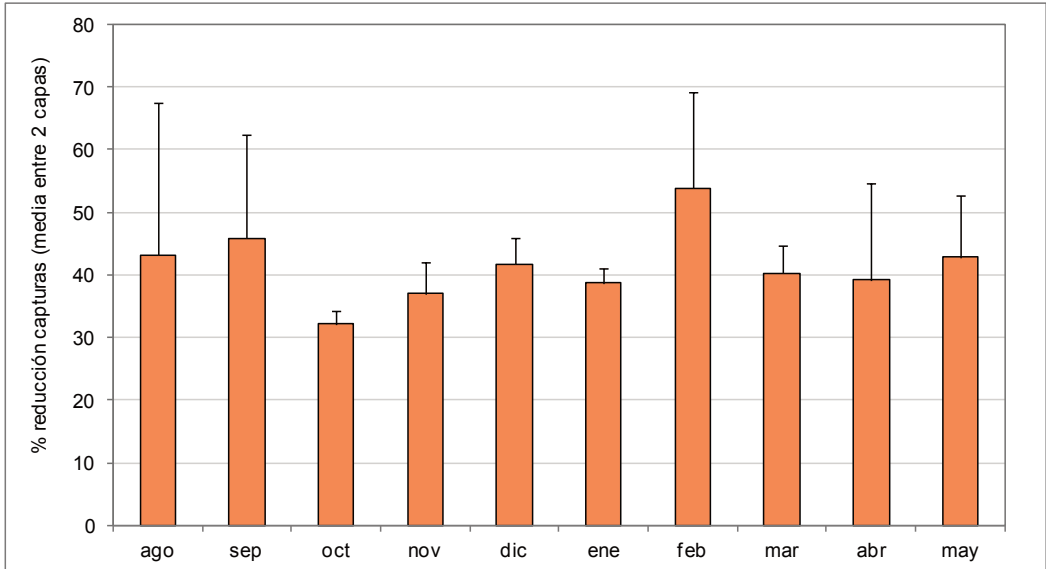


Figura 10. Reducción mensual de capturas de adultos de mosca del olivo *Bactrocera oleae* entre capas contiguas de trampas Olipe con DAP, del exterior al interior de la parcela, en la experiencia de trapeo masivo. Las líneas verticales indican el error estándar. No hay diferencias significativas entre meses (ANOVA factorial; F= 0,40; P= 0,8778; g.l.= 7 y 7)

Cuadro 1. Daños de la mosca del olivo *Bactrocera oleae* en la producción media por árbol y en la calidad del aceite. Se han considerado cuatro tipos de frutos, según se recogieran de la copa del árbol o del suelo, y que estuvieran sanos o picados por *B. oleae*. Valores en columna con la misma letra no difieren (ANOVA y test MDS; P < 0,05)

Origen del fruto	N° frutos/ árbol	%	Kg/ árbol	%	Grs/ fruto	% aceite	% humedad	% acidez	Litros aceite/ árbol
Copa del árbol sano	1.256 ± 119	29,4	5,04 ± 0,48	35,3	4,03 ± 0,06	18,4 ± 1,4 b	53,6 ± 1,3 a	0,55 ± 0,10 c	0,93
Copa del árbol picado	1.060 ± 98	24,8	3,78 ± 0,35	26,4	3,59 ± 0,06	19,3 ± 1,5 b	51,3 ± 0,6 a	1,18 ± 0,22 b	0,73
Suelo sano	140 ± 12	3,3	0,52 ± 0,04	3,6	3,72 ± 0,07	19,2 ± 1,4 b	51,3 ± 0,5 a	1,00 ± 0,10 b	0,10
Suelo picado	1.823 ± 93	42,6	4,96 ± 0,25	34,7	2,75 ± 0,05	22,9 ± 2,1 a	38,9 ± 2,0 b	6,15 ± 0,24 a	1,14
Total	4.279 ± 322	100,0	14,32 ± 1,12	100,0					2,90

mas ni daños por *B. oleae*. La gran mayoría de estos frutos sanos estaban en la copa del árbol. A su vez, el 67,3% restante de frutos estaban picados por *B. oleae*, de los cuales el 42,6% estaban en el suelo y el 24,8% se mantenían en la copa del árbol. El peso fresco del fruto es significativamente diferente según se encuentre en la copa o en el suelo y según sea sano o picado, de forma que los frutos de mayor peso corresponden a los sanos de la copa (4,03 gr) y los de menor peso a los picados en el suelo (2,75 gr) (ANOVA y test MDS; $F = 142$; $P < 0,01$; g.l. = 3 y 231). El contenido en aceite es de alrededor del 19%, excepto en los frutos picados del suelo en que es significativamente mayor, aproximándose al 23% (ANOVA y test MDS; $F = 16,3$; $P < 0,01$; g.l. = 3 y 17). Ello es debido a que estos frutos se encuentran más deshidratados (ANOVA y test MDS; $F = 33,3$; $P < 0,01$; g.l. = 4 y 17). La acidez, uno de los parámetros fundamentales de la calidad del aceite, es mucho mayor en los frutos picados del suelo, en que alcanza el 6,15%. El resto de frutos tienen valores mucho menores, correspondiendo el óptimo al fruto sano de la copa del árbol con el 0,55% de acidez (ANOVA y test MDS; $F = 127,9$; $P < 0,01$; g.l. = 5 y 17). Esto confirma que el factor fundamental para elevar la acidez no es sólo la proporción de frutos picados sino además el hecho de que éstos caen al suelo y allí transcurre un tiempo suficiente para que la lesión producida por *B. oleae* sea vía de entrada de microorganismos saprófagos (TORRES VILA *et al.*, 2003).

Globalmente obtenemos con estos datos una producción total por árbol de 2,9 litros de aceite del 2,9% de acidez. Si se considera por separado el fruto de la copa del árbol y el del suelo, que es lo que se realiza normalmente en la práctica, entonces obtenemos en promedio por árbol 1,7 litros de aceite del 0,8% de acidez de la copa del árbol y 1,2 litros de aceite del 5,7% de acidez del suelo. En ausencia de plaga, es decir, si suponemos que los árboles hubieran producido el mismo número de frutos y todos los frutos hubieran sido sanos, entonces habríamos obtenido 3,2 litros de aceite por árbol del 0,6% de acidez. Los resultados

obtenidos en esta parcela de TM muestran que, a pesar de los muy elevados niveles de frutos picados, las pérdidas reales en cantidad de aceite a causa de *B. oleae* fueron sólo del 9,4%. También DUATIS y PEDRET (1997) realizaron cálculos prácticos de las pérdidas de aceite por efecto de *B. oleae*, llegando al 10,1% comparando aceitunas sanas y picadas. La calidad del aceite obtenido se ha visto muy perjudicada, con un aumento del índice de acidez del 0,6% al 2,9%, y ello representa una pérdida económica (diferencia de precio entre aceite virgen extra y aceite lampante) de alrededor del 25% (POOLRED, 2012).

Para evaluar la eficacia del TM se ha realizado una comparación del porcentaje de frutos picados entre nuestra parcela de ensayo y un grupo de 16 parcelas situadas en la misma zona y de la misma variedad. Estas parcelas se agruparon según el número de tratamientos insecticidas realizados para el control de *B. oleae*, considerando tres grupos, parcelas sin tratamientos, parcelas con uno ó dos tratamientos, y parcelas con tres o cuatro tratamientos. El porcentaje de frutos atacados en la parcela de TM fue del 67,3%, mientras que en el conjunto de las parcelas vecinas fue del 91%, con escasas diferencias entre los tres regímenes de tratamientos considerados, oscilando en cada parcela vecina entre un mínimo del 72% y un máximo del 100% de fruto picado (Figura 11). Por tanto, a pesar del alto porcentaje de frutos picados, la parcela de TM ha tenido menos daños que cualquiera de las 16 vecinas con tratamientos convencionales, en promedio casi un 25% menos de daños.

El porcentaje de frutos picados que hemos encontrado en nuestra parcela de TM y en las parcelas vecinas ha sido elevado, pero se encuentra dentro del rango de los valores más altos que son generalmente reportados por otros autores dependiendo del año. Así, en Grecia el porcentaje de frutos picados oscila del 5% al 50% (KATSOYANNOS y KOULOSSIS, 2001; MAZOMENOS *et al.*, 2002; HANOTAKIS, 2005), en Italia del 20 al 100% (SPERANZA *et al.*, 2004; TSOLAKIS *et al.*, 2011), en Portugal

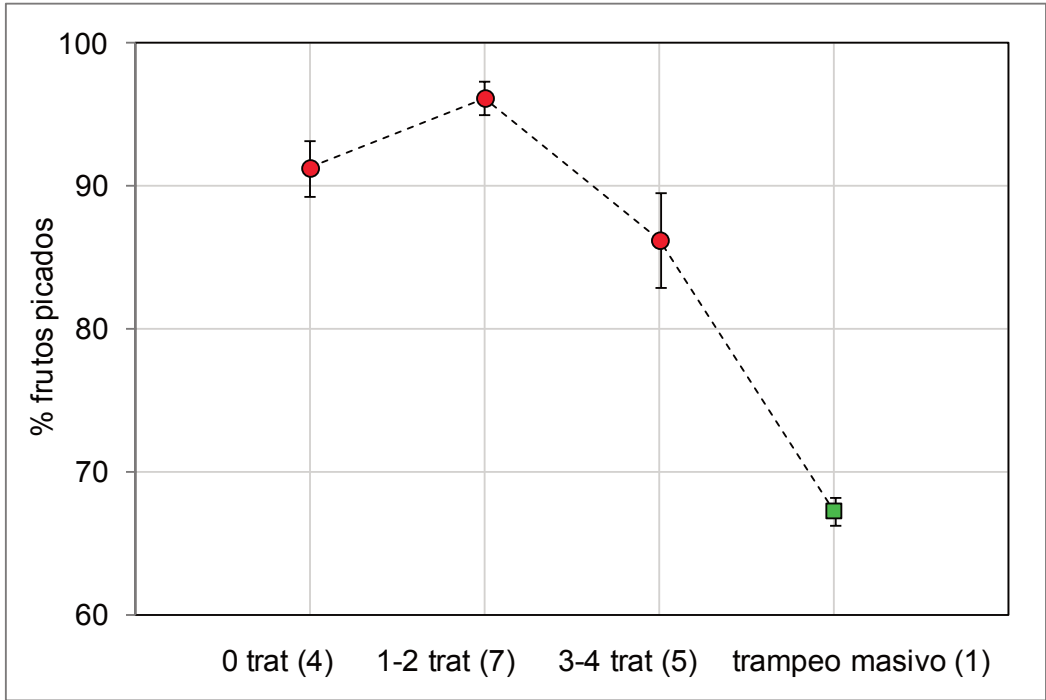


Figura 11. Comparación del porcentaje de frutos picados en la cosecha entre parcelas de olivo de la misma zona y variedad donde se encontraba la parcela de trapeo masivo, en función del número de tratamientos aplicados para el control de *Bactrocera oleae*. Se han considerado parcelas sin tratamientos, con 1 ó 2 tratamientos y con 3 ó 4 tratamientos. Entre paréntesis figura el número de parcelas de cada grupo. Las líneas verticales indican el error estándar

puede alcanzar el 99% (Lopes *et al.*, 2010) y en nuestro país del 17,5% al 70% (Ruíz Torres, 2009; Junta Andalucía, 2010).

Broumas *et al.* (2002) en Grecia y Duatis *et al.* (2006) en España comprueban que los ataques de mosca son más intensos en los años de baja producción, como ha ocurrido durante este año 2011 en nuestra parcela ensayo de TM, donde se ha obtenido una tercera parte de la cosecha respecto al año anterior (en 2010 la incidencia de mosca en esta misma parcela fue muy inferior). Tedeschini *et al.* (2003) indican que el TM funciona bien en años con nivel de plaga bajo o medio. Según Duatis *et al.* (2006) la captura masiva de adultos (TM) siempre produce un descenso de picadas en frutos sea cual sea el mosquero utilizado. Zalom *et al.* (2009) calculan que el TM puede reducir los daños de *B. oleae* en un

30-100% comparado con el testigo sin tratamientos.

Broumas *et al.* (2002) citan numerosos factores que pueden influir en la eficacia del TM contra la mosca del olivo, entre los que se incluyen el tipo de trampa, la densidad y momento de instalación, el atrayente e insecticida, el aislamiento de la parcela y su tamaño, la temperatura y humedad, el tipo de árbol y su tamaño, la variedad, la cantidad y tamaño de frutos, el riego, poda y fertilización, y el número de años en que el método ha sido aplicado en la misma parcela de olivo. Alonso Muñoz y García Marí (2009) indican que entre los factores que más afectan a la eficacia del trapeo masivo de *C. capitata* en cítricos, el tamaño y forma de la parcela son de los más importantes, recomendando superficies grandes y perímetros mínimos.

En conclusión, en los frutos picados existe una evolución gradual entre julio y diciembre en la proporción de estadios en las poblaciones de *B. oleae*, desde las fases iniciales hasta las últimas fases del desarrollo y los frutos son picados de forma continua a lo largo de todo el periodo. En el momento de la recolección, en diciembre, se llega al 67% de frutos picados como media de todos los árboles de la parcela. En el conjunto de las 16 parcelas vecinas el porcentaje de frutos picados osciló entre un mínimo del 72% y un máximo del 100%, con una media del 91%. Las trampas en el TM actúan frenando el avance de la población de adultos del exterior al interior de la zona protegida por trampas. Globalmente, la reducción media de capturas de adultos de *B. oleae* entre capas contiguas de trampas es próxima al 40%. Todo esto implica que si con el TM pretendemos conseguir que la población no supere el umbral considerado convencionalmente de una mosca por trampa y día en ningún mes del año, entonces este objetivo ha estado lejos de conseguirse en este ensayo ya que se alcanzan más de dos moscas por trampa y día en la zona más protegida, los árboles del interior de la parcela. Extra-

polando estos resultados podemos concluir que habríamos conseguido bajar del citado umbral de población a partir de la quinta capa de trampas y que por tanto el TM requiere de su instalación en grandes superficies de olivar de forma homogénea para funcionar con eficacia. En promedio se obtuvieron por árbol 1,7 litros de aceite del 0,8% de acidez de la copa y 1,2 litros de aceite del 5,7% de acidez del suelo. Las pérdidas reales en valor económico de la cosecha debidas a *B. oleae* fueron próximas al 10% en cantidad de aceite y del 25% en calidad del aceite.

AGRADECIMIENTOS

Expresamos nuestra gratitud a Rosario Muñoz Mateo por permitirnos establecer el experimento en el olivar denominado "La Canela" y a Ángel Alonso Abad por su asistencia en las faenas de campo. A los olivicultores del paraje "La Tavaida", por su ayuda en la recogida de muestras. Al personal de la Cooperativa Agrícola de Casinos. A Gabriela Clemente y Nieves Pérez por analizar las muestras de aceitunas en laboratorio. A Jordi Roig por facilitarnos las trampas Ecotrap®.

ABSTRACT

ALONSO MUÑOZ, A., F. GARCÍA MARÍ. 2012. Efficacy of mass trapping in the control of the olive fruit fly *Bactrocera oleae* (Diptera: Tephritidae): assessment of fruit damage and economic losses in quantity and quality of oil. *Bol. San. Veg. Plagas*, **38**: 291-309

In an olive orchard located in Lliria (Valencia) we analyzed in 2011 the way of action and assessed the efficacy of the mass trapping as a control method for the Olive Fruit Fly *Bactrocera oleae* (Gmelin), determining the moment of the year when damage is produced and the level reached, as well as the economic losses in production and quality at harvest. A combination of Olipe and Ecotrap® traps was used, applying 200 traps/ha (one of each type per tree). The damage observed in the mass trapping orchard was compared with olive orchards in the vicinity where *B. oleae* was conventionally controlled with pesticides. The percentage of infested fruits increased gradually between July and December and at harvest time, in December, it reached 67.3%. On average we obtained per tree 1.7 litres of olive oil with 0.8% of acidity from fruits on the canopy, and 1.2 litres of olive oil with 5.7% of acidity from fruits fallen to the ground. Economic losses due to *B. oleae* approached 10% in quantity and 25% in quality of the oil. The traps acted slowing down the advance of *B. oleae* adults from outside to inside the plot, reducing in approx 40% the number of flies captured in contiguous traps. This reduction was not sufficient due to the low surface area protected. In 16 nearby olive fields the percentage

of infested fruits ranged from 72 to 100%, with an average of 91%. Thus, in the mass trapping plot there was a 25% reduction of infested fruits. We conclude that mass trapping requires its layout in large areas with a homogeneous shape to work successfully.

Key words: traps, attractants, Oliwe, Ecotrap®.

REFERENCIAS

- ALDEBIS, H.K., VARGAS, V. 2003. La mosca del olivo, daños y métodos de lucha. *Vida rural, dossier olivar. Octubre*: 42-46.
- ALONSO MUÑOZ, A., GARCÍA MARÍ, F. 2009. Factores que influyen en la eficacia del trapeo masivo para el control de la mosca de la fruta *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae). *Bol. San. Veg. Plagas*, **35** (3): 401-419.
- ALTOLAGUIRRE, M., LÓPEZ, A., CABALLERO, J.A. 2003. Estrategia alternativa al control de la mosca del olivo (*Bactrocera oleae* Gmelin) mediante "trampa Oliwe". Ensayos en diferentes zonas de la provincia de Córdoba. Actas del XI Simposium científico-técnico. Expoliva 2003. Jaén (Spain) 14-16 May. Disponible desde Internet en: <<http://www.expoliva2003/simposium/comunicaciones/OLI-29>> [con acceso el 09/01/2012].
- ARAMBOURG, Y. (1978). Quelques caractéristiques biologiques de *Dacus oleae* Gmel. *Informations Oleicoles Internationales*, **56-57**: 175-176.
- ARMENDÁRIZ, J., PÉREZ, A., NICOLÁS, J., APARICIO, E., JUÁREZ, J.S., MIRANDA, L. 2009. Cinco años de seguimiento de la mosca del olivo (*Bactrocera oleae* [Gmelin, 1790]) en los Arribes del Duero. *Bol. San. Veg. Plagas*, **35**: 219-229.
- BEITIA, F., TORTOSA, A., CARBONELL, E., ROS, J.P. 2010. A comparison of several traps and attractants as a first approach to the use of mass trapping against the olive fruit fly (Diptera: Tephritidae) in the Valencian Community. Proceedings 8th International Symposium on Fruit Flies of Economic Importance. Valencia: 303-308.
- BJELIS, M. 2009. Control of olive fruit fly-*Bactrocera oleae* Rossi (Diptera, Tephritidae) by mass trapping and bait sprays methods in Dalmatia. Zbornik predavanj in referatov, 9. Slovenskega posvetovanja o varstvu rastlin z mednarodno udeležbo. Nova Gorica, 4-5 marec: 397-401.
- BROUMAS, T., HANIOTAKIS, G., LIAROPOULOS, C., TOMAZOU, T., RAGOSSIS, N. 2002. The efficacy of an improved form of the mass-trapping method, for the control of the olive fruit fly, *Bactrocera oleae* (Gmelin) (Diptera: Tephritidae): pilot-scale feasibility studies. *Journal Applied Entomology*, **126**: 217-223.
- BURRACK, H.J., BINGHAM, R., PRICE, R., CONNELL, J.H., PHILLIPS, P.A., WUNDERLICH, L., VOSSEN, P.M., O'CONNELL, N.V., FERGUSON, L., ZALOM, F.G. 2011. Understanding the seasonal and reproductive biology of olive fruit fly is critical to its management. *California Agriculture*, **65** (1): 14-20.
- BURRACK, H.J., ZALOM, F.G. 2008. Oviposition preference and larval performance of the olive fruit fly (Diptera: Tephritidae) in several commercially important olive varieties in California. *Journal Economic Entomology*, **101** (3): 750-758.
- CALECA, V., RIZZO, R., BATTAGLIA, I., PALUMBO PICCIONELLO, M. 2007. Test on effectiveness of mass trapping by Ecotrap (Vyoril) in the control of *Bactrocera oleae* (Gmelin) in organic farming. *Integrated Protection of Olive Crops. Bulletin OILB/SROP*, **30** (9): 139-145.
- CAPA. 2011. Conselleria D'Agricultura, Pesca i Alimentació. Memoria de ensayos realizados durante la campaña 2009. Proyecto Residuo Cero en Olivar. Generalitat Valenciana: 124-142. Disponible desde Internet en: <http://www.agricultura.gva.es/web/c/document_library/get_file> [con acceso el 02/12/2011].
- CIRIO, U., CALVITTI, M. 2005. Abundancia de la mosca del olivo (*Bactrocera oleae* Gmel.) según variedades. *Revista Oficial del Consejo Oleícola Internacional*, **103**: 28-32.
- CIVANTOS, M., JIMÉNEZ, A. 1994. La lucha contra la mosca del olivo en Jaén. *Agricultura*: 783-787.
- COHEN, H., YUVAL, B. 2000. Perimeter trapping strategy to reduce Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae) damage on different host species in Israel. *J. Econ. Entomol.*, **93** (3): 721-725.
- CROVETTI, A., QUAGLIA, F., ROSSI, F. 1987. The heat-units accumulation method for forecasting the *Dacus oleae* (Gmel.) life-cycle: results of a study carried out in a biotope of the Southern Tuscany during the years 1978-1982. *Frustula Entomologica, nuova serie*, **X**: 109-117.
- DELRIO, G., CAVALLORO, R. 1977. Reperti sul ciclo biologico e sulla dinamica di popolazione del *Dacus oleae* Gmelin in Liguria. *Redia*, **40**: 221-253.
- DOGV. 2002. Diario Oficial de la Generalitat Valenciana, nº 4162 de 07-01-2002. Anexo IV.

- DUATIS, J., FONTANET, X., GISBERT, J., LLORACH, T., PEDRET, E., PORTA, J. 2006. Sistemas alternativos de lucha para el control de la mosca del olivo, *Bactrocera oleae* R., en el Baix Ebre y el Montsià. *Fruticultura Profesional*, **160**: 83-90.
- DUATIS, J., PEDRET, E. 1997. Estado actual del control de la mosca del olivo *Bactrocera (Dacus) oleae*, Rossi en las comarcas del Baix Ebre y Montsià. *Fruticultura Profesional*, **88**: 64-69.
- ECONOMOPOULOS, A.P. 1979. Attraction of *Dacus oleae* (Gmelin) (Diptera: Tephritidae) to odour and color traps. *Zeitschrift für Angewandte Entomologie*, **88**: 90-97.
- GARCÍA ROJAS, L., LACASTA, C., MECO, R. 2001. The organic control of the olive fly: The efficiency of traps and food lures. I Conferencia Mundial de IFOAM sobre olivar ecológico: 1-10.
- GÓMEZ CLEMENTE, F., BELLOD, M. 1951. Nuevo procedimiento de lucha contra *Dacus oleae* Rossi. *Bol. Pat. Veg. Ent. Agr.*, **XVIII**: 205-241.
- GONÇALVES, M.A., ANDRADE, L., BENTO, A., ALMEIDA, L. 2005. Estudo de *Bactrocera oleae* (Gmelin) e de *Prays oleae* (Bernard), em duas regiões de Portugal. I Jornadas Portuguesas de Entomología Aplicada, Bragança (Portugal) 17-23 Outubro. Ed. Instituto Politécnico Bragança. Abstract, 333.
- HANIOTAKIS, G.E. 2003. Olive pest control: Present status and prospects. Integrated Protection of Olive Crops. *IOBC/wprs Bulletin*, **28** (9): 1-9.
- JIMÉNEZ, A., CASTILLO, E., ESTEBAN, J.R. 1994. Niveles de población larvaria de *Bactrocera (Dacus) oleae* Gmelin. descencientes de hembras en presencia de bajas cantidades de frutos receptivos. *Bol. San. Veg. Plagas*, **20**: 119-130.
- JUNTA ANDALUCÍA, 2010. Incidencia de plagas y enfermedades en las Comunidades Autónomas en 2010. Servicio Sanidad Vegetal. Junta Andalucía. *Olivar. Phytoma España*, **229**: 20-24.
- KAPATOS, E.T., FLETCHER, B.S. 1980. An assessment of components of crop loss due to infestation by *Dacus oleae*, in Corfu. *Entomologia Hellenica*, **1** (1983): 7-16.
- KAPATOS, E.T., FLETCHER, B.S. 1984. The phenology of olive fly, *Dacus oleae* Gmel. (Diptera: Tephritidae), in Corfu. *Zeitschrift für Angewandte Entomologie*, **97**: 360-370.
- KATSOYANNOS, B., KOULOSSIS, N.A. 2001. Capture of the olive fruit fly *Bactrocera oleae* on spheres of different colours. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **100**: 165-172.
- LOPES, D.J., PIMENTEL, R., MACEDO, N., MARTINS, J.T., ZORMAN, M., VENTURA, L.B., AGUIAR, M.H., SILVA, M.L.O., MEXIA, A.M.M., MUMFORD, J. 2010. Olive fly (*Bactrocera oleae* Gmelin) population dynamics in Terceira olive groves (Portugal). ISHS Acta Horticulturae 924: XXVIII International Horticultural Congress on Science and Horticulture for People. (Abstract): 1.
- LUQUE, E., PEREDA, L. 2003. La selectividad de las trampas "Olipe" (atrayente: cebos alimenticios) en la captura de la mosca del olivo *Bactrocera oleae* (Gmelin). *Toll Negre*, **2**: 24-33.
- MAZOMENOS, B.E., PANTAZI, A., STEFANOPOULOS, D. 2002. Attract and kill of the olive fly *Bactrocera oleae* in Greece as a part of an integrated control system. Use of feromones and other semiochemicals in integrated production. *IOBC/wprs Bulletin*, **25**: 137-146.
- MICHELAKIS, S., NEUNSWANDER, P. 1982. Estimates of the crop losses caused by *Dacus oleae* (Gmel.) (Diptera: Tephritidae) in Crete, Greece. R. Cavalloro (Ed). Proceedings of the CEC/IOBC International Symposium: Fruit Flies of Economic Importance. Athens (Greece), 16-19 November 1982: 603-611.
- MONTIEL, A., MADUEÑO, C. 1995a. Determinación del umbral de tratamiento para la mosca del olivo (*Bactrocera oleae*, Gmel.) (Diptera: Tephritidae) en olivar destinado a la producción de aceite. *Bol. Serv. Plagas*, **21**: 577-588.
- MONTIEL, A., MADUEÑO, C. 1995b. Cálculo práctico de tratamiento para la mosca del olivo (*Bactrocera oleae*, Gmel.) (Diptera: Tephritidae) en olivar de producción de aceite en Jaén. *Bol. Serv. Plagas*, **21**: 589-596.
- MONTIEL, A., MORENO, R. 1982. Metodología utilizada en España para la realización de estudios bio-ecológicos sobre las poblaciones naturales de *Dacus oleae* (Gmel). Resultados provisionales obtenidos en dos años de trabajo. *Bol. Serv. Plagas*, **8**: 43-53.
- NEUNSWANDER, P., MICHELAKIS, S. 1978. Olive fruit drop caused by *dacus oleae* (Gmel.) (Diptera: Tephritidae). *Journal Applied Entomology*, **91**: 193-205.
- OLIVERO, J., GARCÍA, E.J., WONG, M.E., ROS, J.P. 2004. Ensayo de eficacia de diferentes combinaciones soporte-atrayente para el trapeo masivo de *Bactrocera oleae* (Gmel.), Mosca del Olivo. *Bol. Serv. Plagas*, **30**: 439-450.
- PEROVIC, T.; HRNCIC, S.; INDIC, D. 2009. Flight dynamics of olive fly *Bactrocera oleae* Gmel. (Diptera, Tephritidae) in the region of Bar. *Journal Pomologia Croatica*, **15** (3/4): 77-85.
- PETACCHI, R., RIZZI, I., GUIDOTTI, D. 2003. The "lure and kill" technique in *Bactrocera oleae* (Gmel.) control: effectiveness indices and suitability of the technique in area-wide experimental trials. *International Journal Of Pest Management*, **49** (4): 305-311.

- POOLRED. 2012. Sistema de información de precios en origen del mercado del aceite de oliva. Disponible desde Internet en: <<http://www.oliva.net/poolred>> [con acceso el 15/03/2012].
- PORCEL, M., RUANO, F., SANLLORENTE, O., CABALLERO, J.A., CAMPOS, M. 2009. Short communication. Incidence of the OLIPE mass-trapping on olive non-target arthropods. *Spanish Journal of Agricultural Research*, **7**(3): 660-664.
- QUESADA, E., CAMPOS, M., SANTIAGO, C. 2008. Sostenibilidad de la producción de olivar en Andalucía. Junta de Andalucía. Conserjería de Agricultura y Pesca. Capítulo 7. Control de plagas: 189-226.
- RAGOUSSIS, N. 2005. Contribution to the biological olive agriculture. Efficient control of the olive fruit fly by the Ecotrap®. *Integrated Protection Of Olive Crops. IOBC/wprs Bull.* **28** (9): 29-35.
- RASPI, A., CANALE, A., LONI, A. 2005. Presence of mature eggs in olive fruit fly, *Bactrocera oleae* (Diptera: Tephritidae), at different constant photoperiods and at two temperatures. *Bulletin of Insectology*, **58** (2): 125-129.
- RICE, R.E. 2000. Bionomics of the olive fruit fly *Bactrocera (Dacus) oleae*. University of California. Cooperative extension. Olive notes, September: 1-6.
- RIZZI, I., PETACCHI, R., GUIDOTTI, D. 2005. Mass trapping technique in *Bactrocera oleae* control in Tuscany Region: results obtained at different territorial scale. *Integrated Protection Of Olive Crops. IOBC/wprs Bulletin*, **28** (9): 83-90.
- RODRÍGUEZ, F., BALLESTER, A. 1990. Influencia de la sanidad vegetal en la calidad del aceite de oliva. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Hoja divulgadora, **16**: 1-28.
- RUÍZ CASTRO, A. 1948. Fauna entomológica del olivo en España. Instituto Español de Entomología. Madrid.
- RUÍZ TORRES, M. 2009. Comentarios a los métodos de control de la mosca del olivo. *Vida Rural*, **15**: 17-20.
- RUÍZ TORRES, M., RUÍZ, J., ALONSO, E., ROS, J.P. 2010. Ammonium Phosphate versus Hydrolysate Protein: which one to be used in mass trapping against the olive fly *Bactrocera oleae* (Rossi)? Proceedings 8th International Symposium on Fruit Flies of Economic Importance. Valencia: 298-302.
- SÁNCHEZ ESCUDERO, J., GÚZMÁN, G., VARGAS, E. 2002. Evaluación de la incidencia de la mosca del olivo (*Bactrocera oleae* Gmelin) y exploración de sus parasitoides en diferentes sistemas de manejo en Los Pedroches (Córdoba) y Deifontes (Granada). Resultados preliminares. V Congreso de la SEAE y I Congreso Iberoamericano de Agroecología. Gijón (Asturias), 16-21 septiembre. Tomo II: 791-800.
- SPERANZA, S., BELLOCCHI, G., PUCCI, C. 2004. IPM trial on attract and kill mixtures against the olive fly *Bactrocera oleae* (Diptera: Tephritidae). *Bulletin of Insectology*, **57** (2): 111-115.
- TEDESCHINI, J., ISUFI, E., UKA, R., BAÇAJ, M., PFEIFFER, E. 2003. "Attract and kill" method using Ecotrap® for controlling olive fruit fly in Albania (poster). 4th National IPM Symposium held in Indianapolis, 8-10 April.
- TEDESCHINI, J., STAMO, B. 2004. Paquete para el manejo integral de plagas. Control de la mosca del olivo. Innovación para el desarrollo y la cooperación sur-sur. Albania. *Ideass*: 16 pp. Disponible desde Internet en: <<http://www.ideassonline.org>> [con acceso el 31/12/2011].
- TOMAZOU, T., PAPAGRIGORIOU, A., FAMELIARIS, D. 1995. Study of the residual and repellent action of insecticides on traps, concerning the mass trapping method of olive fruit fly *Bactrocera oleae* (Diptera, Tephritidae). Proceeding 6th Panhellenic Congress of Entomology, October 31-November 3.
- TORRES VILA, L.M., RODRÍGUEZ, M.C., MARTÍNEZ, J.A. 2003. Efectos del daño de la mosca del olivo y del atroje sobre la microflora en pasta y la acidez del aceite virgen de oliva. *Grasas y Aceites*, **54** (3): 285-294.
- TORRES VILA, L.M., SÁNCHEZ, Á., PONCE, F., DELGADO, E., AZA, M.C., BARRENA, F., FERRERO, J.L., CRUCES, E., RODRÍGUEZ, F. 2006. Dinámica poblacional de *Bactrocera oleae* Gmelin en Extremadura: fluctuación estacional en el estado reproductivo y en el tamaño imaginal. *Bol. San. Veg. Plagas*, **32**: 57-69.
- TSOLAKIS, H., RAGUSA, E., TARANTINO, P. 2011. Control of *Bactrocera oleae* by low environmental impact methods: NPC methodology to evaluate the efficacy of lure-and-kill method and copper hydroside treatments. *Bulletin of Insectology*, **64** (1): 1-8.
- TZANAKAKIS, M.E. 2003. Seasonal development and dormancy of insects and mites feeding on olive: a review. *Netherland Journal of Zoology*, **52** (2-4): 87-224.
- YOKOYAMA, V.Y., MILLER, G.T., STEWART-LESLIE, J., RICE, R.E., PHILLIPS, P.A. 2006. Olive fruit fly (Diptera: Tephritidae) populations in relation to region, trap type, season and availability of fruit. *Journal Economic Entomology*, **99** (6): 2072-2079.
- ZALOM, F.G., VAN STEENWYK, R.A., BURRACK, H.J., JOHNSON, M.W. 2009. Olive fruit fly. Pest notes. University of California (February) Publication **74112**: 1-4.
- ZERVAS, G.A. 1982. A new long-life trap for olive fruit fly, *Dacus oleae* (Gmelin) (Diptera: Tephritidae) and other Diptera. *Journal Applied Entomology*, **94**: 522-529.

(Recepción: 18 mayo 2012)

(Aceptación: 11 julio 2012)

Utilización de *Mentha suaveolens* Ehrh y *Ocimum basilicum* Linnaeus como plantas refugio para adelantar la instalación de *Orius laevigatus* Fieber (Hemiptera: Anthocoridae) en cultivo de pimiento

M. CANO, E. VILA, E. SALVADOR, D. JANSSEN, L. LARA, M. M. TÉLLEZ

Orius laevigatus Fieber, se utiliza en los programas de manejo integrado en cultivo de pimiento para el control de trips (*Frankliniella occidentales* Pergande). Su suelta se realiza cuando el cultivo está en floración y requiere un periodo entorno a cuatro semanas para establecerse sobre el cultivo. Una solución para adelantar su instalación podría ser la utilización de plantas refugio. En este trabajo se ha evaluado la eficacia de las especies *Mentha suaveolens* Ehrh (mastranzo) y *Ocimum basilicum* Linnaeus (albahaca) como plantas refugio, mediante un ensayo comparativo con un protocolo de sueltas comerciales. La utilización de ambas especies permiten adelantar la instalación del depredador ejerciendo un control más rápido de la plaga, si bien la especie *M. suaveolens* muestra una mayor eficacia.

M. CANO, E. SALVADOR, D. JANSSEN, L. LARA, M.M. TÉLLEZ. Centro I.F.A.P.A. La Mojonera. Junta de Andalucía. Autovía del Mediterráneo, Salida 420. Paraje San Nicolás. 04745. La Mojonera (Almería).

E. VILA, Agrobío, S.L. Ctra. Nacional 340, km. 419, 04745. La Mojonera (Almería).

Palabras clave: planta refugio, albahaca, mastranzo, trips, anthocorido.

INTRODUCCIÓN

El pimiento, *Capsicum annum* Linnaeus (Solanaceae) es uno de los cultivos más importantes en la horticultura almeriense, con una superficie de 7.475 ha y una producción de 437.403 Tm (JUNTA DE ANDALUCÍA. CAP, 2010). El 100% de la superficie de pimiento se cultiva aplicando programas de manejo integrado (MIP), basados fundamentalmente en una estrategia de control biológico (VAN DER BLOM *et al.*, 2009).

La instalación y distribución de los depredadores es fundamental en el manejo integrado de plagas de los cultivos bajo plástico. En Almería, los ciclos de cultivo comienzan en verano, época en la cual existe una alta presión de plaga debido a unas condiciones

ambientales muy favorables para las mismas. Estos ciclos obligan a que los enemigos naturales tengan un corto periodo de tiempo para instalarse y reproducirse en el cultivo y poder ejercer un control eficaz.

En cultivo de pimiento, una de las plagas de mayor importancia es el trips de las flores, *Frankliniella occidentalis* Pergande (Thysanoptera: Thripidae), principalmente por ser vector del *Tomato spotted wilt virus*, TSWV (CUADRADO, 1996), causando importantes pérdidas de producción (JANSSEN *et al.*, 2005). El control biológico de esta plaga se está llevando a cabo con muy buenos resultados mediante sueltas comerciales principalmente del chinche antocórido *Orius laevigatus* Fieber (Hemiptera: Anthocoridae) junto con el ácaro fitoseido *Amblyseius swirskii* Athias-Henriot

(Parasitiformes: Phytoseiidae). La suelta de *O. laevigatus* se realiza con la aparición de los primeros botones florales y una vez que se introduce necesita un periodo entorno a cuatro semanas para establecerse en el cultivo (TAPIA y TÉLLEZ, 2006).

La vegetación natural proporciona a los enemigos naturales fuentes alternativas de alimento (polen, néctar, presas) y refugio, además de un microclima favorable (LANDIS *et al.*, 2000; WÄCKERS, 2005). En estudios previos realizados en la provincia para la selección de especie candidatas a plantas refugio, destaca la especie *Mentha suaveolens* Ehrh, Fam. Labiatae (mastranzo) por la abundante presencia de *Orius* spp. (CANO *et al.*, 2009). Si bien esta especie vegetal ya era conocida en la zona por algunos agricultores, siendo práctica habitual la recogida en el campo de inflorescencias de mastranzo con individuos del depredador, para su introducción sobre las plantas de pimiento. Ésta especie florece entre los meses de junio a noviembre coincidiendo con el inicio de los cultivos de pimiento. Sin embargo, uno de los inconvenientes de esta práctica es la introducción de plagas en el cultivo, ya que sobre mastranzo, se ha detectado la presencia de trips y mosca blanca, además de otras plagas como ácaros, pulgones y orugas que pueden llegar a ser perjudiciales (PÉREZ, 2007; VILA *et al.*, 2008). La especie *Ocimum basilicum* Linnaeus, Fam. Labiatae (albahaca), es también utilizada por los agricultores y está descrita en la bibliografía como reservorio de poblaciones de *O. insidiosus* (DÍAZ *et al.*, 1999).

Otro factor importante a considerar para la utilización de una planta refugio es descartar que ésta pueda ser una fuente de inóculo de virus. Por esta razón se realizó un estudio previo, obteniendo como resultado que *M. suaveolens* y *O. basilicum* no actuaban como reservorio de los principales virus que afectan a los cultivos de pimiento (TSWV, PMMV, TYLCV/ TYLCSV ToMV) (CANO, *et al.*, 2009).

El objetivo de este trabajo ha sido valorar si la utilización de las especies *M. suaveolens*

y *O. basilicum* como plantas refugio de *O. laevigatus* como alternativa a la utilización de sueltas comerciales, facilita el establecimiento temprano del depredador en el cultivo de pimiento y contribuye a una respuesta más rápida de éste sobre la población de la plaga.

MATERIAL Y MÉTODOS

Infraestructura

Se realizaron dos ensayos, cada uno con una especie refugio, en invernaderos experimentales de 650 m² (Ensayo 1: mastranzo) y de 2000 m² (Ensayo 2: albahaca), ubicados en la Estación Experimental de las Palmerillas (Almería).

Material vegetal y biológico

Las dos experiencias se llevaron a cabo sobre un cultivo de pimiento trasplantado a mediados de julio (ciclo de otoño). El manejo del cultivo se realizó de acuerdo con las prácticas habituales para un cultivo de pimiento.

Las plantas de mastranzo y de albahaca utilizadas fueron previamente cultivadas en contenedores de 20 litros, hasta alcanzar un tamaño apropiado y con abundantes inflorescencias para facilitar la instalación del depredador. La preparación de las plantas refugio se realizó en un invernadero tipo túnel ubicado en el Centro IFAPA La Mojonera, compartimentado en jaulones independientes, lo que permitió hacer las inoculaciones del depredador sobre las plantas refugio de forma controlada. Las plantas fueron inoculadas cuatro semanas antes de su introducción en los invernaderos con 50 individuos por planta de *O. laevigatus*, procedentes de una cría comercial (Agrobío S.L.). Estos individuos fueron alimentados con huevos de *Ephestia kuehniella* consiguiendo una planta refugio con el depredador instalado en todos sus estadios (huevos, ninfas y adultos).

Diseño experimental

En ambos ensayos, el invernadero se dividió en dos zonas, separadas entre ellas por seis filas de cultivo (la separación se hizo sólo a efectos de marcaje, en ningún caso se esta-

blecieron barreras físicas). En una zona (Tratamiento con planta refugio), se colocó en el momento del trasplante, dos plantas refugio en el caso de la utilización de mastranzo y 4 plantas en el caso de utilización de albahaca (aproximadamente 1 planta cada 500 m² de superficie) (Fig. 1). En la otra zona del invernadero se realizaron sueltas de *O. laevigatus* (Tratamiento con suelta), a las cuatro semanas del trasplante y aparición de las primeras flores, a una dosis de 4 orius/m², según las recomendaciones del Reglamento Especifico de Producción Integrada de Cultivos Protegidos para cultivo de pimiento (BOJA, 2007).

Evaluación

Se evaluó tanto la instalación y la abundancia de *O. laevigatus* como la incidencia de la plaga (*F. occidentalis*) en el cultivo, mediante conteos semanales. Cada zona se dividió en 24 cuadrículas, cada una de la cuales contenía 20 plantas en el ensayo de mastranzo y 60 plantas en el ensayo de albahaca. En cada muestreo, se seleccionó una planta al azar de cada cuadrícula y a su vez, de cada planta se eligieron dos flores al azar, contabilizándose el número de larvas y adultos de trips y el número de ninfas y adultos del depredador. El tamaño de muestra fue de 48 flores por tratamiento.

Análisis de datos

Para determinar la instalación del depredador se estimó el porcentaje medio de plantas con presencia en cada semana. Se establecieron 3 categorías para determinar la abundancia del depredador en cada planta: abundancia baja (< 1 individuo por flor), abundancia media (≥ 1 y < 2 individuos por flor), abundancia alta (≥ 2 individuos por flor) y se representó semanalmente en un mapa de presencia / ausencia y abundancia.

En cada ensayo, se estimó la población media de trips (larvas + adultos) por flor para cada muestreo en los dos tratamientos. Para evaluar la incidencia de la plaga a lo largo del cultivo se estudio su tendencia poblacional mediante el índice poblacional utilizado por HOY (1985) y BELDA *et al.* (1992), *Trips.día*, estimado mediante la expresión:

$$Trips \cdot día_s = \sum_{i=1}^s \frac{Trips_{i-1} + Trips_i}{2} \cdot d_{(j,i-1)}$$

Donde *Trips* = número de larvas + adultos de trips por flor contadas en la semana *i* e *i-1* y *d* = número de días entre muestreos sucesivos.

Este índice poblacional permite estimar la población de trips que ha soportado el cultivo

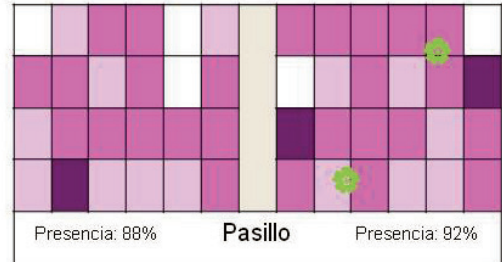
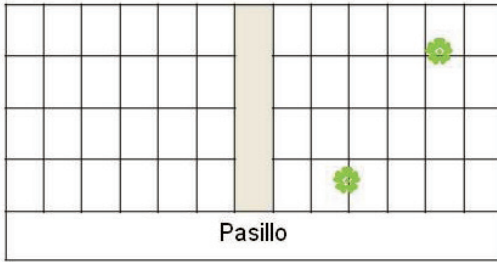


Figura 1. Ensayos experimentales de campo: (A) Ensayo 1: utilización de mastranzo y (B) Ensayo 2: utilización de albahaca

Semana 1 (Colocación planta refugio)

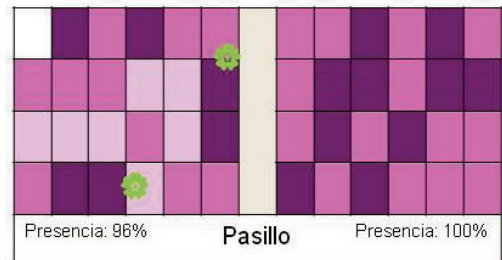
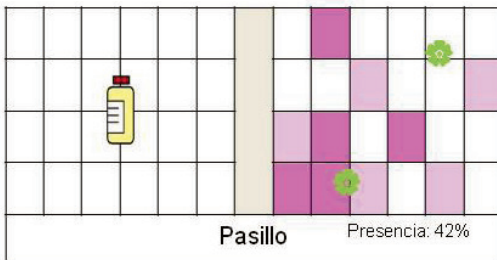
ENSAYO 1

Semana 6



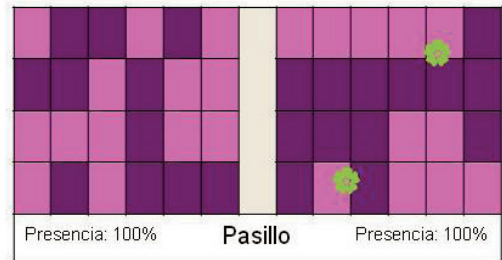
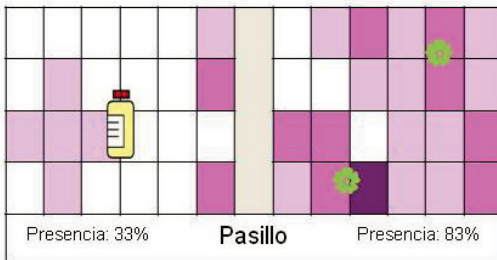
Semana 4 (Coincidiendo con la floración)

Semana 7



Semana 5

Semana 8



Abundancia baja (< 1 ind/flor) Abundancia media (≥ 1 y < 2 ind/flor) Abundancia alta (≥ 2 ind/flor)

Figura 2. Mapa de presencia/ausencia y abundancia de *O. laevigatus* con utilización de mastranzo. El símbolo (●) representa la planta refugio y (b) las sueltas comerciales

a lo largo del periodo de ensayo, posibilitando además la comparación cuantitativa entre tratamientos (TORRES-VILA *et al.*, 1994).

RESULTADOS Y DISCUSION

En la figura 2 se representa la instalación y la abundancia de *O. laevigatus* en cultivo de

pimiento con uso de mastranzo como planta refugio (ensayo 1). La cuarta semana, tras el trasplante, coincide con la aparición de las primeras flores y es el momento en el cual se realiza la suelta comercial de *O. laevigatus*. En ésta semana, ya se observa en el tratamiento con mastranzo cómo el depredador se ha dispersado desde la planta refugio al culti-

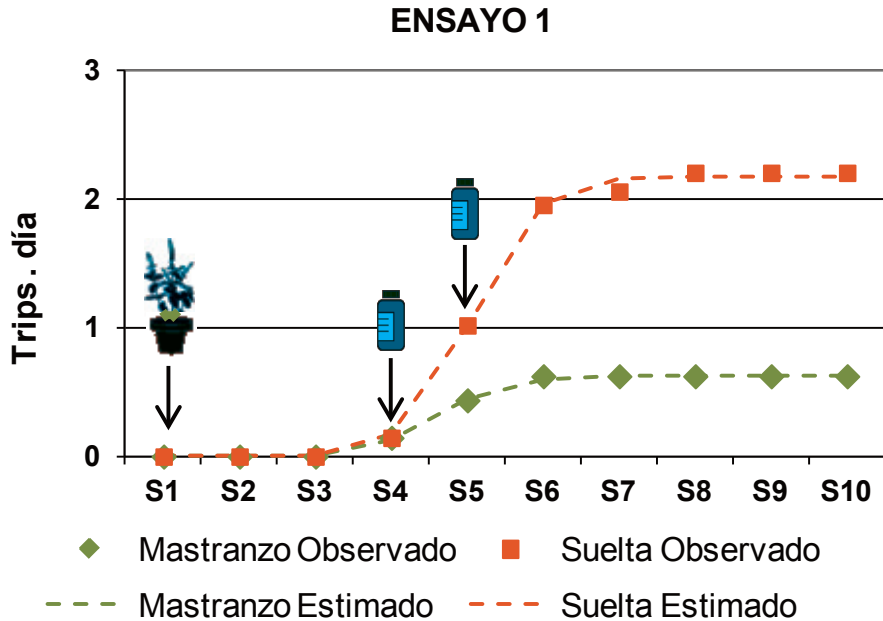


Figura 3. Tendencia de la población de *F. occidentalis* en flor a lo largo de las semana de cultivo en el ensayo con mastranzo. Las flechas indican la semana de introducción de la planta refugio y las de las sueltas comerciales

vo alcanzándose ya una instalación en el 42% de las plantas, de las cuales el 50% presentan una categoría de abundancia media.

A la semana siguiente (semana 5), ya se observa instalación del depredador en el tratamiento con suelta, con el 33% de las plantas con presencia (de las cuales el 25% presenta una categoría de abundancia media) frente al 83% del tratamiento con mastranzo (de las cuales el 45% presenta una categoría de abundancia media).

En la figura 3 se representa la tendencia poblacional de la plaga a lo largo de las semanas del cultivo. Se observa una tendencia similar de tipo logístico (con un crecimiento exponencial en las primeras semanas, produciéndose un cambio de tendencia hasta que la población se estabiliza), tanto en el tratamiento con mastranzo ($y=0.63/(1+4.59*e^{-(0.45*x)})$; $R^2:0.99$; $F=2930.7$; $gl=2$ $p \leq 0.005$) como en el tratamiento con suelta ($y=2.18/(1+5.06*e^{-(0.43*x)})$; $R^2:0.99$; $F=2786.1$; $gl=2$ $p \leq 0.005$). Sin embargo en el

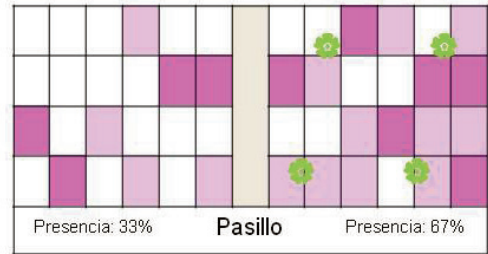
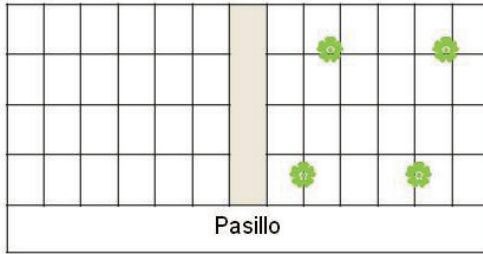
tratamiento con mastranzo, a la sexta semana desde la introducción de la planta refugio, la plaga ya empieza a estabilizarse lo que indica un control de la misma por parte del depredador. Además el índice poblacional es mucho más bajo que en el tratamiento con suelta, en el cual la plaga no se empieza a estabilizar hasta dos semanas más tarde (semana 8).

A nivel práctico, una vez que se realizan las sueltas del depredador, se considera que su presencia es suficiente para que el control del trips comience a ser efectivo cuando se alcanza un 25% de plantas con presencia. Si bien, necesita 2 generaciones para que la población alcance un tamaño necesario para ejercer un control eficaz de la plaga, lo que supone un periodo de 4 semanas (VAN DER BLOM, 2008). De manera que con los resultados obtenidos (figura 2), se puede considerar que la utilización del mastranzo como planta refugio, permite adelantar la instalación del depredador en el cultivo en comparación con las sueltas comerciales, ejerciendo un control

Semana 1 (Colocación planta refugio)

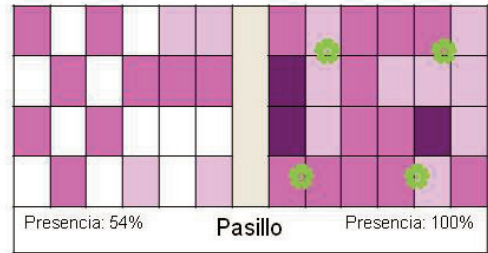
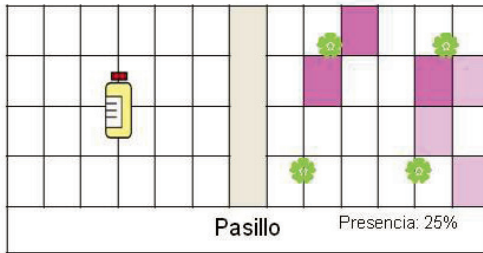
ENSAYO 2

Semana 6



Semana 4 (Coincidiendo con la floración)

Semana 7



Semana 5

Semana 8

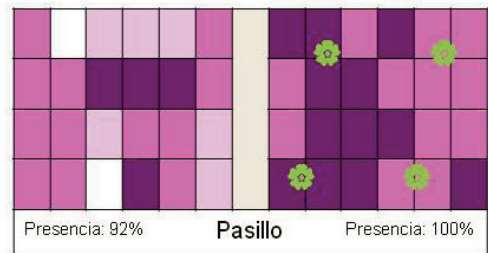
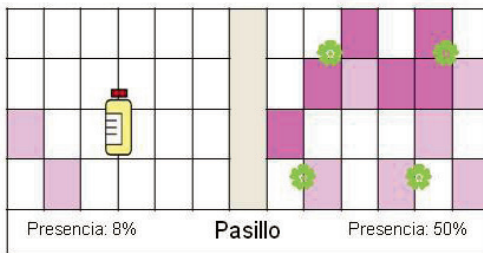


Figura 4. Mapa de presencia/ausencia y abundancia de *O. laevigatus* con utilización de albahaca. El símbolo (🌿) representa la planta refugio y (🧴) las sueltas comerciales.

más rápido de la población de la plaga como se observa en la figura 3.

En la figura 4 se representa la instalación y la abundancia de *O. laevigatus* en cultivo de pimiento con uso de albahaca como planta refugio (ensayo 2). En la cuarta semana, desde la introducción de la planta refugio, el tratamiento con albahaca presenta un 25% de presencia del depredador (de las cuales el 50% presenta una categoría de abundancia media).

A la semana siguiente se observa una presencia del 50% (de las cuales el 50% presenta una categoría de abundancia media) frente a la zona de sueltas comerciales que presentó un 8% (de las cuales el 100% presenta una categoría de abundancia baja).

En la figura 5 se representa la tendencia poblacional de la plaga a lo largo de las semanas del cultivo. En el tratamiento con albahaca, la evolución de la población de la plaga

ENSAYO 2

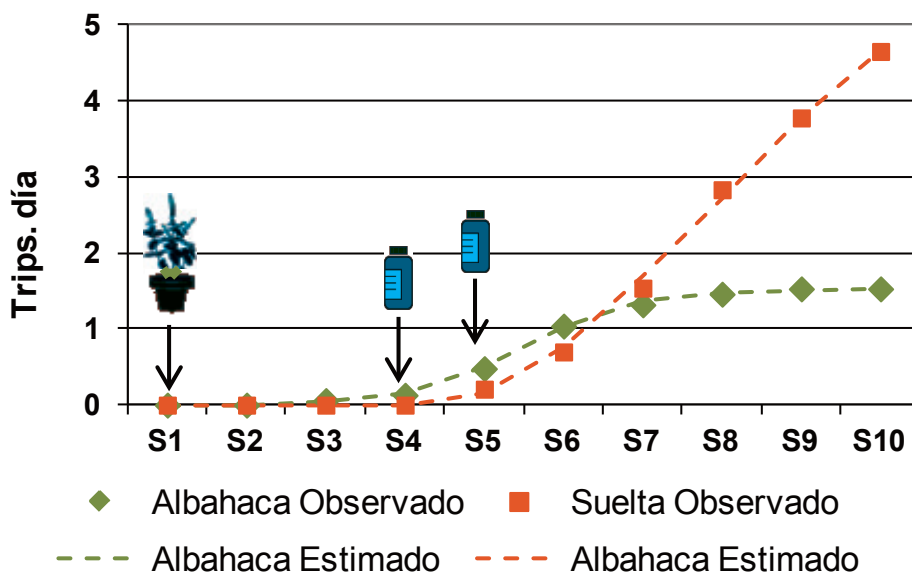


Figura 5. Tendencia de la población de *F. occidentalis* en flor a lo largo de las semana de cultivo en el ensayo con albahaca. Las flechas indican la semana de introducción de la planta refugio y las de las sueltas comerciales

sigue una tendencia de tipo logístico ($y=1.52/(1+5.52*e^{-(0.69*x)})$; $R^2:0.99$; $F=3446.16$; $gl=2$ $p < 0.005$), tardando 9 semanas en empezar a estabilizarse. En el tratamiento con suelta, la tendencia de la población es de tipo logarítmico ($\ln y=2.93-9.64/x$; $R^2:0.99$; $F=2293.9$; $gl=1$ $p < 0.005$), no estabilizándose en ningún momento a lo largo del periodo de estudio.

En ambos tratamientos del ensayo con albahaca (ensayo 2), la progresiva colonización del cultivo por el depredador, ha sido en general más lenta en comparación con el ensayo con mastranzo (ensayo 1). No obstante, el uso de albahaca ha facilitado la instalación de *O. laevigatus* (figura 4) llegando a ejercer un control de la plaga (figura 5). Sin embargo en el caso de las sueltas comerciales, hasta la sexta semana no se alcanzó un porcentaje superior al 25% de presencia del depredador (figura 4), por lo que éste retraso en la instalación inicial ha podido influir en la falta de

eficacia del depredador para controlar la plaga como se observa en la figura 5.

En ambos ensayos, la utilización de mastranzo y albahaca ha permitido la instalación más temprana de *O. laevigatus* lo cual ha dado lugar a control más rápido de la población de la plaga. No obstante, en la preparación previa de ambas plantas refugio, el número de individuos móviles del depredador en las plantas de mastranzo fue un 52% más elevado que en las plantas de albahaca, a igual dosis de inoculación. Por lo que se puede considerar que el mastranzo es una especie más adecuada para el desarrollo del depredador y su utilización como planta refugio muestra una mayor eficacia.

Existen algunos trabajos de utilización de plantas refugio dentro de los invernaderos, para establecer los enemigos naturales en el cultivo. Así, los ensayos llevados a cabo por ARNÓ *et al.* (2000) muestran que la utilización de tabaco como planta refugio, facilita un esta-

blecimiento temprano de los mիրidos en tomate de invernadero. También ha sido utilizada como planta refugio la especie *Dittrichia viscosa* Greuter para establecer el mիրido *Macrolophus caliginosus* Wagner en cultivo de tomate, sin embargo la planta refugio fue preferente para el depredador frente al tomate (ARNÓ *et al.*, 2005). Otros estudios realizados en plantaciones comerciales de fresón, con la especie *Vicia faba* Linnaeus (haba) como planta refugio de poblaciones de antocóridos, mostraron que las plantas de fresón más próximas a las plantas de habas, presentaban poblaciones más altas de depredadores que el resto de la parcela (GONZÁLEZ-ZAMORA *et al.*, 1994).

En cultivos hortícolas del noreste Español se han realizado numerosos estudios, para evaluar el papel de las plantas del entorno, tanto silvestres como cultivadas, en la conservación de mիրidos y anthocóridos depredadores. Los trabajos realizados por ALOMAR *et al.* (2002), muestran que la abundancia y diversidad vegetal presentes en los entornos, tanto de cultivos de aire libre como de invernaderos está relacionada con la colonización de los cultivos por parte de *M. caliginosus*. Por otro lado, el estudio de la abundancia estacional de *Orius* spp. sobre las plantas huésped *Vicia sativa* Linnaeus y *Lupinus hispanicus* Boiss & Reuter sugiere que son dos buenas candidatas para

conservar las poblaciones del anthocórido en invierno y para incrementarlas en primavera (ALOMAR *et al.*, 2006).

Los resultados de este trabajo muestran que la utilización de *Mentha suaveolens* como planta refugio para la instalación temprana de *O. laevigatus* es una técnica que permite un control más rápido de las poblaciones de trips, si bien exige un mayor conocimiento del manejo y control de esta especie vegetal. Por un lado es necesario, obtener una planta sana sin incidencia de otros fitoparasitos y en fase de floración y por otra parte, se requiere además de un periodo previo para la inoculación y desarrollo del depredador hasta obtener una planta con una población instalada.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo se ha realizado en el marco del Proyecto CENIT MEDIODIA: Subproyecto “Selección de plantas refugio para conservación y aumento de enemigos naturales en cultivos hortícolas bajo plástico del sureste Español”, financiado por el Ministerio de Industria, Turismo y Comercio y el CDTI.

Queremos expresar nuestro agradecimiento a David Beltrán, Alejo Soler y Ana Parra (Departamento de Investigación de Agrobío S. L.).

ABSTRACT

CANO, M. E., VILA, E. SALVADOR, D. JANSSEN, L. LARA, M. M. TÉLLEZ. 2012. Use of *Mentha suaveolens* Ehrh and *Ocimum basilicum* Linnaeus as refuge plants to advance the installation of *Orius laevigatus* Fieber (Hemiptera: Anthocoridae) on pepper crop. *Bol. San. Veg. Plagas*, **38**: 311-319

Orius laevigatus Fieber is used on the biological control of thrips (*Frankliniella occidentalis* Pergande). The predator is released when the pepper crop is flowering. Taking around four weeks to establish on the crop. Using refuge plants can be a solution to improve the installation of the predator. This essay evaluates the efficacy of *Mentha suaveolens* Ehrh and *Ocimum basilicum* Linnaeus as refuge plants by means of a comparative essay with the commercial releases. The use of both species brings forward the installation of the predator allowing faster control of the pest, however the species *M. suaveolens* showed a higher efficiency.

Key words: refuge plant, basil, apple mint, thrips, anthocorids.

REFERENCIAS

- ALOMAR, O., GOULA, M., ALBAJES, R. 2002. Colonisation of tomato fields by predatory mirid bugs (Hemiptera: Heteroptera) in northern Spain. *Agriculture Ecosystems and Environment*, **89**: 105-115.
- ALOMAR, O., GABARRA, R., GONZÁLEZ, O., ARNÓ, J. 2006. Selection of insectary plants for ecological infrastructure in Mediterranean vegetable crops. *IOBC/WPRS Bulletin*, **29** (6): 5-8.
- ARNÓ, J., ARIÑO, J., ESPAÑOL, R., MARTÍ, M. ALOMAR, O. 2000. Conservation of *Macrolophus caliginosus* Wagner (Het. Miridae) in commercial greenhouses during tomato crop-free periods. *IOBC/WPRS Bulletin*, **23** (1): 241-246.
- ARNÓ, J., GABARRA, R., ALBAJES, R. 2005. Conservación de míridos depredadores para el control biológico en cultivos de tomate bajo invernadero: historia, éxitos y limitaciones. *Phytoma España*, **165**: 40-43.
- BELDA, J., CABELLO, T., ORTIZ, J., PASCUAL, F., 1992. Distribución de *Frankliniella occidentalis* (Thys.: Thripidae) en cultivo de pimiento bajo plástico en el sureste de España. *Bol. San. Veg. Plagas*, **18**: 237-252.
- BOJA. 2007. Orden de 10 de octubre de 2007. Reglamento Específico de Producción Integrada de Cultivos Hortícolas Protegidos (tomate, pimiento, berenjena, judía, calabacín, pepino, melón y sandía). *Boletín Oficial de la Junta de Andalucía*, núm 211, Sevilla 25 de octubre de 2007.
- CANO, M., VILA, E., JANSSEN, D., BRETONES, G., SALVADOR, E., LARA, L., TÉLLEZ, M. M. 2009. Selection of refuges for *Nesidiocoris tenuis* (Reuter) (Het.: Miridae) and *Orius laevigatus* (Fieber) (Het.: Anthocoridae). Virus reservoir risk assessment. *IOBC/WPRS Bulletin*, **49**: 281-286.
- CUADRADO, I.M. 1996. Enfermedades causadas por *Tomato spotted wilt virus* en cultivos de invernadero en Almería. *Consejería de Agricultura y Pesca, Junta de Andalucía*, pp. 192.
- DÍAZ, T., IGARZA, A., PIÑÓN, M. 1999. Albahaca verde: hospedero de *Orius insidiosus*. *Fitosanidad*, **3** (1): 77-78.
- GONZÁLEZ-ZAMORA, J. E. RIBES, A., MESEGUER, A., GARCÍA-MARÍ, F. 1994. Control de trips en fresón: empleo de plantas de haba como refugio de poblaciones de antocóridos. *Bol. San. Veg. Plagas*, **20**: 57-72.
- HOY, M. A. 1985. En: Helle, W. y Sabelis, M. W. (Eds.). Spider mites: Their biology, natural enemies and control. Vol. IB. Elsevier, Amsterdam, pp. 299-310.
- JANSSEN, D., SÁEZ, E., SEGUNDO, E., MARTÍN, G., GIL, F., CANO, M., ORTEGA, A., CUADRADO I.M. 2005. Epidemiology of diseases caused by viruses in horticulture crops in Almería, Spain. IX International Plant Virus Epidemiology Symposium, Lima, Peru, April 4-7, Abstracts, p 50.
- JUNTA DE ANDALUCÍA. CAP. 2010. Boletín bimestral de información agraria. Noviembre-Diciembre 2010. *Servicio de estudios y estadísticas*, 207. pp 112.
- LANDIS, D., WRATTEN, S. D., GURR, G.M. 2000. Habitat Management for Natural Enemies of Arthropod Pests in Agriculture. *Annual Review Entomology*, **45**: 175-201.
- PÉREZ, C. 2007. Utilización de fauna auxiliar y autóctona para el control de trips en pimiento. *Horticultura*, **199**: 48-51.
- TAPIA, G., TÉLLEZ, M. M. 2006. *Orius laevigatus*, un buen agente contra trips. *Horticultura*, **194**: 42-43.
- TORRES-VILA, L.M., LACASA, A., BIELZA, P., MECO, R. 1994. Dinámica poblacional de *Thrips tabaci* Lind. (Thysanoptera: Thripidae) sobre liliáceas hortícolas en Castilla La Mancha. *Bol. San. Veg. Plagas*, **20** (2): 661-677.
- VAN DER BLOM, J. 2008. Pimiento bajo abrigo. En: Control biológico de plagas agrícolas; (J.A. Jacas, A. Urbaneja, Editores). *Phytoma-España*, 399-409.
- VAN DER BLOM, J., ROBLEDO, A., TORRES, S., SÁNCHEZ, J.A. 2009. Consequences of the wide scale implementation of biological control in greenhouse horticulture in Almería, Spain. *IOBC/WPRS Bulletin*, **49**: 9-13.
- VILA, E., CANO, M., JANSSEN, D., TÉLLEZ, M.M. 2008. Plantas refugio para el control biológico de plagas en ornamentales. *Plantflor*, **128**: 114-118.
- WÄCKERS, F.L. 2005. Suitability of (extra-)floral nectar, pollen, and honeydew as insect food sources. In: *Plant-Provided Food for Carnivorous Insects: A Protective Mutualism and its Applications*; (Wäckers, F.L., van Rijn, P.C.J., Bruin, J., Eds.), Cambridge University Press, 17-74.

(Recepción: 29 de mayo de 2012)

(Aceptación: 4 de diciembre de 2012)

Biological and eradication parameters of the tomato leafminer, *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) affected by two biopesticides

A. M. A. REDA, A. E. HATEM

The tomato leaf miner, *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) was treated as 1st and 3rd instars larvae with the biopesticides; *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*, *Beauveria bassiana* (Balsamo) or both to evaluate their toxicity against the pest. The biological and eradication parameters of the tomato leafminer were affected when treated as newly hatched larvae by LC₅₀s of the biopesticides. The study results obtained determined that the biopesticide *B. thuringiensis* var. *kurstaki* shows greater efficiency than *B. bassiana*. While, *B. thuringiensis* var. *kurstaki* + *B. bassiana* gave antagonistic effect against the tested pest than *B. thuringiensis* var. *kurstaki* or *B. bassiana*. The biopesticide compound, *B. thuringiensis* var. *kurstaki* proved the most potent against newly hatched and 3rd instar larvae of *T. absoluta* followed by *B. bassiana* and *B. thuringiensis* var. *kurstaki* + *B. bassiana*. Newly hatched larvae were more susceptible than 3rd instars. Larval and pupal phase duration was increased and so were the adult phase durations, post oviposition period and life cycle of *T. absoluta* except for with *B. thuringiensis* var. *kurstaki* + *B. bassiana* treatment, the values lower than control. In all treatments both larval mortality and sterility percentages were increased. Moreover, the same biopesticides caused decreases in the oviposition period, egg laying rate, percentages of adult eclosion, pupation, egg hatchability and fecundity compared with the control values.

On the other hand, the prediction (life table) parameters of the tomato leafminer were affected by biopesticide treatments. The female progeny/female (Mx) as well as survival rate (Lx) of *T. absoluta* was decreased in biopesticide treatments, especially in *B. thuringiensis* var. *kurstaki* treatment. The biopesticide treatments decreased the net reproductive rate (R₀), increase rate (intrinsic rate of natural increase (r_m)) and finit rate of increase (e^m) compared with the control. On the other hand, *B. thuringiensis* var. *kurstaki*, followed by *B. bassiana* had increased the times of generation (T) and doubling (DT).

A. M. A. REDA. Plant Protection Research Institute, Agriculture Research Center, 7 Nadi El-Said St., (12311) Dokki, Giza, Egypt.

A. E. HATEM. Entomología Agroforestal. Departamento de Ciencias y Recursos Agrícolas y Forestales. Universidad de Córdoba, Campus Rabanales, Edificio Celestino Mutis (C4). 14071 Córdoba, España, e-mail: cr2sayed@uco.es.

Keywords: Larval duration, pupal duration, life table, Adult longevity.

INTRODUCTION

Tuta absoluta (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) first described in Peru in 1917, is

now found throughout South America, where it is considered one of the most devastating pests for tomato crops (BARRIENTOS *et al.*, 1998; ESTAY 2000; EPPO 2006). *T. absoluta*

is considered to be a serious threat to tomato production in Mediterranean region (DESNEUX *et al.*, 2010). This pest is crossing borders and devastating tomato production both protected and in open fields. The infestation by *T. absoluta* has also been reported on potato, aubergine and *Phaseolus vulgaris*. *T. absoluta* is a very challenging pest to control. Effectiveness of chemical control is limited due to insect's natural resistance to damage as well as its rapid capability for developing the insecticide resistant strains (LIETTI *et al.*, 2005; IRAC, 2009c; STRATEN *et al.*, 2011). The efficacy of insecticides based on different subspecies of *Bacillus thuringiensis* Berliner, sprayed four times at weekly intervals, varied widely from around 35 to 70% (NANNINI *et al.*, 2011).

Biopesticides are very effective in agricultural pest control without causing serious damage to ecological chain or aggravating environmental pollution. Development of practical applications in the field of biopesticides greatly mitigates environmental pollution caused by chemical pesticide residues and promotes sustainable development of agriculture (LENG *et al.*, 2011). The development of biopesticides stimulates modernization of agriculture and will, undoubtedly, gradually replace chemical pesticides. Many biopesticides are ideal substitutes for their traditional chemical counterparts in pollution-free agricultural production, but some of them display certain toxicity; this should be taken into consideration by the researchers in the field (LENG *et al.*, 2011).

B. thuringiensis var. *kurstaki* (Btk) is a member of the genus *Bacillus*, a diverse group of spore forming bacteria that consists of more than 20 species. The species of *B. thuringiensis* is common in terrestrial habitats, including soil, dead insects granaries and on plants (American Academy of Microbiology, 2002). *B. thuringiensis* must be eaten by a susceptible insect in order to be effective. The microorganism produces both spores (resting stage) and crystalline protein (an endotoxin). When eaten by the insect, this endotoxin be-

comes activated and binds to the insect gut creating a pore through which gut contents can enter to the body cavity and bloodstream of the insect. The insect ceases to feed and dies within a few days (TABASHNIK, *et al.*, 2003, SALVO and VALLADARES, 2007). Btk may not be effective once *T. absoluta* larvae enter plant parts (SIXSMITH, 2009).

Beauveria bassiana (Balsamo), is a pathogenic fungus with a large host range and it is used for biological insect control. *B. bassiana* infects and kills the pest when it comes in to contact with the fungal spores. Once the fungal spores attach to the insect's cuticle, they germinate sending out structures (hyphae) that penetrate and proliferate in the insect's body. It may take 3-5 days for insects to die, but infected cadavers may serve as a source of spores for secondary spreading of the fungus. Insects can also spread the fungus through mating (LONG *et al.*, 2000).

B. bassiana (strain GHA 1991) was tested alone or in combination with *B. thuringiensis* for control of *T. absoluta* in open tomato fields in Ibiza, Spain (TORRES GREGORIO *et al.*, 2009). Both treatments reduced the number and severity of fruit damage when compared to the control.

This study aims to evaluate the toxicity of the two biopesticides Protecto (*B. thuringiensis* var. *kurstaki*) and Biover (*B. bassiana*) (Balsamo) alone and mixture against the tomato leafminer, *T. absoluta* (Meyrick). Also, the biological and eradication parameters of the tested pest as a result of treatments with LC₅₀'s of the biopesticide used were studied.

MATERIALS AND METHODS

Biopesticides

1. Protecto is a commercial formulation of *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* and it is a product of Special Unit for Producing Bioinsecticides, Plant Protection Research Institute (PPRI), Agriculture Research Center (ARC), Egypt, with 32000 international toxicity units (spores and protein

crystals) per mg. The active ingredient is 6.4% W.P. and the application rate is 300 g/Feddan.

2. Biover a commercial formulation of *Beauveria bassiana* and it is a product of Special Unit of Producing Bioinsecticides, PPRI, ARC, Egypt. The international unit was 32,000 viable spores per mg. The active ingredient was 10% W.P. and the recommended application rate was 200 g /100 liter water/Faddan.

The Pest

The tomato leaf miner, *Tuta absoluta* samples from tomato growers at Wadi El-Natron, Al-Alamein road, Cairo-Alexandria desert road, Egypt in 2012. The pest was reared in the laboratory on tomato seedlings. The larvae were added with tomato seedlings in glass jars which were tightly closed with muslin. If needed more tomato seedlings were added until pupation. When at least 5 pair of adults had emerged, they were put in glass cages (17 cm height and 7-12 cm in diameter) prepared with tomato seedlings as deposit of eggs and a piece of cotton saturated in a sugar solution 10% to feed the moths and tightly closed with muslin. The eggs on the tomato seedling were collected and put in jars until hatching.

Insecticidal activity of *B. thuringiensis* var. *kurstaki* and *B. bassiana* against *T. absoluta*

Four concentrations (1, 2, 3 and 4 g) of *B. thuringiensis* var. *kurstaki* or *B. bassiana* were used. In case combination of *B. thuringiensis* var. *kurstaki* + *B. bassiana* mixed at ratio of 1:1. Three replicates/each concentration were used. Tomato seedlings were embedded in each concentration. It was transferred on a clean white paper until water evaporated. Tomato seedlings treated with biopesticides compounds were put in clean glass jars with 20 newly hatched or 3rd instar larvae field strain of *T. absoluta* / replicate (60 larvae/concentration). Tomato seedlings embedded in water only were used as control. The jars were closed tightly with muslin and rubber

and kept at 27±2 °C. Mortality was noted after 72 hours of treatments.

Mortality percentages were corrected with the ABBOTT formula (1925).

LC₅₀ and LC₉₀ values were obtained by a software computer probane according to FINNEY (1971). The efficiency of both insecticides could be measured using SUN'S equation (1950) as follows:

Toxicity index = $\frac{[LC_{50} (LC_{90}) \text{ of the compound A}]}{LC_{50} (LC_{90}) \text{ of the compound B}} \times 100$

Where: A: is the most effective compound. B: is the other tested compound.

Biological parameters

The tomato leaf miner, *T. absoluta* treated as newly hatched larvae with LC₅₀ of *B. thuringiensis* var. *kurstaki*, *B. bassiana* and *B. thuringiensis* var. *kurstaki* + *B. bassiana* used.

The following biological parameters were investigated as follows:

- Larval development, pupal duration and adult longevity (in days).

- Pupation and moths emergency percentages.

% Pupation = $\frac{\text{N}^\circ \text{ produced pupae}}{\text{Total tested larvae}} \times 100$

% Moths emergency = $\frac{\text{N}^\circ \text{ emerged moth}}{\text{Total tested larvae}} \times 100$

- Larval and adult moth mortality percentages: Were corrected according to Abbott's formula (1925).

Mortality % = $\frac{\text{N}^\circ \text{ of dead larvae}}{\text{Total N}^\circ \text{ of larvae}} \times 100$

Corrected mortality% = $\frac{(P - P_0)}{100 - P_0} \times 100$

P = Percent mortality of treated larvae or moths.

P₀ = Percent mortality of untreated larvae or moths.

- Pre-oviposition, oviposition and post-oviposition periods:

2-5 pairs of emerged moths were placed in clean glass jars (17 cm height and 7-12 cm in

diameter) to determine the periods from adult female emergence until death.

- **Egg laying and egg hatchability percentage:**
The total number of eggs per female was calculated from daily counts of deposited eggs on the tomato seedlings. Each treatment yielded data on the daily egg production and on the differential survival of females. The egg hatchability percentage was counted as follows:
% egg hatchability = (N° hatched eggs / N° deposited eggs) * 100
- **Control of hatchability percentage:**
Was calculated according to ZIDAN and ABDEL-MEGEED (1987) as follows:
Hatchability percentage = (N° egg hatchability in check - N° egg hatchability in treatment / N° egg hatchability in check) * 100
- **Fecundity percentage:**
Was calculated according to CRYSTAL and LACHANCE (1963) as follows:
Fecundity percentage = (N° eggs/ treated female / N° eggs/ untreated female) * 100
- **Sterility observed and corrected percentages:**
Were calculated according to ZIDAN and ABDEL-MEGEED (1987) as follows:
% Sterility observed = 100 - Egg hatchability percentage
% Corrected sterility = (% Sterility observed - Check / 100 - Check) * 100
- **Life cycle:**
This period extended from egg deposited until adult emergence (in days).

Eradication parameters

The data of eradication (life table) study were analyzed by a computer program developed by (ABOU-SETTA *et al.*, 1986). The input data for the program includes: insect name, temperature used, number of observation, time interval between observations, development time from egg to adult female, initial number of females, fraction of eggs laid reaching maturity, sex ratio as females per total, egg laying rate of *T. absoluta*. The program's

output data includes information for each interval of adult female age: total progeny per interval (egg laying rate) (M), number of females alive at age x (L), mean female age at each interval mid-point (X), female progeny per female produced during the day x (Mx), rate of survival (Lx), the product of [(Mx)(Lx)] as (MxLx), and the final values of RML (the product of (Mx)(Lx) is then divided by the value e (the base of natural logarithm to the power of (r_m))

Finally, the program prints out the precise life table sheet parameters of that study as the sum of RML, the generation time (T) was calculated by $[\sum ((X)(Lx)(Mx))/Ro]$, the net reproductive rate (Ro) was calculated by $[\sum((Lx)(Mx))]$, the doubling time (DT) was resulted from dividing the normal logarithm on r_m , the intrinsic rate of natural increase (r_m) that was calculated by $[\ln (Ro)/T]$ and the finite rate of increase (e^{rm}) is the natural antilogarithm of the intrinsic rate of increase and gives the number of times which the population multiplies in a unit time (doubling time, DT). Also, the sex ratio was calculated.

Statistical analysis

All biological parameters of *T. absoluta* were analyzed using Costat 1990 statistical program software, and Duncan's multiple range test (DUNCAN, 1955) at 5% probability level to compare the differences among time means.

RESULTS AND DISCUSSION

Efficacy of *B. thuringiensis* var. *kurstaki* and *B. bassiana* against *T. absoluta*

Table (1) showed that the biopesticide compound, *B. thuringiensis* var. *kurstaki* was the most potent compound against newly hatched larvae of *T. absoluta* (LC₅₀: 0.479 g/l), followed by *B. bassiana* (LC₅₀: 1.047 g/l) and *B. thuringiensis* var. *kurstaki* + *B. bassiana* (LC₅₀: 1.624 g/l). The same trend of the biopesticide efficacy against the newly hatched was found in 3rd instars larvae as illustrated in table 1. *B. thuringiensis* var. *kurstaki*

Table 1: Efficacy of the biopesticide compounds against *T. absoluta*

Biopesticides	LC ₅₀ (gm/L) 95% Confidence limits	LC ₉₀ (gm/L) 95% Confidence limits	Toxicity index	
			LC ₅₀	LC ₉₀
1st instars larvae				
<i>B. thuringiensis</i> var. <i>kurstaki</i>	0.479 0.283±0.680	3.143 1.760 ±13.52	100	100
<i>B. bassiana</i>	1.047 0.649 ±2.615	14.21 4.314±18.69	45.75	22.1
<i>B. thuringiensis</i> var. <i>kurstaki</i> + <i>B. bassiana</i>	1.624 1.241±2.095	6.903 4.552±15.25	24.6	45.53
3rd instars larvae				
<i>B. thuringiensis</i> var. <i>kurstaki</i>	1.158 0.504±1.589	3.189 2.343±6.959	100	100
<i>B. bassiana</i>	1.310 0.230 ±1.945	6.432 3.691±19.85	88.39	49.58
<i>B. thuringiensis</i> var. <i>kurstaki</i> + <i>B. bassiana</i>	2.331 1.825±2.868	5.178 3.897±10.18	49.68	61.58

showed the highest toxicity (LC₅₀: 1.580 g/l), followed by *B. bassiana* (LC₅₀: 1.310 g/l) and *B. thuringiensis* var. *kurstaki* + *B. bassiana* (LC₅₀: 2.331 g/l).

The biopesticide compound, *B. thuringiensis* var. *kurstaki* was the most efficient against newly hatched and 3rd instar larvae (Toxicity index=100) both at levels LC₅₀ and LC₉₀. *B. bassiana* on the other hand, had lower efficacy than *B. thuringiensis* var. *kurstaki* (Toxicity index=45.750 according to LC₅₀) for newly hatched and 88.390 according to LC₅₀ for 3rd instar larvae. Moreover *B. thuringiensis* var. *kurstaki* + *B. bassiana* had antagonistic effect against the pest at two treatment stages. While, at LC₉₀ levels, *B. thuringiensis* var. *kurstaki* + *B. bassiana* gave lower efficacy than treatments of *B. bassiana* only as showed in table (1). The same result has been observed by GONZÁLEZ-CABRERA *et al.*, 2011 they found that 1st instar larvae

were the most susceptible, while susceptibility was lower in 2nd and 3rd instar larvae. On the contrary, AMER and EL-NEMAKY (2008) showed that *B. thuringiensis* var. *kurstaki* + *B. bassiana* gave synergistic effect against the newly hatched larvae of *Pectinophora gossypiella* (Saunders 1844) than *B. thuringiensis* var. *kurstaki* and *B. bassiana* when used singly.

Biological parameters of *T. absoluta* when treated with the biopesticides

Larval development, pupal duration and adult longevity

The larval period duration of the tomato leaf miner, *T. absoluta* increased compared to control when treated tomato leaf miner as newly hatching larvae by LC₅₀'s of *B. thuringiensis* var. *kurstaki*, followed by *B. bassiana*. While, *B. thuringiensis* var. *kurstaki* + *B.*

Table 2: Effect of tested biopesticides on some biological parameters of *T. absoluta* treated as newly hatched larvae

Biopesticides	Larval duration (days)	% Larval Mortality	Pupal duration (days)	% Pupation	Adult duration (days)	% Adult emergency	Female adult longevity (days)			% Adult mortality
							Pre-oviposition period	Ovipos. period	Post-Ovipos. period	
<i>B. thuringiensis</i> var. <i>kurstaki</i>	17 ^a (14-20)	83 ^a (80-86)	19 ^a (17-21)	27 ^c (23-31)	23 ^a (21-25)	20 ^c (18-22)	2 ^a (2-2)	10 ^b (8-12)	11 ^a (10-12)	7 ^a (5-9)
<i>B. bassiana</i>	15 ^b (13-17)	68 ^b (66-70)	12 ^b (10-14)	42 ^b (40-44)	23 ^a (20-26)	40 ^b (36-44)	2 ^a (2-2)	10 ^b (9-11)	11 ^a (10-12)	2 ^b (1-3)
<i>B. thuringiensis</i> var. <i>kurstaki</i>	13 ^c (10-15)	56 ^c (52-60)	8 ^c (7-9)	44 ^b (40-48)	23 ^a (22-24)	42 ^b (38-46)	2 ^a (2-2)	10 ^b (7-13)	11 ^a (10-12)	2 ^b (2-2)
Control	14 ^{bc} (13-15)	10 ^d (8-12)	10 ^c (7-13)	90 ^a (88-92)	21 ^b (19-23)	88 ^a (86-90)	2 ^a (2-2)	12 ^a (11-13)	7 ^b (6-8)	2 ^b (1-3)
LSD _{0.05}	1.708	31.500	5.944	27.240	1.000	28.770	0.000	1.000	2.000	2.500
SS	70.670	8930.300	242.250	6760.300	45	7529	0	39	44	68.250
df	8	8	8	8	8	8	0	8	8	8
F	1.967	360.800	15.280	222.680	0.670	248.300	0	0.800	12	12.500
P	0.1976 NSD	0.000 SD	0.0011 SD	0.000 SD	0.5957 NSD	0.000 SD	0	0.5279 NSD	0.0025 SD	0.0022 SD
Error mean square	5.080	8.250	4.500	10	4.500	10	0	3.750	1	1.500

NSD = No Significant Difference. SD = Significant Difference.

bassiana decreased about one day than control, the values were 17, 15, 13 and 14 days for *B. thuringiensis* var. *kurstaki*, *B. bassiana*, *B. thuringiensis* var. *kurstaki* + *B. bassiana* and control as in Table (2).

The same clear tendency in pupal duration of *T. absoluta* that increased especially in *B. thuringiensis* var. *kurstaki* treatment which had the highest increase (19 days), followed by *B. bassiana* (12 days). Opposite, *B. thuringiensis* var. *kurstaki* + *B. bassiana* decreased to 8 days compared to the control value that was 10 days, as illustrated in Table (2). All the treatments used gave the same duration (23 days) for *T. absoluta* adult moth compared to control value (21 days) as shown in the same table.

Pupation and adult emergence percentages

Table 2 shows that the pupation percentages of *T. absoluta* were affected when treated with biopesticides. Pupation percentages were decreased to (27% and 42%) with *B. thuringiensis* var. *kurstaki* and *B. bassiana* (42%) respectively and to (44%) with the combination of *B. thuringiensis* var. *kurstaki* + *B. bassiana* compared with control pupation (90%). The same trend was found in adult eclosion percentage parameter of *T. absoluta*. All the compounds decreased the eclosion percentages to 20, 40 and 42% for *B. thuringiensis* var. *kurstaki*, *B. bassiana* and *B. thuringiensis* var. *kurstaki* + *B. bassiana*, respectively compared to normal adult emergence percentage (88%).

Larval and adult mortality percentages

The results in the table 2 show that the larval mortality percentage of *T. absoluta* treated as newly hatched larvae with *B. thuringiensis* var. *kurstaki* reached 83%, followed by *B. bassiana* 68% and then 56% in *B. thuringiensis* var. *kurstaki* + *B. bassiana* treatment, while the value was 10% in the control.

On the other hand, percentage of adult mortality of *T. absoluta* increased to 7% in *B. thuringiensis* var. *kurstaki* only. Meanwhile, the other treatments of *B. bassiana* and *B.*

thuringiensis var. *kurstaki* + *B. bassiana* had the same adult mortality percentage than the control (2%) as described in the aforementioned Table.

Pre-oviposition, oviposition and post-oviposition periods

Table (2) shows that there are not differences among the biopesticides used in the effect on pre-oviposition period of *T. absoluta*, noted every two days after treatment. Also the same time in control value (2 days). The previous table demonstrates that normal oviposition period of *T. absoluta* was 12 day; this value decreased to about 10 days in the females obtained from newly hatched larvae treated with *B. thuringiensis* var. *kurstaki*, *B. bassiana* and *B. thuringiensis* var. *kurstaki* + *B. bassiana*. The biopesticide, *B. thuringiensis* var. *kurstaki* when used alone or mixed with *B. bassiana* gave the same result of post-oviposition period when the *T. absoluta* treated as newly hatched larvae with the LC₅₀s of the previous biopesticides. The values were 11 days which increased in over 4 days the control (7 days) as described in table (2).

Egg laying rate and hatchability percentage

The egg laying rate of *T. absoluta* normal females in control was of 260 eggs/female as shown in table (3), this value decreased to 175 eggs/female in females treated as newly hatched larvae with *B. thuringiensis* var. *kurstaki*, followed by *B. bassiana* (185 eggs/female) and *B. thuringiensis* var. *kurstaki* + *B. bassiana* (189 eggs/female).

On the other hand, eggs laid by the females initiated from newly hatched larvae of *T. absoluta* treated with *B. thuringiensis* var. *kurstaki* compound had the lowest hatchability percentage (74%), followed by *B. bassiana* treatment that had 80% and then *B. thuringiensis* var. *kurstaki* + *B. bassiana* treatment (85%) compared to control (90%) as in the same table.

Control of hatchability percentage

Table (3) describes that eggs laid by the females of *T. absoluta* treated as newly hatched

Table 3: Effect of tested biopesticides on the egg, fecundity, sterility and life cycle of *T. absoluta* treated as newly hatched larvae

Biopesticides	Egg laying rate (N° of egg/ female)	% Egg hatchability	% Control of hatchability	% Fecundity	% Sterility observed	% Corrected sterility	Life cycle (days)
<i>B. thuringiensis</i> var. <i>kurstaki</i>	175 ^c (170-180)	74 ^c (70-78)	17.78 ^a (12.7- 22.8)	41.67 ^c (38.6-44.7)	26 ^a (23-29)	17.78 ^a (15.7- 19.8)	40 ^a (36-44)
<i>B. bassiana</i>	185 ^b (178-192)	80 ^b (75-85)	11.11 ^b (8.1-14.1)	47.22 ^{bc} (42.2-52.2)	20 ^b (18-22)	11.11 ^b (10.1- 12.1)	31 ^b (28-34)
<i>B. thuringiensis</i> var. <i>kurstaki</i> + <i>B.</i> <i>bassiana</i>	189 ^b (182-196)	85 ^b (83-88)	5.58 ^c (3.5-7.8)	49.44 ^b (44.4-54.4)	15 ^c (11-19)	5.56 ^c (3.5-7.6)	25 ^c (22-28)
Control	260 ^a (250-270)	90 ^a (84-96)	-	100 ^a (100-100)	10 ^d (8-12)	-	28 ^c (26-30)
LSD _{0.05}	48.850	6.8490	7.608	27.140	6.849	7.611	7.632
SS	14098.250	594.670	761.490	6748.400	488.250	539.320	454
df	8	8	8	8	8	8	8
F	81.630	6.848	11.567	149.840	17.060	77.230	13.260
P	0.000 SD	0.0134 SD	0.0028 SD	0.000 SD	0.0008 SD	0.0000 SD	0.0018 SD
Error mean square	55.750	20.830	17.830	14.750	8.250	2.250	9.500

SD = Significant Difference.

larvae with the *B. thuringiensis* var. *kurstaki* and *B. bassiana* mixture were 5.58% control of hatchability, this value increased to 11.11% and 17.78% when the *B. thuringiensis* var. *kurstaki* and *B. bassiana* were used alone, respectively.

Fecundity percentage

The biopesticides of *B. thuringiensis* var. *kurstaki* and *B. bassiana* mixture gave the highest fecundity percentage (49.44%) on adult moths initiated from *T. absoluta* newly hatched larvae treated with it as shown in table (3), followed by *B. bassiana* (47.22%) and *B. thuringiensis* var. *kurstaki* (41.67%) as analysis data show in table (3).

Sterility observed and corrected percentages

The sterility observed of *T. absoluta* control was 10% as mentioned in table (3), this value increased to 15% in adult females initiated from newly hatched larvae treated with *T. absoluta* by *B. thuringiensis* var. *kurstaki* + *B. bassiana* compound, followed by *B. bassiana* treatment (20%) and reached to 26% in *B. thuringiensis* var. *kurstaki* treatment. The corrected sterility percentage was lower with *B. thuringiensis* var. *kurstaki* + *B. bassiana* treatment (5.56%) than both *B. bassiana* (11.11%) and *B. thuringiensis* var. *kurstaki* (17.78%) as illustrated in table (3).

Life cycle

Results in table 2 showed that *T. absoluta* treated with *B. thuringiensis* var. *kurstaki* + *B. bassiana*, had a life cycle of 23 days which was 25 days in the control, but in the other two treatments with *B. thuringiensis* var. *kurstaki* and *B. bassiana* alone they were increased to 31 and 40 days, respectively. The results obtained agreed with AMER (2007) who mentioned that Dipel-2x increased pupal duration, adult longevity, life cycle, percentages of larval & pupal mortality and sterility. On the other hand, it decreased egg laying and egg hatching. Times additionally, the result of

this work agree too with the results of Amer and EL-NEMAKY (2008) who reported that *B. thuringiensis* var. *kurstaki* + *B. bassiana* is considered the best compound over *B. thuringiensis* var. *kurstaki* or *B. bassiana* alone in toxicity, biological and prediction parameters of *P. gossypiella*.

The eradication (Life table) parameters of *T. absoluta* treated by the biopesticides

Female progeny/female (Mx) and rate of survival (Lx)

Figure 1, illustrates that female progeny/female (Mx) of normal *T. absoluta* ranged be-

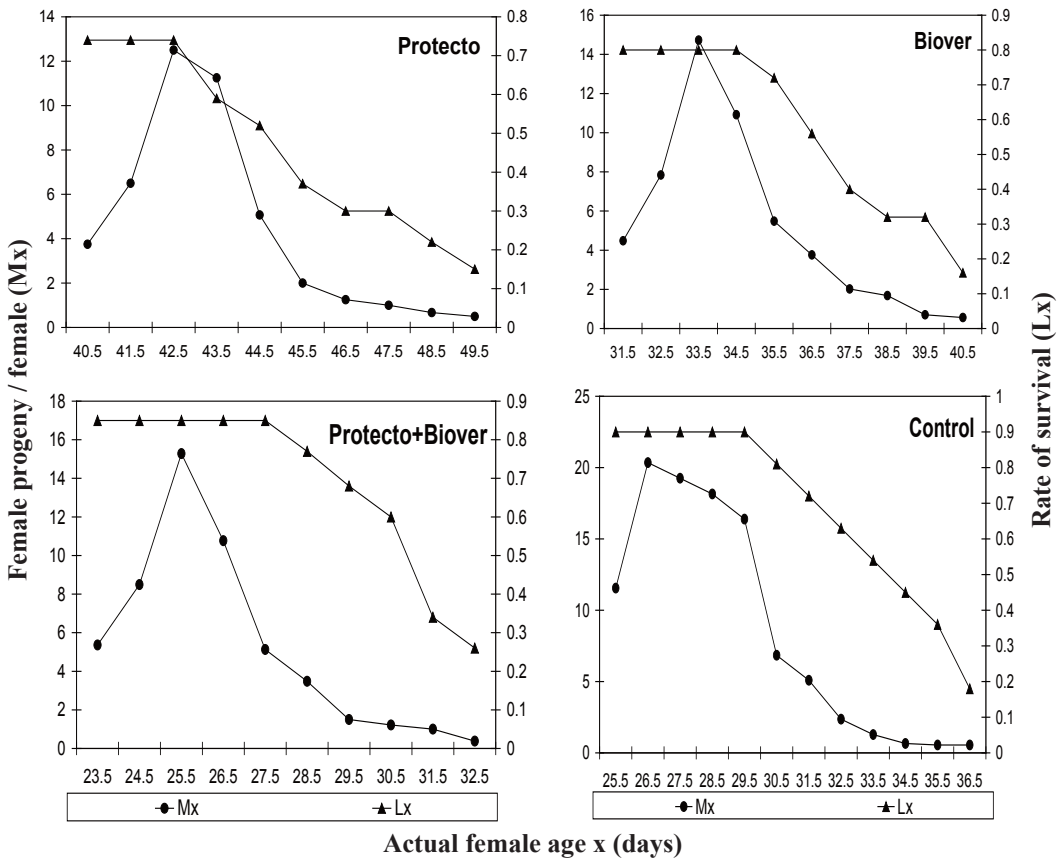


Figure 1: Effect of tested biopesticides on the female progeny/female (Mx) and survival rate (Lx) of *T. absoluta*

tween 0.55 to 20.350, the last values decreased in females initiated from newly hatched larvae treated with *B. thuringiensis* var. *kurstaki*, it ranged between 0.500 to 12.500 females progeny/female. Moreover, it ranged between 0.560 to 14.730 females progeny/female in *B. bassiana* treatment. The same trend was found in *B. thuringiensis* var. *kurstaki* + *B. bassiana* treatment, the Mx values, it ranged between 0.380 to 15.280 females progeny/female that initiated from *T. absoluta* newly hatched larvae treated with biopesticide mixture (*B. thuringiensis* var. *kurstaki* + *B. bassiana*). The (Lx) parameter (rate of survival) ranged between 0.180 to 0.900 times in *T. absoluta* normal females. The females treated as newly hatched larvae with *B. thuringiensis* var. *kurstaki* had a survival rate ranged between 0.150 to 0.740 times, while in *B. bassiana* treatment ranged between 0.160 to 0.800 times. Also, the females initiated from *T. absoluta* newly hatched larvae treated with *B. thuringiensis* var. *kurstaki* + *B. bassiana* had a survival rate ranged between 0.260 to 0.850 times which was the greatest increase when compared with the biopesticides used alone.

Generation time (T)

The tomato leaf miner, *T. absoluta* treated as newly hatched larvae spent 42.71 days un-

der *B. thuringiensis* var. *kurstaki* treatment as in Table (4), followed by *B. bassiana* (33.83 days) which had greater values than the control. Also, the mixture of *B. thuringiensis* var. *kurstaki* + *B. bassiana* caused reduction to 27.78 days) compared with *B. thuringiensis* var. *kurstaki* and *B. bassiana* when used alone and compared with the control (29.85 days).

Net reproductive rate (Ro)

The tested biopesticides caused high reduction of net reproductive rate (Ro) when *T. absoluta* was treated as newly hatched larvae as shown in table (4). The *B. bassiana* treatment result was 38.08 females/female in one generation, the last value decreased to 27.75 females/female under *B. thuringiensis* var. *kurstaki* treatment. The biopesticide mixture (*B. thuringiensis* var. *kurstaki* + *B. bassiana*) had the least destructive reduction effect from net reproductive rate (43.12 females/female) compared with the untreated *T. absoluta* (89.09 females/female).

Increase rate

- Intrinsic rate of natural increase (r_m)

Table (4) shows that intrinsic rate of natural increase (r_m) which means the ability to inherit increase for the *T. absoluta* normal female was 0.161 times/female/day. Also females of *T. ab-*

Table 4: Life table parameters of *T. absoluta* treated as newly hatched larvae with LC₅₀'s of tested biopesticides

Biopesticides	T (days)	(Ro)	Increase rate		DT (days)	Sex ratio
			r_m	e^{rm}		
<i>B. thuringiensis</i> var. <i>kurstaki</i>	42.710	27.750	0.078	1.081	8.890	0.500
<i>B. bassiana</i>	33.830	38.080	0.108	1.114	6.420	0.560
<i>B. thuringiensis</i> var. <i>kurstaki</i> + <i>B. bassiana</i>	27.780	43.120	0.146	1.157	4.750	0.570
Control	29.850	89.090	0.161	1.175	4.310	0.550

(T)= The generation time. (Ro)= The net reproductive rate. (r_m)= The intrinsic rate of natural increase (e^{rm})= The finite rate of increase. (DT)= The doubling time

soluta treated as newly hatched larvae with *B. thuringiensis* var. *kurstaki* and *B. bassiana* had a reduced intrinsic rate compared to the control, down to 0.078 and 0.108 times/female/day, respectively. On the other hand, *B. thuringiensis* var. *kurstaki* + *B. bassiana* treatment showed the least reduction from intrinsic rate, reaching 0.146 times/female/day.

- Finite rate of increase (e^m)

The daily population of the normal *T. absoluta* increased to 1.175 times/female/day as represented in table (4). Also, the females initiated from *T. absoluta* newly hatched larvae treated with *B. thuringiensis* var. *kurstaki* + *B. bassiana* had a capacity (1.157 times/female/day) close to the control's, followed by *B. bassiana* treatment (1.114 times/female/day) and then *B. thuringiensis* var. *kurstaki* treatment which had the lowest population capacity (1.081 times/female/day).

Doubling time (DT)

The time for population become twice its number, (doubling time (DT)) depends on the intrinsic rate of natural increase (r_m) which is affected by many factors as the rate of survival, generation time, female in progeny and fecundity. The tomato leaf miner, *T. absoluta* in control doubled its population every 4.31 days as in table (4). These days increased to 6.42 and 8.89 days when *T. absoluta* was treated as newly hatched larvae with *B. bassiana* and *B. thuringiensis* var. *kurstaki*, respectively.

While, the treatment with *B. thuringiensis* var. *kurstaki* + *B. bassiana* gave values near from control time (4.75 days) for doubling.

Sex ratio

Sex ratio was calculated as females/total. In control of *T. absoluta*, the sex ratio was 0.55. Also, the sex ratio values were 0.5, 0.56 and 0.57 for *B. thuringiensis* var. *kurstaki*, *B. bassiana* and then *B. thuringiensis* var. *kurstaki* + *B. bassiana*, respectively.

The aforementioned results agree with AMER (2006) who reported that Dipel2x (*B. thuringiensis* var. *kurstaki*) decreased rate of survival (L_x) and r_m . On the other hand, it increased from generation time of the pink bollworm. Opposite, Amer and El-Nemaky (2008) reported that *B. thuringiensis* var. *kurstaki* + *B. bassiana* had potentiated effect against pink bollworm than usage of each biopesticide alone.

Generally, the biopesticide, *B. thuringiensis* var. *kurstaki* was the best compound used in this study, followed by *B. bassiana* that had lower effectivity than *B. thuringiensis* var. *kurstaki* in toxicity, biological and eradication parameters of *T. absoluta*. Meanwhile, the mixture biopesticide compounds of *B. thuringiensis* var. *kurstaki* + *B. bassiana* had antagonistic effects and yielded the lowest destructive effect on most of the biological and eradication parameters of the tomato leaf miner than when the same two biopesticides were used alone.

RESUMEN

REDA, A. M. A., A. E. HATEM. 2012. Efecto de dos productos biológicos sobre distintos parámetros biológicos de *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). *Bol San. Veg. Plagas*, **38**: 321-333

Larvas neonatas y de tercer estadio de *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) fueron tratadas con los biopesticidas *B. thuringiensis* var. *kurstaki*, *B. bassiana* y una mezcla de ambos para evaluar su toxicidad contra la plaga. Así mismo, se calcularon las concentraciones letales medias (LC50) de cada uno de los insecticidas para larvas neonatas. Los resultados obtenidos mostraron que *B. thuringiensis* var. *kurstaki* fue mucho más tóxico que *B. bassiana*. Por su parte, la combinación de los dos productos mostró un efecto antagonístico con respecto al uso de los dos biopesticidas por separado. Las larvas neonatas fueron más susceptibles que las larvas de tercer estadio para los tres productos ensayados. Además, hubo una mayor duración de los periodos de desarrollo

larvario, de pupa, post oviposición y ciclo completo en individuos tratados con *B. thuringiensis* var. *kurstaki* y *B. bassiana*. Sin embargo, la combinación de los dos productos causó el efecto contrario, con parámetros por debajo de los obtenidos en el control. El biocida *B. thuringiensis* var. *kurstaki* fue el más activo contra larvas neonatas y de tercer estadio seguido de *B. bassiana* y la combinación de los dos productos. En todos los casos, los tratamientos aumentaron los porcentajes de mortalidad y esterilidad observada. Además, la fecundidad/hembra y el porcentaje de supervivencia fueron menores en los individuos tratados, sobre todo con *B. thuringiensis* var. *kurstaki*. Otros parámetros como la tasa de reproducción, tasa de crecimiento natural y finita fueron menores para los tratamientos que para el control.

Palabras clave: duración larval, duración pupal, tabla de vida, longevidad de los adultos.

REFERENCES

- ABBOTT, W.S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology*, **18**: 265-267.
- ABOU-SETTA, M.M., SORREL, R.W., CHILDERS, C.C. 1986. Life 48: A basic computer program to calculate life table parameters for an insect or mite species. *Florida Entomology*, **69** (4): 690-697.
- AMER, R.A. 2006. Effect of *Bacillus thuringiensis* (Kurs.) combined with gamma irradiation and the mixture of two bioinsecticides on the life table parameters of the pink bollworm. *Journal of Agriculture Science Mansoura University*, **31** (7): 4705-4714.
- AMER, R.A. 2007. Effect of certain bioinsecticides and gamma irradiation on some biological aspects of the pink bollworm. *Egypt Journal of Agriculture Research*, **85** (4):1285-1301.
- AMER, R.A., EL-NEMAKY, I.H. 2008. Effect of some bioinsecticides on the biological and prediction parameters of the pink bollworm, *Pectinophora gossypiella* (Saund.) (Lepidoptera: Gelechiidae). *2nd Arab Conference of Applied Biological Control in 7-10 April*.
- AMERICAN ACADEMY OF MICROBIOLOGY (2002): 100years of *Bacillus thuringiensis*: A critical assessment. <http://www.asm.org>.
- BARRIENTOS, Z.R., APABLAZA, H.J., NORERO, S.A., ESTAY, P.P. 1998. Temperatura base y constante térmica de desarrollo de la polilla del tomate, *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). *Ciencia e Investigación Agraria*, **25**:133-137
- CRYSTAL, M.M., LACHANCE, L.E. 1963. The modification of reproduction in insects treated with alkylating agents. Inhibition of ovarian growth and egg reproduction and hatchability. *Biology Bulletin*, **25**: 270-279.
- DESNEUX, N., WAINBERG, 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, history of invasion and prospects for biological control. *Journal of Pesticides Science*, **83**:197-215.
- DUNCAN, D.B. 1955. Multiple ranges and multiple F test. *Biometrics*, **11**:1-42.
- IRAC. 2009c. IRAC Mode of Action Classification. IRAC (Insecticide Resistance Action Committee). Accessed January 7, 2010. at: http://www.iraconline.org/documents/MoA%20classification_v6.3.3_28july09.pdf.
- ESTAY, P. 2000. Polilla del Tomate *Tuta absoluta* (Meyrick). Impresos CGS Ltda. Available online at: <http://www.inia.cl/medios/Descargas/CRI/Platina/Informativos/Informativo9.pdf>. Accessed 21 August 2007
- EUROPEAN AND MEDITERRANEAN PLANT PROTECTION ORGANIZATION (EPPO). 2006. Data sheets on quarantine pests. *Tuta absoluta*. Available online at: http://www.eppo.org/QUARANTINE/insects/Tuta_absoluta/DS_Tuta_absoluta.pdf. Accessed 11 August 2010.
- FINNEY, D.J. 1971. Probit Analysis, third ed. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom.
- 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** (1): 71-80.
- LENG, P., ZHANG, Z., PAN, G., ZHAO, M. 2011. Applications and development trends in biopesticides. *African Journal of Biotechnology*, **10** (86): 19864-19873.
- LIETTI, M.M.M., BOTTO, E., ALZOGARAY, R.A. 2005. Insecticide Resistance in Argentine Populations of

- Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). *Neotropical Entomology*, **34** (1):113-119.
- LONG, D.W., DRUMMOND, G.A., GRODEN, E. 2000. Horizontal transmission of *Beauveria bassiana*. *Agricultural and Forest Entomology*, **2**:11-17.
- NANNINI, M., F. ATZORI, F., CHESSA, F., FODDI, F., MURGIA, G., PISCI, R., SANNA, F. 2011. Field experiments on management of the tomato borer *Tuta absoluta* (Meyrick) in Sardinian tomato greenhouses. *63rd International Symposium on Crop Protection* 24th May Ghent Belgium.
- SALVO, A., VALLADARES, G.R. 2007. Leafminer parasitoids and pest management. *Ciencia e Investigacion Agraria*, **34** (3):125-142.
- SIXSMITH, R. 2009. Call for integrated pest management as Mediterranean tomato pests spread to UK. *Horticulture Week* (October 9, 2009). Accessed November 5, 2009. <http://www.hortweek.com/news/search/943628/Call-integrated-pest-management-Mediterranean-tomato-pests-spread-UK>.
- STRATEN, M.J., POTTING, R.P., LINDEN, A.V. 2011. Introduction of the tomato leafminer *Tuta absoluta* into Europe. *PROC. NETH. ENTOMOL. SOC. MEET.* V(22).
- SUN, Y.P. 1950. Toxicity index on improved method of comparing the relative toxicity of insecticides. *Journal of Economic Entomology*, **43**: 45-53.
- TABASHNIK, B.E., CARRIERE, Y., DENNEHY, T.J., MORIN, S., SISTERTON, M.S., ROUSH, R.T., SHELTON, A.M., ZHAO, J.Z. 2003. Insect resistance to transgenic Bt crops. Lesson from laboratory and field. *Journal of Economic Entomology*, **96**: 1031-1038.
- TORRES GREGORIO, J., ARGENTE, J., ANGEL DÍAZ, M., YUSTE, A. 2009. Application of *Beauveria bassiana* in the biological control of *Tuta absoluta*. Aplicación de *Beauveria bassiana* en la lucha biológica contra *Tuta absoluta*. *Agrícola Vergel: Fruticultura, Horticultura, Floricultura, Citricultura, Vid, Arroz*, **28** (326):129-132.
- ZIDAN, H., ABDEL-MEGEED, M. I. 1987. New Trends in pesticides and pest control - Part II Al-Dar Al-Arabia for publishing and distribution, Cairo, Egypt.

(Recepción: 11 julio 2012)

(Aceptación: 27 diciembre 2012)

Abundancia estacional y efecto de los parasitoides sobre los pulgones de un cultivo ecológico de cítricos

C. BAÑOL, J. PIÑOL, J. A. BARRIENTOS, N. PEREZ, J. PUJADE-VILLAR

La relación entre las poblaciones de pulgón y sus parasitoides fueron estudiadas en un cultivo de cítricos ecológico en La Selva del Camp (Tarragona), usando la exclusión de hormigas de las copas de los árboles. Nuestros resultados demuestran que no existe mayor diferencia entre las poblaciones de pulgones y sus parasitoides en cítricos ecológicos y en cítricos convencionales, tanto en biodiversidad de especies como en tasas de parasitismo; siendo *Aphis spiraecola* y *A. gossypii*, las especies de pulgones más importantes en nuestro estudio, al igual que el parasitoide *Lysiphlebus testaceipes* y el hiperparasitoide *Asaphes suspensus*. En el mismo sentido, la exclusión de hormigas no presentó diferencia alguna con respecto a los árboles con hormigas, contrario de lo que esperábamos encontrar, y por lo tanto carecemos de explicación para ello. Sin embargo encontramos una dominancia de los hiperparasitoides respecto a los parasitoides primarios, lo cual explicaría las bajas tasas de parasitismo sobre los pulgones. También se resalta la presencia de dos especies de hiperparasitoides no citadas para cítricos ecológicos (*Phaenoglyphis villosa* y *Coruna clavata*).

C. BAÑOL, J. PIÑOL. CREA. Unitat d' Ecologia. Universitat Autònoma de Barcelona. Cerdanyola del Vallès. E- 08193. E-mail: Carolina.Banol@uab.cat, Josep.Pinol@uab.es.

J. A. BARRIENTOS. Unitat d' Zoologia. Universitat Autònoma de Barcelona. E- 08193 Cerdanyola del Vallès. E-mail: JoseAntonio.Barrientos@uab.es.

N. PEREZ. Departamento de Biodiversidad y Gestión Ambiental. Universidad de León. E- 24071 León. E-mail: nperh@unileon.es.

J. PUJADE-VILLAR. Departament de Biologia Animal. Universitat de Barcelona. E- 08028 Barcelona. E-mail: jpujade@ub.edu.

Palabras claves: Agricultura orgánica, control biológico, tasas de parasitismo, exclusión de hormigas.

INTRODUCCIÓN

La agricultura ecológica es una alternativa más respetuosa con el medio ambiente que la agricultura convencional, en gran parte por su renuncia al uso de plaguicidas de síntesis (GUZMAN *et al.*, 2000; GONZÁLEZ DE MOLINA *et al.*, 2007). Como consecuencia, en la agricultura ecológica el control de plagas recae casi exclusivamente en el empleo de enemigos

naturales, como depredadores y parasitoides (GRAHAM y GORDON, 1992; BENGTTSSON *et al.*, 2005; PASCUAL-RUIZ y URBANEJA, 2006). Los cítricos son uno de los principales cultivos de la región mediterránea, siendo España uno de los principales productores (DOMINGUEZ, 2001). No obstante los cítricos ecológicos solo constituyen una pequeña parte de la superficie de la agricultura ecológica total en España (5391 ha; 0.01%) (MAGRAMA, 2010), así como del

totalidad de cítricos cultivados (311584 ha; 0,61%) (MAGRAMA, 2011).

Estos cultivos tienen una gran cantidad de especies plaga (EBELING, 1959; MICHELENA *et al.*, 2004; YOLDAS *et al.*, 2011), entre las que se cuentan los pulgones (Hemiptera: Aphididae) (HERMOSO DE MENDOZA *et al.*, 1997; PIÑOL *et al.*, 2009). Los efectos de los pulgones en los cítricos se manifiestan en un retraso del crecimiento, deformaciones en las hojas y transmisión de virosis (LEITE *et al.*, 2006; DEDRYVER *et al.*, 2010). Los pulgones alcanzan el status de plaga con facilidad debido a sus procesos reproductivos y alimentarios (BELLIURE *et al.*, 2008), pero tienen numerosos enemigos naturales que reducen su abundancia, como depredadores (Coleoptera: Coccinellidae, Diptera: Syrphidae, Neuroptera: Chrysopidae, Hemiptera y Araneae) y parasitoides (Hymenoptera) (STARÝ, 1970; TIZADO y NUÑEZ, 1991; SULLIVAN y VÖLKL, 1999; MICHELENA *et al.*, 2004; PIÑOL *et al.*, 2009).

Los parasitoides e hiperparasitoides más frecuentes de los pulgones de cítricos en el área mediterránea pertenecen a las familias Braconidae, Pteromalidae y Encyrtidae, y en particular las especies *Lysiphlebus testaceipes* (Cresson, 1880), *Trioxys angelicae* (Haliday, 1833), *Praon volucre* (Haliday, 1833), *Aphidius matricariae* (Haliday, 1834), *Aphidius ervi* (Haliday, 1834) y *Asaphes suspensus* (Nees, 1834) (STARÝ, 1970; MICHELENA y SANCHIS, 1997; KAVALLIERATOS *et al.*, 2004).

La mayoría de los parasitoides se caracterizan por ser endoparásitos depositando los huevos en el interior del cuerpo de los pulgones, aunque en algunos géneros la pupación se da lugar el exterior de los mismos (TIZADO y NUÑEZ, 1991). También es importante considerar el efecto que los hiperparasitoides pueden ejercer sobre el control biológico de pulgones, los cuales atacan al parasitoide primario dentro del pulgón hospedador lo que representa un cuarto nivel trófico más evolucionado (SULLIVAN y VÖLKL, 1999). Estudios teóricos de la interacción hospedador - parasitoide primario - hiperparasitoide

muestran que el parasitoide secundario o hiperparasitoide puede fácilmente establecer e incrementar el equilibrio del hospedador (BEDDINGTON y HAMMOND, 1977; MAY y HASSELL, 1981; HASSELL y WAAGE, 1984). Los hiperparasitoides son capaces de alterar el correcto control biológico efectuado por los parasitoides primarios de tres maneras diferentes: i) incrementando la mortalidad de los parasitoides primarios, ii) incrementando de manera indirecta la tasa de crecimiento de las poblaciones de pulgones, y iii) incrementando la propensión de dispersión de los parasitoides primarios (VAN VEEN *et al.*, 2001).

Por otra parte, algunas especies de hormigas establecen una relación mutualista con pulgones, proporcionándoles protección frente a depredadores y parasitoides a cambio de melaza, por lo que es de esperar que la exclusión de hormigas de los árboles aumente la abundancia de parasitoides (y quizás la tasa de parasitismo) y por lo tanto disminuya la de pulgones. La presencia de hormigas también pueden impedir la puesta de los hiperparasitoides y la depredación sobre los pulgones parasitados (KANEKO, 2002 y 2007).

En este contexto, presentamos un estudio de campo de un año sobre las relaciones entre pulgones, parasitoides y hormigas en un campo de cítricos ecológicos con los siguientes objetivos: (1) Analizar la fenología de pulgones y parasitoides, estableciendo las relaciones tróficas inequívocas entre las principales especies que integran el sistema; (2) Estudiar la incidencia de los parasitoides sobre sus huéspedes, mediante la estimación de la tasa de parasitismo y la diversidad de parasitoides; (3) Establecer el efecto de la exclusión de hormigas de las copas de los árboles sobre la población de pulgones, la comunidad de parasitoides e hiperparasitoides y la tasa de parasitismo. Dado el carácter ecológico del cultivo estudiado, esperamos encontrar, en principio, una comunidad de parasitoides más rica y, quizás, una mayor tasa de parasitismo que lo referido en estudios de cultivos de cítricos convencionales.

MATERIAL Y MÉTODOS

Localidad.

El estudio se llevó a cabo en un cultivo de mandarinos en la Selva del Camp (Tarragona), (41°13'07"N, 1°08'35"E). La plantación contiene aproximadamente 300 árboles de *Citrus clementina* var. *clemenules* injertados sobre patrón híbrido citrange Carrizo (*Poncirus trifoliata* (L.) Raf. X *Citrus sinensis* (L.) Osb.), y plantados en un marco de 6 x 3.5 m. Desde el año 2004, el cultivo cumple con todos los estándares de la agricultura ecológica (sin pesticidas, fungicidas o herbicidas, solo la aplicación de abono orgánico).

Seguimiento de la población de pulgón y de la tasa de parasitismo

En una zona de la finca, constituida por tres filas de 23 árboles cada una, se seleccionaron 18 árboles, divididos en dos grupos de 9: uno fue el grupo control y en el otro se excluyeron los insectos caminadores. La exclusión se realizó mediante la aplicación de cola entomológica (Rata Stop) sobre una superficie de plástico alimentario que rodeaba un cilindro de guata sobre el tronco (SAMWAYS y TATE, 1985). En cada árbol se marcaron 8 brotes (2 en cada cuadrante) la mitad de los cuales se utilizó para el seguimiento de las poblaciones de pulgones y la otra mitad para capturar pulgones parasitados con el objetivo de obtener sus parasitoides.

En cada uno de los 72 brotes de seguimiento (18 x 4) se estimó semanalmente la población de pulgones entre abril y principios de noviembre de 2011, excepto en los meses de julio y agosto, cuando el seguimiento se realizó quincenalmente por la baja densidad de las poblaciones de pulgón. En cada brote se anotó que especie de pulgón y en qué cantidad las ocupaba. A medida que la población aumentaba, para la cuantificación se usó la siguiente escala de intervalos de abundancia: 1-5; 6-25; 26-100; > 100 pulgones por brote. Para el cálculo de la densidad se asignó la siguiente marca de clase a cada una de las cuatro usadas: 3, 15, 60, 150 individuos.

Al mismo tiempo, y para cada una de los cuatro brotes control de cada árbol, se cuantificaron las momias emergidas y sin emerger, datos utilizados para determinar la tasa de parasitismo de los himenópteros sobre los pulgones.

En el mes de octubre se añadieron 27 nuevos brotes, para poder continuar el conteo de pulgones y captura de parasitoides en aquellos árboles cuyas ramas maduras marcadas en primavera no emitieron nuevos brotes.

Muestreo de parasitoides

Paralelamente a las medidas anteriores, se tomaron un máximo de 15 muestras de pulgones parasitados (momias) de los brotes seleccionados para las capturas. Las momias de cada hoja seleccionada se transportaron al laboratorio en viales de plástico de 5.5 cm de longitud. Una vez allí se colocaron individualmente en evolucionarios, los cuales consistían en placas de Petri de 5,5 cm de diámetro sobre un papel filtro con 2 o 3 gotas de Sulfato de cobre (1%). A continuación las placas fueron introducidas en una cámara de cría en condiciones homogéneas de luz (fotoperiodo de 12 h), temperatura (24-26°C) y humedad relativa (60%). Los evolucionarios se supervisaron cada 2-3 días con el objeto de recoger los imagos de parasitoides e hiperparasitoides emergidos. Para la captura de los imagos emergidos, los evolucionarios se colocaron de 3 a 4 minutos en un congelador a -6 °C para disminuir la actividad de los parasitoides; luego, se tomaron con un pincel humedecido, y se fijaron en alcohol al 70%, en viales de 0,5 ml. Los himenópteros convenientemente rotulados se guardaron de forma apareada con la correspondiente momia de pulgón (ésta en seco) para su posterior clasificación.

Clasificación de pulgones y parasitoides

Los pulgones se identificaban directamente en campo siguiendo las claves de BARBAGALLO *et al.* (1998) y en caso de duda o colonias mixtas se recogían muestras para su posterior confirmación bajo lupa binocular

en el laboratorio. Este mismo procedimiento se utilizó para las momias recolectadas. Los parasitoides e hiperparasitoides emergidos inicialmente fueron clasificados hasta nivel de familia mediante las claves de GIBSON *et al.* (1997) y luego se individualizaron un total de 45 morfotipos que se clasificaron hasta género o especie. La determinación del material se ha realizado consultando las obras de GRAHAM (1969) y KAMIJO y TAKADA (1973) para los Pteromalidae, y las de STARY (1977) y FERGUSSON (1980) para *Dendrocerus* (Megaspilidae).

Análisis de datos

Se estimó la abundancia de pulgones acumulada como el área bajo la curva de abundancia de cada árbol respecto al tiempo, usando el programa SigmaPlot versión-10.0. La tasa de parasitismo se calculó como el cociente entre el número de pulgones momificados y el total del número de pulgones.

Se realizó un análisis de la varianza (ANOVA) para medir las diferencias entre la abundancia de pulgones entre los árboles control y los árboles con exclusión de hormigas, previa transformación (raíz cuadrada) de la abundancia acumulada de pulgones, usando como factor fijo el tratamiento (control y exclusión) y el bloque (la posición del árbol) como factor aleatorio. Este análisis se repitió para el conjunto de pulgones, para las dos especies más abundantes (*Aphis spiraecola*

Patch, 1914 y *Aphis gossypii* Glover, 1877), para el período de muestreo a lo largo de todo el ciclo y por estaciones (primavera y otoño).

La tasa de parasitismo fue también analizada de forma análoga mediante un análisis de la varianza (ANOVA) para los dos tipos de tratamientos, previa transformación arco-seno de la proporción de parasitismo. Ambos ANOVAS fueron realizados usando SPSS Statistics versión 19 (SPSS, 2010).

Por otra parte, para saber si la comunidad de parasitoides difería entre árboles control y árboles sin hormigas se realizó el análisis multivariante de la varianza no paramétrico, PERMANOVA (ANDERSON *et al.*, 2008). Este análisis se repitió para comparar las comunidades de parasitoides sobre las dos especies de pulgones dominantes. También se analizaron por separado los distintos periodos de muestreo (primavera y otoño).

RESULTADOS

Comunidad de Pulgones

Se contaron alrededor de 11000 pulgones, 5600 en los árboles control y 5500 en los árboles sin hormigas. *Aphis spiraecola* (82% del total de individuos) y *A. gossypii* (14%) fueron las dos especies más abundantes (Fig. 1 A, B). También se encontraron algunas colonias de *Toxoptera aurantii* (Boyer de Fonscolombe, 1841) y *Macrosiphum euphorbiae* (Thomas, 1878).

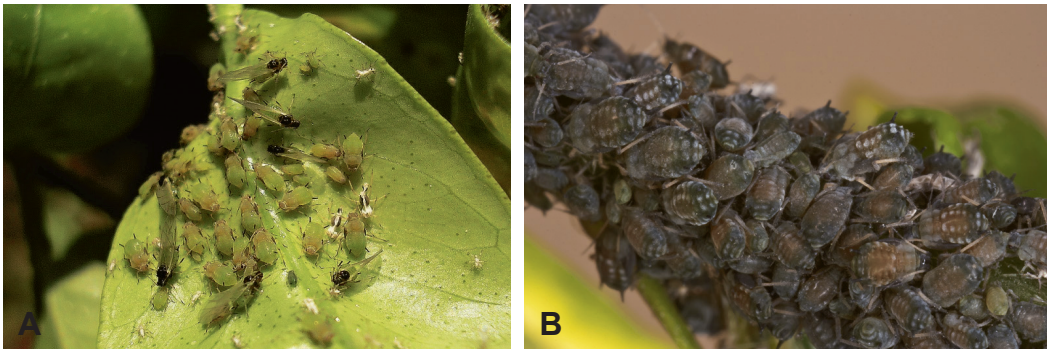


Figura 1. A Colonias de *Aphis spiraecola* (adultos ápteros, alados y ninfas) y B *A. gossypii* (adultos y ninfas)

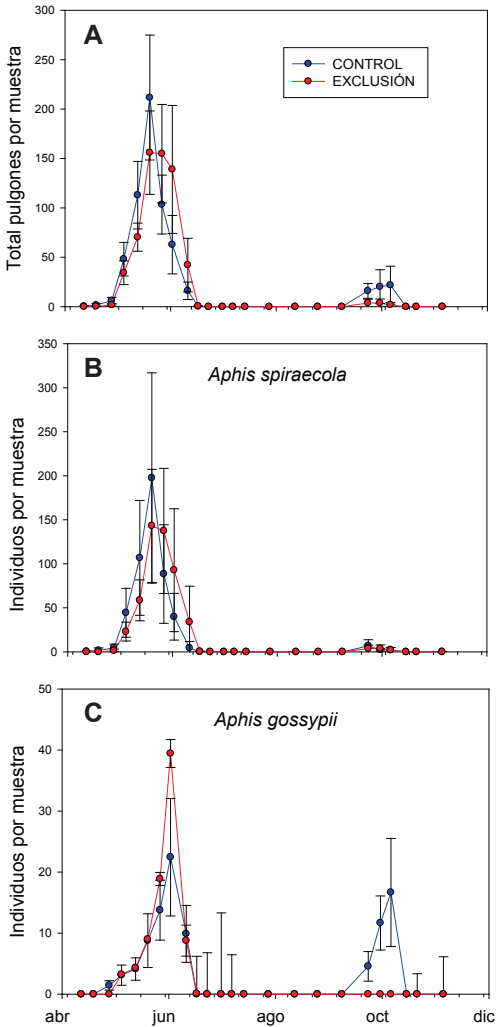


Figura 2. Variación temporal de la abundancia de áfidos (control y exclusión de hormigas) a lo largo del periodo de seguimiento 2011. A representa la media del total de pulgones por tratamiento; B y C es la media de la población de *Aphis spiraecola* y *A. gossypii* respectivamente en ambos tratamientos.

Los primeros pulgones se detectaron hacia principios de abril con un aumento de la población hacia mediados de mayo y un descenso hasta cero a mediados de junio. En los meses de verano los pulgones desaparecieron en ambos grupos de árboles. A finales

de septiembre hubo otro pequeño pico de abundancia en ambos tratamientos, desapareciendo totalmente a finales de octubre (Fig. 2 A). En ningún periodo ni para ninguna especie se detectaron diferencias significativas en la abundancia de pulgones entre los árboles control y los árboles sin hormigas (Figs. 2 B, C; Tabla 1).

Comunidad de Parasitoides

Se recogieron un total de 1435 momias sin emerger (Control: 736 y Exclusión: 699) durante todo el periodo de muestreo (abril - noviembre), de las que emergieron 352 parasitoides, 218 de árboles control y 134 de árboles sin hormigas. No emergieron parasitoides de muestras recogidas en los meses de julio y agosto (Figs. 3 A, B).

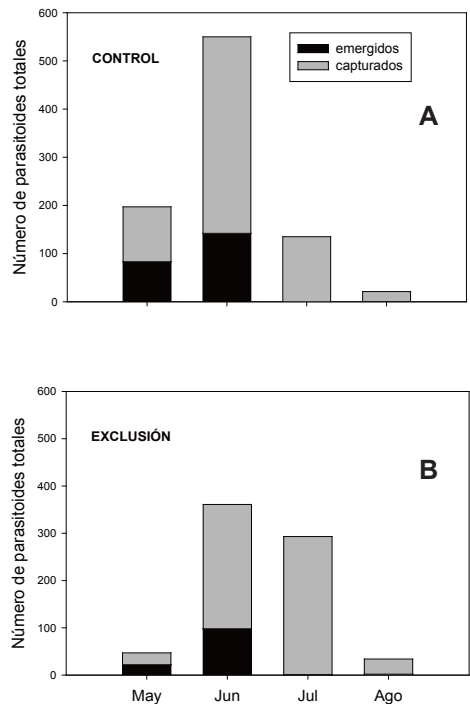


Figura 3. Relación entre el número total de parasitoides capturados vs. parasitoides emergidos para ambos tratamientos en un cultivo ecológico de mandarinos.

Tabla 1. Resumen de los ANOVAs de la abundancia de áfidos respecto a los tratamientos aplicados. Se dan los resultados para el total de especies de pulgón y para las dos especies más abundantes (*Aphis spiraecola* y *A. gossypii*) por separado, al igual que para el período de muestreo total y por separado (primavera y otoño)

Variable	$F_{1,8}$	P
Total de Pulgones	0,06	0,82
Primavera	0,29	0,60
Otoño	1,53	0,24
Total <i>Aphis spiraecola</i>	1,38	0,65
Primavera	0,01	0,92
Otoño	1,50	0,25
Total <i>Aphis gossypii</i>	0,32	0,28
Primavera	1,07	0,33
Otoño	1,00	1,00

Interacción Pulgón - Parasitoide - Hiperparasitoide

Se identificaron 9 especies de parasitoides asociados a *Aphis spiraecola* y *A. gossypii* (Tabla 2; Fig. 4 A). *Lysiphlebus testaceipes* fue el parasitoide primario más importante en los árboles control ($n = 79$; Fig. 4 B), mientras que en los árboles sin hormigas fue el hiperparasitoide *Asaphes suspensus* ($n = 63$; Fig. 4 C) seguido de los hiperparasitoides de las familias Pteromalidae, Figitidae, Megaspilidae y Encyrtidae.

La comunidad de parasitoides e hiperparasitoides de mayo fue significativamente distinta de la de junio ($Pseudo-F = 7.06$; $P = 0.0008$), siendo también más abundantes en junio que en mayo (Fig. 4) principalmente las especies *Lysiphlebus testaceipes*, *Asaphes suspensus*, *Phaenoglyphis villosa* (Hartig, 1841) y *Alloxysta* sp. Por el contrario, no se detectaron diferencias en la comunidad de parasitoides entre los árboles control y los árboles sin hormigas ($Pseudo-F = 1.35$; $P = 0.24$), ni entre los emergidos de *Aphis spiraecola* y

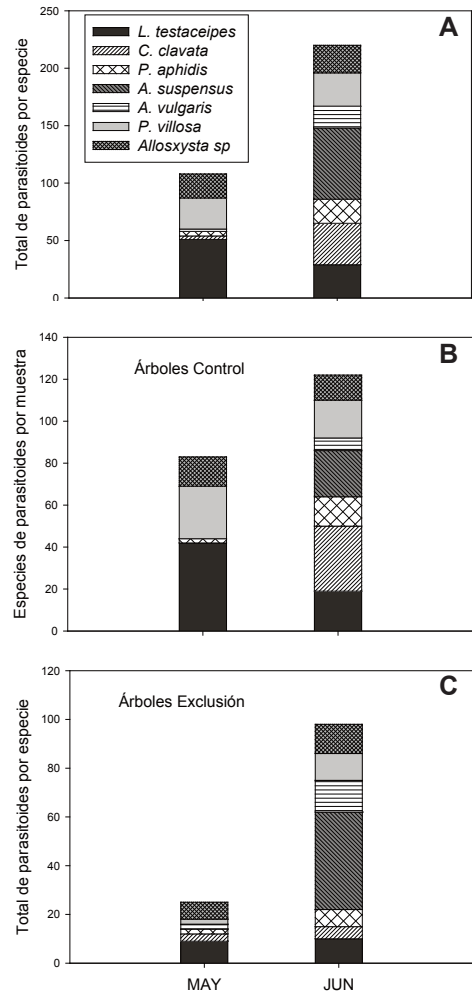


Figura 4. A Número total y composición de especies de parasitoides e hiperparasitoides emergidos en total. B y C representan las especies sobre *Aphis spiraecola* y *A. gossypii* respectivamente en ambos tratamientos

de *A. gossypii* ($Pseudo-F = 1.23$; $P = 0.32$) (Fig. 5 A, B).

Tasa de Parasitismo

En los árboles donde se hacía el seguimiento de la abundancia de pulgones se contabilizaron 106 momias durante todo el periodo de muestreo, 74 en árboles control y 32 en árboles sin hormigas. Por tanto la tasa

Tabla 2. Relación de parasitoides e hiperparasitoides de mayor a menor número encontrados en cada una de las dos especies de pulgones hospederos

Especies de Parasitoides	Especies de pulgones			TOTAL
	<i>Aphis spiraecola</i>	<i>Aphis gossypii</i>	<i>A. spiraecola/gossypii</i> (ninfas)	
Especies de Parasitoides				
<i>Lysiphlebus testaceipes</i>	12	20	42	74
Especies de Hiperparasitoides				
<i>Asaphes suspensus</i>	22	11	27	60
<i>Phaenoglyphis villosa</i>	12	10	33	55
<i>Alloxysta sp.</i>	9	6	30	45
<i>Coruna clavata</i>	12	7	20	39
<i>Pachyneuron aphidis</i>	9	4	7	20
<i>Asaphes vulgaris</i>	3	3	14	20
<i>Dendrocerus carpenteri</i>	0	4	0	4
<i>Aphidencyrus aphidivorus</i>	0	0	1	1

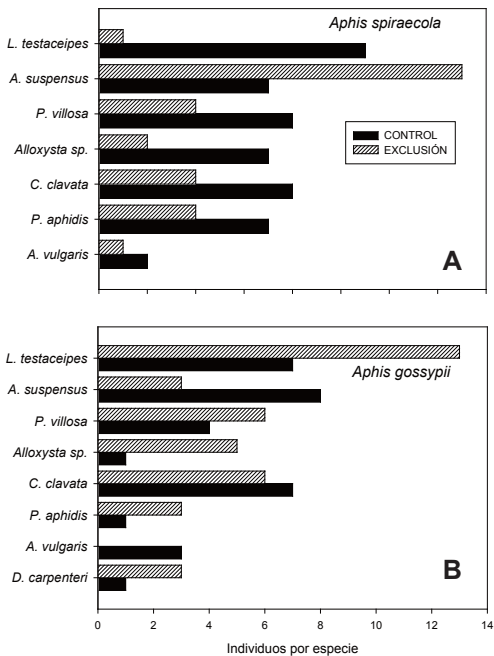


Figura 5. Relación entre el número de especies de parasitoides e hiperparasitoides encontradas en La Selva del Camp y sus respectivos hospederos *Aphis spiraecola* y *A. gossypii*, en ambos tratamientos

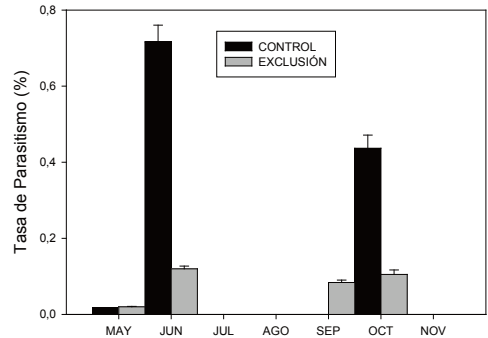


Figura 6. Tasa de Parasitismo a lo largo de todo el ciclo del pulgón en los árboles control y en los árboles con exclusión de homigas. Se muestra el error estándar

de parasitismo fue muy baja ($1,5 \pm 0,03$ %), y sin diferencias significativas entre tratamientos ($F = 0,80$; $P = 0,42$) durante la evolución de los pulgones. La proporción de pulgones momificados fue muy baja en mayo, creció en Junio alcanzando su máximo hasta desaparecer en verano; en septiembre y octubre, reaparece pero en menor proporción en ambos tratamientos (Fig. 6).

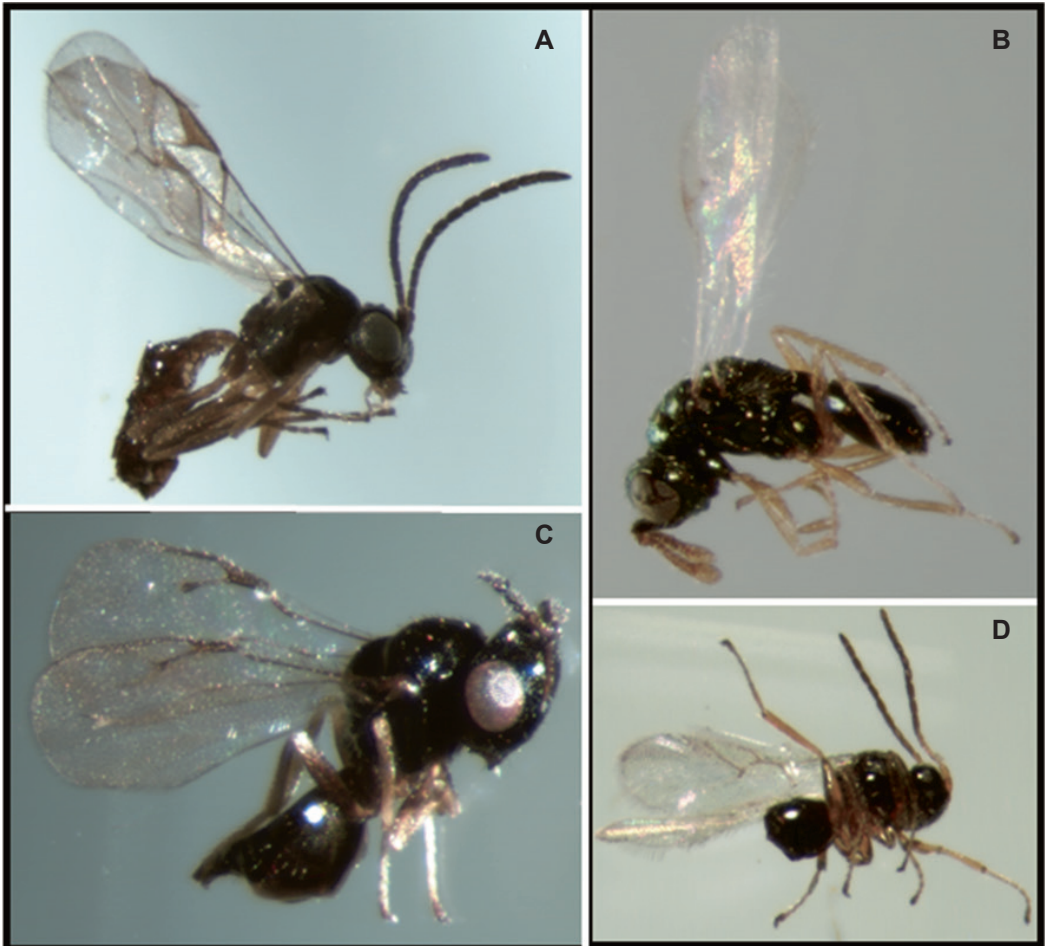


Figura 7. Ejemplares de los principales parasitoides e hiperparasitoides emergidos. A *Lysiphlebus testaceipes*, B *Asaphes suspensus*, C *Coruna clavata* y D *Phaenoglyphis villosa*

DISCUSIÓN

Comunidad de pulgones, parasitoides y tasas de parasitismo

Las especies de pulgones más importantes de este cultivo, *Aphis spiraecola* y *A. gossypii*, son las mismas encontradas en otros cultivos de cítricos convencionales, principalmente en la zona mediterránea (HERMOSO DE MENDOZA *et al.*, 1997; KAVALLIERATOS *et al.*, 2002; MICHELENA *et al.*, 2004; YOLDAS *et al.*, 2011) y en otros cultivos de frutales y ornamentales (PONS y STARÝ, 2003; SOLER *et*

al., 2002; KAVALLIERATOS *et al.*, 2004). Por otro lado, la fenología de ambas especies es la misma (MICHELENA *et al.*, 2004).

Los mayoría de parasitoides y hiperparasitoides encontrados en este estudio son también comunes en cítricos tradicionales mediterráneos, principalmente el parasitoides primario *Lysiphlebus testaceipes* (Fig. 7 A), uno de los más importantes controladores de los pulgones anteriormente mencionados (MICHELENA y SANCHIS, 1997; PONS *et al.*, 2004). Nuestros resultados confirman la dominancia de esta única especie como parasi-

Tabla 3. Comparación de los parasitoides e hiperparasitoides de los principales pulgones asociados a cultivos de cítricos convencionales descritos en la literatura (X) y de los encontrados en el presente estudio, (*y ≠ indican los parasitoides de La Selva del Camp en árboles control y árboles sin hormigas respectivamente). (1) LLORENS, 1990; (2) MICHELENA *et al.*, 1994 y (3) 2004; (4) VÖLKL y STECHMANN, 1998; (5) MICHELENA y SANCHIS, 1997; (6) SOLER *et al.*, 2002 (7) KAVALLIERATOS *et al.*, 2002 y (8) 2004; (9) KANEKO, 2002; (10) YOLDAS *et al.*, 2011

Parasitoides	Pulgones Hospederos comunes				
	<i>Aphis spiraeicola</i>	<i>Aphis gossypii</i>	<i>Toxoptera aurantii</i>	<i>Aphis fabae</i>	<i>Myzus persicae</i>
PARASITOIDES					
Braconidae					
<i>Aphidius colemani</i>		X(7)			X(8,11)
<i>Aphidius ervi</i>		X(11)			X(3)
<i>Aphidius matricariae</i>		X(7)		X(10)	X(2,6,8)
<i>Lysiphlebus confusus</i>			X(2,5)		
<i>Lysiphlebus fabarum</i>			X(2,3)	X(4)	
<i>Lysiphlebus testaceipes</i>	X(2,5) *≠	X(2,3,5,7,11) *≠	X(1,2,3,5,6)	X(2,3)	X(2)
<i>Praon volucre</i>		X(11)	X(5)		X(8)
<i>Trioxis acalephae</i>					
<i>Trioxis angelicae</i>	X(2,3,6)	X(1,2,3,5,6)	X(1,2,3,5,6)	X(3)	
HIPERPARASITOIDES					
Figitidae					
<i>Alloxyta</i> sp.	X(5)*≠	X(5)*≠	X(5)		
<i>Phaenoglyphis</i> spp.	*≠	X(9)			
<i>Phaenoglyphis villosa</i>	*≠	*≠			
Pteromalidae					
<i>Asaphes suspensus</i>	*≠	X(9) *≠			X(8)
<i>Asaphes vulgaris</i>	X(5) *≠	X(5) ≠	X(5)		X(8)
<i>Pachyneuron aphidis</i>	*≠	X(9) *≠			X(8)
<i>Coruna clavata</i>	*≠	*			
Megaspilidae					
<i>Dendrocercus carpenti</i>	X(5) *	X(5) *≠	X(5)		
Encyrtidae					
<i>Aphidencyrtus aphidivorus</i>	X(5) ≠	X(5) ≠	X(5)		

toide primario en ambos hospederos (Fig. 5 A, B), a diferencia de otros estudios (Tabla 3), donde aparecen más especies de parasitoides pertenecientes a la familia Braconidae.

Los hiperparasitoides fueron más diversos en nuestro cultivo que los parasitoides

primarios, especialmente los Pteromalidae (*Asaphes suspensus*) (Fig. 7 B), *A. vulgaris* (Walker, 1834), *Pachyneuron aphidis* (Bouché, 1834) y *Coruna clavata* (Walker, 1833) (Fig. 7 C), esta última especie se presenta como novedad en cítricos ecológicos al no

estar citada en la literatura). Los Figitidae (Charipinae) también estuvieron presentes con las especies *Alloxysta* sp. y *Phaenoglyphis villosa* (Fig. 7 D), esta última especie fue obtenida de forma importante a partir de momias de *Aphis spiraeicola* en los árboles control (Fig. 5 A), esta cita constituye otra de las novedades en cítricos ecológicos; este grupo es muy numeroso principalmente sobre hospederos *Aphidius* en diversa vegetación (MÜLLER *et al.*, 1999).

La dominancia de los hiperparasitoides puede ser la causa del menor número de parasitoides primarios en el campo de mandarinos, debido a la presión ejercida sobre ellos conduciendo a un alto porcentaje de mortalidad o mayor dispersión sobre los parasitoides primarios.

Por último nuestros resultados dan a conocer otros hiperparasitoides de menor importancia, como son el Megaspilidae (*Dendrocerus carpenteri* (Curtis, 1829)) y el Encyrtidae (*Aphidencyrtus aphidivorus* (Mayr, 1876)), los cuales presentaron muy pocos individuos (Tabla 2). La dominancia de emergencia de los hiperparasitoides en el mes de Junio es similar a la de otros estudios de parasitoides en cítricos (KAVALLIERATOS *et al.*, 2002; YOLDAS *et al.*, 2011).

La tasa de parasitismo fue muy baja en nuestro cultivo, aunque esto también ocurre en otros cultivos convencionales (Tabla 4). Por ejemplo, el parasitoide *Praon volucre* sobre el áfido *Myzus persicae* presentó un bajo porcentaje de parasitismo en un cultivo de cítricos tradicional en Grecia (KAVALLIERATOS *et al.*, 2004). Otro estudio del mismo autor refiere un porcentaje de parasitismo relativamente bajo en cítricos tradicionales debido a la coexistencia de diversas especies de parasitoides con hiperparasitoides atacando las mismas colonias de pulgón (KAVALLIERATOS *et al.*, 2002).

Efecto de la exclusión de hormigas

En contra de lo esperado, no observamos diferencias significativas entre la abundancia de pulgones, ni en la tasa de parasitismo, ni en la comunidad de parasitoides de los árboles

control y de los árboles sin hormigas. Carecemos de explicación para estos resultados, ya que esperábamos encontrar una reducción del ataque de pulgones en los cítricos con exclusión de hormigas, debido a que estas protegen las colonias de pulgones de los depredadores y parasitoides (KARHU, 1998; KANEKO, 2002 y 2003a).

Con respecto a la tasa de parasitismo, que debería aumentar con la exclusión de hormigas fue similar en los dos tratamientos estudiados, no obstante otros estudios demuestran que la presencia de pocas momias en árboles excluidos de hormigas parece ser causado por el consumo de pulgones parasitados por los depredadores; esto pasa comúnmente con la hormiga *Pristomyrmex pungens* en cítricos ecológicos japoneses, que defiende a colonias del pulgón *Toxoptera citricidus* parasitados por *Lysiphlebus japonicus* y repele casi en su totalidad a los depredadores (KANEKO, 2003b).

La comunidad de parasitoides y de hiperparasitoides tampoco difirió entre los dos tratamientos, sin embargo nuestros resultados describen un mayor número de parasitoides en los árboles control que en los árboles excluidos (Fig. 4 B, C) y más diversidad de hiperparasitoides que parasitoides primarios; debido a que emergen más adultos de hiperparasitoides en presencia de hormigas, a causa de que coincidentalmente éstas hormigas protegen los hiperparasitoides inmaduros junto con las momias de pulgones de los depredadores; como por ejemplo, la hormiga *Lasius niger* (Hymenoptera: Formicidae) sobre colonias de *Aphis gossypii* en mandarinos ecológicos japoneses, presenta un comportamiento agresivo en presencia de grandes depredadores (KANEKO, 2002).

Cultivo ecológico vs. Cultivo convencional

Nuestros resultados indican que existe una semejanza entre la dinámica pulgón-parasitoide en cultivos ecológicos y en cultivos tradicionales, esta última según la literatura; puesto que nuestra zona de estudio no presentó mayor diversidad de especies de pulgones

(*Aphis spiraecola* y *A. gossypii*), y solo aparecieron 2 especies nuevas de parasitoides (*Phaenoglyphis villosa* y *Coruna clavata*) en lo que a cítricos ecológicos se refiere. No obstante, la única diferencia observada en el presente estudio respecto otros realizados en cultivos convencionales (Tabla 4.) es la dominancia de hiperparasitoides respecto parasitoides primarios, este hecho explicaría, por ejemplo, las bajas tasas de parasitismo de pulgones que hemos detectado.

AGRADECIMIENTOS

Sinceros agradecimientos a Núria Cañellas por acceder generosamente a la manipulación de los árboles en los campos de mandarinos, a Juan Manuel Michelena por la identificación de los parasitoides primarios y a Mar Ferrer- Suay por la determinación de los hiperparasitoides de la subfamilia Charipinae. Este trabajo se ha realizado en el marco del proyecto MCYT-FEDER (CGL2010-18182).

Tabla 4. Resumen de las tasas de parasitismo en pulgones descrita en diversos cultivos convencionales (cítricos y otros)

Planta hospedera	Sitio (localidad)	Pulgones principales	Parasitoide	Tasa de parasitismo	Referencias
Cereal	Alemania	<i>Sitobion avenae</i>	Braconidae Megaspilidae Pteromalidae Alloxystidae	10.4%	Höller <i>et al.</i> , 1993
Cítricos	Valencia	<i>Aphis spiraecola</i> <i>Aphis gossypii</i>	<i>Lysiphlebus testaceipes</i>	26-100 momias /brote	Michelena y Sanchis, <i>et al.</i> , 1997
<i>Habas (Vicia faba)</i>	Bavaria, Alemania	<i>Aphis fabae</i>	<i>Lysiphlebus fabarum</i>	5-18%	Vökl y Stechmann, 1998
Cítricos	Grecia	<i>Aphis gossypii</i>	<i>Trioxis angelicae</i>	19%	Kavallieratos <i>et al.</i> , 2002
<i>Hibiscus syriacus</i> L. (Malvaceae)	Atenas, Grecia	<i>Aphis gossypii</i>	<i>Aphidius colemani</i>	43.2%	Perdikis <i>et al.</i> , 2004
Tabaco	Grecia Central	<i>Myzus persicae</i>	<i>Aphidius colemani</i> <i>Aphidius ervi</i> <i>Aphidius matricariae</i> <i>Praon Volucre</i>	2.5%	Kavallieratos <i>et al.</i> , 2004
Cereal	Catalunya	<i>Sitobion avenae</i>	<i>Lysiphlebus testaceipes</i>	0.4%	Lumbierres <i>et al.</i> , 2007

ABSTRACT

BAÑOL, C., J. PIÑOL, J. A. BARRIENTOS, N. PEREZ, J. PUJADE-VILLAR. 2012. Seasonal abundance and effect of parasitoids on the aphids of an organic citrus grove. *Bol. San. Veg. Plagas*, **38**: 335-348

The relationship between the aphid populations and their parasitoids was studied in an organic citrus grove in La Selva del Camp (Tarragona), using the ant-exclusion from the canopies of trees. Our results show that there is scant difference between the aphid populations and their parasitoids in organic citrus and citrus conventional, both in biodiversity of species and rates of parasitism, being *Aphis spiraecola* and *A. gossypii*, the aphid species most important in our study, like the parasitoids *Lysiphlebus testaceipes* and *Asaphes suspensus*. Similarly, the ant-exclusion showed no differences regarding trees with ants, contrary to expectations, and therefore, we do not have an explanation for it. However we find a dominance of hyperparasitoids regarding primary parasitoids, which would explain the low rates of parasitism on aphids. In addition, we highlighted the presence of two species of hyperparasitoids not cited for organic citrus (*Phaenoglyphis villosa* and *Coruna clavata*).

Key words: Organic agriculture, biological control, rates of parasitism, ant-exclusion.

REFERENCIAS

- ANDERSON, M. J., GORLEY, R. N., CLARKE, K. R. 2008. Permanova+ for primer: guide to software and statistical methods. PRIMER-E, Plymouth.
- BARBAGALLO, S., CRAVEDI, P., PASCUALINI, E., PATTI, I. 1998. *Pulgones de los principales cultivos frutales*. Bayer y Ediciones Mundi-Prensa. Madrid, 225 pp.
- BEDDINGTON, J., R., HAMMOND, P., S. 1977. On the dynamics of host-parasite- hyperparasite interactions. *Journal of Animal Ecology*, **46**: 811-821.
- BELLIURE, B., PÉREZ, P., MARCOS, M. A., MICHELENA, J. M., HERMOSO DE MENDOZA, A. 2008. Control Biológico de Pulgones. *Control Biológico de Plagas Agrícolas*. Phytoma-Valencia (España), Capítulo **14**: 209-238.
- BENGTSSON, J., AHNSTRÖM, J., WEIBULL, A - C. 2005. The effects of organic agriculture on biodiversity and abundance: a meta-analysis. *J. Appl. Ecol.*, **42**: 261-269.
- DEDRYVER, C. H., LE RALEC, A., FABRE, F. 2010. The conflicting relationships between aphids and men: A review of aphid damage and control strategies. *C. R. Biologies*, **333**: 539-553.
- DOMÍNGUEZ, G.A. 2001. Cultivo ecológico de cítricos en las regiones del mediterráneo. *Revista Vida Rural*, **132**: 34-37.
- EBELING, W. 1959. *Subtropical Fruit Pests*. University of California, Division of Agricultural Sciences, Riverside, California, 436 pp.
- FERGUSON, N. D. M. 1980. A revision of the British species of *Dendrocerus* Ratzeburg (Hymenoptera: Ceraphronoidea) with a review of their biology as aphid hyperparasites. *Bulletin of the British Museum (Natural History)*, *Entomology series*, **41**: 255-314.
- GIBSON, G. A. P., HUBER, J. T., WOOLLEY, J. B. (Editors). 1997. *Annotated Keys to the Genera of Nearctic Chalcidoidea* (Hymenoptera). NRC Research Press, Ottawa, Ontario, Canada, 794 pp.
- GONZALEZ DE MOLINA, M., ALONSO, A. M., GÚZMAN, G. I. 2007. La agricultura ecológica en España desde una perspectiva agroecológica. *Revista Española de Estudios Agrarios y Pesqueros*, **214**: 47-73.
- GRAHAM, A. E. G., GORDON, H. O. 1992. *Agriculture and Biological Conservation*. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, **42**: 1-8.
- GRAHAM, M. W. R. 1969. The Pteromalidae of Northwestern Europe (Hymenoptera: Chalcidoidea). *Bulletin of the British Museum (Natural History) Entomology*, London, 908 pp.
- GUZMAN, G., GONZÁLEZ DE MOLINA, M., SEVILLA, E. (Coords). 2000. *Introducción a la Agroecología como desarrollo rural sostenible*. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid.
- HASSELL, M., P., WAAGE, J., K. 1984. Host-parasitoid population interactions. *Annual Review of Entomology*, **29**: 89-114.
- HERMOSO DE MENDOZA, A., PÉREZ, E., REAL, V. 1997. Composición y evolución de la fauna afídica (Ho-

- moptera, Aphidinea) de los cítricos valencianos. *Bol. San. Veg. Plagas*, **23**: 363-375.
- HÖLLER, C., BORGEMEISTER, C., HAARDT, H., POWEL, W. 1993. The relationship between primary parasitoids and hyperparasitoids of cereal aphids: an analysis of field data. *Journal of Animal Ecology*, **62**: 12-21.
- KAMIJO, K., TAKADA, H. 1973. Studies on aphid hyperparasites of Japan, II. Aphid hyperparasites of the Pteromalidae occurring in Japan (Hymenoptera). *Insecta Matsumurana New Series*, **2**: 39-76.
- KANEKO, S. 2002. Aphid-attending Ants Increase the Number of Emerging Adults of the Aphid's Primary Parasitoid and Hyperparasitoids by Repelling Intraguild Predators. *Entomological Science*, **5** (2): 131-146.
- KANEKO, S. 2003a. Different impacts of two species of aphid-attending ants with different aggressiveness on the number of emerging adults of the aphid's primary parasitoid and hyperparasitoids. *Ecological Research*, **18**: 199-212.
- KANEKO, S. 2003b. Impacts of two ants, *Lasius niger* and *Pristomyrmex pungens* (Hymenoptera: Formicidae), attending the brown citrus aphid, *Toxoptera citricidus* (Homoptera: Aphididae), on the parasitism of the aphid by the primary parasitoid, *Lysiphlebus japonicus* (Hymenoptera: Aphididae), and its larval survival. *Appl. Entomol. Zool.*, **38** (3): 347-357.
- KANEKO, S. 2007. Predator and parasitoid attacking ant-attended aphids: effects of predator presence and attending ant species on emerging parasitoid numbers. *Ecol Res.*, **22**: 451-458.
- KARHU, K. J. 1998. Effects of ant exclusion during outbreaks of a defoliator and a sap-sucker on birch. *Ecological Entomology*, **23**: 185-194.
- KAVALLIERATOS, N. G., ATHANASSIOU, C. G., STATHAS, G. J., TOMANOVIC, Z. 2002. Aphid Parasitoids (Hymenoptera: Braconidae: Aphidiinae) on Citrus: Seasonal Abundance, Association with the Species of Host Plant, and Sampling Indices. *Phytoparasitica*, **30** (4): 365-377.
- KAVALLIERATOS, N. G., ATHANASSIOU, C. G., TOMANOVIC, Z., PAPADOPOULOS, G. D., Y VAYIAS, B. J. 2004. Seasonal abundance and effect of predators (Coleoptera, Coccinellidae) and parasitoids (Hymenoptera: Braconidae, Aphidiinae) on *Myzus persicae* (Hemiptera, Aphidoidea) densities on tobacco: a two-year study from Central Greece. *Biologia, Bratislava*, **59/5**: 613-619.
- LEITE, M. V., SANTOS, T. M., SOUZA, B., CALIXTO, A. M., CARVALHO, C. F. 2006. Biología de *Aphis gossypii* Glover, 1877 (Hemiptera: Aphididae) em abobrinha cultivar caserta (*Cucurbita pepo* L.) em diferentes temperaturas. *Ciê. Agrotec.* **32**: 1394-1401.
- LLORENS, C. J. 1990. *Homóptera II: Pulgones de los cítricos y su control biológico*. Pisa Ediciones, Alicante, 170 pp.
- LUMBIERRES, B., STARÝ, P., PONS, X. 2007. Seasonal parasitism of cereal aphids in a Mediterranean arable crop system. *J. Pest. Sci.*, **80**: 125-130.
- MAGRAMA. 2010. Estadísticas Agricultura Ecológica de España. Ministerio de Medio Ambiente y Medio rural y marino. [http://www.magrama.gob.es/es/alimentacion/temas/laagriculturaecologica/INFORME_NACIONAL_2010_\(4\)_tcm7-171341.pdf](http://www.magrama.gob.es/es/alimentacion/temas/laagriculturaecologica/INFORME_NACIONAL_2010_(4)_tcm7-171341.pdf).
- MAGRAMA. 2011. Encuesta sobre superficies y rendimientos de cultivos de España. http://www.magrama.gob.es/es/estadistica/temas/estadisticasagrarias/ESPANA_YCCA_A_tcm7-213915.pdf
- MAY, R., M., HASSELL, M., P. 1981. The dynamics of multiparasitoid-host interactions. *The American Naturalist*, **117** :234-261.
- 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., SANCHIS, A. 1997. Evolución del parasitismo y fauna útil sobre pulgones en una parcela de cítricos. *Bol. San. Veg. Plagas*, **23**: 241-255.
- MICHELENA, J. M., SANCHOS, A., GONZÁLEZ, P. 1994. Afidiinos sobre pulgones de frutales en la Comunidad Valenciana. *Bol. San. Veg. Plagas*, **20**: 465-470.
- MÜLLER, C. B., ADRIANSE, I. C. T., BELSHAW, R., GODFRAY, H. C. J. 1999. The structure of an aphid-parasitoid community. *Journal of Animal Ecology*, **68**: 346-370.
- PASCUAL-RUIZ, S., URBANEJA, A. 2006. Lista de efectos secundarios de plaguicidas sobre fauna útil en cítricos. *Levante Agrícola*, **380**: 186-191.
- PERDIKIS, D. CH., LYKOURESSIS, D. P., GARANTONAKIS, N. G., IATROU, S. A. 2004. Instar preference and parasitization of *Aphis gossypii* and *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae) by the parasitoid *Aphidius colemani* (Hymenoptera: Aphidiidae). *Eur. J. Entomol.*, **101**: 333-336.
- PIÑOL, J., ESPADALER, X., CAÑELLAS, N., PEREZ, N. 2009. Effects of the concurrent exclusion of ants and earwigs on aphid abundance in an organic citrus grove. *BioControl*, **54**: 515-527.
- PONS, X., LUMBIERRES, B., STARÝ, P. 2004. Expansión de *Lysiphlebus testaceipes* (Cresson) (Hym., Braconidae, 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. *Journal Pest Science*, **76**: 133-138.
- SAMWAYS, M.J., TATE, B.A. 1985. A highly efficacious and inexpensive trunk barrier to prevent ants from

- entering citrus trees. *Citrus Subtropicale Fruit Journal*, **618**: 12-14.
- SOLER, J. M., GARCIA-MARÍ, F., ALONSO, D. 2002. Evolución estacional de la entomofauna auxiliar en cítricos. *Bol. San. Veg. Plagas*, **28**: 133-149.
- STARÝ, P. 1970. *Biology of aphid parasites (Hymenoptera: Aphidiidae) with respect to integrated control*. Series Entomological 6. Dr. W. Junk, The Hague. 643 pp.
- STARÝ, P. 1977. Dendrocerus-hyperparasites of aphids in Czechoslovakia (Hymenoptera, Ceraphronoidea). *Acta Entomologica Bohemoslovaca*, **74**: 1-9.
- SULLIVAN, D.J., VÖLKL, W. 1999. Hyperparasitismo: Multitrophic Ecology and Behavior. *Annu. Rev. Entomol*, **44**: 291-315.
- TIZADO, E. J., NUÑEZ-PÉREZ, E. 1991. Aportación al conocimiento en España de los parasitoides de pulgones de la subfamilia Aphidiinae (Hym. Braconidae). *Bol. San. Veg. Plagas*, **17**: 545-554.
- VÖLKL, W., STECHMANN, D. -H. 1998. Parasitism of the black bean aphid (*Aphis fabae*) by *Lysiphlebus fabarum* (Hym., Aphidiidae): the influence of host plant and habitat. *J. Appl. Ent.*, **122**: 201-206.
- YOLDAS, Z., GÜNCAN, A., KOÇLU, T. 2011. Seasonal occurrence of aphids and their natural enemies in Satsuma mandarin orchards in Izmir, Turkey. *Türk. Entomol. Derg.*, **35** (1): 59-74.
- VAN VEEN, F.,J.,F., RAJKUMAR, A., MÜLLER, C.,B., GODFRAY, H.,C.,J. 2001. Increased reproduction by pea aphids in the presence of secondary parasitoids. *Ecological Entomology*, **26**: 425-429.

(Recepción: 20 julio 2012)

(Aceptación: 27 diciembre 2013)

COMUNICACIÓN

Diferenciación entre *Scaphoideus titanus* Ball, vector de la Flavescencia Dorada de la vid, y una especie próxima, *Osbornellus horvathi* (Matsumura), recientemente encontrada en España (Hemiptera, Cicadellidae)

A. HERMOSO DE MENDOZA, P. DEL ESTAL, M. D. ALCÁZAR, R. PÉREZ-OTERO, P. MANSILLA

Se ha detectado recientemente en España el cicadélido *Osbornellus horvathi* (Matsumura), especie fácilmente confundible con el vector de la Flavescencia Dorada de la vid *Scaphoideus titanus* Ball. Para distinguir ambas especies se aporta una serie de caracteres propios de cada una, tanto externos como de su aparato genital masculino.

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

P. DEL ESTAL. Unidad de Protección de Cultivos. ETSIAgrónomos. Universidad Politécnica de Madrid. 28040 Madrid.

M. D. ALCÁZAR. Unidad de Entomología. Laboratorio de Producción y Sanidad Vegetal de Almería. Paraje San Nicolás. 04745 La Mojonera (Almería).

R. PÉREZ-OTERO, P. MANSILLA. Estación Fitopatológica do Areeiro. Subida a la Roble da, s/n. 36153 Pontevedra.

Palabras clave: fitoplasma, trampas, genitalia.

La Flavescencia Dorada de la vid es una enfermedad de cuarentena, causada por un fitoplasma, que ha sido detectada en varios países europeos: Francia, Italia, Serbia, Suiza (DÉR *et al.*, 2007) y Austria (REISENZEIN y STEFFEK, 2011). En la Península Ibérica se observa en el norte de Cataluña (RAHOLA *et al.*, 1997) y en el norte de Portugal (DE SOUSA *et al.*, 2009). Su único vector conocido (SCHVESTER *et al.*, 1962) es *Scaphoideus titanus* Ball, hemíptero de la familia Cicadellidae, subfamilia Deltocephalinae y tribu Athisanini, el cual se distribuye en Europa por las zonas donde se da la enfermedad y por algunas limítrofes. En la Península Ibérica, *S. titanus* se ha detectado, además de en las áreas donde está presente la enfermedad, en la Cataluña central

(RAHOLA *et al.*, 1997) y en el oeste de la Galicia meridional, en dos comarcas vitivinícolas del sur de Pontevedra (O Condado y O Rosal) (PÉREZ-OTERO *et al.*, 2011).

Dada la repercusión económica que tiene en la viticultura la presencia de la enfermedad y, en potencia, la del vector, se han llevado a cabo diversas prospecciones de ambos en diferentes zonas vitícolas españolas. En una de ellas, realizada por medio de trampas adhesivas amarillas colocadas en campos de viña moscatel en El Borge y Cutar (Málaga) en los meses de agosto y octubre de 2011, se capturaron varios ejemplares con aspecto externo muy semejante a *S. titanus* pero que, cuando se identificaron, se vio que pertenecían a una especie distinta, aunque de su misma fami-



Figura. 1. Adulto de *Scaphoideus titanus*.



Figura. 2. Adulto de *Osbornellus horvathi*

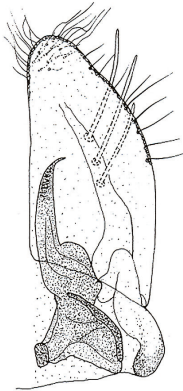


Figura. 3. Lámina genital de un macho de *Scaphoideus titanus* (según DELLA GIUSTINA, 1989)

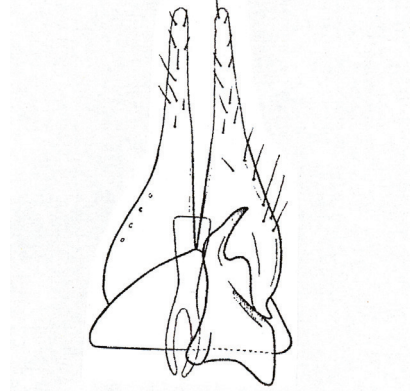


Figura. 4. Láminas genitales de un macho de *Osbornellus horvathi* (según VILBASTE, 1976)

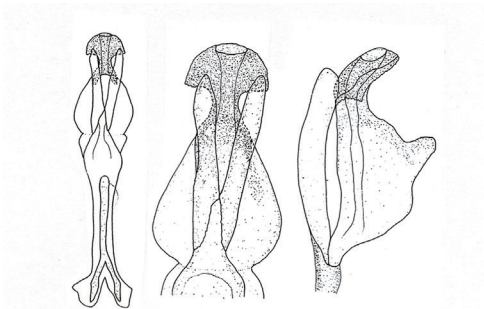


Figura. 5. Pene con el conectivo (a la izquierda), y pene en detalle en vista frontal (en el centro) y en vista lateral (a la derecha) de *Scaphoideus titanus* (según DELLA GIUSTINA, 1989)

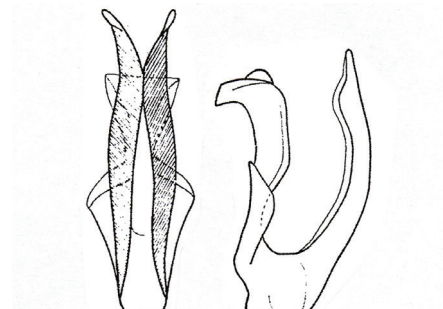


Figura. 6. Pene en vista frontal (a la izquierda) y en vista lateral (a la derecha) de *Osbornellus horvathi* (según VILBASTE, 1976)

lia, subfamilia y tribu: *Osbornellus horvathi* (Matsumura), lo que constituyó la primera cita de esta especie no sólo en Andalucía sino también en la Península Ibérica e incluso en el continente europeo (ALCÁZAR *et al.*, 2012).

La similitud exterior entre *S. titanus* y *O. horvathi* es un inconveniente para los técnicos que buscan detectar la presencia del primero en los viñedos por medio de trampas, ya que al segundo no se le conoce capacidad vectora de la Flavescencia Dorada ni de ninguna otra enfermedad y, de hecho, ni siquiera se ha citado a la vid como hospedante suyo. En realidad, *O. horvathi* tan solo se ha encontrado sobre Convolvuláceas y *Artemisia* en Argelia (MATSUMURA, 1908) y en Sicilia (D'URSO, 1995), lo que concuerda bien geográficamente con su descubrimiento en Málaga, ya que una de las localidades argelinas donde se la ha citado es Nemours (actualmente Ghazaouet), frente a las costas de Andalucía oriental.

Así pues, el objetivo de este trabajo es presentar a los técnicos los caracteres que permitan diferenciar las dos especies de la manera más sencilla posible. La distinción externa entre ambas se basa en el color de las bandas transversales presentes en la parte dorsal de

cabeza y tórax, más claro en *S. titanus* (de color ocre claro) (fig. 1) que en *O. horvathi* (de color marrón oscuro) (fig. 2), pero este carácter puede dar lugar a dudas. La pigmentación de las alas anteriores y el número de venillas transversales en el borde externo de estas alas no permiten diferenciar, como se aprecia en las fig. 1 y 2, a las dos especies, ya que se trata de características propias no sólo del género *Scaphoideus* sino también de otros géneros afines como es *Osbornellus*.

La distinción con total seguridad de estas especies se consigue observando las estructuras genitales de los machos. En primer lugar, las láminas genitales de *S. titanus* son romas (fig. 3), mientras que las de *O. horvathi* están dotadas de unas largas prolongaciones (fig. 4). Y, sobre todo, el pene de *S. titanus* (fig. 5) y el de *O. horvathi* (fig. 6) son característicos cada uno de su especie e inconfundiblemente diferentes. Con estos caracteres la separación entre ambas especies resulta muy clara, aunque requiere de la preparación de la genitalia de los individuos problemáticos (calentándola durante algunos minutos en potasa al 10 % y a continuación en agua) y de su observación posterior al binocular.

ABSTRACT

HERMOSO DE MENDOZA, A., P. DEL ESTAL, M. D. ALCÁZAR, R. PÉREZ-OTERO, P. MANSILLA. 2012. Differentiation between *Scaphoideus titanus* Ball, vector of grapevine flavescence dorée, and a related species, *Osbornellus horvathi* (Matsumura), recently found in Spain (Hemiptera, Cicadellidae). **38**: 349-352

Osbornellus horvathi (Matsumura), Cicadellidae species easily confusable with the vector of grapevine flavescence dorée *Scaphoideus titanus* Ball, has been recently detected in Spain. In order to differentiate both species, several characters, external ones as well as from their male genitalia, are described.

Key words: phytoplasma, traps, genitalia.

REFERENCIAS

- ALCÁZAR, M. D., DEL ESTAL, P., HERMOSO DE MENDOZA, A. Primera cita de *Osbornellus horvathi* (Matsumura, 1908) (Hemiptera, Cicadellidae) en Europa Continental. *Boletín de la Asociación Española de Entomología*, **36** (3-4): 477-478.
- DELLA GIUSTINA, W. 1989. *Homoptères Cicadellidae, volume 3*. Institut National de la Recherche Agronomique, Paris, 353 pp.
- DÉR, Z., KOZDOR, S., ZSOLNAI, B., EMBER, I., KÖLBER, M., BERTACCINI, A., ALMA, A. 2007. *Scaphoideus titanus*

- identified in Hungary. *Bulletin of Insectology*, **60** (2): 199-200.
- DE SOUSA, E., CASATI, P., CARDOSO, F., BALTÁZAR, C., DURANTE, G., QUAGLINO, F., BIANCO, P.A. 2009. Flavescence dorée phytoplasma affecting grapevine (*Vitis vinifera*) newly reported in Portugal. *New Disease Reports*, **19**: 33.
- D'URSO, V. 1995. Homoptera Auchenorrhyncha. En: *Checklist delle specie della Fauna Italiana*, 42. Ministero dell'Ambiente, 35 pp.
- MATSUMURA, S. 1908. Neue Cicadinen aus Europa und Mittelmeergebiet. *Journal of the College of Science, Imperial University of Tokyo*, **23** (6): 1-46.
- PÉREZ-OTERO, R., GAGO, J., MANSILLA, P. 2011. *Scaphoideus titanus* Ball. *Cicadela blanca de la vid*. Estación Fitopatológica do Areeiro. Deputación de Pontevedra, 61/11, 4 pp.
- RAHOLA, J., REYES, J., GIRALT, L., TORRES, E., BARRIOS, G. 1997. La flavescencia dorada en los viñedos del Alt Empordà (Girona). *Boletín de sanidad Vegetal. Plagas*, **23** (3): 403-416.
- REISENZEIN, H., STEFFEK, R. 2011. First outbreak of grapevine flavescence dorée in Austrian Viticulture. *Bulletin of Insectology (Supplement)*: 223-224.
- SCHVESTER, D., CARLE, P., MOUTOUS, G. 1962. *Scaphoideus littoralis* Ball (Homopt. Jassidae), cicadelle vectrice de la Flavescence Dorée de la vigne. *Revue de Zoologie Agricole et Appliquée*, **61** (10-12): 118-131.
- VILBASTE, J. 1976. A revision of Homoptera-Cicadinea described by S. Matsumura from Europe and the Mediterranean area. *Eesti NSV Teaduste Akadeemia Toimetised, Tallinn*, **25** (1): 25-36.

(Recepción: 4 septiembre 2012)

(Aceptación: 1 octubre 2012)

Actividad insecticida y repelente de aceites esenciales de laurel y lemongrass sobre *Bemisia tabaci*

J. A. RINGUELET, M. I. URRUTIA, R. M. YORDAZ, C. P. HENNING

La mosca blanca *Bemisia tabaci* (Gennadius) es un insecto polífago considerado una de las plagas de mayor dificultad de manejo en los cultivos hortícolas bajo cubierta. Su control se realiza principalmente con insecticidas sintéticos convencionales. El uso de estos productos genera problemas de residuos tóxicos, inconvenientes en los aplicadores y resistencia de los insectos a los mismos. Los aceites esenciales constituyen productos naturales ensayados para el control de algunas plagas, siendo una estrategia que no contamina el medio ambiente. El objetivo de este trabajo fue comprobar la efectividad de los aceites esenciales de *Cymbopogon citratus* Stapf. (lemongrass) y *Laurus nobilis* L. (laurel) a través de la evaluación de la repelencia y la mortalidad de la mosca blanca en cultivo de lechuga (*Lactuca sativa* L.).

Los ensayos de repelencia se llevaron a cabo en un cultivo experimental de lechuga bajo invernáculo realizando tres tratamientos y un testigo, en parcelas distribuidas al azar con 5 repeticiones. La mortalidad se evaluó en laboratorio, sobre insectos adultos en recipientes de vidrio realizando los mismos tratamientos y repeticiones. Las aplicaciones fueron hechas pulverizando soluciones acuosas al 5% de los aceites esenciales, utilizando un emulsionante.

Los datos fueron procesados con el análisis de la Varianza y el test de Tukey. Tanto para los ensayos de repelencia como para mortalidad se obtuvieron buenos resultados con los tres tratamientos con respecto al testigo o control. Para el ensayo de repelencia se encontraron diferencias significativas entre el testigo y el tratamiento con lemongrass, y diferencias altamente significativas entre el testigo, el laurel y la mezcla. Con respecto al ensayo de mortalidad, el testigo presentó diferencias altamente significativas con el resto de los tratamientos, mientras que el tratamiento con aceite de lemongrass presentó diferencias significativas con el de laurel y la mezcla lemongrass-laurel en partes iguales (que alcanzó alrededor del 55% de mortalidad). Los resultados permiten afirmar que los aceites esenciales utilizados, principalmente en mezcla, pueden representar una herramienta útil en el manejo integrado de esta plaga.

J. A. RINGUELET, R. M. YORDAZ, C. P. HENNING. Cátedra de Bioquímica y Fitoquímica, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales de la Universidad Nacional de La Plata. UNLP. Dirección postal: 60 y 119 CC 31 (1900) La Plata. Argentina. quimagricola@agro.unlp.edu.ar

M. I. URRUTIA. Cátedra de Cálculo Estadístico y Biometría, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales de la Universidad Nacional de La Plata, UNLP. Argentina.

Palabras clave: moscas blancas, *Cymbopogon citratus*, *Laurus nobilis*, repelencia, mortalidad.

INTRODUCCIÓN

Bemisia tabaci (Gennadius) (Homoptera: Aleyrodidae) es una plaga de amplia distribución, con un gran impacto de perjuicio económico en los cinturones hortícolas de casi todas las regiones del mundo donde existe este problema: Estados Unidos, países del Caribe, España, Argentina, entre otros. Por su incidencia durante todo el año y su agresividad poblacional, la mosca, o mosquita blanca, interfiere en el trabajo diario de manipuladores y operarios de cultivos afectados. Otros daños que provoca es la trasmisión de virus y la consiguiente maduración irregular del tomate (MIT) con pérdida de calidad (BARON, 2011).

En Argentina las especies de mosca blanca que frecuentemente se encuentran son: *B. tabaci* y *Trialeurodes vaporariorum*. La diferencia entre ambas es que la primera es más chica y tiene forma de bastón visto desde arriba con alas en posición de “techo a dos aguas” y una hendidura entre las mismas que permite ver el cuerpo de color más amarillento; mientras que en la segunda el adulto es más grande, de forma triangular, visto desde arriba, con alas en posición plana sin hendidura entre las mismas y cuerpo blancuzco. Durante su ciclo de vida cada hembra es capaz de colocar entre 100 y 160 huevos, agrupados o dispersos, en el envés de las hojas, que eclosionan entre los 5 y los 8 días. Tiene cuatro estados ninfales, que se cumplen entre 12 y 20 días, de los cuales sólo el primero es móvil. Los restantes lo cumplen en el mismo sitio y el último estadio es ninfal (la pupa). Cuando los adultos emergen comienzan inmediatamente a alimentarse y aparearse, y pueden vivir aproximadamente entre 8 y 40 días y alcanzar un tamaño de 1 a 3 mm.

La agresividad de esta plaga radica en la gran capacidad para poner huevos que se transforman en adultos rápidamente, y en que a las 2 horas de nacidos ya empiezan a alimentarse y a colocar nuevamente huevos. La clave para controlarla es anticiparse a sus picos poblacionales que están relacionados con

la temperatura, con la presencia de hospederos, dentro o fuera del lote, y por supuesto, con el manejo que se realice en cultivo.

Las moscas blancas ocasionan daños que pueden ser clasificados en directos o indirectos. En el primer caso se produce, como consecuencia de la succión de savia, la inyección de toxinas a través de la saliva, lo que ocasiona un debilitamiento de la planta y a veces manchas cloróticas provocando síntomas de deshidratación, disminución y detención del crecimiento. En el segundo caso el daño es provocado por la eliminación de sustancias ricas en hidratos de carbono o “melado” que contribuye a la formación de fumagina produciendo indirectamente una disminución de la superficie fotosintética, dificulta la evapotranspiración y favorece la aparición de manchas sobre los tejidos de hojas y frutos, disminuyendo su calidad comercial y aumentando los costos de poscosecha. Además *B. tabaci* es un vector importante de muchos virus de la familia Geminiviridae y del género Begomovirus (ANDERSON, 2005), trasmite 60 de las 70 virosis transmitidas por moscas blancas a las plantas en las que se hospedan y cuando éstas son más susceptibles.

La agresividad de esta plaga tiene que ver con el altísimo grado de reproducción que dificulta su control y fundamentalmente con su capacidad de formar biotipos que hace que las moscas blancas del complejo *B. tabaci* constituyan una amenaza seria para las regiones afectadas.

Controlar la mosca blanca es una de las actividades más difíciles en el manejo de plagas, principalmente en horticultura. El intenso uso de plaguicidas convencionales como los organofosforados, carbamatos, nicotinoides, piretroides y otros productos químicos con nuevos modos de acción, ha causado grandes inconvenientes tales como: la acumulación de residuos tóxicos, la inducción de resistencia en plagas, la alteración del equilibrio dinámico de ecosistemas, la eliminación de enemigos naturales, la muerte de animales y seres humanos por intoxicación (causada

por exposición directa a los tóxicos o por consumo de alimentos con residuos), la contaminación de componentes de la biosfera, el surgimiento de nuevas plagas y el incremento de los costos de producción (GONZÁLES ACOSTA *et al*, 2006; PALUMBO *et al*, 2001; BURILLO y GONZÁLEZ., 2009). El control integrado de moscas blancas, que incluye varias prácticas y componentes, es una estrategia recomendada para garantizar el éxito del control (POLACK, 2005).

Nuevas opciones se han estudiado para el control de plagas, como por ejemplo el uso de productos naturales. Algunas plantas sintetizan metabolitos secundarios que juegan un papel importante en la interacción con insectos, tanto de atracción como repulsión, presentando más de un mecanismo de acción. Pueden ser tóxicos para insectos, inhibir el crecimiento, la reproducción y la oviposición, actuar como antialimentarios y/o repelentes (AKHTAR y ISMAN, 2004; CHOI *et al*, 2004). Según revisiones, se han encontrado cerca de 900 especies vegetales con alrededor de 250 compuestos que poseen actividad biológica (ROZMAN *et al*, 2007). Entre las ventajas que brinda el uso de estos compuestos naturales, se puede destacar: la especificidad de su acción, su fácil procesamiento y uso, la seguridad para el ambiente y otros organismos, su rápida degradación, que no generan resistencia en plagas, no afectan el crecimiento de las plantas ni alteran la calidad de los productos finales (NOVO *et al*, 1997; VASQUEZ-LUNA *et al*, 2007).

Las plantas son fuente de compuestos químicos bioactivos que poseen un escaso efecto sobre organismos benéficos y el medio ambiente (ISMAN, 2000). Los aceites esenciales extraídos de algunas especies aromáticas han sido ensayados sobre insectos-plaga con probada acción repelente e insecticida (ROSA *et al*, 2010; PADÍN *et al*, 2007; ROZMAN *et al*, 2007; KAHAN, 2008; CUBILLO *et al*, 1999; TERANISHI *et al*, 1993).

Con referencia a la mosca blanca, se reportaron varios resultados de ensayos in vitro y a campo con la utilización de aceites

esenciales (CHOI, 2003; SANTIAGO *et al*, 2009; ZHANG *et al*, 2004; CASTILLO *et al*, 2005; BARAJAS *et al*, 2005; ARAUJO *et al*, 2003).

El laurel comestible (*Laurus nobilis* L.) es una especie nativa del Mediterráneo, de amplio uso por sus hojas como condimento, con una demanda mundial mayor a 3000 toneladas por año (UNCTAD, 2006) y cuyo aceite esencial también posee mercado como insumo en industrias cosméticas y perfumísticas y posee probadas actividades biológicas sobre patógenos y plagas (PADÍN *et al*, 2000; SHAYA *et al*, 1997.; CONFORTI *et al*, 2006; DADALIOGLU *et al*, 2004; PINO *et al*, 1993). En Argentina existe una importante producción de hojas y aceite esencial, cuya calidad ha sido estudiada (DI LEO LIRA *et al*, 2009). Según empresas productoras como Esencias Nuestras S.A., su precio de mercado es alto comparado con aceites esenciales cuya actividad biológica también ha sido evaluada, como el de *Cymbopogon citratus* (lemongrass) (RICCI *et al*, 2002).

El objetivo de este trabajo fue probar la efectividad de los aceites esenciales de lemongrass (*Cymbopogon citratus* Stapf.) y laurel (*Laurus nobilis* L.), solos y en mezcla a través de la evaluación de la repelencia y la mortalidad de la mosca blanca en cultivo de lechuga (*Lactuca sativa* L.) bajo cubierta.

MATERIAL Y MÉTODOS

Las especies aromáticas utilizadas para el control de mosca blanca fueron: lemongrass cultivado en la Estación Experimental de la Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales de la Universidad Nacional de La Plata, Argentina y laurel cultivado en la zona de La Plata. Para este ensayo se utilizaron las hojas de laurel y de lemongrass, que fueron sometidas a un proceso de secado a temperatura ambiente y a una posterior destilación por arrastre con vapor de agua en destilador de acero inoxidable con alambique de 30 litros de capacidad durante 3 horas. Los aceites esenciales obtenidos fueron deshidratados con sulfato de

sodio anhidro y conservadas en heladera, en frascos de color oscuro. El aceite de lemongrass utilizado posee citral como componente mayoritario 66,7 % (ALIPPI *et al.*, 1996) y en el de laurel se encuentran el 1.8-cineol, el linalol y el acetato de α terpineol como mayoritarios (DI LEO *et al.*, 2009).

El cultivo de lechuga (*Lactuca sativa*) variedad "mantecosa" se llevó a cabo en un invernáculo de 32 m² durante los meses de mayo a setiembre, en surcos distanciados a 0.70 m sobre los que se delimitaron parcelas de 0.50 x 1.00 m, distribuidas al azar. (Fig. 1)



Figura 1. Ensayo de repelencia. Disposición de parcelas experimentales de lechuga mantecosa bajo cubierta

Se realizaron dos tipos de ensayos: uno para evaluar efecto repelente y el otro para mortalidad de los aceites sobre mosca blanca. Se prepararon formulaciones acuosas de aceite esencial de lemongrass, laurel y una mezcla de ambas y un control con agua (con 5 repeticiones cada uno). Las soluciones acuosas se prepararon al 5 % de cada aceite esencial utilizando un 5% de propilenglicol como emulsionante. En la mezcla de aceites se mantuvo la concentración total de aceite en 5%, o sea 2,5 % de lemongrass y 2,5 % de laurel. En ambos ensayos (repelencia y mortalidad) se hicieron cuatro tratamientos:

1. Testigo (aplicando agua y emulsionante).

2. Aplicación de la formulación acuosa de aceite de lemongrass.
3. Aplicación de la formulación acuosa de aceite de laurel.
4. Aplicación de la formulación acuosa de mezcla de ambos aceites en partes iguales.

Para el ensayo bajo cubierta, una vez identificada la mosca blanca (*B. tabaci*) y comprobada su aparición sobre las plantas de lechuga, se realizó un recuento inicial del número de insectos en los lotes elegidos al azar. Posteriormente se pulverizaron las formulaciones (con 5 repeticiones por cada una) utilizando un volumen de 2,5 mL por parcela y se realizó una nueva lectura luego de las 24 horas.

Las pruebas de mortalidad se realizaron por una técnica in-vitro, colocando trozos de hojas con una cantidad de entre 10 a 40 adultos en frascos de vidrio, con papeles de filtro impregnados con 0,11 mL de las mismas soluciones utilizadas en el ensayo de repelencia y con 5 repeticiones para cada tratamiento. Se contaron los adultos al inicio del ensayo y luego de las 24 horas de haberse realizado los diferentes tratamientos. Las lecturas se expresaron en porcentaje de insectos muertos sobre el total de insectos al inicio del ensayo. Los datos de ambos ensayos fueron sometidos al análisis de la Varianza y el test de Tukey.

RESULTADOS

En el gráfico 1 se representa el promedio del número de insectos adultos contabilizados en el ensayo de repelencia, antes y después de la aplicación de los diferentes tratamientos (Fig. 2). Si bien existen pequeñas diferencias en el número promedio de insectos en los cuatro grupos al inicio del ensayo, estas diferencias no llegan a ser estadísticamente significativas. Con los datos observados después de cada tratamiento, se realizó el análisis estadístico demostrando que se encontraron diferencias significativas ($P < 0.05$) entre el testigo y el tratamiento con lemongrass, y diferencias altamente significativas ($P < 0.01$) entre el tes-

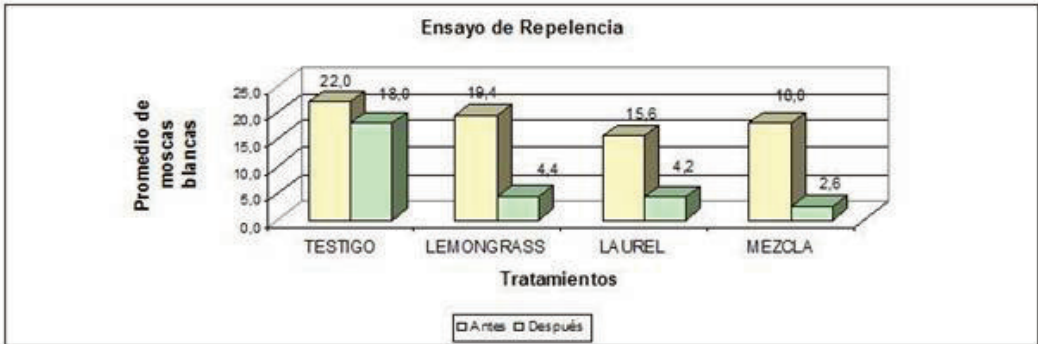


Figura 2. Ensayo de repelencia: Número de moscas blancas observadas antes y después de la aplicación de los aceites esenciales

tigo, el laurel y la mezcla (que no presentaron diferencias significativas entre sí). En el gráfico 2 se expresan los porcentajes de mortalidad (en promedio) obtenidos en los ensayos de laboratorio utilizando los aceites esenciales elegidos y la mezcla de ambos (Fig. 3), resultando este último tratamiento el que dio mejores resultados con valores promedio de alrededor del 55% de mortalidad. El testigo presentó diferencias altamente significativas con el resto de los tratamientos, mientras que el lemongrass presentó diferencias significativas con laurel y la mezcla lemongrass - laurel (que se comportaron individualmente casi del

mismo modo, es decir sin diferencias significativas entre sí).

DISCUSIÓN

Los aceites esenciales de lemongrass y laurel administrados para el control de mosca blanca en este ensayo tuvieron un efecto considerable sobre *B. tabaci*. Tanto para los ensayos de repelencia como para los de mortalidad se obtuvieron diferencias altamente significativas en los tres tratamientos con respecto al testigo, con una mayor efectividad del laurel sobre el lemongrass al utilizarse en forma individual.

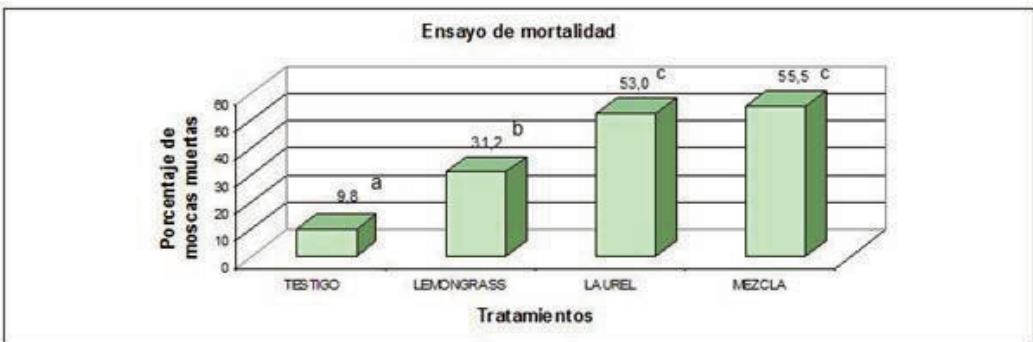


Figura 3. Ensayo de mortalidad: Porcentaje promedio de moscas blancas muertas después de la aplicación de los aceites esenciales

La aplicación de la mezcla de ambas esencias evidenció un mejor comportamiento, a pesar de no llegar a ser estadísticamente significativas las diferencias con los aceites esenciales puros. Lo importante de la mezcla es que permite disminuir los costos de la formulación, teniendo en cuenta el precio significativamente menor del aceite de lemongrass con respecto al del laurel en el mercado.

Se ha comprobado la actividad insecticida por fumigación de algunos aceites esenciales sobre la mosquita blanca (*T. vaporariorum*) utilizando papeles de filtro impregnados, evitando el contacto directo y se determinó que los resultados fueron variables según el tipo de esencia, las dosis y el estado de desarrollo de los insectos. Los aceites esenciales de menta spearmint, menta piperita, tea tree, y laurel, entre otras, fueron altamente efectivas sobre adultos, ninfas y huevos en concentraciones de 0.0023, 0.0093, y 0.0047 mL/mL de aire respectivamente (CHOI 2003).

Bioensayos realizados en invernadero demostraron que los aceites esenciales de canela y tomillo a una concentración del 1% mostraron una repelencia del 91 y 93%, res-

pectivamente por el método del cilindro de acrílico (SANTIAGO *et al.*, 2009). ZHANG *et al.* (2004) reportaron que el aceite esencial de jengibre, a la concentración del 0,5%, repele a la mosca blanca en el 67,8%. CASTILLO *et al.* (2005) y BARAJAS *et al.* (2005) encontraron que el aceite esencial de flores de *Tagetes erecta* L. (cempasúchil) a la concentración del 20% repele al 90% de los adultos de mosca blanca, tanto en invernadero como a campo, repelencia similar a la provocada por los aceites esenciales de canela y tomillo a la concentración del 1% a nivel de invernadero.

Los resultados obtenidos con los aceites esenciales de lemongrass y laurel al 5% (en soluciones acuosas) utilizados para el control de mosca blanca en las condiciones de este ensayo, muestran actividad repelente e insecticida similar a las reportadas con otros aceites esenciales y podrían representar una herramienta útil en el manejo integrado de esta plaga.

Si bien los dos aceites resultaron efectivos, la mezcla de ambos permite no sólo mayor actividad sino menor costo al momento de evaluar potencialidad del producto para su formulación y comercialización.

ABSTRACT

RINGUELET, J. A., M. I. URRUTIA, R. M. YORDAZ, C. P. HENNING. 2012. Insecticidal and repellent activity of essential oils of lemongrass and laurel on *Bemisia tabaci*. *Bol. San. Veg. Plagas*, **38**: 353-360

Whitefly *Bemisia tabaci* (Gennadius) is a polyphagous pest insect very difficult to control in horticultural crops grown under cover. Synthetic insecticide products are mainly used to control whiteflies generally producing toxic residues, problems for applicators and pesticide resistance. Essential oils constitute a natural source for pest and disease management strategies and cause no risk to either the environment or human health. The objective of this study was to test the effectiveness of essential oils of *Cymbopogon citratus* Stapf. (lemongrass) and *Laurus nobilis* L. (laurel) through the assessment of the repellency and mortality of whiteflies in cultivation of lettuce (*Lactuca sativa* L.). Repellency trials were carried out in an experimental cultivation of lettuce grown in greenhouse performing three treatments and a control on randomly distributed plots (each with five repetitions). Mortality was evaluated in laboratory on adult insects placed in glass flasks by performing the same treatments and replicates as repellency test. Applications were made by spraying certain concentration of aqueous solutions of essential oils using an emulsifier.

Data obtained in repellence and mortality assays were studied statistically by Variance analysis and Tukey test with good results respect to the control. Repellence test showed significant differences ($p < 0.05$) between control and lemongrass treatment, and highly

significant differences ($p < 0.01$) between control and laurel essential oil and the mixture (lemongrass - laurel) treatments. For mortality assay, the three treatments showed highly significant differences respect to mortality data in the control; likewise lemongrass treatment presented significant differences comparing with laurel and the mixture of both essential oils. The mixture of lemongrass and laurel in equal parts reached and average of 55% mortality for the control of whiteflies.

These results may suggest that these two essential oils (especially in mixture of both) may be used to control whiteflies on lettuce as an alternative in integrated pest management.

Key words: Whiteflies, *Cymbopogon citratus*, *Laurus nobilis*, repellence, mortality, lettuce.

REFERENCIAS

- AKHTAR, Y., M. B. ISMAN. 2004. "Comparative inhibitory and antifeedant effects of plant extracts and pure allelochemicals on four phytophagous insect species". *Journal of Applied Entomology*, **128**: 32-38.
- ALIPPI, A., RINGUELET, J., CERIMELE, E., RÉ, M.S., HENNING, C. 1996. Antimicrobial activity of some essential oils against *Paenibacillus larvae*, the causal agent of American Foulbrood disease. *Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants*, **4** (2): 9-16. ISSN: 1049-6475.
- ANDERSON, P. K. 2005. Whiteflies as vectors of plant viruses in cassava and sweetpotato in Africa, En: Whitefly and Whitefly-Borne Viruses in the Tropics: Building a Knowledge Base for Global Action, CIAT, Cali.
- ARAUJO, E., SILVEIRA, E., LIMA, M. A., ANDRADE, M., LIMA, M. A. 2003. Insecticidal activity and chemical composition of volatile oils from *Hyptis martiusii* Benth. *J. Agric. Food Chem.*, **51** (13): 3760-3762.
- BARAJAS, J. S., PÉREZ, J., SERRATO, M. A. 2005. Evaluación del aceite esencial de *Tagetes filifolia* Lag. contra plagas en calabaza en Metztlán, Hidalgo. Memoria en disco compacto del VIII Congreso Nacional Agronómico, Universidad Autónoma Chapingo, 22-27 de abril 2005, México,
- BARON, C. 2011. Impacto económico del Complejo *Bemisia tabaci* en la producción tardía de tomate del Cinturón Horticola del Gran La Plata. *Boletín Horticola* **16** (48): 4-7.
- BURILLO, J., GONZÁLEZ, A. 2009. Ed. Insecticidas y Repelentes de Insectos de Origen Natural. CITA. Aragón, España.
- CASTILLO L., E., DELIN-REYNOSO, P. M., FLORES-SALAS, E., ORTIZ-ARELLANO, J., REYES-GARCÍA, A., VILLA, A. G., MARTÍNEZ, M. C. G., SERRATO, M. A. 2005. "Control de plagas en invernadero con aceites esenciales de *Tagetes spp.*", Memoria en disco compacto del VIII Congreso Nacional Agronómico, Universidad Autónoma Chapingo, 22-27 de abril, México.
- CHOI, W., LEE E., CHOI, B., PARK, H., AHN, Y. 2003. "Toxicity of plant essential oils to *Trialeurodes vaporariorum* (Homoptera: Aleyrodidae) *J. Econ. Entomol.* **96** (5): 1479- 1484
- CHOI, W., LEE E., CHOI, B., PARK, H., AHN, Y. 2004. "Toxicity of plant essential oils to Tetranychus urticae (Acari: Tetranychidae) and Phytoseiulus persimilis (Acari: Phytoseiidae)" *J. Econ. Entomol.*, **97** (2): 553-558.
- CONFORTI, F., STATTI, G., UZUNOV, D., MENICHINI, F. 2006. Comparative chemical composition and antioxidant activities of wild and cultivated *Laurus nobilis* L. leaves and *Foeniculum vulgare* subsp. *Piperitum* (Ucria) Coutinho seeds. *Biol. Pharm.*, **29** (10): 2056-2064.
- CUBILLO, D., GUIDO, S., HILJE, L. 1999. Evaluación de la repelencia y mortalidad causada por insecticidas comerciales y extractos vegetales sobre *Bemisia tabaci*. *Revista Manejo Integrado de Plagas* **53**: 65-71.
- DADALIÖGLU, I., EVRENDILEK, G. A. 2004. Chemical compositions and antibacterial effects of Essentials oils of Turkish Oregano (*Origanum minutiflorum*), Bay (*Laurus nobilis*) Spanish lavender (*Lavandula stoechas* L.) and Fennel (*Foeniculum vulgare*) on Common Foodborne Pathogens. *J. Agric. Food Chem.*, **52**: 8266-8260.
- DI LEO LIRA, P., RETTA, D., TKACIK, E., RINGUELET, J., COUSSIO, J., VAN BAREN, C., BANDONI, A. 2009. "Essential oil and by-products of distillation of bay leaves (*Laurus nobilis* L.) from Argentina". *Ind. Crops Prod.*, **30** (2009): 259-264.
- GONZÁLES ACOSTA, A., DEL POZO NÚÑEZ, E., GALVÁN PIÑA, B., GONZÁLEZ CASTRO, A., GONZÁLES CÁRDENAS, J. C. 2006. *Revista UDO Agrícola* **6** (1): 84-91.
- ISMAN, M. B. 2000. "Plant essential oils for pest and disease management". *Crop Protection* **19**: 603-608

- KAHAN, A., PADÍN S., RICCI M., RINGUELET J., CERIMELE E., RÉ M., HENNING C., BASSO, I. 2008. "Actividad tóxica del aceite esencial de laurel y del cineol sobre *Brevicoryne brassicae* L. en repollo". Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias UNCuyo. ISSN: 0370-4661. Vol 40 (2) - 41:48
- NOVO, R. J., VIGLIANCO, A., NASSETTA, M. 1997. Actividad repelente de diferentes extractos vegetales sobre *Tribolium castaneum* Herbst. *Agriscientia*, **XIV**: 31-36.
- PADÍN, S., RINGUELET, J., DAL BELLO, G., CERIMELE, E., RÉ, M.S., HENNING, C. 2000. "Toxicology and Repellent Activity of essential oils on *Sitophilus oryzae* L. and *Tribolium castaneum* Herbst". *Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants*, **7** (4) : 67-73. ISSN: 1049-6475.
- PADÍN, S. B., RICCI, E. M., HENNING, C., RÉ, M. S. RINGUELET, J., CERIMELE, E. 2007. "Insecticidas botánicos para el control de *Mysus persicae* (Sulzer) (Hemiptera: Aphididae) en *Brassica oleracea* var. capitata. *Bol. San. Veg. Plagas*, **33**: 187-193.
- PALUMBO, J. C., HOROWITZ A. R., PRABHAKER, N. 2001 "Insecticidal control and resistance management for *Bemisia tabaci*". *Crop Protection (Guildford, Surrey)* **20** (9): 739-765.
- PINO, J., BORGES, P., RONCAL, E. 1993. The chemical composition of bay leaf oil from various origins. *Die Nahrung*, **37**: 592-595.
- POLACK, A. 2005. Manejo integrado de plagas. *Boletín Hortícola* **10** (31): 23-30.
- RICCI, M., PADÍN, S., KAHAN, A., RÉ, S. 2002. Efecto repelente de los aceites esenciales de laurel y lemongrass sobre *Brevicoryne Brassicae* L. en repollo. *Bol. San. Veg. Plagas*, **28**: 207-212.
- ROSA, J. S., MASCARENHAS, C., OLIVEIRA, L., TEIXEIRA, T., BARRETO, M. C., MEDEIROS, J. 2010. "Biological activity of essential oils from seven Azorean plants against *Pseudaletia unipuncta* (Lepidoptera: Noctuidae)". *Journal of Applied Entomology*, **134** (4): 346-354.
- ROZMAN, V., KALINOVIC, I., KORUNIC, Z. 2007. Toxicity of naturally occurring compounds of Lamiaceae and Lauraceae to three stored-product insects. *Journal of Stored Products Research*, **43**: 349-355.
- SANTIAGO, V. S., RODRÍGUEZ HERNÁNDEZ, C., ORTEGA ARENAS, L., OCHOA MARTÍNEZ, D., INFANTE GIL, S. 2009. Repelencia de adultos de mosca blanca (*Trialeurodes vaporariorum* West.) con aceites esenciales. *Fitosanidad*, **13** (1): 11-14.
- SHAAYA, E., KOSTIUKOVSKI, E., SUKPRAKARN, C. 1997. Plant oils as fumigants and contact insecticides for the control of stored-products insects. *Journal of Stored Products Research* **33** (1):7-15.
- TERANISHI, R., BUTTERY, R., SUGISAWA H. 1993. American Chemical Society, Washington, DC Symposium Series vol 525. 310 pp.
- UNCTAD, 2006. World Market in the Spices Trade 2004-2009. UNCTAD, Ginebra.
- VASQUEZ-LUNA, A., PÉREZ-FLORES, L., DIAZ-SOBAC, R. 2007. "Biomoléculas con actividad insecticida: una alternativa para mejorar la seguridad alimentaria" *Ciencia y Tecnología de Alimentos*, **5** (4):306-313.
- ZHANG, W., MCAUSLANE, H. J., SCHUSTER, D. J. 2004. "Repellence of Ginger Oil to *Bemisia argentifolii* (Homoptera: Aleyrodidae) on Tomato". *J. Econ. Entomol.*, **97** (4): 1310-18.

(Recepción: 6 septiembre 2012)

(Aceptación: 27 diciembre 2012)

Experiencias de atracción de *Tomicus piniperda* (Linneo, 1758) usando atrayentes cairomonales

E. GONZÁLEZ-ROSA, S. C SABAH-MAZZETTA, D. GALLEGO

Tomicus piniperda (Linneo, 1758) es una especie de Scolytinae (Curculionidae) que en la península Ibérica está restringida a los pinares de *Pinus sylvestris*, y en menor medida *P. pinaster* y *P. radiata* de la meseta norte de la península Ibérica, sistema Ibérico, cordillera y costa Cantábrica y Pirineos. Considerada por algunos autores como especie agresiva o semiagresiva, se trata, de cualquier modo, de una especie de inequívoco interés forestal. En el presente trabajo se presentan los resultados de dos experiencias de atracción de *T. piniperda* a atrayentes cairomonales, realizada en Cantalojas (Guadalajara), durante los años 2011 y 2012. Se instaló un diseño experimental compuesto por 7 y 5 bloques aleatorizados, con 8 tratamientos por bloque. Se probaron diferentes combinaciones y dosis comerciales de α -pineno y etanol, con las que se cebaron trampas Crosstrap (Econex S.L.). En 2011 el experimento se mantuvo operativo entre abril y junio, mientras que en 2012 lo estuvo entre marzo y mayo.

Se han obtenido capturas significativamente más altas en tratamientos compuestos por combinaciones de dosis de etanol y α -pineno, frente a estas sustancias por separado a cualquier dosis, y el control negativo, que también registró unas pocas capturas. La combinación de máxima atracción, aunque sin diferencias significativas sobre otras, es la misma que para la especie *T. destruens*, lo que podría explicar los ocasionales ataques conjuntos de ambas especies sobre un mismo árbol registrados por varios autores.

E. GONZÁLEZ-ROSA. Silco S.L.

S. C SABAH-MAZZETTA, D. GALLEGO. Departamento de Zoología y Antropología Física, Universidad de Murcia.

Palabras clave: Coleoptera, Scolytidae, trampas, *Pinus*.

INTRODUCCIÓN

Tomicus piniperda (Linneo 1758) (Coleoptera, Curculionidae, Scolytinae) es una especie de distribución holártica tras su introducción accidental en Norteamérica (WOOD y BRIGTH 1992). En la península Ibérica se distribuye por los pinares de *P. sylvestris*, *P. pinaster* y *P. radiata* ubicados en las montañas que rodean la meseta Norte, sistema Ibérico, cordillera y costa Cantábricas y Piri-

neos (GALLEGO *et al* 2004). El ciclo de vida fue descrito por CARLE (1973): los adultos, monógamos, atacan árboles debilitados, moribundos o muertos durante la primavera, excavando sistemas de galerías unirameos verticales, iniciados por las hembras, en el floema y cambium del árbol hospedador. Las larvas perforan sistemas horizontales de galerías de alimentación, pupando y emergiendo desde mediados de verano a principios de otoño. Los jóvenes inmaduros vuelan a los ramillos

de árboles vigorosos, donde permanecen hasta la primavera siguiente, alimentándose de los mismos desde dentro, para lo cual practican perforaciones longitudinales de longitud variable. Estos ramillos perforados terminan muriendo y cayendo conspicuamente al suelo en numerosas ocasiones.

Se han publicado un buen número de trabajos científicos relacionados con la atracción primaria de *T. piniperda*. De este modo se conoce que este escoltído es atraído por monoterpenos como α -pineno, terpinoleno y 3-careno (BYERS *et al.* 1985, 1989; SCHROEDER 1988; BYERS 1989, 1992; Schroeder y Lindelöw 1989; Vité *et al.* 1996; SCHLYTER *et al.* 2000, CZOKAJLO y TEALE 1999; POLAND *et al.* 2003, 2004). También se han citado otros semioquímicos con propiedades atrayentes como β -pineno y mirtenol (SjÖDIN *et al.* 1989; NIEMEYER *et al.* 1996). No obstante, pese al número de trabajos realizados, no existe una clara propuesta de sustancia o mezcla de sustancias atrayentes, ni dosificaciones de las mismas, para una atracción y captura operativas de esta especie. De este modo, BYERS *et al.* (1985) propusieron una dosis 30 mg/día de α -pineno como mejor atrayente de *T. piniperda*, mejorable con dosis bajas de (+)-3-careno y terpinoleno, mientras que POLAND *et al.* (2003) y POLAND *et al.* (2004) concluyeron que unas dosis de 300 mg/día de α -pineno, sin adición de otros semioquímicos, producían el mejor efecto atractivo sobre el escoltído.

También existe una controversia en la bibliografía en cuanto a la respuesta al etanol y el sinergismo entre etanol y monoterpenos. SCHROEDER (1998) encontró una reducción de la atractividad de α -pineno, a una tasa alta de 250 mg/día, cuando se usaba junto a cualquier dosis de etanol. Posteriormente SCHROEDER y LINDELÖW (1989) propusieron un efecto sinérgico entre bajas dosis de α -pineno (entre 2.4 y 24 mg/día) y etanol, desapareciendo este efecto con dosis altas de monoterpeno (a 250 mg/día). Posteriormente, BYERS (1992) confirmó estos resultados con dosis bajas α -pineno y etanol. En esta línea, en estudios realizados en Norteamérica, CZOKAJLO y

TEALE (1999) encontraron sinergismo entre bajas dosis de α -pineno (30 mg/día) y dosis de etanol situadas entre 0.1 y 10 veces la dosis de monoterpenos, indicando además que la variabilidad de las dosis de etanol estaban relacionadas con las variaciones de temperatura ambiental. Posteriormente y también en estudios llevados a cabo en Norteamérica, POLAND *et al.* (2003) propone una dosis alta de α -pineno (300 mg/día) como operativa para la atracción de *T. piniperda*.

En contraste, existen muchos menos trabajos publicados sobre la especie gemela *Tomicus destruens* (WOLLASTON, 1856), aunque los resultados para esta especie parecen mucho más coherentes. De este modo, Sabbatini-Peverieri *et al.* (2004) encontraron una clara atracción hacia α -pineno. Posteriormente, Faccoli *et al.* (2008), utilizando técnicas electroantenográficas, propuso un cebo basado en α -pineno, α -terpinoleno y β -mircenol. También en 2008, GALLEGO *et al.* encontraron un fuerte sinergismo entre dosis altas de α -pineno (300 mg/día) y dosis aún mas altas de etanol (900 mg día).

En el invierno de 2008 a 2009 se produjo un fuerte temporal de nieve y viento que abatió numerosos pinos en el monte nº 15, conocido como "Sonsaz" y denominado "Robledal de la Sierra". Se trata de una repoblación de *Pinus sylvestris* en la Sierra norte de Guadalajara, T.M. de Cantalojas, Guadalajara. De acuerdo con los mapas de distribución potencial propuestos por GALLEGO *et al.* (2004) y SORIANO y GALLEGO (2009), existe una alta potencialidad de *T. piniperda* en la zona, habiendo sido confirmada mediante el test molecular basado en PCR-RFLP propuesto por GALLEGO y GALIÁN (2001), así como por secuenciación de ADNmt (SÁNCHEZ-GARCÍA, 2009). No obstante, la mortandad sobre arbolado en pie fue muy reducida, paradójicamente ejecutada principalmente por *Ips acuminatus* (GYLLENHAL 1827). La elevada densidad de pies existente posiblemente hizo que los daños fueran aún más cuantiosos. En los dos años siguientes a este episodio se incrementaron enormemente

las poblaciones de *T. piniperda* en la zona, de modo que finalizado el verano de 2010 era visible un manto de ramillos secos en las laderas de esta sierra. La destrucción de ramillos provocó un fuerte impacto visual generado en una zona de gran afluencia turística.

La intención del presente trabajo es dar los primeros pasos para identificar y proponer un atrayente más eficaz y operativo para la captura de *Tomicus piniperda*, como herramienta para el control integrado de poblaciones de esta especie.

MATERIAL Y METODOS

Para la ejecución de este trabajo se utilizaron dos diseños experimentales basados en bloques aleatorizados de acuerdo con PAJARES *et al* (2004) y GALLEGU *et al* (2008), instalados en el pinar de *P. sylvestris* de Sonsaz, GUADALAJARA (41°11'N, 3°17' O). Se probaron diferentes tasas de emisión y combinaciones de los atrayentes cairomonales α -pineno y etanol, utilizando dispensadores comerciales (Econex, Murcia.)

Se ha utilizado la trampa de interceptación Crosstrap® (Econex, Murcia) (Figura 1). Esta es una trampa tipo *crossvane* formada por dos laminas negras perpendiculares de plástico armado flexible. En la parte inferior, la trampa posee un embudo donde convergen las capturas hacia un bote cerrado, provisto únicamente de un pequeño desagüe de rebo-



Figura 1. Aspecto de una de las trampas Crosstrap® (Econex, Murcia)

samiento en la parte superior, cerrado con malla metálica. La captura de insectos se realizó con muerte, introduciendo en el bote 20 ml de propilenglicol rebajado al 50% con agua.

El primer diseño experimental (Experimento 1) se compuso de siete bloques aleatorizados, con ocho tratamientos por bloque (Tabla1). Este ensayo permaneció activo desde el día 2/04/2011 hasta el 15/06/2011. Todas estas trampas se revisaron con periodicidad semanal.

En el segundo diseño experimental (Experimento 2), el número de bloques se redujo a cinco. Se eliminaron dos de los bloques que habían registrado muy pocas capturas, por encontrarse en áreas de cresta y fondo de

Tabla1: Tasas de evaporación de los compuestos utilizados en los tratamientos del Experimento 1

Tratamiento	Tasa α -pineno (mg/día)	Tasa etanol (mg/día)	Código
1	300	40	a300/e40
2	300	100	a300/e100
3	300	160	a300/e160
4	300	200	a300/e200
5	300	400	a300/e400
6	300	2000	a300/e2000
7	300	0	a300/e0
8	0	0	a0/e0

Tabla 2: **Tasas de evaporación de los compuestos utilizados en los tratamientos del Experimento 2**

Tratamiento	Tasa α -pineno (mg/día)	Tasa etanol (mg/día)	Código
1	300	2000	a300/e2000
2	0	2000	a0/e2000
3	300	3000	a300/e3000
4	0	3000	a0/e3000
5	300	4000	a300/e4000
6	0	4000	a0/e4000
7	300	0	a300/e0
8	0	0	a0/e0

valle. Se mantuvieron los ocho tratamientos por bloque (Tabla 2). En el Experimento 2, las trampas se instalaron el día 11 de marzo y se retiraron el 23 de mayo de 2012 sometándose a una revisión semanal.

Los resultados de capturas de ambos experimentos fueron sometidos a una transformación previa mediante $\log_{10}(x+1)$ para asumir la normalidad y homocedasticidad de los datos, y permitir el análisis usando ANOVA-GLM, en un diseño de bloques completos aleatorizados. Si se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos, se utilizó el test de comparaciones múltiples de Tukey para asignar esas diferencias entre pares de tratamientos. Los resultados de ambos ensayos se contrastaron mediante un metaanálisis, estudiando el incremento de la g de Edges (NAKAGAWA y CUTHILL, 2007). Para el análisis se utilizó la función desarrollada para R (R Development Core Team, 2012) en el marco del Taller de Feromonas de Insectos Forestales (pendiente de publicación WEB). Para este metaanálisis se eliminaron los bloques 6 y 7 del experimento 1, en los que apenas se habían registrado capturas en 2011.

RESULTADOS

Se han capturado un total de 8763 ejemplares de *T. piniperda*, a razón de 3564 en el

Ensayo 1 y 5199 en el Ensayo 2. Otras especies de insectos de la comunidad de saproxilófagos asociada capturados durante ambos experimentos (Tabla 3) fueron los escolítidos *Hylurgus ligniperda* (Fabricius 1787), *Hylastes linearis* Erichson 1836 e *Hylastes attenuatus* Erichson 1836, el clérico *Thanasimus formicarius* (Linnaeus 1758), el curculiónido *Hylobius (Callirus) abietis* (Linnaeus 1758) y los cerambícidos *Rhagium (Rhagium) inquisitor* (Linnaeus 1758) y *Acanthocinus aedilis* (Linnaeus 1758). De cualquier modo las mayores capturas se corresponden con la especie diana *T. piniperda*, aunque las capturas de especies depredadoras como *T. formicarius* pueden considerarse demasiado altas.

En el experimento 1, el tratamiento que más capturas registró fue α -pineno 300 mg/día + etanol 2000 mg/día, si bien las diferencias con respecto al resto de tratamientos de etanol y α -pineno no son estadísticamente significativas. No obstante sí se detectan diferencias significativas en las capturas medias obtenidas en el tratamiento de α -pineno sin etanol, así como en el tratamiento control (Figura 2). Puede observarse una tendencia al incremento de las capturas con dosis crecientes de etanol (siempre junto a α -pineno). El tratamiento control (a0/e0) registró capturas, aunque en valores mínimos.

En este experimento, además de diferencias significativas entre tratamientos, se

Tabla 3: Otras especies y número de ejemplares de fauna asociada capturadas en los experimentos (Exp.) 1 y 2

Exp.	<i>Hylurgus ligniperda</i>	<i>Hylastes linearis</i>	<i>Hylastes attenuatus</i>	<i>Thanasimus formicarius</i>	<i>Ragium inquisitor</i>	<i>Acanthocinus aedilis</i>	<i>Hylobius abietis</i>
1	1599	219	755	1575	139	180	97
2	667	498	0	1958	278	104	45
Total	2266	219	1253	3533	417	284	142

encontraron diferencias significativas de capturas entre bloques. De este modo las capturas en los bloques 6 y 7 resultaron significativamente más bajas que en el resto de los bloques, al estar situadas en zonas de cresta, lo que indica la alta influencia de la microvariabilidad ambiental en esta especie.

En el experimento 2 se confirma que se registran más capturas de *T. piniperda* con cualquier mezcla de etanol y α -pineno (Figura 3), que con cualquiera de estos dos productos por separado. De entre dichas mezclas, a diferentes emisiones de etanol, la más eficaz es el cebo comercial para *T. destruens* (Econex, Murcia),

que emite a 300 mg/día de α -pineno y 2000 mg/día de etanol, aunque sin diferencias significativas con respecto al resto de mezclas. Se observa un descenso, aunque no significativo, en las capturas para dosis de etanol superiores a los 2000 mg/día. Es destacable, al igual que en el experimento 1, que se hayan registrado unas pocas capturas en el tratamiento control (a0/e0). En este experimento no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre las capturas registradas en los diferentes bloques, confirmando que se eliminó la influencia de la variabilidad ambiental al eliminar los bloques 6 y 7.

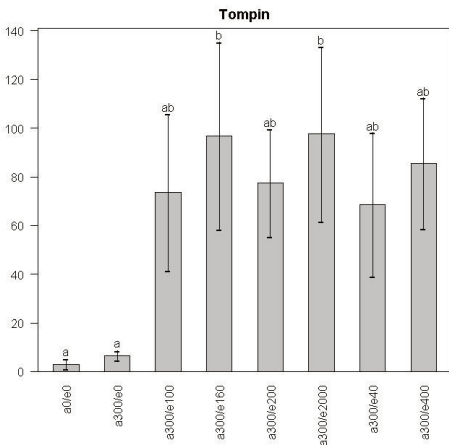


Figura 2. Número medio e intervalo de confianza ($\alpha=0,05$) de adultos de *T. piniperda* capturados, para cada tratamiento utilizado en el experimento 1. a= α -pineno, e= etanol, el número que sigue a la letra indica la tasa de evaporación, en mg/día. G.l.= 7, valor F= 4,0356, P= 0,0018

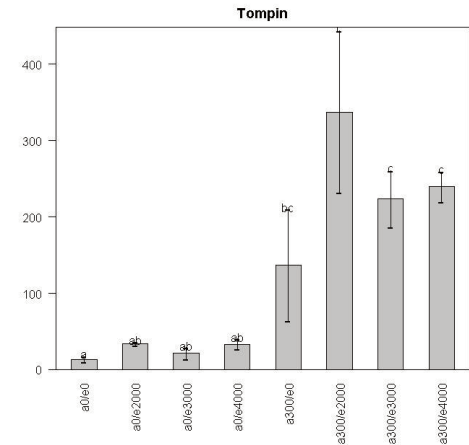


Figura 3. Número medio e intervalo de confianza ($\alpha=0,05$) de adultos de *T. piniperda* capturados, para cada tratamiento utilizado en el experimento 2. a= α -pineno, e= etanol, el número que sigue a la letra indica la tasa de evaporación, en mg/día, G.l.= 7, valor F= 12,5377, P= 3,65x10⁻⁷

Por último, y a modo de integración de los resultados de ambos experimentos, el análisis de la *g* de Hedges se ilustra en la Figura 4. En este gráfico se representa el valor de *g* (cuadrado sombreado) y su intervalo de confianza al 5% (línea horizontal), respecto al valor del tratamiento considerado como estándar (α -pineno 300 mg/día + etanol 2000 mg/día), por ser el de mayor eficacia en las capturas. El gráfico permite identificar claramente tratamientos más y menos eficaces en las capturas que dicho tratamiento estándar. Puede observarse importantes diferencias de capturas entre ambos años, de modo que el mismo tratamiento estándar es sensiblemente mejor en 2012 que en 2011. Es muy apreciable que los tratamientos con los compuestos por separado, con independencia de la dosis, registran capturas muy inferiores a los tratamientos con mezcla de productos.

DISCUSIÓN

Los dos experimentos realizados en 2011 y 2012 han permitido averiguar cuál es la

dosis óptima de etanol para la atracción y captura de *T. piniperda* en trampas modelo Crosstrap®. Con el experimento 1, realizado en primavera de 2011, se testó la dosis máxima de etanol hasta 2000 mg/día, que conjuntamente con α -pineno ofrecía las mayores capturas, aunque muy ligeramente y sin diferencias significativas respecto a otras dosis de mezcla α -pineno/etanol. El experimento 2 probó la dosis máximas de etanol superiores a 2000 mg/día, y sirvió además para determinar si α -pineno sinergiza de forma significativa el aumento de capturas. Todos estos ensayos se realizaron con dispensadores de productos comerciales, de modo que su aplicación pueda ser directa, ya que no es necesario el proceso de I+D+i para su puesta en mercado.

La mezcla de etanol y α -pineno ha resultado ser la más eficaz para la captura de *Tomiscus piniperda*. Entre las mezclas probadas, la que más capturas ha obtenido es la formada por α -pineno 300 mg/día + etanol 2000 mg/día, que constituye el cebo comercial para *T. destruens*. Cualquier mezcla de etanol y α -pineno ha resultado ser más eficiente que

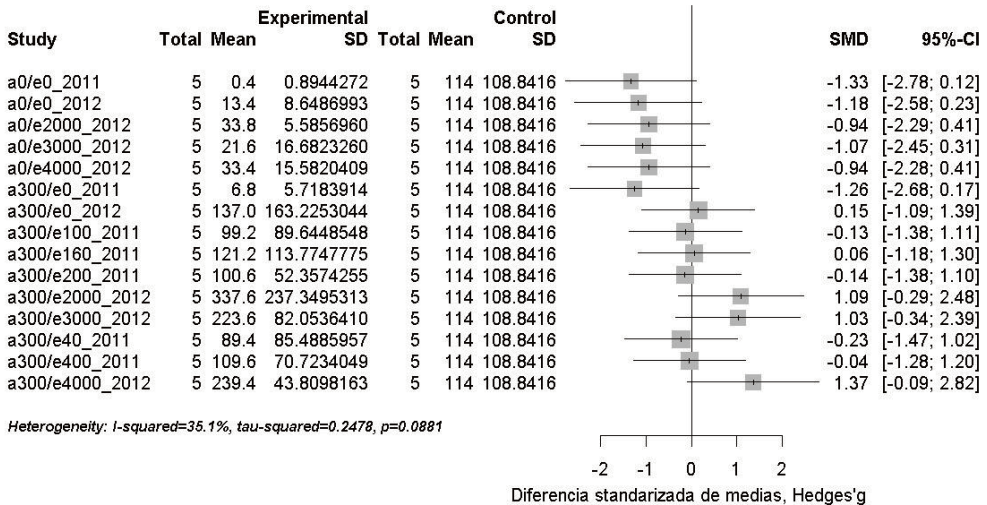


Figura 4. Gráfico de “Bosque” en que se representa el valor de la media estandarizada, *g* de Hedges (recuadro sombreado) y el intervalo de confianza al 5% (línea horizontal) de *T. piniperda* capturados, para cada tratamiento utilizado en ambos experimentos, comparado con el valor de *g* para el tratamiento estándar α -pineno 300 mg/día + etanol 2000 mg/día de 2011 (línea vertical horizontal). a= α -pineno, e= etanol, el número que sigue a la letra indica la tasa de evaporación, en mg/día, tras el guión bajo se indica el año en que se realizó el experimento

cualquiera de estos volátiles por separado, aunque con importantes diferencias en la capturas entre años. Estas diferencias interanuales han debido de estar relacionadas con condiciones ambientales, ya que las trampas fueron las mismas, instaladas en los mismos lugares y los cebos habían sido producidos industrialmente, de forma estandarizada.

La integración de ambos experimentos pone de manifiesto que las capturas con cualquier mezcla de α -pineno y etanol son muy superiores a las capturas obtenidas con los compuestos por separado, lo que es coherente con el efecto sinérgico de la utilización conjunta de ambos compuestos propuesto por SCHROEDER y LINDELÖW (1989), BYERS (1992) y CZOKAJLO y TEALE (1999), para esta especie, y por GALLEGU *et al.* (2008) para *T. destruens*. De cualquier modo nuestros resultados difieren de las propuestas de SCHROEDER y LINDELÖW (1989) y BYERS (1992) ya que la tasa de evaporación utilizada (300 mg/día) es muy superior a las propuestas por estos autores (máximo de 24 mg/día), y similar a la propuesta por POLAND *et al.* (2003). Además, en nuestros resultados no aparece ningún tipo de inhibición de la atracción con tasas bajas de monoterpeno. Sí existe en cambio más coherencia con los resultados de CZOKAJLO y TEALE (1999), en lo referente a la variabilidad de tasas de etanol. No obstante, nuestros resultados indican que incluso con tasas de etanol 13,34 veces superiores a las de α -pineno (4000 mg/día), siguen obteniéndose valores altos de capturas, aunque ligeramente inferiores que los obtenidos con una tasa 6,67 veces mayor (2000 mg/día).

En el experimento 1 se puso de manifiesto la importancia de la instalación de los bloques en áreas ambientalmente homogéneas, a fin de reducir al máximo la fuente de variación. De este modo, los bloques 6 y 7 se instalaron en una zona de crestería, mucho más ventada y con una tipología forestal diferente al resto de los bloques. Efectivamente, estos dos bloques apenas registraron capturas en el experimento 1 (aproximadamente el 1%). En

el experimento 2 estos bloques se eliminaron, y aún así las capturas aumentaron en más de un 18 %, respecto al primer experimento. Es por tanto muy importante prestar atención a la idoneidad del lugar de instalación las trampas, en este caso zonas de pinar coetáneo y en baja densidad. Posiblemente, la instalación de este tipo de atrayentes en zonas favorables para su difusión, los hace más eficientes para la captura en este tipo de trampas.

Ambas experiencias han permitido confirmar que el atrayente comercial de *T. destruens*, basado en evaporaciones altas de etanol y 300 mg/día de α -pineno (GALLEGU *et al.* 2008), es también el más eficiente para *T. piniperda*, aunque con importantes variaciones entre años. Esto indica un muy importante solapamiento de nicho ecológico entre ambas especies. En esta línea, KOHLMAYR *et al.* (2002) sugirieron que *T. destruens* y *T. piniperda* no son realmente especies gemelas, producto de una reciente especiación simpátrica como propusieron KERDELHUÉ *et al.* (2002), sino que *T. piniperda* evolucionó en Asia, colonizando posteriormente Europa (DUAN *et al.* 2004), donde coincidió con *T. destruens* en el ámbito mediterráneo, siendo por lo tanto especies hermanas, debido a la gran coincidencia morfológica. Por ello, y pese a que existe una selección diferencial de especies hospedadoras, se ha citado la detección de coincidencias espaciotemporales, incluso en las mismas galerías, de ambas especies sobre *P. pinaster* y *P. radiata* (KERDELHUÉ *et al.* 2002; GALLEGU *et al.* 2004; VASCONCELLOS *et al.* 2006). Ahora puede explicarse esta coincidencia, ya que si ambas especies están presentes en un mismo territorio, y responden a los mismos semioquímicos con similares tasas de emisión, pueden darse casos de ataques sincrónicos a un mismo árbol.

Los resultados de este trabajo abren la puerta a la posibilidad de uso de un dispensador y trampa operativos y eficaces para la atracción y captura de *T. piniperda*, con fines de seguimiento o de control integrado de poblaciones de esta especie. No obstante, las

capturas de fauna asociada, como el depredador *T. formicarius*, son demasiado elevadas. Deben realizarse nuevas experiencias para el reducir las capturas de estas especies o bien utilizar sistemas de captura sin muerte, con liberación posterior de fauna asociada viva.

AGRADECIMIENTOS

A la empresa Sanidad Agrícola Econex S.L. por su excelente disponibilidad para el desarrollo, fabricación y facilitación de los dispensadores de etanol a las tasas requeridas para poder realizar el presente trabajo.

ABSTRACT

GONZÁLEZ-ROSA, E., S. C SABAH-MAZZETTA, D. GALLEGO. 2012. Experiments of attraction of *Tomicus piniperda* (Linnaeus, 1758) using kairomonal attractants. *Bol. San. Veg. Plagas*, **38**: 361-369

Tomicus piniperda (Linnaeus, 1758) is a species belonging to family Scolytinae (Curculionidae) that at the Iberian Peninsula is restricted to *Pinus sylvestris*, and to a lesser extent *P. pinaster* and *P. radiata* forest stands located in the north plateau of Iberian Peninsula, Cantabrian mountain range and coast, as well as the Pyrenees. Considered as an aggressive or semiaggressive species by some authors, it is anyway a species of unequivocal interest in Forestry.

In the present report, results from two experiences of attraction of *T. piniperda* to kairomonal attractants are presented. They were carried out in Cantalojas (Guadalajara), during the years 2011 and 2012. An experimental design was installed, consisting of 7 and 5 randomized blocks, with 8 treatments/block. Different commercial combinations and doses of α -pineno and ethanol were tested by means of the use of traps type Crosstrap (Econex S.L.) baited with them. In 2011 the experiment remained operational between April and June, while in 2012 it was between March and May.

Catches significantly different have been obtained in treatments consisting of combinations of doses of ethanol and α -pineno, compared to these substances separately at any dose, and the negative control, which also recorded a few catches. The combination of maximum attraction, although with no significant differences over others, is the same as for the species *T. destruens*, which could explain the occasional joint attacks of both species on one tree reported by several authors.

Key words: Coleoptera, Scolytidae, traps, *Pinus*.

REFERENCIAS

- BYERS, J.A. 1992. Attraction of bark beetles, *Tomicus piniperda*, *Hylurgus palliatus*, and *Trypodendron domesticum* and other insects to short-chain alcohols and monoterpenes. *J. Chem. Ecol.* **18**: 2385-2402.
- BYERS, J.A. 1989. Chemical ecology of bark beetles. *Experientia*. **45**: 271-283.
- BYERS, J.A., LANNE, D.S., LÖFQVIST, J., SCHLYTER, F., BERGSTRÖM, G. 1985. Olfactory recognition of host-tree susceptibility by pine shoot beetles. *Naturwissenschaften*. **72**: 324-326.
- CARLE, P. 1973. Le dépérissement du pin mesogéen en Provence. Rôle des insectes dans les modifications d'équilibre des forêts envahies par *Matsucoccus feytaudi* Duc (Coccioidea, Margarodidae). Phd. Thesis. Faculté de Sciences de Bordeaux, Bordeaux.
- CZOKAJLO, D., TEALE, S.A. 1999. Synergistic effect of ethanol to α -pinene in primary attraction of the larger pine shoot beetle, *Tomicus piniperda*. *J. Chem. Ecol.* **25**: 1121-1130.
- DUAN, Y., KERDELHUÉ, C., YE, H., LIEUTIER, F. 2004. Genetic study of the forest pest *Tomicus piniperda* (Coleoptera, Scolytidae) in Yunnan Province (China) compared to Europe: New insights for the systematic

- and evolution of the genus *Tomicus*. *Heredity*. **93**: 416-422.
- FACCOLI, M., ANFORA, G., TASIN, M. 2008. Responses of the mediterranean pine shoot beetle *Tomicus destruens* (Wollaston) to pine shoot and bark volatiles. *J. Chem. Ecol.* **34**: 1162-1169.
- GALLEGO, D., CANOVAS, F., ESTEVE, M., GALIAN, J. 2004. Descriptive biogeography of *Tomicus* (Coleoptera: Scolytidae) species in Spain. *J. Biogeogr.* **31**: 2011-2024.
- GALLEGO, D., GALIÁN, J., DIEZ, J.J., PAJARES, JA. 2008. Kairomonal responses of *Tomicus destruens* (Col., Scolytidae) to host volatiles α -pinene and ethanol. *J. Appl. Entomol.* **132**: 654-662.
- KERDELHUÉ, C., ROUX-MORABITO, G., FORICHON, J., CHAMBON, J.M., ROBERT, A., LIEUTIER, F. 2002. Population genetic structure of *Tomicus piniperda* L. (Curculionidae: Scolytinae) on different pine species and validation of *T. destruens* (Woll). *Mol. Ecol.* **11**: 483-495.
- KOHLMAYR, B., RIEGLER, M., WEGENSTEINER, R., STAUFFER, C. 2002. Morphological and genetic identification of the three pine pest of the genus *Tomicus* (Coleoptera, Scolytidae) in Europe. *Agricult. For. Entomol.* **4**: 151-157.
- NAKAGAWA, S., CUTHILL, I.C. 2007. Effect size, confidence interval and statistical significance: a practical guide for biologists. *Biological Reviews*. **82**: 591-605.
- NIEMEYER, H., WATZEK, G., LU, N., NIU, J. 1996. Field investigation into the attraction of *Tomicus piniperda* (Col., Scolytidae) to monoterpenes and ethanol. *J. Appl. Entomol.* **120**: 265-267.
- PAJARES, J.A., IBEAS, F., DÍEZ, J.J., GALLEGO, D. 2004. Attractive responses by *Monochamus galloprovincialis* (Col., Cerambycidae) to host and bark beetle Semiochemicals. *J. Appl. Entomol.* **128**: 633-638.
- POLAND, T.M., DE GROOT, P., BURKE S., WAKARCHUK, D., HAACK, R.A., NOTT, R., SCARR, T. 2003. Development of an improved attractive lure for the pine shoot beetle, *Tomicus piniperda* (Coleoptera: Scolytidae). *Agr. For. Entomol.* **5**: 293-300.
- POLAND, T.M., DE GROOT, P., HAACK, R.A., CZOKAJLO, D. 2004. Evaluation of semiochemicals potentially synergistic to α -pinene for trapping the larger European pine shoot beetle, *Tomicus piniperda* (Col., Scolytidae). *J. Appl. Entomol.* **128**: 639-644.
- R DEVELOPMENT CORE TEAM. 2012. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
- SABBATINI-PEVERIERI, G., FAGGI, M., MARZIALI, L., PANZAVOLTA, T., BONUOMO, L., TIBERI, R. 2004. Use of attractant and repellent substances to control *Tomicus destruens* (Coleoptera: Scolytidae) in *Pinus pinea* and *P. pinaster* pine forest of Tuscany. *Entomologica*. **38**: 91-102.
- SCHROEDER, L.M. 1988. Attraction of the bark beetle *Tomicus piniperda* and some other bark- and wood-living beetles to the host volatiles α -pinene and ethanol. *Entomol. Exp. Appl.* **46**: 203-210.
- SCHROEDER, L.M., LINDELÖW, A. 1989. Attraction of scolytids and associated beetles by different absolute amounts and proportions of α -pinene and ethanol. *J. Chem. Ecol.* **15**: 807-817.
- SORIANO, A., GALLEGO, D. 2009. Principales escolítidos de Castilla-La Mancha. Serie técnica: Sanidad Forestal, Junta de Comunidades de Castilla-La Mancha.
- SÁNCHEZ-GARCÍA, F.J. 2009. Distribución de los linajes mitocondriales de *Tomicus destruens* (Wollaston 1856) (Col, Scol.) en la cuenca Mediterránea y su relación con variables ambientales. Tesis de Licenciatura, Universidad de Murcia.
- SJÖDIN, K., SCHROEDER, L.M., EIDMANN, H.H., NORIN, T., WOLD, S. 1989. Attack rates of Scolytids and composition of volatile wood constituents in healthy and mechanically weakened pine trees. *Scand. J. For. Res.* **4**: 379-391.
- VITÉ, J.P., VOLZ, H.A., PAIVA, M.R., BAKKE, A. 1996. Semiochemicals in host selection and colonization of pine trees by the pine shoot beetle *Tomicus piniperda*. *Naturwissenschaften*. **39**: 39-40
- WOOD, S.L., BRIGHT, D.E. 1992. A catalog of Scolytidae and Platypodidae (Coleoptera). Part 2. Taxonomic index. Great Basin Nat. Mem. 13.

(Recepción: 15 octubre 2012)

(Aceptación: 21 noviembre 2012)

Identificación y diferenciación morfológica y molecular de *Olpidium* spp.

J. A. HERRERA VÁSQUEZ, M. C. CEBRIÁN, A. A. FERNÁNDEZ, M. C. CÓRDOBA SELLÉS, C. JORDÁ

En este artículo se describe el desarrollo de un método multiplex PCR para detectar, diferenciar y confirmar la identificación morfológica de tres especies de *Olpidium* que infectan las raíces de las plantas, *O. bornovanus*, *O. brassicae*, y *O. virulentus*, ante la dificultad que presenta su diferenciación por características meramente morfológicas. Para tal fin, se examinaron 132 muestras de raíces, de las cuales 101 (76.5%) presentaron infección por *Olpidium* spp.. En base a la morfología de las esporas de resistencia, solamente se logró determinar la presencia de *O. bornovanus* en 27 muestras (20.5%), mientras que en el resto no fue posible determinar la especie de *Olpidium*. Por el contrario, mediante el método multiplex PCR, fue posible determinar la identidad de *Olpidium* spp. en todas las muestras infectadas, incluso cuando las esporas de resistencia no fueron observadas. Este método también fue efectivo en la detección de *Olpidium* spp. en muestras de agua. Adicionalmente, se evaluó la especificidad y sensibilidad de este método multiplex PCR, y el mismo fue validado con muestras de 9 cultivos diferentes procedentes de 11 países de América, Europa y África.

J. A. HERRERA VÁSQUEZ. Grupo de Virología, Instituto Agroforestal Mediterráneo, Universidad Politécnica de Valencia, Camino de Vera s/n, E-46022 Valencia, España. Dirección actual: Centro de Investigación Agropecuaria Central (CIAC), Instituto de Investigación Agropecuaria de Panamá (IDIAP), Ctra. Panamericana, Los Canelos-Santa María, Herrera, Panamá, 0601 Chitré, Herrera, Panamá. Tel.: +507 9761265; fax: +507 9761349; e-mail: joshervs11@gmail.com

M. C. CEBRIÁN, A. A. FERNÁNDEZ, M. C. CÓRDOBA SELLÉS, C. JORDÁ. Grupo de Virología, Instituto Agroforestal Mediterráneo, Universidad Politécnica de Valencia, Camino de Vera s/n, E-46022 Valencia, España. maicacm75@gmail.com, analf1@etsia.upv.es, mkorsel9@hotmail.com, mjordag@gmail.com

Palabras clave: diagnóstico, especificidad, sensibilidad.

INTRODUCCIÓN

Las especies de quítridos *Olpidium bornovanus* (Sahtiyanci) Karling y *Olpidium brassicae* (Woronin) P.A. Dang. sensu lato (sl) son parásitos obligados que infectan las raíces de las plantas, pero rara vez inducen síntomas obvios en las plantas huéspedes infectadas, y no se disponen de datos que evalúen las posibles pérdidas que dichos agentes fúngicos ocasionan en dichos huéspedes, imputables a

su propio parasitismo. Estas especies son consideradas económicamente importantes porque actúan como vectores de virus que causan enfermedades importantes en las plantas (ROCHON *et al.*, 2004; SASAYA y KOGANEZAWA, 2006). El término *O. brassicae* sl se utiliza para designar tanto a *O. brassicae*, una especie heterotática que infecta a las crucíferas, como a *Olpidium virulentus* (Sahtiyanci) Karling, una especie homotática que no infecta a las crucíferas (KOGANEZAWA *et al.*, 2005). Por

otro lado, la reproducción de *Olpidium* spp. envuelve la producción de zoosporangios, los cuales descargan las zoosporas como un medio de dispersión en el agua, junto con la producción *in situ* de las esporas de resistencia, que permiten la persistencia del hongo en el suelo, en condiciones adversas al mismo, durante un largo periodo de tiempo, así como también juegan un papel importante en la supervivencia de los virus asociados (HIRUKI, 1987; ROCHON *et al.*, 2004).

Como indicamos anteriormente, *Olpidium* spp. es un parásito obligado de las plantas y, por lo tanto, no puede ser cultivado en medio de cultivo artificial. Por consiguiente, la identificación de este tipo de hongos no es posible sin la realización de bioensayos largos y tediosos (JIANG y HIRUKI, 1996). En este sentido, las diferencias en el rango y especificidad de huéspedes, así como la transmisibilidad de virus, son reconocidas como las características más importantes para discriminar *O. bornovanus* de *O. brassicae* s.l (CAMPBELL y SIM, 1994; SASAYA y KOGANEZAWA, 2006). No obstante, la observación microscópica de las raíces, es generalmente el método utilizado para identificar estas especies, basado en la morfología de las esporas de resistencia (TOMLINSON y THOMAS, 1986), pero éstas no siempre son encontradas con facilidad. Por lo tanto, resulta fundamental disponer de un método de detección adecuado para el diagnóstico rutinario y fiable de *Olpidium* spp. en las raíces de las plantas, así como también en el agua de riego y en la solución re-circulante de los cultivos hidropónicos.

La región de los espaciadores internos transcritos del ADN ribosómico (rDNA-ITS) ha sido usada en la identificación y diferenciación de hongos mediante técnicas moleculares (WHITE *et al.*, 1990; LEE y TAYLOR, 1992; SREENIVASAPRASAD *et al.*, 1996; CROUS *et al.*, 2001; DUNNE *et al.*, 2002). Esta región contiene secuencias menos conservadas que las altamente conservadas, correspondientes a los genes 18S, 5.8S y 28S del ADN ribosómico (KULARATNE *et al.*, 2004). En este sentido, el método PCR-RFLP se describe en la bibliografía como

adecuado para la detección y diferenciación de *Olpidium* spp. (JIANG y HIRUKI, 1996) y otros hongos, incluso hasta el nivel de subespecie (CUBETA *et al.*, 1991; WARD y AKROFI, 1994). Sin embargo, una de las dificultades que puede presentarse, en el caso de *Olpidium* spp., es que además de amplificar el ADN ribosómico específico del hongo a partir de una suspensión de zoosporas de *O. bornovanus*, se amplifique también el ADN ribosómico específico del huésped. Adicionalmente, mediante este método no se logró amplificar el ADN ribosómico de este hongo a partir de las raíces del huésped infectado. El principal factor implicado en este fenómeno podría ser la incompleta especificidad de los cebadores utilizados, ya que estos correspondían a la región rDNA-ITS, la cual tiene la limitante que solo puede ser usada con cultivos puros de hongos, debido a que el ADN de la planta también produce bandas (JIANG y HIRUKI, 1996). Por lo tanto, para evitar estos inconvenientes se requiere utilizar cebadores específicos que no presenten homología con el ADN de la planta, con la finalidad de detectar solamente el hongo deseado (KULARATNE *et al.*, 2004). El método multiplex PCR desarrollado en este trabajo permite detectar en un solo paso las tres especies de *Olpidium* (*O. bornovanus*, *O. brassicae*, y *O. virulentus*) utilizando cebadores específicos para cada una de ellas, los cuales amplifican solamente el ADN ribosómico específico del hongo, tanto de las suspensiones de zoosporas como de las raíces de las plantas. Por todo lo anterior, resulta necesario distinguir entre las raíces infectadas con una u otra especie de *Olpidium*, debido a las diferencias en el rango y especificidad de huéspedes, así como la transmisibilidad de diferentes virus que estas especies presentan.

Los objetivos de este estudio fueron, como ya se indicó anteriormente, (i) desarrollar un método multiplex PCR para detectar y distinguir tres especies de *Olpidium* en muestras de raíces y agua, (ii) determinar la especificidad y sensibilidad de este método y su uso en la detección de *Olpidium* spp. en suspensiones de zoosporas y directamente en raíces, (iii) y la utilización de dicho método

para confirmar la identificación morfológica de *Olpidium* spp..

MATERIALES Y METODOS

Colecta y preparación de muestras de suelo

Se utilizaron 132 muestras de suelo recogidas en un periodo de 10 años (1999 a 2008) y mantenidas en condiciones de aislamiento sanitario, procedentes dichas muestras de diferentes lugares geográficos, tales como, Brasil, Guatemala, Honduras, México, Panamá, Portugal, España, Holanda, Túnez, Uruguay, y Estados Unidos. Dichas muestras fueron colectadas de la zona del sistema radicular de diferentes especies de cucurbitáceas [pepino, *Cucumis sativus* L.; melón, *Cucumis melo* L.; sandía, *Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum. y Nakai; calabacín, *Cucurbita pepo* L.], brócoli (*Brassica oleracea* L. var. *italica* Plenck.), col (*Brassica oleracea* L. var. *gemmifera* Zenk., *Brassica oleracea* L. var. *acephala* D.C., y *Brassica campestris* L.), escarola (*Cichorium endivia* L.), lechuga (*Lactuca sativa* L.), y tomate (*Solanum lycopersicum* L.) cultivadas al aire libre, mostrando síntomas asociados a virus, y las mismas fueron usadas como fuentes de *Olpidium* spp. Las muestras de suelo (aproximadamente 100 g) fueron colocadas en bandejas y cubiertas con papel de celulosa para evitar contaminación. Posteriormente, estas muestras fueron secadas al aire durante una semana y tamizadas a través de una malla de 2 mm de luz/Ø, con la finalidad de separar los terrones del suelo, previo a su procesamiento. La presencia de *Olpidium* spp. en las muestras de suelo fue determinada mediante plantas trampas, tal y como se detalla en el siguiente apartado.

Aislamiento de *Olpidium* spp. mediante plantas trampas y especies de hongos miceliales

El aislamiento de *Olpidium* spp. se realizó mediante plantas trampas, que no es más que atrapar el hongo en las raíces de las plántulas (en estado de cotiledón) de la especie hospede-

dante, en la cual la enfermedad se presenta en el campo (hospedante homólogo), tal y como se describe a continuación. Las semillas de los cultivos indicados anteriormente fueron germinadas en placas Petri estériles, las cuales contenían papel de celulosa, y las mismas fueron regadas con agua Milli-Q (Milli-Q® Ultrapure Water Purification System, Millipore™). Se transplantaron tres plántulas en estado de cotiledón por cada muestra, a macetas individuales de 0.5 litros de capacidad, las cuales contenían una mezcla de suelo de campo procedente de la zona del sistema radicular de las plantas de los cultivos indicados anteriormente y arena fina de sílice lavada y previamente autoclavada, en proporción 1:10, respectivamente (Fig.1). Las plantas se mantuvieron en una cámara de ambiente controlado y fotoperiodo de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad con temperaturas de 26°C y 18°C, respectivamente, y un 60% de humedad relativa. El riego durante el ensayo fue realizado con agua Milli-Q. Como control negativo, se utilizaron macetas con una mezcla autoclavada de suelo libre de *Olpidium* spp. y arena, bajo las mismas condiciones descritas previamente (Fig. 1). Las macetas utilizadas como control negativo fueron intercaladas entre el resto de macetas, con la finalidad de determinar si las mismas se mantendrían libres de la infección por *Olpidium* spp. hasta el final del ensayo. A los 30 días después del trasplante (d.d.t.), se procedió a retirar cuidadosamente una planta por cada maceta con ayuda de una espátula, para no dañar el sistema radicular. Las raíces fueron lavadas con agua destilada y se recogieron por separado aproximadamente 9 cm y unos 0.1 g de raicillas por cada planta, las cuales fueron, en el primer caso, examinadas mediante microscopía y, en el segundo caso, analizadas mediante multiplex PCR, para determinar la efectividad de ambos métodos en la identificación y diferenciación de *Olpidium* spp. Las otras dos plantas por cada maceta se mantuvieron en la cámara de ambiente controlado para trabajos posteriores.

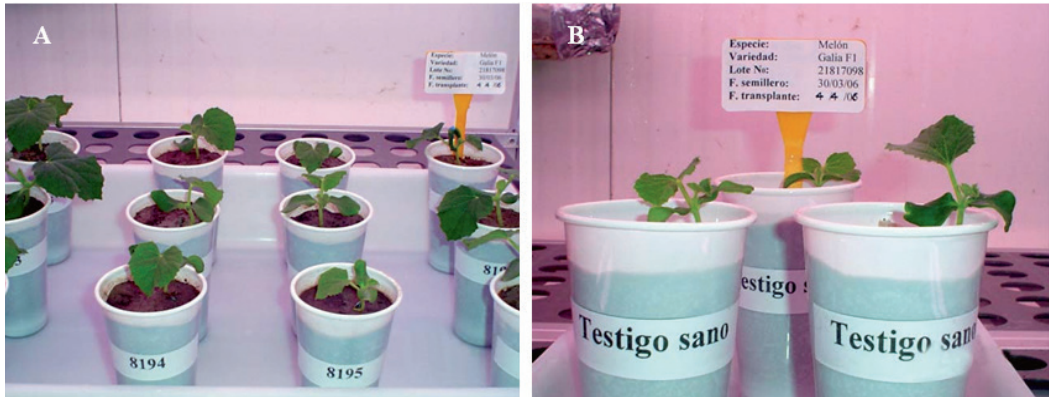


Figura 1. Aislamiento de *Olpidium* spp. mediante plantas trampa: (A) Macetas conteniendo una mezcla de suelo de campo y arena, en proporción 1:10, respectivamente, (B) Macetas conteniendo solamente arena (control negativo). En ambos casos, se utilizó una planta por cada maceta, y tres repeticiones por muestra y control negativo

Adicionalmente, se incluyeron en el ensayo algunas especies de hongos miceliales que infectan las raíces de las plantas y que están presentes en los cultivos hidropónicos, de igual forma como ocurre con *Olpidium* spp. Dichos hongos corresponden a *Pythium intermedium* (aislado Carrotech 54), *P. sulcatum* (Carrotech 122B), *P. violae* (Carrotech 383), *P. sylvaticum* (Carrotech 86A), *Phytophthora cactorum* (10300), *P. ramorum* (8895), *Fusarium foetens* (10183), y *F. graminearum* (KIS-ISH 67/07), los cuales proceden de la colección del Centro de Investigación Bioforsk, División de Sanidad Vegetal y Protección Fitosanitaria, Noruega, y los mismos fueron proporcionados por la Dra. M. L. Herrero en forma de extractos de ADN. También se incluyeron *Pythium deliense* (aislado M1T2S), *Phytophthora cactorum* (Phy126), y *Fusarium oxysporum* fsp. *melonis* raza 1 (Fom4), los cuales proceden de la colección del Departamento de Producción Vegetal, Universidad de Almería, España, y los mismos fueron proporcionados por el Dr. J. C. Tello en forma de micelio en placas Petri cultivados en medio PDA (agar papa dextrosa).

Identificación morfológica de *Olpidium* spp.

Con la finalidad de determinar la presencia o ausencia de esporas de resistencia de

Olpidium spp., las muestras de raíces fueron clarificadas mediante el método de JORDÁ *et al.* (2002). Posteriormente, éstas fueron colocadas en agua destilada y observadas bajo un microscopio de luz Nikon-YS 10 (Nikon Corporation, Tokio, Japón). Es importante destacar que *O. bornovanus* presenta esporas de resistencia de pared exterior lisa e interior con apariencia de panal de abejas, mientras que en *O. brassicae* si las esporas de resistencia presentan forma estrellada (LANGE e INSUNZA, 1977).

Preparación y extracción de ADN: detección de *Olpidium* spp. en raíces

Se desarrollaron dos procedimientos de extracción de ADN para determinar las condiciones óptimas de la multiplex PCR en la detección de *Olpidium* spp.. En el primer procedimiento, las zoosporas de *Olpidium* spp. fueron estimuladas para lograr su liberación, mediante la colocación de aproximadamente 0.05 g de raíces en tubos de microcentrífuga de 1.5 ml, conteniendo una solución GS (0.05 M de glicina y 1% de sacarosa a 4 °C) durante 45 minutos a temperatura ambiente. Posteriormente, las raíces fueron retiradas de los tubos y la suspensión de zoosporas fue centrifugada a 10000 rpm durante 15 minutos. Seguidamente, se descartaron nueve partes



Figura 2. Cultivo de melón hidropónico: (A) Macetas conteniendo solución re-circulante y lixiviado de suelo de un cultivo de melón al aire libre, (B) Maceta conteniendo solamente solución re-circulante (control negativo)

del sobrenadante (modificado de TOMLINSON y THOMAS, 1986), mientras que la suspensión resultante conteniendo las zoosporas fue almacenada a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ para su posterior análisis. El número de zoosporas de la suspensión fue estimado mediante el método de CAMPBELL (1988), y el mismo estuvo en el rango de 1×10^5 a 1×10^6 zoosporas/ml. En el segundo procedimiento, aproximadamente 0.05 g de las raíces fueron colocadas en bolsas plásticas pequeñas y maceradas con ayuda de un pistilo. En el caso de los otros hongos, el micelio fue raspado de la superficie del agar, transferido directamente a tubos de microcentrifuga y macerado con ayuda de un micropistilo. Posteriormente, el ADN total fue extraído a partir de estas preparaciones usando el E.Z.N.A® Plant DNA Miniprep Kit (OMEGA Biotech, Doraville, USA), siguiendo las instrucciones del fabricante, con algunas modificaciones. Los extractos fueron almacenados a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ para su posterior análisis.

Detección de *Olpidium* spp. en agua

Para determinar la efectividad de la multiplex PCR en la detección de *Olpidium* spp. en muestras de agua, un suelo con una historia previa de *Olpidium* spp., procedente de un cultivo de melón al aire libre, fue mezclado con sustrato estéril, en proporción 1:10, respectivamente, en una maceta de capacidad de

2.5 l, la cual fue regada con 2000 ml de agua Milli-Q, a razón de 500 ml cada ocho días. A los ocho días después del último riego, se colectaron 750 ml del lixiviado, se filtraron con papel Whatman no. 4, y se incorporaron 250 ml a la solución re-circulante de un cultivo de melón hidropónico (Fig. 2). El resto del lixiviado (500 ml) fue almacenado a $4-8\text{ }^{\circ}\text{C}$ e incorporado gradualmente a la solución re-circulante, a razón de 100 ml cada 4 días. Como control negativo, se utilizó un cultivo de melón hidropónico al cual no se le añadió lixiviado. Diez días después de la última aplicación del lixiviado, se colectaron muestras de 1.5 ml de la solución re-circulante, las cuales fueron centrifugadas a 10000 rpm durante 15 minutos, descartando seguidamente nueve partes del sobrenadante. Posteriormente, se procedió a extraer el ADN total de la suspensión resultante (conteniendo un rango de 1×10^5 a 1×10^6 zoosporas/ml), así como de las raíces de las plantas de melón del cultivo hidropónico, bajo las mismas condiciones descritas previamente. Adicionalmente, las raíces de las plantas fueron observadas al microscopio para determinar la presencia de esporas de resistencia de *Olpidium* spp.

Diseño de cebadores

Se diseñaron cebadores específicos para las tres especies de *Olpidium* analizadas en

este estudio. Para ello, las secuencias correspondientes a la región rDNA-ITS de *O. bornovanus* (Nos. de accesoión de GenBank AB205214-AB205215), *O. brassicae* (Nos. de accesoión de GenBank AB205209 a AB205213), y *O. virulentus* (Nos. de accesoión de GenBank AB205203 a AB205208), publicadas previamente por SASAYA y KOGANEZAWA (2006) y en la base de datos del Centro Nacional para la Información Biotecnológica (NCBI), fueron alineadas con ayuda del programa CLUSTAL X versión 1.83 (JEANMOUGIN *et al.*, 1998). Dichas secuencias fueron analizadas con ayuda del software OLIGO versión 4.0 (National Bioscience Inc., Plymouth, MA), obteniendo tres parejas de cebadores: un cebador reverso común para las tres especies de *Olpidium* y tres cebadores directos específicos para cada una de estas especies (Cuadro 1).

Amplificación mediante multiplex PCR

Para confirmar la identificación morfológica de *Olpidium* spp., los extractos de raíces y agua fueron analizados mediante multiplex PCR. Las concentraciones finales de cada reactivo en la reacción fueron las siguientes: 1x tampón PCR (conteniendo 2 mM MgCl²), 0.4 mM dNTP mix, 1x PVP-40, 1x mezcla de ce-

badores (a una concentración final de 0.2 mM cada cebador), 5 unidades de NETZYME® ADN polimerasa (NEED SL, Valencia, España), aproximadamente 0.01-0.05 mg µl⁻¹ de extractos de ADN total, y agua PCR esterilizada hasta alcanzar un volumen de 50 µl. El ADN de *Olpidium* spp. fue amplificado con ayuda de un termociclador Mastercycler personal 5332 (Eppendorf, Alemania), el cual fue programado para llevar a cabo un ciclo inicial de desnaturalización a 94 °C durante 5 minutos, seguido por 35 ciclos de desnaturalización a 94 °C durante 45 segundos, hibridación a 55 °C durante 1 minuto, y extensión a 72 °C durante 1 minuto. Adicionalmente, se llevó a cabo un ciclo de extensión final a 72 °C durante 10 minutos, este último con la finalidad de sintetizar todos los fragmentos que posiblemente quedaron incompletos, seguido de un paso de enfriamiento a 10 °C hasta que las muestras fueron recuperadas. Como controles negativos, se utilizaron extractos de ADN de raíces de distintas especies de plantas hospederas, las cuales se encontraban libres de *Olpidium* spp., así como micelio de diferentes hongos de suelo y agua PCR, los cuales fueron analizados bajo las mismas condiciones descritas anteriormente. Los productos amplificados mediante multiplex PCR (5 µl), fueron sometidos a electro-

Cuadro 1. Secuencias de nucleótidos de cebadores específicos de *O. bornovanus*, *O. virulentus*, y *O. brassicae*, diseñados a partir de secuencias de la región rDNA-ITS

Especie	Nombre del cebador	Secuencia de nucleótidos (5'-3')	Localización en la secuencia (nt)	Tamaño esperado del fragmento (pb)	No. de accesoión GenBank
<i>O. bornovanus</i>	OLPborF ^a	CCGAGGAAATGAGAGAGATGACA	160-1137	977	AB205215
	OLPR ^b	TCCTCCGCTTATTGATATGCTTA			
<i>O. virulentus</i>	OLPvirF ^a	AACCCAAGACCTGCCCAAAAAG	53-632	579	AB205208
	OLPR	TCCTCCGCTTATTGATATGCTTA			
<i>O. brassicae</i>	OLPbraF ^a	AGCTATAGCTCACCTCTTT	396-600	204	AB205213
	OLPR	TCCTCCGCTTATTGATATGCTTA			

^aCebadores directos específicos de cada una de las especies de *Olpidium*

^bCebador reverso común

foresis en un gel de agarosa al 1.2% en tampón TAE 1x (40 mM Tris-acetato, 1 mM de EDTA pH 8.0) a 100 voltios durante aproximadamente 1 hora, y los mismos fueron teñidos posteriormente con bromuro de etidio (0.2 µg ml⁻¹). El tamaño de los fragmentos amplificados fue determinado mediante comparación con un marcador de peso molecular de 100 pb Gene Ruler® DNA Ladder Plus (MBI Fermentas, Vilna, Lituania).

Determinación de la concentración de ADN

La concentración de ADN espectrofotométrica fue estimada a partir de extractos de raíces de plantas infectadas de forma individual con *O. bornovanus*, *O. brassicae*, y *O. virulentus*. Dicha estimación fue realizada de esta forma debido a que la unidad de muestreo está conformada por la raíz más el hongo, ya que *Olpidium* spp. no puede ser cultivado en medios sintéticos (GERIK, 1992). Adicionalmente, se estimó la concentración de ADN a partir de extractos de zoosporas, con la finalidad de obtener una medición más exacta del ADN fúngico.

Secuenciación y análisis

Para confirmar la identidad de *O. bornovanus*, *O. brassicae*, y *O. virulentus*, se purificaron dos productos de PCR para cada una de estas especies, con ayuda del High Pure PCR Product Purificación Kit (Roche Diagnostics, Mannheim, Alemania), y los mismos fueron secuenciados directamente con los cebadores directos específicos de cada especie, con ayuda del Big Dye Terminator versión 3.1 Cycle Sequencing Kit, en un analizador genético (secuenciador) 3100 (Applied Biosystems, Foster City, CA). Las secuencias de nucleótidos obtenidas fueron comparadas con el Instrumento de Búsqueda de Alineamientos Locales Básicos (BLAST) (ALTSCHUL *et al.*, 1997), con secuencias de *Olpidium* spp. disponibles en la base de datos del NCBI. La variación de las secuencias de ADN entre las tres especies de *Olpidium* y dentro de una sola especie fue calculada con el programa DNAMAN versión 4.02 Lynnon Biosoft© 1994-98 (Institute of Plant Patho-

logy, BBA, Alemania). Las secuencias de *O. bornovanus*, *O. brassicae*, y *O. virulentus* obtenidas en este trabajo fueron depositadas en la base de datos de la NCBI bajo los números de acceso EU934039/EU937731, EU981906/EU981907, EU981901/EU981902, respectivamente.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Identificación morfológica de *Olpidium* spp.

La identificación morfológica de *Olpidium* spp. fue realizada mediante microscopía (Cuadro 2), determinando su presencia en 52 plantas (39.4%). A lo anterior, basado en la morfología de las esporas de resistencia, *O. bornovanus* (Fig. 3A) y *O. brassicae* sl (Fig. 3B) fueron observados en 27 (20.5%) y 25 (18.9%) de estas plantas, respectivamente (Cuadro 2). Cabe destacar en este sentido, que las esporas de resistencia estrelladas fueron referidas a *O. brassicae* sl, debido a que *O. brassicae* no puede ser distinguido de *O. virulentus* mediante esta característica morfológica (KOGANEZAWA *et al.*, 2005). Por otro lado, se observó una infección mixta, *O. bornovanus*/*O. brassicae* sl (Cuadro 2) en 4 plantas (3.0%), siendo éste el primer reporte de dicha situación, según la literatura consultada. Adicionalmente, en 49 muestras (37.1%) solamente se observaron zoosporangios de *Olpidium* spp. (Fig. 4). Por lo tanto, debido a que los zoosporangios de *O. bornovanus* son similares a los de *O. brassicae* sl (HERRERA-VÁSQUEZ *et al.*, 2007), en dichas muestras no fue posible la identificación hasta el nivel de especie (Cuadro 2), debido a la ausencia de las esporas de resistencia, las cuales no siempre son observadas en las raíces examinadas (KOGANEZAWA *et al.*, 2005). Por consiguiente, la identificación morfológica de *Olpidium* spp. no siempre es posible (HERRERA-VÁSQUEZ *et al.*, 2007), debido a que la característica más importante para diferenciar estas especies es la morfología de las esporas de resistencia (CAMPBELL y SIM, 1994), como

Cuadro 2. Identificación morfológica y molecular de *Olpidium* spp

Huésped original	País	Plantas trampa ^a	Identificación morfológica mediante observación microscópica				Detección molecular mediante multiplex PCR				
			<i>O. bor</i> ^b	<i>O. bra</i> sl ^c	<i>O. bor/O. bra</i> sl ^d	<i>Olpidium</i> spp. ^e	<i>O. bor</i> ^f	<i>O. vir</i> ^g	<i>O. bra</i> ^h	<i>O. bor/O. vir</i> ⁱ	
Pepino	España	3	3	0	0	0	3	0	0	0	
	Brasil	4	0	0	0	3	3	0	0	0	
	Guatemala	15	3	0	0	11	13	1	0	1	
	Honduras	8	4	1	1	2	6	1	0	1	
	México	5	0	1	0	5	4	2	0	1	
Melón	Panamá	11	8	0	0	1	9	0	0	0	
	España	28	6	3	2	6	12	3	0	2	
	Túnez	2	0	2	0	2	2	2	0	2	
	Uruguay	1	0	1	0	1	1	1	0	1	
Sandía	USA	2	0	0	0	2	2	0	0	0	
	Guatemala	3	0	0	0	2	2	0	0	0	
	Honduras	3	0	0	0	2	2	0	0	0	
	México	2	0	0	0	2	2	0	0	0	
Calabacín	España	10	2	2	1	6	8	2	0	1	
	España	2	1	0	0	0	1	0	0	0	
	Brócoli	España	1	0	1	0	0	0	0	1	0
	Portugal	2	0	2	0	0	0	0	2	0	
Col	España	4	0	1	0	2	0	0	3	0	
	Holanda	1	0	0	0	0	0	0	0	0	
Escarola	España	3	0	0	0	0	0	0	0	0	
Lechuga	Portugal	1	0	1	0	0	0	1	0	0	
	España	7	0	4	0	1	0	5	0	0	
Tomate	Portugal	1	0	1	0	0	0	1	0	0	
	España	13	0	5	0	1	0	6	0	0	
Total		132	27	25	4	49	70	25	6	9	

^aLas plantas trampa corresponden a la misma especie que el huésped original (huésped homólogo). El número de plantas analizadas corresponden al número de muestras de suelo recogidas en campo

^bMuestras de raíces con esporas de resistencia de *Olpidium bornovanus*

^cMuestras de raíces con esporas de resistencia de *Olpidium brassicae* sl.

^dMuestras de raíces con esporas de resistencia de *O. bornovanus* y *O. brassicae* sl.

^eMuestras de raíces con zoosporangios de *Olpidium* spp.

^fMuestras de raíces positivas a *O. bornovanus*

^gMuestras de raíces positivas a *Olpidium virulentus*

^hMuestras de raíces positivas a *O. brassicae*

ⁱMuestras de raíces positivas a *O. bornovanus* y *O. virulentus*

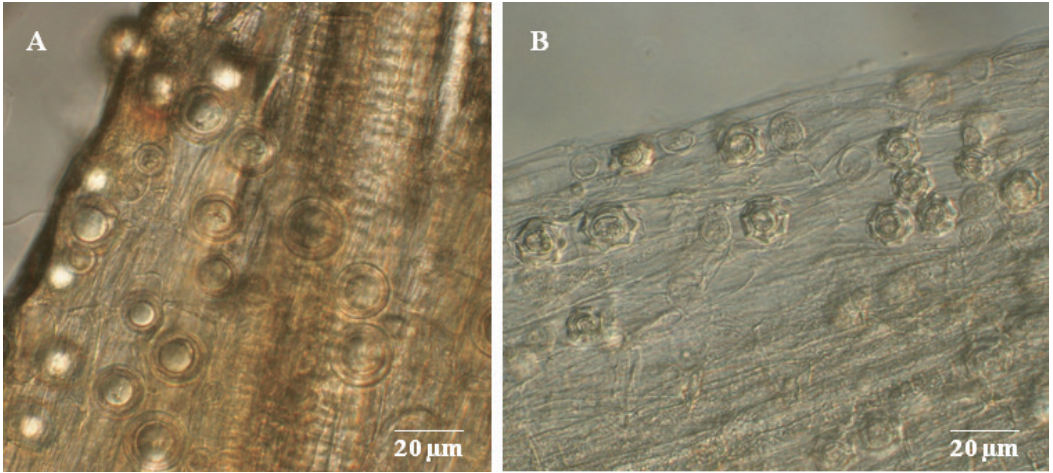


Figura 3. Esporas de resistencia: (A) *Olpidium bornovanus*, (B) *Olpidium brassicae* s.l. Observación 40x

indicamos previamente. No obstante, la identificación morfológica de *Olpidium* spp. resulta tediosa y debe ser realizada por personal cualificado (JIANG y HIRUKI, 1996).

Detección molecular de *Olpidium* spp. en muestras de raíces

Olpidium spp., como hemos indicado en repetidas ocasiones, juega un papel importan-

te como vector de diferentes virus de plantas (ROCHON *et al.*, 2004; SASAYA y KOGANEZAWA, 2006), por lo tanto, resulta necesario disponer de un método de detección específico y sensible que permita la identificación de este hongo. Es importante indicar, en este sentido, que la distribución de *Olpidium* spp. en las raíces de las plantas es al azar, por consiguiente se deben coleccionar varias raicillas del sistema ra-

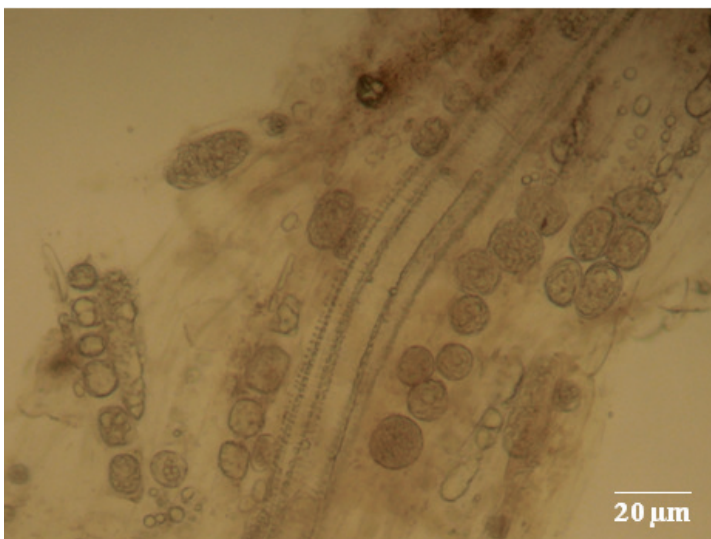


Figura 4. Zoosporangios de *Olpidium* spp. Observación 40x

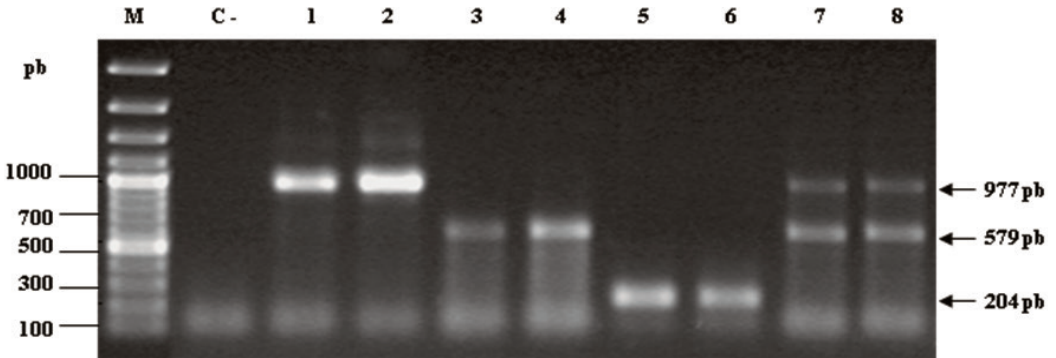


Figura 5. ADN de *Ovipodium* spp. amplificados mediante multiplex PCR a partir de raíces de plantas trampa. Líneas 1-2, *O. bornovanus*; 3-4, *O. virulentus*; 5-6, *O. brassicae*; 7-8, Infección mixta *O. bornovanus/O. virulentus*; C-, Control negativo (agua estéril); M, Marcador de peso molecular de 100 pb Gene Ruler® DNA Ladder Plus (MBI Fermentas, Vilna, Lituania)

dicular de las plantas para aumentar la probabilidad de recogida de este tipo de hongos en dichas raíces.

En este trabajo se desarrollaron dos procedimientos de extracción de ADN a partir de raíces y zoosporas, y ambos fueron usados en la detección de *Ovipodium* spp. mediante multiplex PCR en todas las muestras analizadas. En general, se detectaron tres especies de *Ovipodium* en 101 plantas (76.5%), independientemente del procedimiento de extracción usado, *O. bornovanus*, *O. virulentus*, y *O. brassicae*, los cuales fueron detectados individualmente en 70 (53.0%), 25 (18.9%) y 6 (4.5%) plantas, respectivamente (Cuadro 2). Adicionalmente, se detectó un infección mixta, *O. bornovanus/O. virulentus*, en 9 plantas (6.8%) (Fig. 5, Cuadro 2). Por otro lado, las muestras identificadas como *Ovipodium* spp. mediante microscopía, fueron identificadas hasta el nivel de especie mediante multiplex PCR (Cuadro 2). Aunque la técnica multiplex PCR ha sido utilizada previamente para la detección de diferentes especies de hongos, entre ellos, *Monilinia* y *Monilia* en manzana (CÔTÉ *et al.*, 2004), *Eutypa lata* y *Eutypella vitis* en vid (CATAL *et al.*, 2007), y *Polymyxa graminis* f. sp. *temperata* y *P. graminis* f. sp. *tepidi* en cebada y trigo (VÁIANOPOULOS *et al.*, 2007), hay que hacer notar, que en el caso de

Ovipodium spp., este es el primer reporte de la detección de este hongo mediante dicho método de diagnóstico.

El ADN de *Ovipodium* spp. fue amplificado con éxito en ambos procedimientos de extracción, como indicamos previamente. Sin embargo, las bandas obtenidas a partir de las suspensiones de zoosporas presentaron una débil intensidad en comparación con las obtenidas a partir de raíces, ya que en este tejido además de zoosporas podrían estar presentes zoosporangios y esporas de resistencia. Por lo tanto, utilizando este último procedimiento, la concentración de ADN de *Ovipodium* spp. resulta ser mayor que el de las zoosporas. Además, el método de extracción a partir de raíces es más sencillo y usualmente se obtienen bandas de mayor intensidad tras la multiplex PCR.

En relación al huésped, *O. bornovanus* fue detectado exclusivamente en cucurbitáceas procedentes de todas las regiones geográficas estudiadas. Por el contrario, *O. virulentus* fue detectado en algunas cucurbitáceas (melón y sandía), así como en lechuga y tomate provenientes de la mayoría de los países incluidos en este estudio. Sin embargo, *O. brassicae* presentó una distribución más restringida en comparación a *O. bornovanus* y *O. virulentus*, y solamente se detectó en brócoli y col procedentes de Portugal y España. En el caso de la

escarola, la cual procedía de España, todas las muestras analizadas resultaron negativas a la infección por *Olpidium* spp. (Cuadro 2).

Por todo lo anterior, el método multiplex PCR desarrollado en este trabajo permite la detección simultánea y diferenciación de *Olpidium* spp., así como la determinación de infecciones naturales mixtas de *O. bornovanus* y *O. virulentus*, que son infecciones no descritas previamente para este tipo de hongos. Adicionalmente, mediante dicho método fue posible la identificación de *Olpidium* hasta el nivel de especie, incluso cuando las esporas de resistencia no fueron observadas.

Detección de *Olpidium* spp. en muestras de agua

Para determinar la efectividad de la multiplex PCR en agua, se analizaron muestras procedentes de un cultivo de melón hidropónico, al cual se le había añadido previamente, para su infección, lixiviado de suelo de un cultivo de melón al aire libre con una historia previa de *Olpidium* spp. En dichas muestras de agua solamente se detectó *O. bornovanus*, así como también se detectó este hongo en las raíces de las plantas de melón del cultivo

hidropónico, las cuales también fueron analizadas mediante multiplex PCR (Fig. 6). No se observaron bandas en el control negativo. Adicionalmente, dichas raíces fueron examinadas mediante microscopía y en las mismas solamente se observó esporas de resistencia de *O. bornovanus*. En este sentido, GÓMEZ y VELASCO (1991) identificaron a *O. bornovanus*, mediante la observación microscópica de raíces procedentes de plantas de melón de Almería (España), las cuales habían sido regadas previamente con agua proveniente de embalses destinados al riego de cultivos de cucurbitáceas. Sin embargo, en este trabajo se reporta por primera vez la detección de este hongo directamente en muestras de agua.

Especificidad de la multiplex PCR

La especificidad de la multiplex PCR fue determinada mediante la amplificación de un solo fragmento, en el caso de las raíces infectadas con una única especie de *Olpidium*, en comparación con la amplificación de varios fragmentos, en el caso de infecciones mixtas naturales y artificiales, utilizando en la mezcla de reacción de la multiplex PCR todos los cebadores de *Olpidium* spp. descritos

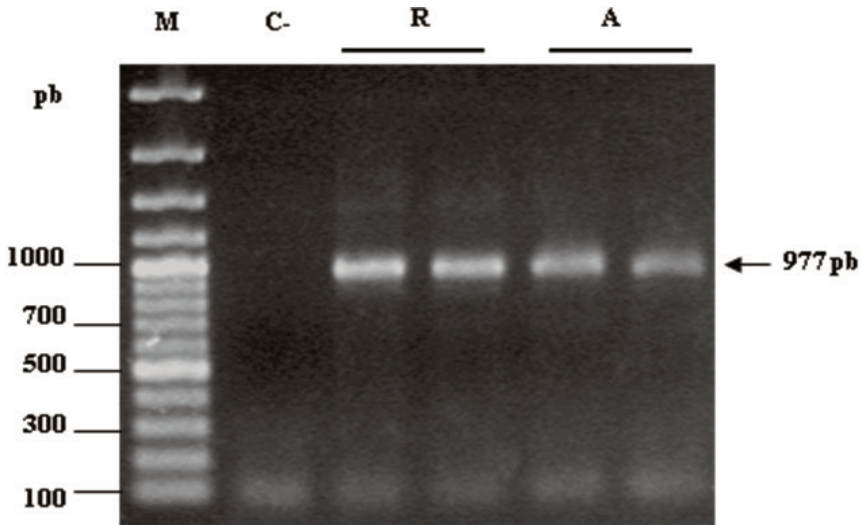


Figura 6. ADN de *O. bornovanus* amplificados mediante multiplex PCR a partir de muestras de raíces (R) y agua (A) de un cultivo de melón hidropónico; C-, Control negativo (agua estéril); M, Marcador de peso molecular de 100 pb Gene Ruler® DNA Ladder Plus (MBI Fermentas, Vilna, Lituania)

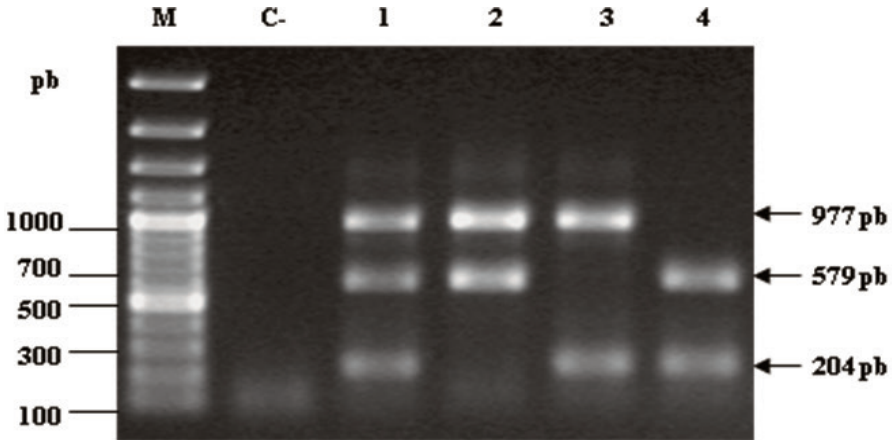


Figura 7. Especificidad de la multiplex PCR. ADN de *Olpidium* spp. amplificados a partir de infecciones artificiales mixtas procedentes de extractos de raíces infectados individualmente con cada especie de *Olpidium*. Línea 1, Infección triple *O. bornovanus*/*O. virulentus*/*O. brassicae*; 2, Infección doble *O. bornovanus*/*O. virulentus*; 3, Infección doble *O. bornovanus*/*O. brassicae*; 4, Infección doble *O. virulentus*/*O. brassicae*; C-, Control negativo (agua estéril); M, Marcador de peso molecular de 100 pb Gene Ruler® DNA Ladder Plus (MBI Fermentas, Vilna, Lituania)

anteriormente. En este sentido, se observaron cuatro patrones de bandas diferentes a partir de las combinaciones realizadas de los extractos infectados (Fig. 7). En el primer caso, se observaron tres bandas de 977, 579 y 204 pb, correspondientes a *O. bornovanus*, *O. virulentus* y *O. brassicae*, respectivamente, y dicho patrón de bandas fue obtenido tras mezclar el ADN de las tres especies de *Olpidium* (Fig. 7). En el segundo, tercero y cuarto caso, se observaron dos bandas específicas, y dicho patrón fue obtenido luego de mezclar el ADN de dos especies de *Olpidium*, en diferentes combinaciones (Fig. 7). Estos resultados fueron comprobados mediante secuenciación de ADN, tal y como se describe posteriormente. Adicionalmente, para determinar si dichos cebadores eran específicos de *Olpidium* spp., se analizaron otros hongos que usualmente están presentes en las raíces de las plantas de campo y en el agua de los cultivos hidropónicos. En este sentido, solamente *Olpidium* spp. fue identificado con estos cebadores en las muestras analizadas, independientemente de la planta hospedera y el origen geográfico estudiado. Por lo tanto, los cebadores diseñados en este trabajo permitieron identificar y

diferenciar la población mundial de *O. bornovanus*, *O. virulentus*, y *O. brassicae*. Sin embargo, es importante indicar que en este trabajo solamente se consideraron las tres especies de *Olpidium* conocidas como vectores de virus de plantas (ROCHON *et al.*, 2004; SASAYA y KOGANEZAWA, 2006).

Sensibilidad de la multiplex PCR

La sensibilidad de la multiplex PCR a partir de infecciones mixtas artificiales de *O. bornovanus*/*O. virulentus*/*O. brassicae*, fue analizada para determinar si la presencia de un coctel de cebadores en la mezcla de reacción de la multiplex PCR podría afectar el límite de detección de *Olpidium* spp.. Para ello, se estimó la concentración de ADN total a partir de los extractos indicados anteriormente, cuantificando por igual aproximadamente 0.137 $\mu\text{g } \mu\text{l}^{-1}$ de cada extracto infectado, y determinando la cantidad mínima de ADN total (raíz + hongo) necesaria para producir una banda visible tras la multiplex PCR. Posteriormente, estos extractos fueron mezclados por igual en un único tubo de 1.5 ml y, a continuación, se realizaron diluciones seriadas de 1/5 en agua estéril, las cuales fueron analizadas mediante

multiplex PCR, bajo las mismas condiciones descritas anteriormente. En total, se evaluaron doce diluciones seriadas de esta mezcla, observándose *O. bornovanus* y *O. brassicae* hasta la dilución 5^{-9} (aproximadamente $7.0 \times 10^{-8} \mu\text{g } \mu\text{l}^{-1}$ de ADN total). Sin embargo, en el caso de *O. virulentus*, éste fue observado hasta la dilución 5^{-6} (aproximadamente $8.8 \times 10^{-6} \mu\text{g } \mu\text{l}^{-1}$ de ADN total) (Fig. 8A). Adicionalmente, se estimó la concentración de ADN a partir de las suspensiones de zoosporas, para determinar la cantidad mínima de ADN necesaria para producir una banda visible tras la multiplex PCR. En este sentido, se cuantificó aproximadamente $0.137 \mu\text{g } \mu\text{l}^{-1}$ de las suspensiones de zoosporas, bajo las mismas condiciones descritas anteriormente. En este sentido, *O. bornovanus* fue observado hasta la dilución 5^{-2} (aproximadamente $5.5 \times 10^{-3} \mu\text{g } \mu\text{l}^{-1}$ de ADN de zoosporas). No obstante, *O. virulentus* y *O. brassicae* fueron observados hasta la dilución 5^{-1} (aproximadamente $2.7 \times 10^{-2} \mu\text{g } \mu\text{l}^{-1}$ de ADN de zoosporas) (Fig. 8B).

La sensibilidad de la multiplex PCR resultó difícil de determinar debido a que *Olpidium* spp. es un parásito obligado de las raíces de las plantas y, por lo tanto, probablemente no es posible determinar la concentración de ADN exacta para este tipo de hongos (JIANG y HIRUKI, 1996). En este sentido, el límite de detección de *Olpidium* spp. fue mayor al analizar las raíces infectadas con el hongo, al contrario que el análisis realizado directamente a las suspensiones de zoosporas, debido a que en las raíces además están presentes zoosporangios y esporas de resistencia, como indicamos anteriormente. En ambos casos, el límite de detección fue diferente para las tres especies de *Olpidium* spp. analizadas, debido probablemente a que la concentración de ADN es variable en este tipo de hongos, por las razones descritas previamente. Por otro lado, JIANG y HIRUKI (1996) indican que el ADN obtenido a partir de las suspensiones de zoosporas podría resultar contaminado con restos de tejido de las raíces del huésped (fragmentos de células epidérmicas). Por lo tanto, la concentración de ADN a partir de las suspensiones de zoosporas proba-

blemente no es muy precisa. En este sentido, Campbell (1988) indica que la cantidad exacta de zoosporas de *Olpidium* resulta muy difícil de determinar y, por lo tanto, la mayoría de los autores utilizan un rango para estimar el número de zoosporas en una suspensión (TOMLINSON y FAITHFULL, 1979; TOMLINSON y THOMAS, 1986; KOGANEZAWA *et al.*, 2005).

Análisis de secuencias de *Olpidium* spp.

Las secuencias de *Olpidium* spp. obtenidas en este estudio fueron comparadas con secuencias publicadas en la base de datos del NCBI. En todos los casos, las secuencias de ADN obtenidas fueron las esperadas. En este sentido, la homología a nivel de secuencia de nucleótidos entre aislados de *O. bornovanus*, *O. brassicae* y *O. virulentus* fue de 97.3%, 99.4% y 99.8% en la zona del genoma estudiada (rDNA-ITS), respectivamente, mientras que la homología entre *O. virulentus* y *O. brassicae* estuvo en el rango de 81.7-82.3%. No obstante, la homología de secuencias entre estas dos especies y *O. bornovanus* estuvo en el rango de 50.0%-50.6% y 39.1%-42.3%, respectivamente. Por otro lado, *Olpidium* spp. identificado mediante microscopía en muestras de melón y col (Cuadro 2), fue detectado hasta el nivel de especie mediante multiplex PCR, como *O. bornovanus* y *O. brassicae*, respectivamente. Ambas muestras presentaron una similitud de secuencia de 100% con *O. bornovanus* (No. de accesoión de GenBank EU934039) y *O. brassicae* (No. de accesoión de GenBank EU981906) (secuencias obtenidas en este trabajo), respectivamente. Por lo tanto, dichas secuencias no fueron depositadas en la base de datos del NCBI.

Los métodos permiten tres propuestas relevantes: El método multiplex PCR desarrollado en este trabajo resultó ser específico y sensible a las especies de *Olpidium* analizadas en este estudio, y representa un avance significativo en el diagnóstico rutinario de *Olpidium* spp. en muestras de raíces y agua, debido a que antiguamente solamente se realizaba la identificación de este hongo mediante

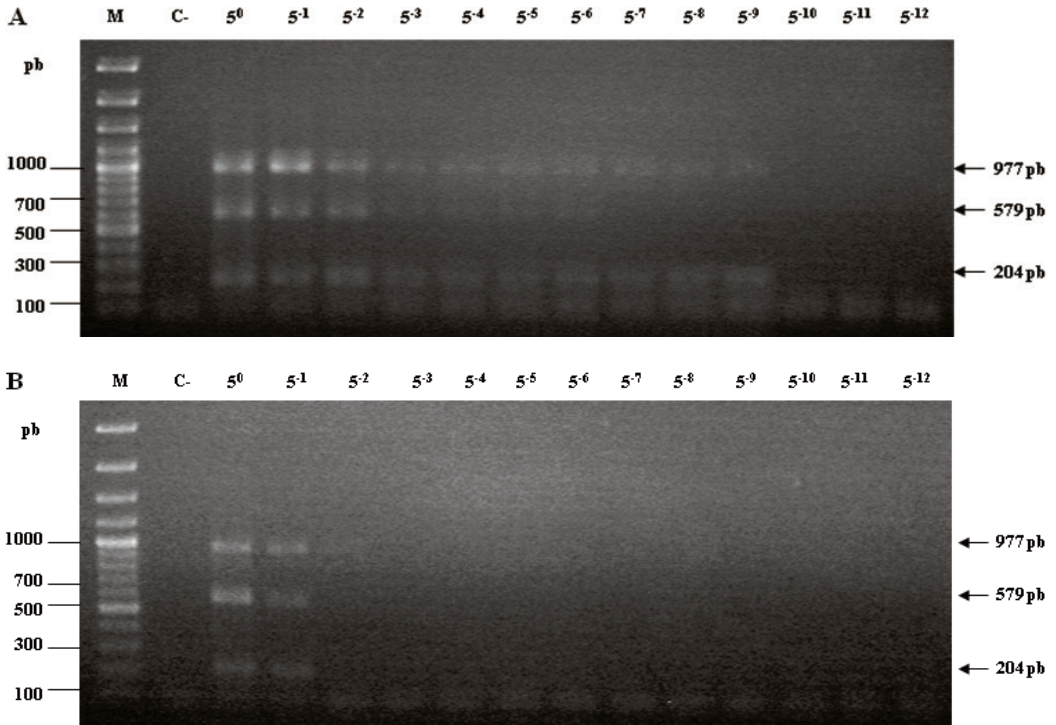


Figura 8. Sensibilidad de la multiplex PCR. ADN de *Olpidium* spp. amplificados a partir de infecciones artificiales mixtas procedentes de: (A) extractos de raíces y (B) extractos de zoosporas infectados individualmente con cada especie de *Olpidium*. Línea 5⁰, aproximadamente 0.137 $\mu\text{g } \mu\text{l}^{-1}$ de: (A) ADN total (raíz + hongo) y (B) ADN de zoosporas; En ambas figuras, 5¹ a 5¹² se refieren a diluciones seriadas a partir de 5⁰; C-, Control negativo (agua estéril); Las bandas de 977, 579, y 204 pb corresponden a

O. bornovanus, *O. virulentus*, y *O. brassicae*, respectivamente; M, Marcador de peso molecular de 100 pb Gene Ruler® DNA Ladder Plus (MBI Fermentas, Vilna, Lituania).

morfología, pero este último método, además de resultar tedioso, ofrecía la posibilidad de realizar un diagnóstico incorrecto.

El método múltiple PCR, combinado con un rápido y fácil procedimiento de extracción de ADN, podría permitir el análisis rutinario y fiable de un mayor número de muestras para determinar la presencia de *Olpidium* spp., que muchas veces no es posible mediante los métodos convencionales.

El método multiplex PCR permite identificar infecciones simples y múltiples de *Olpidium* spp. en cultivos al aire libre y en cultivos hidropónicos, por lo tanto, este método de diagnóstico podría ser utilizado para determinar el rango y especificidad de hués-

pedes, así como la transmisibilidad de virus por este tipo de hongos.

AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo fue posible gracias a la concesión de una beca predoctoral de la Agencia Española de Cooperación Internacional para el Desarrollo (AECID, España, periodo 2004-2007) y del Instituto para la Formación y Aprovechamiento de Recursos Humanos y la Secretaría Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación (IFARHU-SENACYT, Panamá, período 2007-2010) otorgada a José Angel Herrera Vásquez. Agradecemos también a

la Dirección Nacional de Sanidad Vegetal del Ministerio de Desarrollo Agropecuario (DNSV-MIDA, Panamá) por el apoyo vehicular parcial para la realización de los muestreos en cultivos de cucurbitáceas de Panamá. Igualmente, agradecemos a la Dra. M. L. Herrero (Bioforsk, División de Sanidad Vegetal y Protección Fitosanitaria, Noruega) y al Dr. J.C. Tello (Departamento de Producción Vegetal de

la Universidad de Almería, España) por proporcionar los aislados fúngicos utilizados para determinar la especificidad de la multiplex PCR, y al Dr. R. Beltrán por proporcionar las muestras de suelo procedentes de Brasil. Este trabajo fue realizado como parte del Proyecto AGL 2005-06682-C03-01 de la Comisión Interministerial de Ciencia y Tecnología (CI-CYT), España.

ABSTRACT

HERRERA VÁSQUEZ, J. A., M. C. CEBRIÁN, A. A. FERNÁNDEZ, M. C. CÓRDOBA SELLÉS, C. JORDÁ. 2012. Morphological and molecular identification and differentiation of *Olpidium* spp. *Bol. San. Veg. Plagas*, **38**: 371-386

A multiplex PCR method has been developed to detect, differentiate, and confirm the morphological identification of three root infecting *Olpidium* spp.: *O. bornovanus*, *O. brassicae*, and *O. virulentus*. Of the 132 root samples examined, 101 samples (76.5%) were infected by *Olpidium* spp.. Based on the morphology of resting spores, the presence of *O. bornovanus* was confirmed in 27 samples (20.5%), whereas species identity could not be determined for the remaining samples because they failed to reproduce sexually. With multiplex PCR, it was possible to determine the *Olpidium* identity of all the infected samples, even when resting spores were not formed. This method was also effective for detecting *Olpidium* spp. in water samples. In addition, the specificity and sensitivity of multiplex PCR were evaluated. The multiplex PCR method was validated with samples of 9 different crops from 11 countries of America, Europe, and Africa.

Keywords: diagnosis, specificity, sensitivity.

REFERENCIAS

- ALTSCHUL, S.F., MADDEN, T.L., SCHAFFER, A.A., ZHANG, J., ZHANG, Z., MILLER, W., LIPMAN, D.J. 1997. Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. *Nucleic Acids Research*, **25**: 3389-3402.
- CAMPBELL, R.N. 1988. Cultural characteristics and manipulative methods. In: Cooper, J.I., Asher, M.J.C. (eds), *Viruses with Fungal Vectors*. Association of Applied Biologists, Wellesbourne, U.K, pp. 153-165.
- CAMPBELL, R.N., SIM, S.T. 1994. Host specificity and nomenclature of *Olpidium bornovanus* (= *Olpidium radicale*) and comparisons to *Olpidium brassicae*. *Canadian Journal of Botany*, **72**: 1136-1143.
- CATAL, M., JORDAN, S.A., BUTTERWORTH, S.C., SCHILDER, A.M.C. 2007. Detection of *Eutypa lata* and *Eutypella vitis* in grapevine by nested multiplex polymerase chain reaction. *Phytopathology*, **97**: 737-747.
- CÔTÉ, M.J., TARDIF, M.C., MELDRUM, A.J. 2004. Identification of *Monilinia fructigena*, *M. fructicola*, *M. laxa*, and *Monilia polystroma* on inoculated and naturally infected fruit using multiplex PCR. *Plant Disease*, **88**: 1219-1225.
- CROUS, P.W., HONG, L., WINGFIELD, B.D., WINGFIELD, M.J. 2001. ITS rDNA phylogeny of selected *Mycosphaerella* species and their anamorphs occurring on *Myrtaceae*. *Mycological Research*, **105**: 425-431.
- CUBETA, M.A., ECHARDI, E., ABERNETHY, T., VILGALYS, R. 1991. Characterization of anastomosis groups of binucleate *Rhizoctonia* species using restriction analysis of an amplified ribosomal RNA gene. *Phytopathology*, **81**: 1395-1400.
- DUNNE, C.P., GLEN, M., TOMMERUP, I.C., SHEARER, B.L., HARDY, G.E. 2002. Sequence variation in the rDNA ITS of Australian *Armillaria* species and intra-specific variation in *A. luteobubalina*. *Australian Plant Pathology*, **31**: 241-251.
- GERIK, J.S. 1992. Zoosporic obligate parasites of roots. In: Singleton, L.L., Mihail, J.D., Rush, C.M. (eds), *Methods for Research on Soilborne Phytopathogen-*

- ic Fungi. American Phytopathological Society Press, St. Paul, MN, pp. 18-24.
- GÓMEZ, J., VELASCO, V. 1991. Presencia de *Olpidium radiale* en los embalses para riego en Almería. *Phytoma-Spain*, **33**: 23-27.
- HERRERA-VÁSQUEZ, J.A., CEBRIÁN, M.C., ALFARO-FERNÁNDEZ, A., JORDÁ, C. 2007. Molecular variability of different isolates of *Olpidium bornovanus*. In: XIII International Congress on Molecular Plant-Microbe Interactions, Sorrento, Italy, p. 275.
- HIRUKI, C. 1987. Recovery and identification of *Tobacco stunt virus* from air-dried resting spores of *Olpidium brassicae*. *Plant Pathology*, **36**: 224-228.
- JEANMOUGIN, F., THOMPSON, J.D., GIBSON, T.J.M., GOUY, M., HIGGINS, G. 1998. Multiple sequence alignment with ClustalX. *Trends in Biochemical Sciences*, **23**: 403-405.
- JIANG, L., HIRUKI, C. 1996. Polymerase chain reaction amplification and restriction analysis of the ribosomal DNA of *Olpidium radiale* isolates. *Journal of Microbiological Methods*, **26**: 87-93.
- JORDÁ, C., ARMENGOL, J., GISBERT, J., OSCA, J.M., LACASA, A., VELÁSQUEZ, B. 2002. El tratamiento con microondas para la desinfección de suelos. *Phytoma-Spain*, **138**: 118-121.
- KOGANEZAWA, H., INOUE, H., SASAYA, T. 2005. Host specificity and multiplication of eight isolates of *Olpidium brassicae sensu lato* and its related *Olpidium* sp. *Bulletin of the National Agricultural Research Center for Western Region*, **4**: 39-59.
- KULARATNE, H.A.G.C., LAWRIE, A.C., BARBER, P.A., KEANE, P.J. 2004. A specific primer PCR and RFLP assay for the rapid detection and differentiation in planta of some *Mycosphaerella* species associated with foliar diseases of *Eucalyptus globulus*. *Mycological Research*, **108**: 1476-1493.
- LANGE, L., INSUNZA, V. 1977. Root-inhabiting *Olpidium* species: the *O. radiale* complex. *Transactions of the British Mycological Society*, **69**: 377-384.
- LEE, S.B., TAYLOR, J.W. 1992. Phylogeny of five fungus-like prototistan *Phytophthora* species, inferred from the internal transcribed spacer of ribosomal DNA. *Molecular Biology and Evolution*, **9**: 636-653.
- ROCHON, D.A., KAKANI, K., ROBBINS, M., READE, R. 2004. Molecular aspects of plant virus transmission by *Olpidium* and Plasmodiophorid vectors. *Annual Review of Phytopathology*, **42**: 211-241.
- SASAYA, T., KOGANEZAWA, H. 2006. Molecular analysis and virus transmission tests place *Olpidium virulentus*, a vector of *Mirafiori lettuce big-vein virus* and *Tobacco stunt virus*, as a distinct species rather than a strain of *Olpidium brassicae*. *Journal of General Plant Pathology*, **72**: 20-25.
- SREENIVASAPRASAD, S., MILLS, P.R., MEEHAN, B.M., BROWN, A.E. 1996. Phylogeny and systematics of 18 *Colletotrichum* species based on ribosomal DNA spacer sequences. *Genome*, **39**: 499-512.
- TOMLINSON, J.A., FAITHFULL, E.M. 1979. Effects of fungicides and surfactants on the zoospores of *Olpidium brassicae*. *Annals of Applied Biology*, **93**: 13-19.
- TOMLINSON, J.A., THOMAS, B.J. 1986. Studies on *Melon necrotic spot virus* disease of cucumber and on the control of the fungus vector (*Olpidium radiale*). *Annals of Applied Biology*, **108**: 71-80.
- VAIANOPOULOS, C., BRAGARD, C., MOREAU, V., MARAITE, H., LEGRÈVE, A. 2007. Identification and quantification of *Polymyxa graminis* f. sp. *temperata* and *P. graminis* f. sp. *tepida* on barley and wheat. *Plant Disease*, **91**: 857-864.
- WARD, E., AKROFI, A.Y. 1994. Identification of fungi in the Gaeumannomyces-Phialophora complex by RFLPs of PCR-amplified ribosomal DNAs. *Mycological Research*, **98**: 219-224.
- WHITE, T.J., BRUNS, T., LEE, S., TAYLOR, J. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis, M.A., Gelfand, D.H., Sninsky, J.J., White, T.J. (eds), PCR Protocols: a guide to methods and applications. Academic Press, San Diego, pp. 315-322.

(Recepción: 9 abril 2012)

(Aceptación: 12 junio 2012)

Transmisión por semilla del virus de las manchas necróticas del melón (MNSV) y eficacia de tratamientos de desinfección de semilla

J. A. HERRERA VÁSQUEZ, M. C. CÓRDOBA SELLÉS, M. C. CEBRIÁN, A. A. FERNÁNDEZ, C. JORDÁ

Los índices de transmisión por semilla del virus de las manchas necróticas del melón (MNSV), fueron evaluados en plántulas procedentes de semillas comerciales de melón (*Cucumis melo* L.) cv. Galia F₁. Las plántulas en estado de cotiledón y las plantas en estado adulto fueron analizadas para el MNSV por DAS-ELISA y RT-PCR. Ninguno de los grupos de plántulas analizados resultó positivo para el MNSV por ELISA. Sin embargo, la proporción de plántulas infectadas con el MNSV por RT-PCR fue de al menos 7 y 8% en los lotes de semillas 05 y 06, respectivamente. En este sentido, 14 y 8 grupos de plántulas (10 plántulas por cada grupo), de un total de 200 y 100 plántulas, respectivamente, procedentes de semillas infectadas resultaron positivas para el MNSV en los lotes de semillas 05 y 06, respectivamente, correspondiente a índices de transmisión de semilla a plántula de 11.3 y 14.8%, respectivamente. Por otro lado, varios tratamientos de desinfección de semilla fueron evaluados por su capacidad para prevenir la transmisión por semilla del MNSV. En este sentido, los resultados obtenidos sugieren que el tratamiento de 144 h a 70 °C podría ser utilizado para erradicar el MNSV en semillas de melón sin afectar su germinación.

J. A. HERRERA VÁSQUEZ, M. C. CÓRDOBA SELLÉS, M. C. CEBRIÁN, A. A. FERNÁNDEZ, C. JORDÁ. Grupo de Virología, Instituto Agroforestal Mediterráneo (IAM), Universidad Politécnica de Valencia (UPV), Camino de Vera s/n, E-46022 Valencia, España. Dirección actual de J. A. HERRERA VÁSQUEZ: Laboratorio de Protección Vegetal (LPV), Centro de Investigación Agropecuaria Central (CIAC), Instituto de Investigación Agropecuaria de Panamá (IDIAP), Ctra. Panamericana, Los Canelos-Santa María, Herrera, Panamá, 0601 Chitré, Herrera, Panamá. Tel.: +507 9761265; fax: +507 9761349; e-mail: joshervs11@gmail.com

Palabras clave: *Carmovirus*, *Cucumis melo*, ELISA, RT-PCR, semillas.

INTRODUCCIÓN

Entre los virus transmisibles por semilla en la familia Cucurbitácea está citado el virus que nos ocupa, virus de las manchas necróticas del melón (MNSV), pero la enfermedad se extiende por su vector *Olpidium bornovanus*. Tiene importancia, sin embargo esta forma de transmisión, por constituir el inóculo primario de la enfermedad y facilitar la introducción de la misma en zonas libres del virus (JORDÁ *et al.*, 2005).

En la bibliografía podemos encontrar diferentes valores de índices de transmisión por semilla de este virus que van desde la no transmisión hasta un 20% (KISHI, 1966; GONZÁLEZ-GARZA *et al.*, 1979; YOSHIDA *et al.*, 1980; AVGELIS, 1985), aunque hay que puntualizar que la mayoría de los trabajos sobre la transmisión o no del MNSV están basados en los aspectos sintomatológicos que podrían mostrar las plántulas procedentes de semillas infectadas, sin utilizar ningún método analí-

tico de detección del virus y no teniendo en cuenta el papel que podía jugar *O. bornovanus* en la transmisión de la misma. En contraste, CAMPBELL *et al.* (1996), reportaron índices de transmisión superiores al 50% cuando estuvo presente *O. bornovanus*, utilizando la técnica serológica ELISA para la detección del MNSV. Estos autores relacionan la transmisión por la semilla a la presencia del hongo vector aplicando un método de diagnóstico no sólo visual, y proponen llamar a este tipo de transmisión como “transmisión por semilla asistida por el vector” (“vector-assisted seed transmission-VAST”). No obstante, otros autores (GÓMEZ *et al.*, 2005) alertan sobre la falta de sensibilidad del ELISA, como método de detección, para determinar la presencia del MNSV en la semilla, teniendo en cuenta que la proporción de virus en semilla es generalmente baja para la mayoría de los virus.

Los únicos métodos empleados antiguamente para evaluar la transmisión por semilla del MNSV, según hemos citado, eran la observación de síntomas y posteriormente las técnicas serológicas, un gran avance aunque insuficiente para este tipo de detección. Ante las limitaciones de estas técnicas se plantea la utilización de las técnicas moleculares (hibridación molecular y RT-PCR), ya que podrían superar la sensibilidad de estos métodos y mejorar la eficiencia en el diagnóstico (SÁNCHEZ-NAVARRO *et al.*, 1998).

En el caso de este virus, un punto importante a tomar en cuenta en su diagnóstico, es elegir la zona de la planta apropiada para realizar el análisis, ya que hemos podido comprobar que no se distribuye por igual en todas las partes de la misma. En este sentido, el virus ha sido detectado en las raíces de plántulas de melón previamente del trasplante de éstas a campo, por lo tanto, en esta etapa temprana de desarrollo las raíces parecen actuar como reservorio del MNSV, lo que indica que este virus se replica en dicho tejido y el mismo podría ser usado en su diagnóstico rutinario (GOSALVEZ *et al.*, 2003).

El uso de semilla libre de virus es una medida importante para prevenir su introducción en

las áreas de producción, así como su extensión si las condiciones ambientales son propicias y siempre en presencia del vector. Ante esta situación, diferentes tratamientos físicos y químicos han sido reportados para erradicar o reducir significativamente la incidencia de virus sin afectar la germinación de las semillas, en aquellas virosis que presentan este tipo de transmisión, basta citar como ejemplos, los tratamientos por termoterapia para erradicar el virus del mosaico del tabaco (*Tobacco mosaic virus*, TMV) (LATERROT y PÉCAUT, 1968) o el virus del mosaico del pepino dulce (*Pepino mosaic virus*, PepMV) (CÓRDOBA-SELLÉS *et al.*, 2007), ambos virus localizados en la superficie de las semillas. En el caso del MNSV, el único método citado desde antiguo para erradicar el virus de las semillas de melón era el tratamiento con ácido clorhídrico (HCL) y posterior secado de éstas durante 4 días o más (DUMAS DE VAULX, 1970). Es importante indicar en este sentido que algunas empresas de semillas utilizan tratamientos para su desinfección, sin embargo, los detalles de los protocolos de dichos tratamientos son propiedad de la empresa y, por ende, confidenciales.

Todos estos tratamientos surgen ante la necesidad del uso de semilla libre de virus como una medida importante de control, como indicamos previamente, aunque hay que hacer alusión nuevamente la dificultad que presenta la detección del MNSV en las semillas dado que suele presentar índices de transmisión tan bajos que son difícilmente detectables mediante los métodos convencionales.

Los objetivos del estudio eran estimar el porcentaje de plántula enferma a partir de semilla, comparando dos métodos de diagnóstico, ELISA y RT-PCR, y analizar diversos tratamientos, físicos y químicos, de la semilla para erradicar el virus de la misma, determinando el efecto de estos tratamientos en la germinación de la semilla de melón.

MATERIALES Y METODOS

En este estudio se utilizó una semilla de melón tipo Galia F, producida en España, por

considerarse altamente susceptible al MNSV (NAVAL-MERINO, 2005), utilizando dos lotes de semillas, uno obtenido en el año 2005 (lote 05) y el otro lote del 2006 (lote 06). De forma comparada se utilizaron dos técnicas de detección, ELISA y RT-PCR.

Transmisión del MNSV de semilla infectada a plántula

Un número elevado de semillas, 350 y 150 del lote 05 y 06, respectivamente, fueron germinadas en bandejas estériles, sobre celulosa estéril y humedecidas con agua también estéril (Figura 1). A los 15 días, se tomaron muestras de 0.1 g de las raicillas de las plántulas y luego se trasplantaron de forma individual a mace-

tas estériles con sustrato (2:1, turba:arena) así mismo estéril, colocándose en cámara climática con 60% de humedad, un fotoperiodo de 12 horas luz y otro tanto de oscuridad, a temperatura de 26°C y 18°C, respectivamente, regándose con agua estéril y guardándose medidas estrictas de sanidad y de aislamiento. Cuarenta y cinco días más tarde, se recogieron raíces de estas plantas, lavándolas cuidadosamente con agua destilada estéril para retirar los restos del sustrato y se dividieron en muestras de 0.1 g de cada planta. Se agruparon las muestras correspondientes a diez plantas, obteniéndose una muestra compuesta de 1 g, del cual se tomaba 0.5 g y 0.1 g analizándose por DAS-ELISA y RT-PCR, respectivamente.



Figura 1. Ensayo de transmisión del MNSV de semilla infectada a plántula: (A) Germinación de semillas, (B) Emergencia de plántulas.

Análisis DAS-ELISA

Para la técnica serológica se utilizó un antisuero específico del virus suministrado por BIO-RAD, siguiendo la metodología que marcaba la casa suministradora. En este sentido, muestras de 0.5 g de raíces fueron trituradas en una bolsa plástica en tampón de extracción (2% PVP en PBS-Tween, 1:20, p/v). Posteriormente, los extractos fueron filtrados a través de muselina y alícuotas de 100 µl de cada extracto fueron analizadas por duplicado por DAS-ELISA con el antisuero específico del MNSV. Se incluyó testigo positivo y ne-

gativo del virus, considerándose en la lectura del espectrofotómetro Multiskan EX Modelo 355 (Flow laboratories, Finlandia) muestra positiva aquella muestra que superara en el doble la lectura de su absorbancia (A_{405} nm) de la correspondiente al testigo negativo.

Extracción del ARN y análisis por RT-PCR

Muestras de 0.1 g de raíces se trituraron utilizando nitrógeno líquido y se extrajeron los ARN totales utilizando un kit de extracción, RNAwiz™ (Ambion), siguiendo las instrucciones del producto suministrado. La

RT-PCR se realizó en un solo paso usando SuperScript™ II RT con Platinum®Taq kit (Invitrogen Life Technologies) y cebadores específicos del MNSV, MNSV1 (5'-GGA-GGCAACATTCGTACA-3') y MNSV2 (5'-AGAGACCAAGCGATCAAAC-3'), diseñados para amplificar un fragmento de genoma de 650-pb, correspondiente a los nucleótidos 172-822 del gen de la proteína de cubierta del virus (p42). Los ARN totales fueron desnaturalizados a 65°C durante 5 minutos y el cDNA fue sintetizado a 50°C por 30 minutos en una mezcla de reacción que incluía 0.4 µM de los cebadores, 1x tampón de reacción (conteniendo 0.4 mM de dNTPs y 2.4 mM MgSO₄) y 0.25 µL del enzima, en un volumen final de reacción de 12.5 µL. Las condiciones de la PCR fueron: 94 °C por 2 minutos, seguido por 35 ciclos de 1 minuto a 94 °C, 1 minuto a 50°C y 1 minuto a 72°C, con un paso final de extensión de 10 minutos a 72°C, utilizando un termociclador Mastercycler personal 5332 (Eppendorf).

Los productos amplificados por RT-PCR se separaron por electroforesis en gel de 1.2% de agarosa, en tampón 1x TAE (40 mM Tris-acetato y 1mM EDTA a pH 8.0) tiñéndose con bromuro de etidio. Los tamaños de los fragmentos se determinaron por comparación con un marcador de peso molecular conocido DNA Ladder Plus de 100-pb (MBI Fermentas). El porcentaje de incidencia viral en las muestras agrupadas fue estimado utilizando la formula de GIBBS y GOWER (1960):

$$P = 1 - (1 - y/n)^{1/k}$$

Donde P= Probabilidad de transmisión de una sola plántula infectada por MNSV

y = Número de muestras positivas por RT-PCR

n = Número total de muestras analizadas

k = Número de plántulas por muestra (k=10)

Tratamientos de desinfección de semilla

Para determinar la eficacia de los tratamientos de desinfección de la semilla en la erradicación del MNSV en semilla de melón comercial, se utilizaron los dos lotes de semillas anteriormente citados y se sometieron a siete tratamientos diferentes que fueron comparados. Se evaluó el efecto de la temperatura, tratando las semillas en una incubadora a 70°C durante 72 horas (T72), 96 horas (T96), 120 horas (T102) y 144 horas (T144). Por otro lado, dos soluciones desinfectantes que habían sido efectivas con otras virosis, fueron utilizadas. En este caso, las semillas fueron sumergidas en una solución de fosfato trisódico al 10% durante 3 horas (TTP), o en ácido clorhídrico 0.1 N durante 30 minutos (THC). Un tratamiento combinado (térmico y químico) se ensayó también, en el cual las semillas primero se sometieron a 70°C durante 120 horas y luego fueron sumergidas en fosfato trisódico al 10% durante 3 horas. Después de someter las semillas a los diferentes tratamientos citados, se lavaron con agua desionizada, se secaron y se colocaron en celulosa para su germinación. Una vez germinadas se transfirieron como se indicó anteriormente. En todos los tratamientos, la germinación fue evaluada mediante el conteo de las plántulas 15 días después de colocar las semillas en las bandejas de germinación, y el efecto de los tratamientos en la germinación se comparó con la germinación de semillas no tratadas. El número de semillas usadas en cada lote/tratamiento se recogen en la Tabla 1. Las plántulas fueron analizadas por DAS-ELISA y RT-PCR siguiendo la técnica descrita anteriormente, en estado de cotiledones y adultas.

Análisis estadístico

En todos los experimentos, los valores de la absorbancia obtenidos por ELISA y los resultados de la RT-PCR fueron analizados mediante ANOVA multifactorial con la ayuda del programa STATGRAPHICS Plus para Windows (versión 5.1; Manugistics Inc). El "estado de crecimiento al momento del análisis" en las semillas no tratadas y el

“lote de semilla evaluado” fueron considerados efectos fijos en el índice de infección del MNSV obtenido por ELISA o RT-PCR. En este sentido, la diferencia mínima significativa protegida de Fisher (LSD; $P < 0.05$) se utilizó para determinar cuál de ellos difiere significativamente de los otros. Por otro lado, se utilizó el mismo procedimiento estadístico con los datos obtenidos de la germinación. En este caso, el “tratamiento de semilla” y el “lote de semilla evaluado” fueron considerados efectos fijos.

Secuenciación y análisis

Para confirmar la identidad del virus detectado en las plántulas infectadas de los estudios anteriormente citados, el fragmento obtenido por RT-PCR fue purificado utilizando el kit High Pure PCR Product Purification (Roche Diagnostics) y directamente secuenciado utilizando un kit Big Dye Terminator versión 3.1 Cycle Sequencing en un secuenciador 3100 Genetic Analyzer (Applied Biosystems). La secuencia fue comparada con ayuda del programa BLAST (Basic Local Alignments Search Tool) (ALTSCHUL *et al.*, 1997) con secuencias depositadas en el NCBI (National Center of Biotechnology Information).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Transmisión del MNSV de semilla infectada a plántula

La transmisión por semilla del MNSV ha sido estudiada por diversos autores, tal y como describimos previamente. No obstante, en la mayoría de los casos las semillas utilizadas procedían de frutos infectados, a diferencia de GONZÁLEZ-GARZA *et al.* (1979), los cuales utilizaron semilla comercial para evaluar mediante la observación de síntomas dicha transmisión.

Para realizar un estudio sobre esta transmisión, en nuestro caso, se utilizó semilla comercial de la que se expendía a los productores, con la finalidad de determinar si éstas

podían constituir la vía de introducción del MNSV en las áreas de cultivo.

Análisis DAS-ELISA

En el caso del ELISA, el MNSV no fue detectado en ningún grupo de raicillas de 200 y 100 plántulas procedentes de semilla comercial de los lotes 05 y 06, respectivamente, ni las analizadas en estado de cotiledón o en estado adulto. En este sentido, los valores de la absorbancia de alícuotas analizadas por duplicado para 12 testigos negativos estuvieron en el rango de 0.078 a 0.162 (con una media de 0.022), mientras que para 12 testigos positivos analizados bajo las mismas condiciones los valores de la absorbancia estuvieron en el rango de 0.195 a 2.368 (con una media de 1.452). A lo anterior, las absorbancias medias en el estado de cotiledón y en el estado adulto fueron de 0.039 ± 0.004 y 0.003 ± 0.008 , respectivamente, en el lote de semilla 05, y 0.038 ± 0.004 y 0.007 ± 0.015 , respectivamente, en el lote de semilla 06. Por lo tanto, el estado de crecimiento de las plantas al momento del análisis por DAS-ELISA afectó significativamente los valores de la absorbancia obtenidos por esta técnica en los lotes de semillas no tratadas ($P = 0.0001$). Sin embargo, no hubo diferencias significativas en la absorbancia entre ambos lotes de semillas ($P = 0.6593$).

Análisis RT-PCR

Mediante RT-PCR si fue posible detectar el MNSV en plántulas. En este caso, 14 y 8 de las muestras compuestas por diez plántulas, correspondientes a los lotes 05 y 06, respectivamente, fueron positivas al MNSV (Tabla 1). El fragmento esperado de 650-pb fue amplificado de los extractos de las muestras positivas, pero no de los extractos sanos, testigos negativos (Figura 2). Estos datos confirman que el MNSV se transmitía por semilla en los lotes comerciales ensayados. De nuevo se determinaba la baja sensibilidad de la técnica serológica ELISA en la detección de este virus en plantas asintomáticas (GÓMEZ *et al.*, 2005).

Tabla 1. Eficacia de siete tratamientos de desinfección para la eliminación del MNSV de semilla de melón infectada, rangos de infección en plántulas obtenidos tras cada tratamiento, y probabilidad de infección, mediante RT-PCR.

Estado de crecimiento ^a	Tratamiento ^b	Lote-05				Lote-06			
		Plántulas		Plántulas		Plántulas		Plántulas	
		Analizadas ^c	Muestras positivas ^d	Rango de infección en plántulas (%)	Probabilidad de infección ^e	Analizadas ^c	Muestras positivas ^d	Rango de infección en plántulas (%)	Probabilidad de infección ^e
Cotiledón	NT	200	14	7-70	11.3	100	8	8-80	14.8
		200	0	0	0.0	100	0	0	0.0
Cotiledón	T72	100	7	7-70	11.3	100	7	7-70	11.3
	T96	100	4	4-40	4.9	100	4	4-40	4.9
	T120	100	4	4-40	4.9	100	0	0	0.0
	T144	200	0	0	0.0	100	0	0	0.0
	TTC	100	1	1-10	1.0	100	0	0	0.0
	TTP	100	6	6-60	8.7	100	6	6-60	8.7
	THC	70	4	6-57	8.1	70	4	6-57	8.1

^a Estado de crecimiento en el que se realizó el análisis RT-PCR a las raíces de las plantas: cotiledón o estado adulto (45 días después del transplante).

^b Tratamientos de desinfección: NT, semillas no tratadas; T72, T96, T120, T144, tratamientos de termoterapia a 70°C durante 72, 96, 120 y 144 h, respectivamente; TTC, tratamiento de termoterapia a 70°C durante 120 h seguido de inmersión en 10% de fosfato trisódico (Na₃PO₄) durante 3 h; TTP, inmersión en 10% de fosfato trisódico durante 3 h; THC, inmersión en 0.1 N de ácido clorhídrico (HCl) durante 30 min.

^c Número de plántulas analizadas mediante RT-PCR después de cada tratamiento de desinfección.

^d Número de muestras agrupadas (raíces de 10 plántulas) positivas al MNSV.

^e Probabilidad de obtener plántulas infectadas procedentes de semillas infectadas (=índice de transmisión del MNSV de semilla infectada a plántula) calculada mediante la fórmula de Gibbs y Gower (1960) utilizada para estimar la proporción de muestras agrupadas.

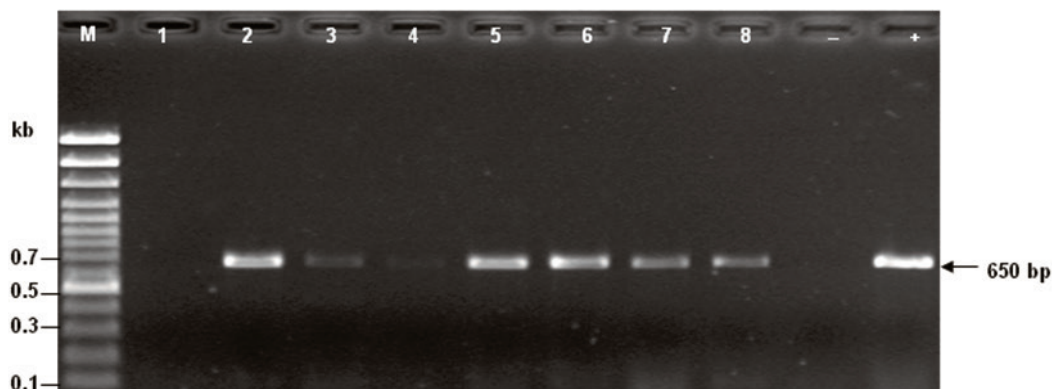


Figura 2. Amplificación mediante RT-PCR de un fragmento de 650-pb correspondiente a la secuencia parcial de la proteína de cubierta del MNSV. Líneas 1–8, muestras compuestas (raíces de 10 plántulas en estado de cotiledón) procedentes de semilla comercial no tratada; –, testigo negativo; +, testigo positivo del MNSV; M, marcador de peso molecular de 100-pb DNA Ladder Plus (MBI Fermentas, Vilna, Lituania).

La probabilidad de infección fue de 11.3 y 14.8% en los lotes de semilla 05 y 06, respectivamente, tal y como se indica en la Tabla 1. No obstante, ninguna de las plántulas de melón que fueron positivas al MNSV por RT-PCR mostraron síntomas de este virus. Por otro lado, en estado adulto ninguna muestra compuesta por diez plantas fue positiva al MNSV por RT-PCR (Tabla 1). En este sentido, al igual que ocurrió con el ELISA, en los resultados de la RT-PCR también se observaron diferencias significativas ($P = 0.0000$) entre el análisis realizado en estado de cotiledón o en estado adulto. Sin embargo, no se observaron diferencias significativas ($P = 0.7548$) entre ambos lotes de semilla.

Adicionalmente, setenta de las plántulas que fueron positivas como muestras agrupadas se analizaron individualmente por DAS-ELISA y RT-PCR. Ninguna de las plantas fueron positivas al MNSV por DAS-ELISA. Sin embargo, 12 plántulas fueron positivas al MNSV por RT-PCR, pero solo en estado de cotiledón.

La técnica RT-PCR ya había sido utilizada para detectar el MNSV en melón (GOSALVEZ *et al.*, 2003), así como de manera rutinaria y a gran escala para determinar la presencia de otros virus en semillas, por ejemplo, el virus

del mosaico del pepino (*Cucumber mosaic virus*, CMV) en altramuces (WYLIE *et al.*, 1993). Sin embargo, dicha técnica no había sido usada para evaluar la transmisión por semilla del MNSV.

En este trabajo, el MNSV ha sido detectado por RT-PCR en plántulas en estado de cotiledón procedentes de semilla comercial, no así en estado adulto lo cual podría apoyar la hipótesis de la posible resistencia de algunos cultivares de melón a este virus, reportado previamente por otros autores (COUDRIET *et al.*, 1981; LOVISOLO *et al.*, 1982; ÁLVAREZ, 1997; MALLOR *et al.*, 2003; DÍAZ *et al.*, 2004; MALLOR *et al.*, 2004). Aunque el virus inicialmente se replica y está presente en las raíces, su movimiento en la planta podría ser restringido como resultado de la resistencia genética derivada del propio cultivar de melón. Sin embargo, existe el riesgo de que el virus pueda ser adquirido por el vector a partir de plántulas infectadas una vez que estas hayan sido transplantadas en el campo y, posteriormente, transmitirlo a plantas adultas. La infección del MNSV depende en gran medida de las condiciones ambientales, por lo tanto, resulta difícil predecir lo que ocurrirá en una plántula procedente de una semilla infectada.

La técnica RT-PCR ha sido efectiva para evaluar la transmisión por semilla del MNSV, como hemos indicamos, obteniendo altos índices de transmisión, incluso analizando un pequeño número de muestras (Tabla 1), superior a los obtenidos por CAMPBELL *et al.* (1996) los cuales utilizaron semilla procedente de frutos infectados y analizando un mayor número de muestras, pero utilizando un método de detección menos sensible, el ELISA. No obstante, es importante analizar un mayor número de lotes de semilla comercial y de frutos de melón infectados, antes de ofrecer una recomendación general relacionada con el uso rutinario de la técnica RT-PCR. También hay que señalar la importancia de seleccionar la zona de la planta de donde se tome la muestra y el momento idóneo de este muestreo, y este punto es aplicable al estudio de cualquier otro virus que se necesite analizar.

Eficacia de tratamientos de desinfección de semilla

Existen diferentes métodos de control del MNSV, siendo los más efectivos aquellos que previenen su entrada en el campo, entre estos, la resistencia al virus presente en algunos cultivares de melón, el control de *O. bornovanus* mediante la aplicación del surfactante Agral en cultivos hidropónicos, el cual afecta las zoosporas de este hongo vector (TOMLINSON Y THOMAS, 1986), o el uso de semilla libre de virus (DUMAS DE VAULX, 1970). En este último caso, es importante dejar claro que el análisis de todas las semillas para determinar la ausencia o presencia del MNSV no es una medida práctica, por lo tanto, se deben establecer medidas para regular los tratamientos de semillas y garantizar que las mismas estén libres del virus.

Efectos de tratamientos de semilla sobre la germinación de semillas de melón.

En todos los tratamientos, excluyendo los controles, el índice de germinación de las semillas del lote 06 fue significativamente mayor ($P > 0.0002$) que el del lote 05 (Tabla 2). Además, el tratamiento de desinfección

no tuvo un efecto significativo ($P > 0.7636$) sobre el índice de germinación en ambos lotes de semillas. En este sentido, el tratamiento T96 no afectó la germinación del lote de semilla 06 en comparación con las semillas no tratadas. Por otro lado, el tratamiento TTP tuvo una mayor incidencia en el índice de germinación del lote de semilla 05, reduciéndolo a un 75%, en comparación con el 86% de las semillas no tratadas, pero no tuvo un efecto en el lote 06. La reducción en la germinación de las semillas del lote 06 con respecto a las semillas no tratadas se observó en los tratamientos T72, T120 y THC, mientras que en los tratamientos T144, TTC y TTP aumentó el índice de germinación; TTC tuvo el efecto más favorable sobre la germinación de las semillas, un aumento del 2% en comparación con las semillas no tratadas (Tabla 2).

Detección del MNSV en plántulas por DAS-ELISA

Mediante la técnica serológica ELISA no fue posible detectar el MNSV en las plantas de melón en estado de cotiledón y en estado adulto, en ninguno de los tratamientos efectuados en ambos lotes de semillas. Sin embargo, en todos los tratamientos, se observaba una reducción significativa ($P = 0.0000$) en los valores de la absorbancia en comparación con las semillas no tratadas.

Detección del MNSV en plántulas por RT-PCR

Los resultados de la detección del MNSV en las plántulas por RT-PCR después de varios tratamientos de desinfección de semillas, así como los índices de transmisión del MNSV de semilla tratada y no tratada a plántulas, se recogen en la Tabla 1.

El tratamiento T144 fue el único tratamiento capaz de eliminar totalmente el MNSV de las plántulas en ambos lotes de semillas, además de incrementar la germinación de las semillas tratadas respecto a las semillas no tratadas (Tabla 2). No obstante, este es un tratamiento prolongado y debe ser aplicado por personal cualificado.

Tabla 2. Efecto de los tratamientos de desinfección en los índices de germinación de semilla comercial de melón.

Tratamiento ^a	Lote-05			Lote-06		
	Número de semillas ^b	Índice de germinación (%) ^c	Índice de variación ^d	Número de semillas ^b	Índice de germinación (%) ^c	Índice de variación ^d
NT	355	86	–	150	83	–
T72	175	79	–7	150	82	–1
T96	175	76	–10	175	83	0
T120	175	80	–6	175	82	–1
T144	350	80	–6	175	84	1
TTC	175	77	–9	175	85	2
TTP	175	75	–11	175	84	1
THC	175	79	–7	175	82	–1

^a Tratamientos de desinfección: NT, semillas no tratadas; T72, T96, T120, T144, tratamientos de termoterapia a 70°C durante 72, 96, 120 y 144 h, respectivamente; TTC, termoterapia a 70°C durante 120 h seguido de inmersión en 10% de fosfato trisódico (Na₃PO₄) durante 3 h; TTP, inmersión en 10% de fosfato trisódico durante 3 h; THC, inmersión en 0.1 N de ácido clorhídrico (HCl) durante 30 min.

^b Número total de semillas colocadas en las bandejas de germinación.

^c Índice de germinación registrado 15 días después de germinadas las semillas.

^d Diferencia en el índice de germinación de semillas no tratadas y tratadas.

En los otros tratamientos, la incidencia del MNSV estuvo en el rango del 1 al 70% en el lote de semilla 05 y del 4 al 70% en el lote de semilla 06, en comparación al 70 y 80% obtenido en las plántulas procedentes de semillas no tratadas en los lotes 05 y 06, respectivamente. Una disminución en la incidencia del MNSV fue evidente en las plántulas después de realizar todos los tratamientos de semillas en comparación con las plántulas procedentes de semillas no tratadas, excepto para el tratamiento T72, cuya incidencia se mantuvo en el mismo rango que las plántulas procedentes de semillas no tratadas en el lote de semilla 05. Los tratamientos de semillas T96 y T120 redujeron la infección en las plántulas en un 42.9% en el lote de semillas 05, y en un 50% y 100%, respectivamente, en lote de semillas 06. Por lo tanto, los tratamientos térmicos T72, T96 y T120 reducen los índices de transmisión en relación a las semillas no tratadas. No obstante, la alta estabilidad del MNSV podría ser

la razón por la cual estos tratamientos de termoterapia, y en particular el tratamiento T72, resultan ineficaces en eliminar el MNSV. En este sentido, como indicamos anteriormente los tratamientos térmicos han sido utilizados en diversas ocasiones para eliminar o reducir de manera significativa diferentes virus, entre ellos cabe citar, el TMV (LATERROT y PÉCAUT, 1968), el virus del mosaico moteado verde del pepino (*Cucumber green mottle mosaic virus*, CGMMV; SANG-MIN *et al.*, 2003) y el PepMV (CÓRDOBA-SELLÉS *et al.*, 2007), mediante el calentamiento de las semillas sin afectar la germinación de las mismas.

Los tratamientos TTP y THC redujeron la infección en un 14.3% y 18.6%, respectivamente, en el lote de semilla 05, y 25% y 28.8%, respectivamente, en el lote de semilla 06, en comparación con las plántulas procedentes de semillas no tratadas. En este sentido, los tratamientos químicos, por ejemplo, el tratamiento con fosfato trisódico, han sido usados en otras

virosis transmitidas por semilla con la finalidad de eliminar virus localizados en la cubierta de las mismas, sin afectar la germinación de éstas (GREEN *et al.*, 1987). En el caso del MNSV, también se ha usado dicho tratamiento, como indicamos anteriormente, observándose que existe una reducción pero no elimina la infección del MNSV, debido a que éste virus no solo se aloja en la cubierta de las semillas sino en el endospermo (CAMPBELL *et al.*, 1996). Otros autores han citado la inactivación del MNSV mediante el tratamiento con ácido clorhídrico (DUMAS DE VAULX, 1970), aunque estos resultados están basados en la observación de la sintomatología que podían mostrar las plántulas procedentes de semillas infectadas tratadas y, como indicamos anteriormente, la observación de síntomas no es suficiente para realizar un diagnóstico preciso, esta podría ser la causa de los valores negativos. En este sentido, el tratamiento mediante la inmersión de las semillas en 0.1 N de ácido clorhídrico (THC) en nuestro caso no fue efectivo en la eliminación del virus obteniéndose altos índices de transmisión tras dicho tratamiento.

El tratamiento TTC redujo la infección en las plántulas en un 85.7% y 100% en los lotes de semillas 05 y 06, respectivamente. En este sentido, el tratamiento combinado (físico-químico) mediante la exposición de las semillas a 80°C durante 24 h seguido de la inmersión en una solución al 10% de fosfato trisódico durante 3 h, ha resultado efectivo en la inactivación de virus localizados en la cubierta de las semillas en otros casos (DINANT y LOT, 1992; CÓRDOBA-SELLÉS *et al.*, 2007). No obstante, en el caso del MNSV el cual además de la cubierta se aloja en el endospermo, el tratamiento combinado TTC (termoterapia a 70°C durante 120 h seguido de inmersión en 10% de fosfato trisódico durante 3 h) reduce, pero no elimina completamente la incidencia del MNSV. Es importante indicar en este sentido que la no eliminación total del virus de las semillas podría suponer un peligro para la producción debido a la diseminación secundaria por el hongo vector *O. bornovanus*.

Los tratamientos T120 y TTC en el lote de semilla 06 y el tratamiento T144 en ambos lotes de semillas presentaron una probabilidad de infección de 0.0 en el estado de cotiledón (Tabla 1). Por otro lado, la probabilidad de detectar una plántula infectada después de tratar las semillas estuvo en el rango de 1.0 a 11.3 en el lote de semilla 05 y de 4.9 a 11.3 en el lote de semilla 06, en comparación con las plántulas procedentes de semillas no tratadas, las cuales estuvieron en el rango de 11.3 y 14.8 en los lotes de semillas 05 y 06, respectivamente. Los tratamientos de desinfección de semillas afectaron significativamente ($P = 0.0000$) la incidencia del MNSV en las plántulas. Sin embargo, no hubo diferencias significativas ($P = 0.6439$) entre ambos lotes de semillas.

Todas las plantas procedentes de semillas de los tratamientos T72, TTP y THC (tratamientos en los cuales se obtuvo la mayor probabilidad de infección en las plántulas) fueron analizadas en estado adulto para la detección del MNSV por DAS-ELISA y RT-PCR, sin embargo, no se obtuvieron resultados positivos tras dichos análisis.

Por último, es importante indicar en relación a la transmisión y desinfección del MNSV, que se requiere de un protocolo internacional para el análisis y el tratamiento de las semillas. No obstante, es necesario realizar investigaciones adicionales para optimizar dicho protocolo frente a la infección por el MNSV, con el fin de controlar y erradicar la enfermedad.

Análisis de secuencia del aislado del MNSV

En el caso del MNSV, no se disponía de ninguna secuencia procedente de plántulas procedentes de semilla comercial de melón infectada. La secuencia del aislado MNSV-SEED 1 (GenBank accesión No. DQ443545) procedente de plántulas obtenidas de semillas comerciales de melón, tenía un 100% de homología de secuencia en la región del genoma estudiada con varios aislados obtenidos de diferentes regiones geográficas (HERRERA-VÁSQUEZ *et al.*, 2007), incluyendo un aislado originario de Panamá, MNSV-PAN2 (DQ443547), que se había utili-

zado como testigo positivo en este estudio. Esta casualidad nos indica que la diseminación de la enfermedad está claramente relacionada con la comercialización de las semillas.

AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo fue posible gracias a la concesión de una beca predoctoral de la Agen-

cia Española de Cooperación Internacional para el Desarrollo (AECID, España, periodo 2004-2007) y del Instituto para la Formación y Aprovechamiento de Recursos Humanos y la Secretaría Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación (IFARHU-SENACYT, Panamá, período 2007-2010) otorgadas a José Angel Herrera Vásquez.

ABSTRACT

HERRERA VÁSQUEZ, J. A., M. C. CÓRDOBA SELLÉS, M. C. CEBRIÁN, A. A. FERNÁNDEZ, C. JORDÁ. 2012. Seed transmission of *melon necrotic spot virus* (MNSV) and efficacy of seed-disinfection treatments. *Bol. San. Veg. Plagas*, **38**: 387-398

Rates of seed transmission of *Melon necrotic spot virus* (MNSV) were estimated in seedlings grown from commercial melon (*Cucumis melo*) cv. Galia F1 seeds. Seedlings at the cotyledon stage and adult plants were assayed for MNSV by DAS-ELISA and RT-PCR. None of the seedling groups tested positive for MNSV by ELISA. The proportion of seedlings infected with MNSV was at least 7 and 8% in seed lots 05 and 06, respectively, as estimated from RT-PCR analysis of grouped seedlings. Fourteen and eight grouped samples (10 seedlings per group), of a total of 200 and 100 seedlings, respectively, grown from infected seeds were MNSV-positive in seed lots 05 and 06, respectively, corresponding to seed-to-seedling transmission rates of 11.3 and 14.8%, respectively. Several seed-disinfection treatments were evaluated for their ability to prevent seed transmission of MNSV. The results suggest that a treatment of 144 h at 70°C can be used to eradicate MNSV in melon seeds without hindering germination.

Keywords: *Carmovirus*, *Cucumis melo*, ELISA, RT-PCR, seed.

REFERENCIAS

- ALTSCHUL, S.F., MADDEN, T.L., SCHAFER, A.A., ZHANG, J., ZHANG, Z., MILLER, W., LIPMAN, D.J. 1997. Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. *Nucleic Acids Research*, **25**: 3389-3402.
- ÁLVAREZ, J.M. 1997. Tendencias en la mejora genética del melón. En: Namesny A, ed. *Melones*. Compendios de Horticultura 10. Ediciones de Horticultura. Reus, Tarragona: España, p. 25-34.
- AVGELIS A.D 1985. Occurrence of *Melon necrotic spot virus* in Crete (Greece). *Phytopath. Z.*, **114**: 365-372.
- CAMPBELL, R.N., WIPF-SCHEIBEL, C., LECOQ, H. 1996. Vector-assisted seed transmission of *Melon necrotic spot virus* in melon. *Phytopathology*, **86**: 1294-1298.
- CÓRDOBA-SELLÉS, M.C., GARCÍA-RÁNDEZ, A., ALFARO-FERNÁNDEZ, A., JORDÁ-GUTIÉRREZ, C. 2007. Seed transmission of *Pepino mosaic virus* and efficacy of tomato seed disinfection treatments. *Plant Disease*, **91**: 1250-1254.
- COUDRIET, D.L., KISHABA, A.N., BOHN, G.W. 1981. Inheritance of resistance to *Muskmelon necrotic spot virus* in a melon aphid-resistant breeding line of muskmelon. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, **106**: 789-791.
- DÍAZ, J.A., NIETO, C., MORIONES, E., TRUNIGER, V., ARANDA, M.A. 2004. Molecular characterization of a *Melon necrotic spot virus* strain that overcomes the resistance in melon and nonhost plants. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, **17**: 668-675.
- DINANT, S., LOT, H. 1992. Review: *Lettuce mosaic virus*. *Plant Pathology*, **41**: 528-542.
- DUMAS DE VAULX, R. 1970. Étude de la transmission du virus de la criblure. In: *Rapport d'activité 1969-1970 Station D'Amélioration des Plantes Maraichères*. Montfavet, France: INRA, p. 46-50.

- GIBBS, A.J., GOWER, J.C. 1960. The use of a multiple-transfer method in plant virus transmission studies: some statistical points arising in the analysis of results. *Annals of Applied Biology*, **48**: 75-83.
- GÓMEZ, J., GUIRADO, M.L., SERRANO, Y., RODRÍGUEZ, J., SÁEZ, E. 2005. Importancia, epidemiología y control de *Olpidium bornovanus*. *Boletín de la Sociedad Española de Fitopatología*, **52**: 4-7.
- GONZALEZ-GARZA, R., GUMPF, D.J., KISHABA, A.N., BOHN, G.W. 1979. Identification, seed transmission, and host range pathogenicity of a California isolate of *Melon necrotic spot virus*. *Phytopathology*, **69**: 340-345.
- GOSALVEZ, B., NAVARRO, J.A., LORCA, A., BOTELLA, F., SÁNCHEZ-PINA, M.A., PALLÁS, V. 2003. Detection of *Melon necrotic spot virus* in water samples and melon plants by molecular methods. *Journal of Virological Methods*, **113**: 87-93.
- GREEN, S.K., HWANG, L.L., KUO, Y.K. 1987. Epidemiology of *Tomato mosaic virus* in Taiwan and identification of strains. *Journal of Plant Diseases and Protection*, **94**: 386-387.
- HERRERA-VÁSQUEZ, J.A., CEBRIÁN, M.C., ROSELLÓ, J.A., CÓRDOBA-SELLÉS, C., JORDÁ, C. 2007. Molecular variability among isolates of *Melon necrotic spot virus* (MNSV) from Spain, Mexico and Central America. In: *XIII International Congress on Molecular Plant-Microbe Interactions*. Italy: Sorrento, p. 281.
- JORDÁ, C., FONT, M.I., MARTÍNEZ-CULEBRAS, P. 2005. Viral etiology of diseases detected in melon in Guatemala. *Plant Disease*, **89**: 338.
- KISHI, K. 1966. Necrotic spot of melon, a new virus disease. *Annals of the Phytopathological Society of Japan*, **32**: 363-386.
- LATERROT, H., PÉCAUT, P. 1968. Incidence du traitement thermique des semences de tomate sur la transmission du virus de la mosaïque du tabac. *Études de Virologie, Annales des Épiphyties*, **19**: 159-164.
- LOVISOLO, O., LECOQ, H., PITRAT, M. 1982. Note sur les virus de cucurbitacées présents en France. Montfavet, France: INRA-CRA d'Avignon, 29 p.
- MALLOR, C., ÁLVAREZ, J.M., LUIS-ARTEAGA, M. 2003. Inheritance of resistance to systemic symptom expression of *Melon necrotic spot virus* (MNSV) in *Cucumis melo* L. "Doublon". *Euphytica*, **134**: 319-324.
- MALLOR, C., ÁLVAREZ, J.M., LUIS-ARTEAGA, M. 2004. Behaviour of *Cucumis melo* 'Cantaloup Haogen' against *Melon necrotic spot virus* (MNSV). In: *Proceedings of Cucurbitaceae 2004, the 8th EUCARPIA Meeting on Cucurbit Genetics and Breeding, Olomouc, Czech Republic*. p. 203-208.
- NAVAL-MERINO, M.D.M. 2005. Transformación genética de melón tipo Galia con los genes de la replicasa, proteína de cubierta y proteína de movimiento del virus de las manchas necroticas del melón (MNSV). Valencia, Spain: Universidad Politécnica de Valencia, PhD thesis.
- SÁNCHEZ-NAVARRO, J.A., APARICIO, F., ROWHANI, A., PALLÁS, V. 1998. Comparative analysis of ELISA, nonradioactive molecular hybridization and PCR for the detection of *Prunus necrotic spot virus* in herbaceous and *Prunus* hosts. *Plant Pathology*, **47**: 780-786.
- SANG-MIN, K., SANG-HYUN, N., JUNG-MYUNG, L., KYU-OCK, Y., KOOK-HYUNG, K. 2003. Destruction of *Cucumber green mottle mosaic virus* by heat treatment and rapid detection of virus inactivation by RT-PCR. *Molecules and Cells*, **16**: 338-342.
- TOMLINSON, J.A., THOMAS, B.J. 1986. Studies on Melon necrotic spot virus disease of cucumber and on the control of the fungus vector (*Olpidium radiale*). *Annals of Applied Biology*, **108**: 71-80.
- WYLIE, S., WILSON, C.R., JONES, R.A.C., JONES, M.G.K. 1993. A polymerase chain reaction assay for *Cucumber mosaic virus* in lupin seeds. *Australian Journal of Agricultural Research*, **44**: 41-51.
- YOSHIDA, K., GOTO, T., NEMOTO, M., TSUCHIZAKI, T. 1980. Five viruses isolated from melon (*Cucumis melo* L.) in Hokkaido. *Annals of the Phytopathological Society of Japan*, **46**: 339-348.

(Recepción: 10 septiembre 2012)

(Aceptación: 27 diciembre 2012)