

BOLETÍN DE SANIDAD VEGETAL

VOLUMEN 32 - NÚMERO 2 - 2006 - 2º Trimestre

PLAGAS



MINISTERIO
DE AGRICULTURA, PESCA
Y ALIMENTACIÓN

SECRETARÍA GENERAL
DE AGRICULTURA Y
ALIMENTACIÓN

DIRECCIÓN GENERAL
DE AGRICULTURA

BOLETIN PLAGAS

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

SUSCRIPCIONES

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

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

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

INTERCAMBIOS

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

NUESTRA PORTADA



Daños producidos por cotonet (*Planococcus citii*) en frutos y hojas de cítricos.

INSTRUCCIONES A LOS AUTORES

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

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

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

Artículo: 16 páginas.

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

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

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

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

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

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

GARCIA-JIMENEZ, J., VELAZQUEZ, M 'T., ALFARO, A. 1989. Secuencia de síntomas en el colapso del melón. *Bol. San. Veg. Plagas*, 15 (4): 333-342.

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

Subdirección General de Agricultura Integrada y Sanidad Vegetal

Redactora Jefe de la Revista Boletín de Sanidad Vegetal - Plagas

Alfonso XII, 62

28014 MADRID (España)

VOLUMEN 32
núm. 2
2006
2º Trimestre

DIRECTOR
Francisco Mombiela

DIRECTOR ADJUNTO
Guillermo Artolachipi

REDACTORA JEFE
Adela Burgos

CONSEJO DE REDACCIÓN
Antonio Bello
Juan I. Calvo
José M.ª Cobos
Peuro del Estal
José García-Jiménez
Concepción Jordá
Alfredo Lacasa
Cristina Noval
Consuelo Pérez
Cándido Santiago
Julio C. Tello
Juan J. Tuset
Fernando Varés
Carlos Zaragoza

EDITOR
Centro de Publicaciones
Agrarias, Pesqueras y
Alimentarias

ISSN: 0213-6910
NIPO: 251-06-010-5
Depósito Legal: M-2975-1976
Imprime: I.G. Saljen, S.L.

SUMARIO

ENTOMOLOGÍA

- P. TURIENZO. Nota. Definitive incorporation of *Callidiellum rufipenne* (Motschulsky, 1860) to the argentinian fauna of Cerambycidae (Coleoptera) 155
- A. JIMÉNEZ, F. J. SORIA, M. VILLAGRÁN, M. E. OCETE. Seguimiento del ciclo biológico de *Cydia fagiglandana* (Zeller) (Lepidoptera: Tortricidae) en un encinar del sur de España 157
- M. A. GONÇALVES. Utilização de armadilhas cromotrópicas na monitorização de *Liriomyza* spp. (Diptera: Agromyzidae) e dos seus parasitóides, no feijão-verde 169
- F.M. HODGSON, C.D. LORENZO, C. PRENDES, R. CABRERA. *Scymnus (Pullus) cercyonides* Woll. Posibilidades en el control biológico 175
- A. HERMOSO DE MENDOZA, M. LA SPINA, F. MARCO, S. TABANERA, P. VINACHES, E.A. CARBONELL, J. PÉREZ-PANADÉS. Nivel de daño económico para *Aulacorthum solani* (Hemiptera, Aphididae) sobre pimiento en invernadero comercial 181
- H. PELÁEZ, R. MARAÑA, P. VÁZQUEZ DE PRADA, A. PURAS, Y. SANTIAGO. Comportamiento local de poblaciones de *Lobesia botrana* Denis & Schiffermüller (Lepidoptera: Tortricidae) 189
- M. BRANCO, J.C. FRANCO, C. VALENTE, Z. MENDEL. Comunicación. Survey of *Eucalyptus* gall wasps (Hymenoptera: Eulophidae) in Portugal..... 199
- M. VILLALBA, N. VILA, C. MARZAL, F. GARCIA MARI. Influencia en el control biológico del cotonet *Planococcus citri* (Hemiptera: Pseudococcidae) de la liberación inoculativa de enemigos naturales y la eliminación de hormigas, en parcelas de cítricos 203
- A.M. PASSARINHO, M.J. LEANDRO, M. OLIVEIRA, E. FIGUEIREDO, J.C. FRANCO, J. NEVES-MARTINS, A. MEXIA. Avaliação do parasitismo por *Anagyrus pseudococci* (Girault) em cochonilhas-algodão em proteáceas 215
- M. J. PASCUAL-VILLALOBOS, R. CARRERES, J. RIUDAVETS, M. AGUILAR, J. M. BOZAL, M. C. GARCÍA, A. SOLER, A. BAZ, P. DEL ESTAL. Plagas del arroz almacenado y sus enemigos naturales en España 223

PATOLOGÍA

- P.E. ESCOFET CRESPO, O. AGUÍN CASAL, J.P. MANSILLA VÁZQUEZ. Detección e identificación por técnicas moleculares de especies del género *Armillaria* a partir de muestras del suelo .. 231

L.A. ÁLVAREZ, A. VICENT, D. GARCÍA-RELLÁN, P. MARTÍNEZ-CULEBRAS, E. DE LA ROCA, J. BASCÓN, J. ARMENGOL, P. ABAD-CAMPOS, A. ALFARO-LASSALA, J. GARCÍA-JIMÉNEZ. Muerte de árboles cítricos causada por ataques de <i>Phytophthora citrophthora</i> a ramas principales	241
--	-----

TERAPÉUTICA

G. PÉREZ, J.M. SIERRA. Eficacia de cebos atrayentes y trampas en el control de <i>Ips acuminatus</i> Coleoptera: Scolytidae	259
---	-----

OTROS TEMAS

L. S. FONTES, A. J. D. ALMEIDA FILHO, V. ARTHUR. Estudio ecológico de abejas silvestres (Hymenoptera, Apidae) no parque ambiental de Teresina-PI, com ênfase em polinizadores potenciais da guabiraba (<i>Eugenia</i> sp) (Myrtaceae)	267
--	-----

S. BACELAR, R. RODRIGUES, L. M. BRITO, A. MEXIA. Efeito da aplicação de fungicidas no padrão espacial de ácaros fitoseídeos associados à cultura da vinha	273
---	-----

Nota

Definitive incorporation of *Callidiellum rufipenne* (Motschulsky, 1860) to the argentinian fauna of Cerambycidae (Coleoptera)

P. TURIENZO

Callidiellum rufipenne (Motschulsky, 1860) [Cerambycinae: Callidiini] is mentioned as established in Argentina. The first known host plant in Argentina and South America is given.

P. TURIENZO. Entomología, Departamento de Biodiversidad y Biología Experimental, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, 4° Piso, Pabellón II, (CP 1428) Ciudad Universitaria, Buenos Aires, Argentina.

Key words: Coleoptera, Cerambycidae, *Callidiellum rufipenne*, Argentina

INTRODUCTION

DI IORIO (2004) records two species of Cerambycidae from the Northern Hemisphere as recently introduced in Argentina, *Arhopalus rusticus rusticus* (L., 1758) [Aseminae: Asemini], and *Callidiellum rufipenne* (Motschulsky, 1860) [Cerambycinae: Callidiini], whose larvae develops in woods of Coniferae, both in Nearctic and Palearctic regions. All the host plants known for *C. rufipenne* in North Hemisphere (Palearctic) belongs to Cupressaceae and Taxodiaceae. It has been recorded from the following hosts in its native geographic range: *Cryptomeria japonica* (L. f.) D. Don, *Chamaecyparis obtusa* (Siebold & Zucc.) Endl. in Japan (LINSLEY GRESSITT, 1951), *Chamaecyparis pisifera* (Siebold & Zucc.) Endl., and *Thujopsis dolabrata* (Thunb. ex L. f.) Siebold & Zucc. (APHIS, 1999). *Abies* spp. (LINSLEY GRESSITT, 1951) and *Pinus* spp. (APHIS, 1999) have also been mentioned, but these hosts require confirmation. In North America, where it was

introduced, the larvae develop in *Chamaecyparis nootkatensis* (D. Don) Sudw., *Juniperus virginiana* L. and *Thuja occidentalis* L., but also on *Juniperus communis* in Italy (EUROPEAN AND MEDITERRANEAN PLANT PROTECTION ORGANIZATION, 2003), and *Cupressus macrocarpa* Hartw. in Spain (PASEK, 2000).

Until 2005 the species was recorded in Argentina with an uncertain status because it was not possible to know if it was established or not (DI IORIO, 2005). The finding of new materials allows to record *C. rufipenne* as definitive incorporated to the argentinian fauna of Cerambycidae, and the first host plant in the country.

Infested dead branches of *Cupressus* were maintained in rearing cages at ambient temperature. The specimens were deposited in the private collection Osvaldo Di Iorio (ODI), who identified the species. All plant names and abbreviations of authors are according to WIERSEMA & LEÓN (1999). The host plant was identified with the key of PARODI (1959).

Specimens of *C. rufipenne* were obtained as follows:

Cupressus macrocarpa: Buenos Aires: Pdo. Berazategui, Parque Pereyra Iraola, 13-VIII-2005, 1 male (ODI), inside the pupal chamber, 2 males (ODI), emerged 19-VIII-05 [T = 23.1 ° C, 16 hs onward], 4 males, 3 females (ODI), emerged 21-VIII-05 [T max = 21.2° C, 14:10 hs], 1 male (ODI) emerged 22-VIII-05 [T = 21.6 °C, 15:50 hs].

This is the first known host plant in Argentina and South America. DI IORIO (2004) mentioned a single specimen of *C. rufipenne* found in Argentina (Buenos Aires: Pilar) in July 2003. By old pupal chambers observed in the branches of *Cupressus macrocarpa*, and the location of the trees in

a suburban area, it is possible to say that *C. rufipenne* is well established in the country, possibly before 2003. It rears in dead fallen branches, not affecting living trees, a difference between United States where the larvae develops in living branches (PASEK, 2000). Adults emerge in July (DI IORIO, 2004) and at middle August during the day (material reared).

ACKNOWLEDGEMENTS

This work was doing by the direction of O.R. Di Iorio. The author thanks him for the identification of the material, his advice and criticism during the preparation of this note.

RESUMEN

TURIENZO P. 2006. Incorporación definitiva de *Callidiellum rufipenne* (Motschulsky, 1860) a la fauna argentina de Cerambycidae (Coleoptera). *Bol. San. Veg. Plagas*, **32**: 155-156.

Se menciona a *Callidiellum rufipenne* (Motschulsky, 1860) [Cerambycinae: Callidiini], como establecida en la Argentina. Se da a conocer su planta hospedadora en dicho país, constituyendo un nuevo registro para Argentina y Sudamérica.

Palabras clave: Coleoptera, Cerambycidae, *Callidiellum rufipenne*, Argentina.

REFERENCES

- APHIS .1999. Japanese Cedar Longhorned Beetle in the Eastern United States. USDA, Animal and Plant Health Inspection Service (APHIS), Pest Alert, 2 p.
- DI IORIO, O.R. 2004. Especies exóticas de Cerambycidae (Coleoptera) introducidas en Argentina. Parte 2. Nuevos registros, plantas hospedadoras y estatus actual. *Agrociencia*, Mexico, 38(6): 663-678.
- DI IORIO, O.R. 2005. A field guide of the longhorned beetles (Coleoptera: Cerambycidae) from Argentina. Esteban Abadie & Pablo Wagner (Coordinators). Buenos Aires, xiv + 98 p. + 74 plates.
- EUROPEAN AND MEDITERRANEAN PLANT PROTECTION ORGANIZATION. 2003. *Callidiellum rufipenne* (Coleoptera: Cerambycidae). Cedar Longhorned beetle. In: http://www.eppo.org/quarantine/Alert_List/Insects
- LINSLEY GRESSITT, J. 1951. Longicorn beetles of China. *Longicornia*, Paris, 2: 1-667.
- PARODI, L. R. 1959. Enciclopedia Argentina de Agricultura y Jardinería. Volumen 1: Descripción de las plantas cultivadas. Editorial Acme, Buenos Aires, 931 p.
- PASEK, J. E. 2000. Smaller Japanese Cedar Longhorned Beetle, p. 132-133. In: Pest risk assessment for importation of solid wood packing materials into the United States. USDA, Animal and Plant Health Inspection Service & Forest Service. <http://www.aphis.usda.gov/ppq/pr/swpm>
- WIERSEMA, J. H. & B. LEÓN. 1999. World economic plants. A standard reference. CRC Press. Boca Raton, London, New York & Washington D.D., 749 p.

(Recepción: 26 agosto 2005)
(Aceptación: 31 marzo 2006)

Seguimiento del ciclo biológico de *Cydia fagiglandana* (Zeller) (Lepidoptera: Tortricidae) en un encinar del sur de España

A. JIMÉNEZ, F. J. SORIA, M. VILLAGRÁN, M. E. OCETE

Cydia fagiglandana (Zeller) (Lepidoptera: Tortricidae) es un insecto carpófago que afecta a la calidad y viabilidad de los frutos de quercíneas y castaños. La mayoría de los trabajos hasta ahora realizados en encinares sobre esta especie han estado dirigidos a evaluar los daños que ocasiona. Por este motivo, creemos que es interesante abordar otros aspectos de la biología de *C. fagiglandana* como es el seguimiento de su ciclo biológico en una dehesa encinar del sur de España.

Durante todo el periodo de estudio *C. fagiglandana* presentó un ciclo con una generación al año. Los adultos se encontraron desde finales de mayo o principios de junio hasta finales de octubre. Por su parte, las puestas se localizaron de forma aislada sobre el haz de las hojas desde finales de junio o principios de julio hasta octubre. Las larvas fueron capturadas desde mediados de julio hasta finales de diciembre. El desarrollo larvario duró entre 30 y 40 días y su periodo de hibernación comenzó a finales de septiembre o principios de octubre.

A. JIMÉNEZ, F. J. SORIA, M. VILLAGRÁN, M. E. OCETE. Laboratorio de Entomología Aplicada. Dpto. de Fisiología y Zoología. Fac. de Biología. Universidad de Sevilla. Avda. Reina Mercedes, 6. 41012 Sevilla. España.

Palabras clave: *Cydia fagiglandana*, carpófago, encina, bellota, *Quercus* sp., ciclo biológico.

INTRODUCCIÓN

La encina meridional (*Quercus ilex* subespecie *ballota*) se distribuye, principalmente, por el suroeste de la Península Ibérica. En Andalucía, la encina ocupa un 34% de la cobertura arbórea de esta región, siendo la superficie donde predominan las especies de *Quercus* de 887.379 ha (MINISTERIO DE AGRICULTURA, PESCA Y ALIMENTACIÓN, 1999). Según el Plan Forestal Andaluz, aprobado en 1989, en la provincia de Sevilla la superficie cubierta por encinares puros era de unas 208.851 ha, lo que supone un 44,5% de la superficie vegetal de la provincia.

Los encinares de Extremadura y Andalucía están, en su mayoría, transformados en

dehesas dedicadas a la caza mayor cuando están degradadas y a la producción de pastos y de bellota en montanera. En consecuencia, la dehesa puede definirse desde el punto de vista ecológico-biológico como un ecosistema seminatural, o bien, desde la perspectiva de manejo, como un sistema agroforestal (SCARASCACIA *et al.*, 2000). La transformación del monte original en dehesas supone la creación de unos agroecosistemas con gran valor natural, pero que en la actualidad presentan problemas de regeneración que conducen a unas masas envejecidas y debilitadas (JIMÉNEZ y GIL, 2000). Uno de estos problemas es la producción de frutos de calidad, que desarrollen plántulas que puedan afrontar las condiciones adver-

sas del clima mediterráneo, sobre todo en verano. Además del interés ecológico, los encinares andaluces son importantes desde el punto de vista económico, puesto que la producción de bellotas se dedica principalmente a la alimentación del cerdo ibérico.

Las bellotas son consumidas por el ganado porcino de las dehesas y además están expuestas a la actividad de varios insectos carpófagos, pequeños roedores y a la infección por hongos (DELPLANQUE *et al.*, 1986, HRASOVEC y MARGALETIAE, 1995; LEIVA y FERNÁNDEZ-ALÉS, 2005). La presencia de carpófagos en los encinares es un factor biótico que afecta, en menor o mayor medida, a la calidad y viabilidad de los frutos (SORIA *et al.*, 1996; LEIVA y FERNÁNDEZ-ALÉS, 2005). Uno de estos insectos es *Cydia fagiglandana* (Zeller), un lepidóptero de la familia Tortricidae que se desarrolla en frutos de quercíneas y castaños. A mediados del siglo XX, en Europa, comenzó un importante seguimiento de esta especie debido a los daños que causaba en las cosechas de castañas (BOVEY *et al.*, 1975; SPERANZA, 1999). Desde entonces se han realizado trabajos, principalmente en castañares, relacionados con la respuesta electrofisiológica a atrayentes sexuales (ROTUNDO *et al.*, 1984; ROTUNDO y GIACOMETI, 1988; DEN OTTER *et al.*, 1996; MARTÍN *et al.*, 1998) y métodos de control (ROTUNDO y GIACOMETI, 1986; ROTUNDO y ROTUNDO, 1986; ANGELI *et al.*, 1997; PAPANATTI y SPERANZA, 1999). En España es a partir de 1990 cuando empiezan a realizarse estudios sobre *Cydia fagiglandana* como uno de los factores que influyen en la producción de frutos de castaños (MANSILLA *et al.*, 1999 a, b y c; MANSILLA *et al.*, 2000) y en la calidad de las bellotas de alcornoques y encinas (VÁZQUEZ *et al.*, 1990; SORIA y OCETE, 1996; VILLAGRÁN *et al.*, 2002). A la vista de los estudios hasta ahora realizados sobre esta especie, hemos creído interesante profundizar en el ciclo biológico de *C. fagiglandana* en encinas, por ello, en este trabajo, se ha realizado un seguimiento temporal de sus fases en una dehesa del sur de España.

MATERIAL Y MÉTODOS

Los trabajos de seguimiento de *Cydia fagiglandana* se realizaron en una parcela situada en la Sierra Norte de Sevilla, localizada en la finca "El Rodeo" (UTM 29SQB6482) (Castilblanco de los Arroyos, Sevilla) durante los años 2000, 2001 y 2002. La parcela es un encinar puro, con zonas rocosas y pendientes suaves. La extensión que ocupa es, aproximadamente, de 2 hectáreas, en las cuales se contabilizó un total de 110 encinas de porte mediano a pequeño (perímetro medio: 89,5 cm). El periodo de floración en la zona abarcó desde febrero a mayo y el de fructificación y maduración desde el mes de junio hasta primeros de diciembre.

La parcela estaba aislada del resto de la finca mediante una valla metálica que fue colocada a principios de agosto de 2000, para impedir la entrada de ganado. Esta zona de la finca estaba dedicada al pastoreo de ganado vacuno y a la montanera de cerdo ibérico.

Las temperaturas medias de la zona en los meses anteriores a mayo en los años 2000 y 2002 tenían un valor cercano a 11°C y en 2001, próximo a 12°C (datos de estaciones meteorológicas de Almadén de la Plata y Castilblanco de los Arroyos, Sevilla).

Muestreo de imágos

El muestreo de adultos se realizó con 4 polilleros de color blanco y amarillo, cebados con feromonas atrayentes de machos y provistos de una pastilla de vapona. Los polilleros se situaron en la cruz de cada árbol, a unos 2 m de altura. Los árboles se eligieron al azar, dejando entre cada pie una distancia mínima, aproximada, de 30 m. Esta distancia es un valor cercano a la media entre los sugeridos por ANGELI *et al.* (1998) y ROTUNDO *et al.* (1984), de 20 m y 50 m, respectivamente, a la cual dejan de tener influencia las feromonas utilizadas. Los difusores de feromonas y las pastillas de vapona eran cambiados cada cuatro semanas, siguiendo las recomendaciones de la casa comercial proveedora.

Los polilleros se revisaban semanalmente, recogiendo en botes de plástico los individuos caídos y llevándolos, posteriormente, al laboratorio para ser contados y determinados. Para identificar correctamente los ejemplares de tortricidos capturados en los polilleros, se realizó la extracción y estudio de las genitales masculinas. La determinación de estas piezas se hizo utilizando la clave de CHAMBON (1999).

Muestreos de fases preimaginales

Las puestas de *Cydia fagiglandana* se localizan en las hojas y ramillas jóvenes de las encinas (BONNEMAISON, 1964), por ello, semanalmente eran cortados brotes de las cuatro orientaciones cardinales. El seguimiento de las puestas se realizó desde el mes de abril hasta el de noviembre, durante los tres años de estudio. Una vez en el laboratorio, de dichos brotes, se cortaban 50 hojas para buscar posibles puestas en las ramillas, eliminando el resto. Cuando los brotes portaban frutos, se cortaban diez de ellos para localizar más puestas.

Para el seguimiento de las orugas, se realizaron muestreos semanales eligiéndose diez árboles al azar. En cada uno de ellos se recogieron 20 bellotas de copa y 20 del suelo en su zona de proyección. De cada muestra se tomaron los siguientes datos: número de larvas, estadio larvario y número de orificios de salida.

Las larvas de *C. fagiglandana* salen de los frutos al finalizar su desarrollo, entrando en diapausa invernal dentro de un capullo de seda que fabrican en la corteza de los árboles, bajo la hojarasca o en el suelo. Semanalmente, a partir de finales de julio, se buscó en la hojarasca y en los primeros centímetros de suelo, en un área de un metro cuadrado, bajo la proyección de la copa de cinco árboles, elegidos arbitrariamente.

A mediados de octubre de 2001 se colocaron 12 recipientes de plástico, cada uno de ellos con 25 larvas maduras de dicha especie, y con unas pequeñas estructuras de acetatos y palillos donde las larvas se metían y formaban el capullo sedoso, quedando a la

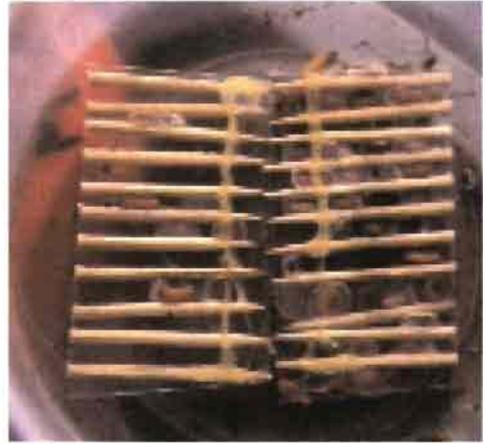


Figura 1. Recipientes para el control de la pupación de *Cydia fagiglandana*.

vista para el posterior estudio (Fig. 1). Durante los meses posteriores, se hizo un seguimiento del desarrollo de estas larvas, anotándose la fecha de pupación y emergencia de los imagos.

RESULTADOS

Imagos

La población de adultos varió considerablemente durante el periodo de seguimiento, capturando 110 ejemplares en el año 2000, 136 en el 2001 y sólo 33 en el último año.

En el cuadro 1 se presenta el porcentaje de imagos capturados por meses, durante los tres años de seguimiento. En los años 2000 y 2002, comienzan a capturarse ejemplares en el mes de junio, sin embargo en 2001, este hecho ocurre en mayo. Las máximas capturas por año se realizaron en julio durante 2001 y 2002 y en agosto en el año 2000.

Las curvas de vuelo de *C. fagiglandana* se obtuvieron a partir del número de ejemplares macho capturados en los polilleros, durante los tres años de muestreos (Fig. 2). En 2000 aparecieron tres valores máximos de captura (julio, agosto y septiembre), cuatro en 2001 (junio, julio, agosto y octubre) y dos en 2002 (julio y septiembre). Pese a estas diferencias,

Cuadro 1. Porcentajes mensuales de imagos de *Cydia fagiglandana* capturados en los polilleros.

Año	Mayo	Junio	Julio	Agosto	Septiembre	Octubre
2000	0	2	19	44	24	11
2001	0,7	24,3	36	21,4	5,8	11,8
2002	0	5,1	50	7,8	20,1	17

el periodo de vuelo en todos los años es similar, desde finales de mayo o principios de junio, a mediados o finales de octubre.

Fases preimaginales

El número de huevos encontrados semanalmente en los brotes de los árboles se muestra en la figura 3. De esta gráfica, hay que destacar el mayor número de puestas encontradas en el año 2001 y que el patrón de puestas fue muy similar durante el periodo estudiado. En todas las campañas comenzaron a observarse puestas desde finales de junio o principios de julio, hasta mediados de octubre, excepto en 2001 donde el periodo de puesta fue un poco

mayor, llegándose a encontrar huevos hasta finales de octubre. Desde que se capturaron los primeros ejemplares en los polilleros hasta que se encuentran las primeras puestas transcurrió, aproximadamente, un mes.

La densidad larvaria de *C. fagiglandana* se calculó como el número de larvas por frutos recolectados en cada uno de los muestreos. A medida que avanzaron los años de muestreos, se ve que las densidades medias larvarias fueron variando; en 2000 tuvo un valor de $0,057 \pm 0,003$; en 2001 de $0,070 \pm 0,003$ y en 2002 de $0,085 \pm 0,004$.

En el año 2000, las primeras orugas aparecieron a principios de septiembre, exten-

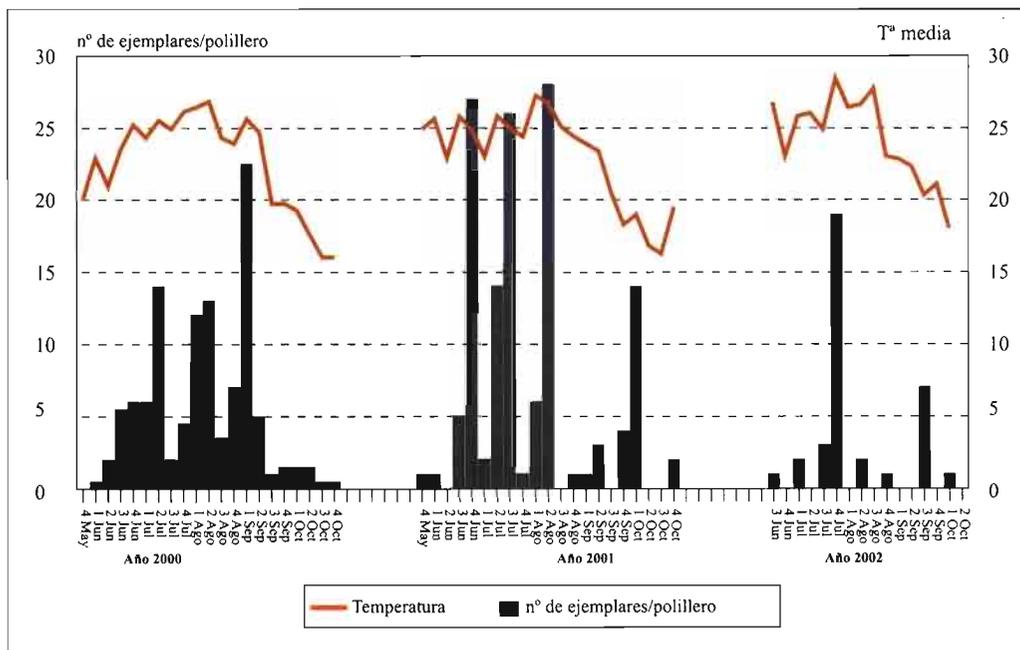


Figura 2. Curva de vuelo de *Cydia fagiglandana* en la parcela de seguimiento y temperaturas medias semanales. Años 2000, 2001 y 2002.

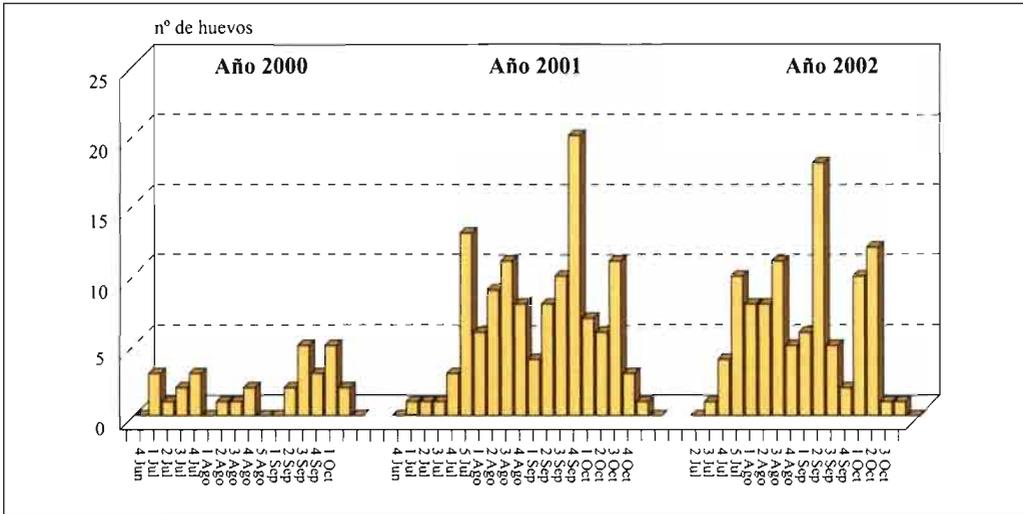


Figura 3. Número de huevos de *Cydia fagiglandana* por muestreo durante los años 2000, 2001 y 2002.

diéndose su presencia hasta mediados de febrero de 2001 (Fig. 4). En el año 2001, las larvas comenzaron a encontrarse en la copa desde mediados de julio y dejamos de recolectarlas en el suelo a finales de diciembre. En 2002, el periodo de larvas en frutos fue igual a 2001 pero se produjo un considerable

aumento de las densidades. En los dos últimos años aparecen dos grupos, uno pequeño al principio de los muestreos, y otro mayor a partir de la segunda semana de septiembre. Las densidades de ejemplares en esta fase, aumentaron a lo largo del periodo de estudio, pero presentaron un patrón similar todos los

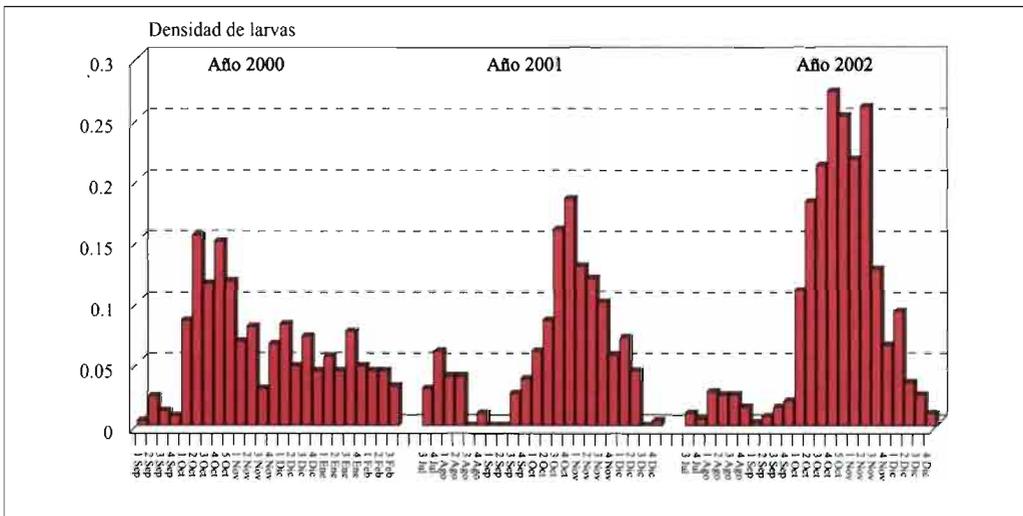


Figura 4. Densidad de larvas de *Cydia fagiglandana* desde el año 2000 a 2002.

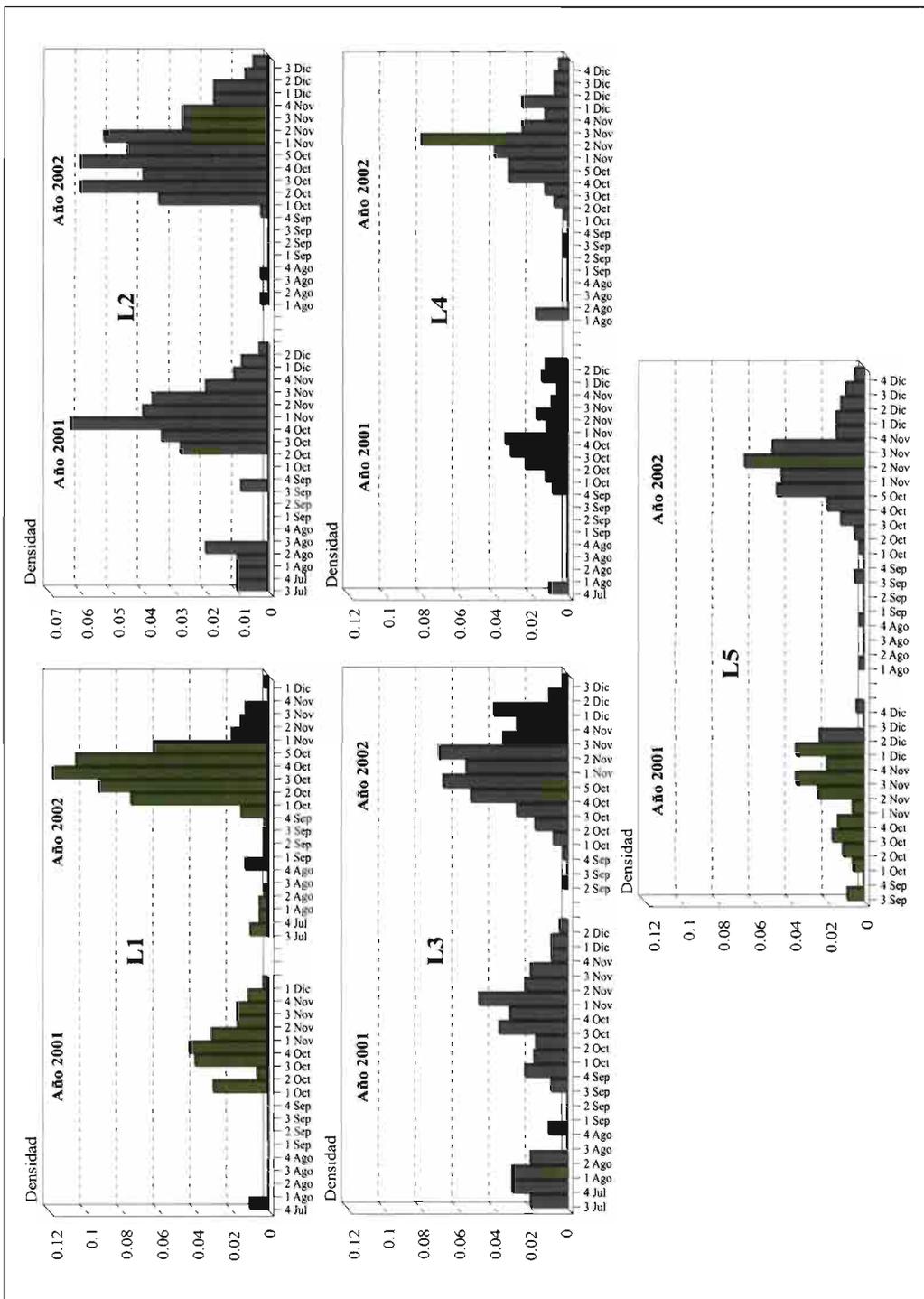


Figura 5. Densidad de larvas L₁, L₂, L₃, L₄ y L₅ de *Cydia fagiglandana* en los años 2001 y 2002.

años, con valores máximos en octubre y noviembre.

La evolución de los cinco estadios larvarios de *C. fagiglandana* encontrados en las bellotas recogidas durante los años 2001 y 2002 se muestra en la figura 5. En cada año y estadio se aprecian dos periodos diferentes de presencia de orugas en frutos. El primero con densidades bajas, entre finales de julio o principios de agosto hasta finales de septiembre o principios de octubre y el segundo, a partir de aquí, donde las densidades comenzaron a tener valores más altos. Es entre principios de octubre y finales de noviembre cuando se encontraron las densidades más altas, en todos los estadios.

Del cálculo de la densidad de los distintos estadios en los dos años (cuadro 2), destacar que en 2001, los valores de L_2 son mayores que los de L_1 y que en el resto de los casos, a partir de L_2 las densidades bajan hasta alcanzar un valor similar en los dos últimos estadios. Esta disminución es, aproximadamente, del 50%.

Cuadro 2. Densidades medias de los diferentes estadios de larvas de *Cydia fagiglandana*.

Estadio	Año 2001	Año 2002
L_1	0,016	0,024
L_2	0,024	0,018
L_3	0,022	0,017
L_4	0,014	0,013
L_5	0,015	0,012

Los orificios de salida en fruto nos indican el comienzo del periodo de hibernación de esta especie. Los orificios se observaron desde finales de septiembre o principios de octubre hasta el final de los muestreos (febrero en 2000 y diciembre en 2001 y 2002). En diciembre se encontró el máximo valor de larvas hibernantes en suelo y, a partir de mediados de este mes, no aumentó el número de orificios.

En 2001 y 2002 se encontraron 25 y 15 crisálidas respectivamente, en el periodo

comprendido entre los meses de mayo y septiembre. Estos resultados son poco significativos debido a la dificultad que entraña localizar las larvas hibernantes en el suelo y al alto grado de humedad que se alcanzó en las cajas de pupación durante el invierno, sin embargo, nos proporcionan una idea del periodo de crisalidación de esta especie, en esta zona.

DISCUSIÓN

Imagos

En principio, podríamos pensar que la considerable disminución en el número de imagos recogidos durante el año 2002, se podía deber a una disminución de la población de *Cydia fagiglandana*, pero esto no es posible porque como se observa en las figuras 3 y 4, tanto el número de puestas como la densidad de orugas aumentaron anualmente.

En la mayoría de los casos la emergencia de los adultos de lepidópteros está muy ligada a las temperaturas, lo que nos hace pensar que la aparición de adultos en el mes de mayo en 2001 se debe a que las temperaturas medias de abril en ese año (15,1°C) fueron más elevadas que en los otros dos años (11°C en 2000 y 13,5°C en 2002). Las bajas precipitaciones medias del mes de abril de 2001 (6 mm), también pueden ser uno de los factores abióticos que influyeron en la temprana emergencia de los imagos en este año (236 mm en 2000 y 87 mm en 2002; datos extraídos de la estación meteorológica de Almadén de la Plata, Sevilla).

Los datos bibliográficos (cuadro 3) y los obtenidos en este trabajo no muestran coincidencias en la mayoría de los casos, ya que sólo describen uno o dos valores máximos y los sitúan, principalmente, en agosto. Estas diferencias se deben, fundamentalmente, a que la localización geográfica de los estudios citados está muy alejada de la Sierra Norte de Sevilla, lugar donde se ha realizado el seguimiento durante esta investigación. Las temperaturas medias de las diferentes zonas difieren y, ésta es un factor determinante para la dinámica de las curvas

Cuadro 3. Cuadro resumen de la bibliografía sobre curvas de vuelo de *Cydia fagiglandana*.

Autor	Año	Periodo de vuelo	Nº de máximos	Fecha de valores máximos
Balachowsky	1966	Agosto a septiembre	-	-
Rotundo y Giacometti	1986	Final de julio a principios de octubre	varios	2ª y 3ª semana de agosto
Rotundo y Rotundo	1986	Final de julio a principios de octubre	-	-
Chianella <i>et al.</i>	1991	Mediados de julio a principios de octubre	-	-
Antonaroli	1992	Julio a finales de septiembre	2	Mediados y final de agosto
Gómez de Aizpurúa	1993	Junio a julio		
Baldassari <i>et al.</i>	1996	Finales julio a finales de septiembre	-	-
Angeli <i>et al.</i>	1997	Finales de julio a principios de septiembre	1	Mediados de agosto
Angeli <i>et al.</i>	1998	Finales de julio a mediados de agosto	2	Fin de julio y mediados agosto
Mansilla <i>et al.</i>	1999	2ª quincena agosto a finales de septiembre	-	-

de vuelo. La duración del periodo de vuelo es mayor en los encinares muestreados que en los castañares de la bibliografía (cuadro 3), encontrándose imagos desde finales de mayo-principios de junio, hasta mediados-finales de octubre. Al ser la encina un árbol que se localiza, generalmente, en zonas más cálidas que el castaño, propicia que las larvas que están hibernando se activen antes y den lugar a una aparición de imagos más temprana. Como se puede comprobar, vuelve a ser determinante el factor temperatura. Este factor influye, incluso, en las diferencias entre las curvas de vuelo de los distintos años del estudio, de manera que los valores máximos coinciden, aproximadamente, con los máximos de esta variable durante las semanas de capturas (Fig. 2). Esta relación entre temperatura y emergencia también fue observada por BOVEY *et al.* (1975) en sus estudios de *Cydia fagiglandana* en castañares de Francia.

Fases preimaginales

El periodo de puesta fue bastante amplio debido a un periodo de vuelo largo y escalonado de los adultos de *C. fagiglandana*. Los valores máximos de ambos periodos fueron próximos en el tiempo, sin embargo, durante el mes de septiembre de 2001 y 2002 apareció un máximo de puestas que coincidió con un momento de capturas mínimas de adultos. Este hecho tiene una difícil explicación ya

que si bien podría deberse a la dificultad que conlleva la recolección de estas puestas pequeñas y solitarias, nosotros pensamos que puede ser que en este periodo la mayor parte de la población de imagos fueran hembras, o bien, un problema de efectividad de los polilleros empleados durante este periodo otoñal donde las condiciones meteorológicas, fundamentalmente lluvia y viento, hacen difícil la captura.

Las orugas contabilizadas durante 2001 y 2002 desde julio a agosto (Fig. 3), se localizaron en unos pocos árboles con una fenología mucho más adelantada que el resto y, por lo tanto, sus bellotas estaban más desarrolladas. Se trata de una especie que necesita de un tamaño mínimo de los frutos para colonizarlos (JIMÉNEZ *et al.*, 2005), por este motivo aparece este pequeño grupo de orugas. Sin embargo, las densidades larvarias más altas se encontraron durante los meses de octubre y noviembre, periodo en que la mayoría de los frutos de la parcela presentaban un alto grado de madurez. Este hecho es compartido por otras especies carpófagas, como *Curculio elephas*, cuya hembra elige los frutos suficientemente maduros para depositar sus huevos (DESOUHANT *et al.*, 1998 y 2000; SORIA *et al.*, 2005).

La presencia de larvas en frutos fue de seis meses durante los tres años de seguimiento, pero con fechas más atrasadas en 2000 (Fig 3). Durante 2001 y 2002 no se

podieron recoger frutos en suelo a partir de diciembre ya que desaparecieron en su mayoría debido a un aumento de las poblaciones de roedores en la zona. Además, las bellotas recolectadas en fechas posteriores al mes de diciembre suelen proporcionar datos poco fiables debido a que un gran número de ellas sufren procesos de descomposición (DELPLANQUE *et al.*, 1986; HRASOVEC y MARGALETIAE, 1995). La permanencia en suelo de las orugas de *Cydia* va a depender de diversos factores, como la climatología o la disponibilidad de frutos, por este motivo los datos encontrados en la bibliografía también son dispares. VÁZQUEZ *et al.* (1990) recoge larvas hasta el mes de noviembre en Extremadura y SORIA y OCETE (1996) hasta finales de enero en otras zonas de la Sierra Norte de Sevilla, datos más parecidos a los encontrados en este trabajo.

En el estudio de seguimiento de los estadios larvarios de *C. fagiglandana* (Fig. 5), el primer grupo de orugas se encontraron en las encinas de fenología adelantada y es realmente el segundo grupo el que da una información más fiable de la distribución de densidades de los distintos estadios a lo largo del periodo de formación y madurez de las bellotas. Del estudio de las fases larvianas se deduce también una generación anual en la especie. Los valores máximos en octubre en la curva de vuelo (fig. 2) podrían deberse a una segunda generación de imagos, pero no es posible, ya que sería necesario un contingente elevado de larvas L₅ en septiembre que generaran a estos adultos, hecho que no ocurre. Este grupo es el resultado de la emergencia de los adultos procedentes de las larvas hibernantes del año anterior.

Durante el año 2002 las densidades larvianas bajaron progresivamente en cada estadio debido a la mortalidad que sufren estas larvas dentro y fuera del fruto, al igual que ocurre con otras larvas de carpófagos, por ejemplo *Cydia penkleriana* (GÁL y BÜRGÉS, 1987 b). En 2001, las densidades bajaron a partir de L₂, posiblemente debido a los problemas que tuvimos de localización de ese primer estadio durante ese año. Aunque la pérdida

de frutos que se produce en el suelo por predación es también un factor importante en la disminución de densidades.

A partir de finales de septiembre o principios de octubre las orugas de *C. fagiglandana* entran en periodo de hibernación, dato que es similar al obtenido para *C. penkleriana*, que comienza a encontrarse en el suelo a partir de octubre (BALACHOWSKY, 1966; GÁL y BÜRGÉS, 1987 a).

Ciclo biológico

A continuación se expone el ciclo biológico de *Cydia fagiglandana* con la fenología de la encina en la zona de estudio (fig. 6). Para su elaboración se han utilizado los datos anteriormente expuestos así como observaciones adicionales.

Sólo hay una generación al año, como se indica en los trabajos realizados por BALACHOWSKY (1966), ROTUNDO y ROTUNDO (1986) y MANSILLA *et al.* (1999 c), entre otros. Aunque en la figura 2 se observan varios valores máximos, los primeros adultos que aparecen y podrían dar lugar a otras generaciones, lo hacen en periodos donde los frutos no están lo suficientemente formados como para que sus larvas entren y se desarrollen pudiendo dar lugar a otra generación.

Los adultos poseen un periodo de vuelo que comienza a finales de mayo o principios de junio y termina a finales de octubre. Las puestas se encuentran desde finales de junio o principios de julio hasta finales de octubre, es decir, aproximadamente, un mes después de la aparición de los imagos machos. Las puestas se localizan de forma aislada en el haz de las hojas de los brotes nuevos, encontrando pocas veces más de un huevo por hoja. No se ha podido precisar cuál es el tiempo de desarrollo del huevo, ya que no había frutos lo suficientemente formados en las fechas en las que aparecieron las primeras puestas y las larvas a las que dan lugar no se introdujeron en los frutos, no teniéndose, así, indicios del momento de su eclosión.

Las larvas son solitarias, rara vez se encontrarán dos larvas en un mismo fruto debido a

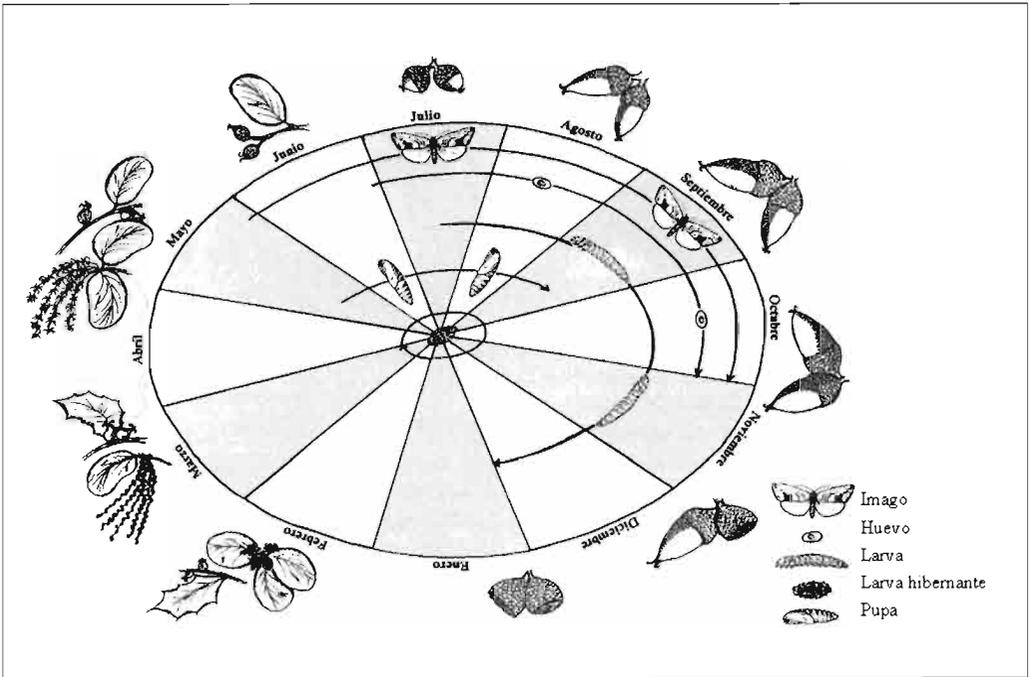


Figura 6. Resumen del ciclo biológico de *Cydia fagiglandana*.

que presentan un cierto grado de repelencia entre ellas, tendiendo a seleccionar las bellotas que no están ocupadas por otros carpófagos (SORIA *et al.*, 1999 a; JIMÉNEZ *et al.*, 2005). En sus primeros estadios, son de color blanquecino con algunas zonas en tonos rosados. Se suelen localizar en la base del fruto, más concretamente en la zona de la placenta, dentro del endocarpo, o entre el albumen y el endocarpo. Se alimentan del albumen, dejando en él una galería llena de excrementos de aspecto granulado y sin sedas. A medida que crecen van formando galerías hacia la parte apical del fruto, casi siempre por la parte exterior, entre el albumen y el endocarpo. En su último estadio llegan al centro del fruto. Durante todo el desarrollo larvario, los excrementos en su mayoría quedan dentro del fruto.

Si se tiene en cuenta el tiempo transcurrido desde que se alcanzó el valor máximo de la densidad de las larvas L₁ hasta el de las L₅, se puede definir, aproximadamente, la duración del desarrollo de los cinco estadios lar-

varios en campo. En nuestra zona, el desarrollo se produce durante unos 30 ó 40 días, dependiendo del año. Al igual que ocurre con *C. penkleriana* (BOVEY *et al.*, 1975; ROTUNDO y ROTUNDO, 1986; GÁL y BÚRGES, 1987 a), la duración de la fase larvaria depende de las temperaturas.

La presencia de larvas en frutos es extensa, 6 meses. A partir de finales de septiembre o principios de octubre, las orugas realizan un pequeño orificio en el endocarpo del fruto y salen de éste para refugiarse fuera y comenzar su etapa de hibernación. En esta fase, las orugas se encuentran bajo la hojarasca y cáscaras de bellotas que están bajo la copa de la encina, protegidas por un capullo de seda con pequeñas partículas del suelo o por un cocón terroso, que mide unos 10-12 mm.

Las crisálidas aparecen, principalmente, en el periodo comprendido entre los meses de mayo y septiembre. Se localizan en el suelo, bajo la hojarasca o en los restos de bellotas. La crisálida, poco antes de que se

produzca la emergencia del adulto, sale del capullo de seda o cocón, ayudándose con una estructura quitinosa que posee en su

cabeza en la zona frontal, quedándose sujeta a aquellos con su cremáster, mientras que se produce la emergencia del adulto.

ABSTRACT

JIMÉNEZ A., F. J. SORIA, M. VILLAGRÁN, M. E. OCETE. 2006. Monitoring of biological cycle of *Cydia fagiglandana* (Zeller) (Lepidoptera: Tortricidae) in a holm-oak wood in southern Spain. *Bol. San. Veg. Plagas*, **32**: 157-168.

Cydia fagiglandana (Zeller) (Lepidoptera: Tortricidae) is a carpophagous insect which affect the quality and viability of fruits of oak and chesnut trees. In holm-oak wood, the majority of works about this specie assess its damages. For this reason, we think that is interesting the study of biological cycle of *C. fagiglandana* in a holm-oak wood in southern Spain.

In study area *C. fagiglandana* has one year generation. Adults emergence from late May or the beginning of June to the end of October. Egg-laying begins in late June or early July to late October. Usually one egg is laid inside of the new shoot leaves near the acorns. Larvae appeared in middle July to late December. Larvae have endophytic development in the acorns during 30 to 40 days. Diapause period begins in late September or early October.

Key words: *Cydia fagiglandana*, carpophagous, holm oak, acorns, *Quercus* sp., biological cycle.

REFERENCIAS

- ANGELI G., ANTONAROLI R., NANNI C. y RAMA F. 1997. Prime esperienze di contenimento delle due tortrici del castagno *Cydia fagiglandana* e *C. splendana* con la técnica della confusione sessuale. *Informatore Fitopatologico*, **XLVII**, 1: 65-70.
- ANGELI G., RAMA F., IORIATTI C. y WITZGALL P. 1998. Valutazione di trappole e feromoni sessuali per il monitoraggio delle tre Cidie del castagno *Pammene fasciana* L., *Cydia fagiglandana* Zel. e *Cydia splendana* HB. *ATTI Giornate Fitopatologiche*: 287-292.
- BALACHOWSKY, A. S., 1966. *Entomologie appliquée a L'agriculture*. T. I, Vol. 2. Masson et Cie. Ed. Paris.
- BONNEMAISON L. 1964. Enemigos animales de las plantas cultivadas y forestales. T. II. Ed. Occidente S.A. Barcelona.
- BOVEY P., LINDER A. y MÜLLER O. 1975. Recherches sur les insectes des châtaignes au Tessin (Suisse). *Schweiz Zeits. Forstwesen*, **126**: 781-820.
- CHAMBON J. P., 1999. Atlas des genitalia mâles des lépidoptères Tortricidae. France et Belgique. Edit. INRA. Paris.
- DELPLANQUE A., AUGUSTIN S. y METREAU C. 1986. Analysis of the repartition of *Curculio* and *Laspeyresia* in the acorn production of one Oak (*Q. petraea*) in Central France. Proceedings of the 2nd Conference of the Cone and Seed Insects, 53-58.
- DEN OTTER C. J., DE CRISTOFARO A., VOSKAMP K. E. y ROTUNDO G. 1996. Electrophysiological and Behavioural responses of chestnut moths, *Cydia fagiglandana* and *C. splendana* (Lep., Tortricidae), to sex attractants and odours of host plants. *J. Appl. Ent.*, **120**: 413-421.
- DESOUHANT E., DEBOUZIE D. y MENU F. 1998. Oviposition pattern of phytophagous insects: on the importance of host population heterogeneity. *Oecologia*, **114**: 382-388.
- DESOUHANT E., DEBOUZIE D., PLOYE H. y MENU F. 2000. Clutch size manipulations in the chesnut weevil, *Curculio elephas*: fitness of oviposition strategies. *Oecologia*, **122**: 493-499.
- GÁL T. y BÜRGÉS G. 1987 a. Zur verbreitung und lebensweise der Eichemotte (*Laspeyresia splendana* Hbn.; Lep., Tortricidae) in Ungarn. 1. Verbreitung, schaden un schwärmen. *J. Appl. Ent.*, **103**: 127-135.
- GÁL, T. y BÜRGÉS, G., 1987 b. Zur verbreitung und lebensweise der Eichemotte (*Laspeyresia splendana* Hbn.; Lep., Tortricidae) in Ungarn. 2. Bionomie und natürliche Feinde. *J. Appl. Ent.*, **103**: 363-368.
- HRASOVEC B. y MARGALETIAE J. 1995. Seed pest impact on reforestation efforts in Croatia. <http://hrast.su>.
- JIMÉNEZ A., SORIA F. J., VILLAGRÁN M. y OCETE M. E., 2005. Distribución espacial y temporal de *Cydia fagiglandana* (Zeller) (Lepidoptera: Tortricidae) en un encinar del suroeste de España. *Boln. S.E.A.*, **37**: 283-288.
- JIMÉNEZ P. y GIL L., 2000. Conservación de recursos genéticos de los *Quercus* Mediterráneos en España. *Investigación Agraria. Sistema y Recursos Forestales* fuera de Serie, nº 2: 103-117.
- LEIVA M. J. y FERNÁNDEZ-ALES R. 2005. Holo-oak (*Quercus ilex* Subs. *ballota*) acorns infestation by

- insects in Mediterranean dehesas and shrublands. Its effect on acorn germination and seedling emergence. *Forest Ecology and Management*, **212**: 221-229.
- MANSILLA J. P., PÉREZ R., PINTOS C., SALINERO M. C. e IGLESIAS C. 2000. Plagas y enfermedades del castaño en Galicia. Consellería de Agricultura, Ganadería e Política Agroalimentaria.
- MANSILLA P., PÉREZ R. y SALINERO C. 1999a. Estudios y ensayos de control integrado de los insectos carpófagos del castaño. *Phytoma España*, **112**: 22-30.
- MANSILLA P., PÉREZ R., SALINERO C. y VELA P. 1999b. Control integrado de las plagas del castaño en el área de Verín (Orense): resultado de tres años de experiencia. *Bol. San. Veg. Plagas*, **25**: 297-310.
- MANSILLA P., PÉREZ R., SALINERO M. C. e IGLESIAS C. 1999 c. Invasión de vermes na castaña producida por *C. fagiglandana* e *L. splendana*. Monografía Xunta de Galicia, Consellería de Agricultura, Ganadería e Política Agroalimentaria.
- MARTÍN A., BARONIO P., BALDASSARI N. y ROCCHETA G. 1998. I lepidotteri tortricidi del castagno (*Pammene fasciana* (L.), *Cydia fagiglandana* (Zel.) e *Cydia splendana* (Hb.)) valutati come un'unica entità di danno. *Boll. Ist. Ent. "G. Grandi"* Univ. Bologna, **52**: 105-114.
- MINISTERIO DE AGRICULTURA, PESCA Y ALIMENTACIÓN, 1999. Anuario de Estadística Agroalimentaria. Madrid.
- PAPARATTI B. y SPERANZA S. 1999. Biological control of chestnut weevil (*Curculio elephas* Gyll.; Coleoptera, Curculionidae) with the entomopathogen fungus *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuill. (Deuteromycotina, Hyphomycetes). Proc. 2nd Int. Symp. on Chestnut, Acta Hort. 494, G. Salesses.
- ROTUNDO G. y GIACOMETTI R. 1986. Realtà e prospettive di lotta alle tortrici delle castagne. *L'Informatore Agrario*, **XLII** (41): 69-73.
- ROTUNDO G. y ROTUNDO A. 1986. Principali fitofagi delle castagne: recenti acquisizioni sul controllo chimico e biologico. *Giornate di studio sul Castagno*. Caprarola (VT): 3-19.
- ROTUNDO G. y GIACOMETTI R. 1988. Individuazione di una miscela attrattiva per maschi di *Cydia fagiglandana* Z. (Lep. Tortricidae) mediante studio di campo. *Boll. Lab. Ent. Agr. Filippo Silvestri*, **45**: 81-97.
- ROTUNDO G., GIACOMETTI R. y ROTUNDO A. 1984. Individuazione degli attrattivi sessuali dei Tortricidi delle castagne mediante studio elettroantennografico e di campo. *Boll. Lab. Ent. agr. Filippo Silvestri*, **41**: 211-224.
- SCARASCACIA-MUGNOZZA, G.; OSWALD, H.; PIUSSI, P. y RADOGLU, K., 2000. Forest of the Mediterranean Region: gaps in Knowledge and research needs. *Forest Ecology and Management*, **132**: 97-109.
- SORIA F. J. y OCETE M. E. 1996. Principales Tortricidos perforadores del fruto del alcornoque en la Sierra Norte de Sevilla. *Bol. San. Veg. Plagas*, **22** (1), 63-69.
- SORIA F. J., CANO E. y OCETE M. E. 1996. Efectos del ataque de fitófagos perforadores en el fruto de la encina (*Quercus rotundifolia* Lam.). *Bol. San. Veg. Plagas*, **22**: 427-432.
- SORIA F. J., CANO E. y OCETE M. E. 1999 b. Valoración del ataque de *Curculio elephas* (Gyllenhal) (Coleoptera, Curculionidae) y *Cydia* spp. (Lepidoptera, Tortricidae) en el fruto de alcornoque (*Quercus suber* Liné). *Bol. San. Veg. Plagas*, **25**: 69-74.
- SORIA F. J., JIMÉNEZ A., VILLAGRÁN M. y OCETE M. E. 2005. Relación entre la colonización de la encina por *Curculio elephas* (Gyllenhal) (Coleoptera: Curculionidae) y el periodo de caída natural de los frutos. *Bol. San. Veg. Plagas*, **31**: 365-375.
- SORIA F. J., VILLAGRÁN M., DEL TÍO R. y OCETE M. E. 1994. Estudios prospectivos de los principales perforadores del alcornoque en la Sierra Norte de Sevilla. *Bol. San. Veg. Plagas*, **20**: 643-651.
- SORIA F. J., VILLAGRÁN M., MARTÍN P. y OCETE M. E. 1999 a. *Curculio elephas* (Gyllenhal) (Col.: Curculionidae) y *Cydia fagiglandana* (Zeller) (Lep.: Tortricidae) en encina (*Quercus rotundifolia* Lam.): infestación y relaciones interespecíficas. *Bol. San. Veg. Plagas*, **25**: 125-130.
- SPERANZA S. 1999. Chestnut pests in Central Italy. Proc. 2nd Int. Symp. on Chestnut, Acta Hort. 494, G. Salesses.
- VÁZQUEZ F. M., ESPARRAGO F., LÓPEZ J. A. y JARAQUEMADA F. 1990. Los ataques de *Curculio elephas* Gyll. (*Balaninus elephas*) y *Carpocapsa* sp. L. sobre *Quercus rotundifolia* Lam. en Extremadura. *Bol. San. Veg. Plagas*, **16**, 755-759.
- VILLAGRÁN M., JIMÉNEZ A., SORIA F. J. y OCETE M. E., 2002. Muestreo aleatorio simple y muestreo sistemático de las poblaciones de *Curculio elephas* (Gyllenhal) (Col: Curculionidae) y *Cydia fagiglandana* (Zeller) (Lep: Tortricidae) en encinas. *Bol. San. Veg. Plagas*, **28** 59-66.

(Recepción: 8 noviembre 2005)

(Aceptación: 18 marzo 2006)

Utilização de armadilhas cromotrópicas na monitorização de *Liriomyza* spp. (Diptera: Agromyzidae) e dos seus parasitóides, no feijão-verde

M. A. GONÇALVES

Estudou-se o efeito da altura de colocação das armadilhas cromotrópicas adesivas na captura de adultos das larvas mineiras do género *Liriomyza* e dos seus parasitóides, *Dacnusa sibirica* (Telenga) e *Diglyphus isaea* (Walker), na cultura do feijão-verde (*Phaseolus vulgaris*), em estufa. Colocaram-se três armadilhas por planta num total de dez plantas. As armadilhas foram colocadas verticalmente, em rotação livre, a três alturas diferentes de modo a constituírem três estratos [estrato 1: até 50 cm (zona baixa); estrato 2: entre 50 e 100 cm (zona média) e estrato 3: topo da planta]. Semanalmente, os insectos capturados foram contabilizados e caracterizados.

Para a praga, os resultados obtidos indicam-nos que é indiferente a altura de colocação das armadilhas, pois não se verificaram diferenças significativas, no número de insectos capturados, entre os vários estratos, embora se tenham capturado mais mineiras no estrato 3. Relativamente aos auxiliares verificou-se que *D. isaea* foi a espécie mais representativa na cultura, tendo-se capturado significativamente mais indivíduos desta espécie no estrato 3. Quanto ao parasitóide *D. sibirica* capturaram-se mais indivíduos no estrato 1 e menos no estrato 3. Concluímos então que, sendo *D. isaea* o parasitóide mais representativo na cultura do feijão-verde, então as armadilhas cromotrópicas devem de ser colocadas na zona baixa das plantas, ou seja, até 50 cm acima da superfície do solo, de modo a que a esta espécie seja preservada.

M. A. GONÇALVES. Universidade do Algarve /FERN, Campus de Gambelas, 8005-139 FARO
magoncal@ualg.pt

Palavras chave: larvas mineiras, *Dacnusa sibirica*, *Diglyphus isaea*, *Phaseolus vulgaris*.

INTRODUÇÃO

As larvas mineiras pertencentes ao género *Liriomyza* constituem pragas de importância agronómica, quer em hortícolas quer em ornamentais, em todo o mundo. Em Portugal, algumas espécies de *Liriomyza* encontram-se por todo o país, em especial na orla litoral do Minho ao Algarve (GONÇALVES, 2001). A espécie *L. trifolii* (Burgess) foi assinalada pela primeira vez, em Portugal, no ano de 1985 (SEYMOUR *et al.*, 1986) e a

espécie *L. huidobrensis* (Blanchard) foi detectada em 1991, em várias culturas de estufa na região do Entre Douro e Minho (LEITE, 1992). No Algarve, podemos encontrar as larvas mineiras praticamente durante todo o ano nas nossas estufas e em algumas culturas de ar livre (GONÇALVES, 2001; GONÇALVES, 2004, GONÇALVES, 2005). O seu rápido incremento deve-se, principalmente, ao seu enorme potencial reprodutivo, à sua polifagia, à sua natureza multivoltina e capacidade de criar rapidamente resistência aos

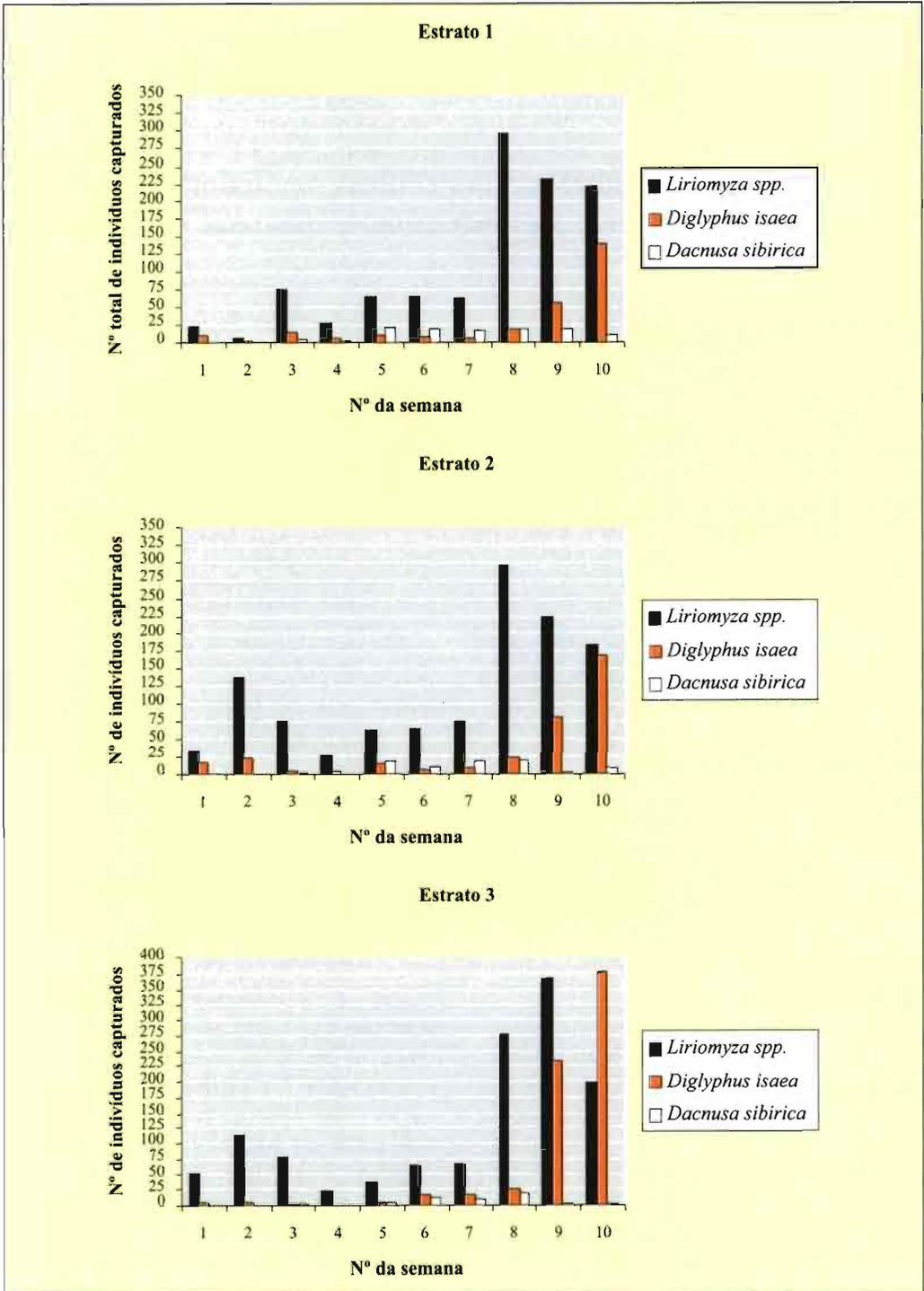


Figura 1. Nº total de indivíduos capturados por estrato, na cultura do feijão-verde.

pesticidas. Constituíram objectivo deste trabalho o estudo da dispersão espacial dos insectos na canópia da planta hospedeira e a determinação da altura de colocação das armadilhas que conduza a uma maximização de captura de indivíduos da praga preservando os parasitóides *Dacnusa sibirica* (Telenega) e *Diglyphus isaea* (Walker).

MATERIAL E MÉTODOS

Utilizaram-se armadilhas cromotrópicas adesivas amarelo-limão constituídas por placas de acrílico Plexiglas, 10 x 15 cm², de 3 mm de espessura, com ambas as faces cobertas por cola Napvis. As armadilhas foram colocadas verticalmente, em rotação livre, a três alturas diferentes em relação ao tamanho da planta, de modo a constituírem três estratos. O estrato 1 (zona baixa: até 50 cm) correspondia a um terço da altura da planta, o estrato 2 (zona média: entre 50 a 100 cm)

correspondia a dois terços da altura da planta e o estrato 3 (zona alta) correspondia ao topo da canópia. Colocaram-se três armadilhas em cada planta, uma por estrato, num total de dez plantas, distribuídas em zigzague por toda a estufa. Semanalmente, fez-se a substituição das placas, a contagem e caracterização dos insectos capturados. Os resultados obtidos foram sujeitos a uma análise de variância (ANOVA) seguida pela aplicação do teste de Duncan (P< 0,05), para verificar a existência de diferenças significativas entre as médias.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante as nossas observações tivemos em conta o número total de indivíduos e o número de machos e de fêmeas da mineira e o número total de parasitóides, *D. sibirica* e *D. isaea*. Na Figura 1 estão representados graficamente os valores das capturas sema-

Tabela 1. Resultados da ANOVA para machos, fêmeas e total de indivíduos de *Liriomyza* spp., na cultura do feijão-verde (P< 0,05).

<i>Liriomyza</i> spp.										
Fontes de Variação	Machos				Fêmeas			Total		
	G.L.	S.Q.	F	P	S.Q.	F	P	S.Q.	F	P
Estrato	2	13,55	0,43	0,6480	26,16	0,50	0,6080	49,92	0,34	0,7114
Semana	9	5817,68	41,48	0,0001	7550,65	31,98	0,0001	26511,21	40,24	0,0001
Estrato x Semana	18	227,32	0,81	0,6877	517,51	1,10	0,3561	1368,75	1,04	0,4163
Erro	270	4208,00			7084,20			19765,60		
Total	299	10266,55			15178,52			47695,48		

Tabela 2. Resultados da ANOVA para os parasitóides *Dacnusa sibirica* e *Diglyphus isaea*, na cultura do feijão-verde (P< 0,05).

Fontes de Variação	Parasitóides							
	<i>Dacnusa sibirica</i>				<i>Diglyphus isaea</i>			
	G.L.	S.Q.	F	P	S.Q.	F	P	
Estrato	2	13,53	5,88	0,0032	890,96	5,28	0,0057	
Semana	9	145,14	14,02	0,0001	14747,16	19,40	0,0001	
Estrato x Semana	18	25,67	1,24	0,2286	4380,91	2,88	0,0001	
Erro	270	310,50			22799,30			
Total	299	494,84			42818,33			

Tabela 3. Médias do número de machos, de fêmeas e do total de indivíduos de *Liriomyza* spp., capturados por estrato de planta, respectivos desvios padrão (s) e resultados do teste de Duncan.

<i>Liriomyza</i> spp.								
Machos			Fêmeas			Total		
Média	T. Duncan	Estrato	Média	T. Duncan	Estrato	Média	T. Duncan	Estrato
s=5,859			s=7,125			s=12,629		
5,900	A	3	6,680	A	3	12,780	A	3
5,660	A	2	6,580	A	1	12,060	A	1
5,380	A	1	6,160	A	2	11,820	A	2

Nota: Os valores abrangidos pela mesma letra não são significativamente diferentes.

Tabela 4. Médias do número de indivíduos de *Dacnusa sibirica* e de *Diglyphus isaea*, capturados por estrato de planta, respectivos desvios padrão (s) e resultados do teste de Duncan.

Parasitóides					
<i>Dacnusa sibirica</i>			<i>Diglyphus isaea</i>		
Média	T. Duncan	Estrato	Média	T. Duncan	Estrato
s=1,286			s=11,967		
1,120	A	1	6,750	A	3
0,850	AB	2	3,370	B	2
0,600	B	3	2,870	B	1

Nota: Os valores abrangidos pela mesma letra não são significativamente diferentes.

nais da mineira e dos parasitóides, por estrato de planta, na cultura do feijão-verde. Por observação da referida Figura verifica-se que, quer a mineira quer os parasitóides, seguem o mesmo padrão de variação sazonal, nos três estratos da planta. Nas Tabelas 1 e 2 estão representados os resultados da análise de variância para a mineira e seus parasitóides. As Tabelas 3 e 4 traduzem os resultados do teste de Duncan, para a mineira e parasitóides, respectivamente. Nesta cultura, machos e fêmeas da praga apresentam o mesmo comportamento em relação aos estratos da planta. O valor da probabilidade calculada é superior a 0,05. A análise de variância e o teste de Duncan indicam que não existem diferenças significativas, entre os estratos da planta, relativamente aos números de fêmeas, de machos e total de indivíduos capturados (Tabelas 1 e 3). No entanto, o estrato 3 foi aquele onde se capturaram mais indivíduos da praga (nº médio de machos: 5,900; nº médio de fêmeas: 6,680). Capturaram-se menos machos no

estrato 1 (nº médio de machos: 5,380) e menos fêmeas no estrato 2 (nº médio de fêmeas: 6,160). Relativamente à média total de indivíduos de *Liriomyza* spp., capturaram-se mais insectos no estrato 3 (12,780) e menos no estrato 2 (11,820). Vários autores compararam diferentes alturas de colocação das armadilhas cromotrópicas, em relação à altura da planta, na captura de *Liriomyza* spp. e concluíram que é nas zonas baixa e média que se capturam mais indivíduos da praga (CHANDLER, 1985; ZOEBISH, 1990; JONGDAE *et al.*, 2001), pelo existe alguma discordância com os nossos resultados, uma vez que capturámos mais indivíduos da praga na zona alta, seguida pelas zonas baixa e média. No entanto, os nossos resultados estão de acordo com os resultados obtidos por HASSAN & MOHAMMED (2004). Estes autores não verificaram a existência de diferenças significativas entre os vários estratos da planta, relativamente ao número de indivíduos de *Liriomyza* sp. capturados. No que respeita aos parasitóides, a análise de variância indi-

ca que existem diferenças altamente significativas, entre os estratos, relativamente ao número de indivíduos capturados de ambas as espécies de parasitóides (Tabela 2). O teste de Duncan indica que existem diferenças significativas, entre os estratos da planta, relativamente ao parasitóide *D. sibirica* (Tabela 4). Capturaram-se mais indivíduos no estrato 1 (1,120) e menos no estrato 3 (0,600). No estrato 2 observou-se uma situação intermédia entre os estratos 1 e 3 (0,850). Para *D. isaea*, o referido teste indica que foi no estrato 3 que se capturaram significativamente mais indivíduos (6,750) (Tabela 4). Entre os estratos 2 e 1 não houve dife-

renças significativas, embora tenha sido no estrato 2 que se capturaram mais insectos da espécie *D. isaea*.

CONCLUSÕES

Os nossos resultados permitem-nos concluir que é indiferente a altura de colocação das armadilhas, na captura de indivíduos de *Liriomyza* spp., nesta cultura, nas nossas condições. Mas, se tivermos em consideração a minimização das capturas dos parasitóides, então, aconselhamos a colocação das armadilhas a uma altura correspondente à zona baixa.

RESUMEN

GONÇALVES M. A. 2006. Utilización de trampas cromotrópicas en la monitorización de *Liriomyza* spp. (Diptera: Agromyzidae) y de sus parasitoides, en judías verdes. *Bol. San. Veg. Plagas*, **32**: 169-174.

Se estudió el efecto de la altura de colocación de trampas cromotrópicas adhesivas en la captura de adultos de larvas minadoras del genero *Liriomyza* y de sus parasitoides, *Dacnusa sibirica* (Telenga) y *Diglyphus isaea* (Walker), en el cultivo de judía verde (*Phaseolus vulgaris*), en invernadero. Se colocaron tres trampas por planta en un total de diez plantas. Las trampas se colocaron en posición vertical, en rotación libre, a tres alturas diferentes creando tres estratos (estrato 1: hasta 50 cm (zona baja); estrato 2: entre 50 y 100 cm (zona media) y estrato 3: parte superior de la planta). Semanalmente, los insectos capturados fueron contabilizados y caracterizados.

Para la plaga, los resultados obtenidos indican que la altura de colocación de las trampas es indiferente, pues no se verificaron diferencias significativas en el número de insectos capturados entre los varios estratos, aunque se tengan capturado más minadoras en el estrato 3. Con relación a los auxiliares se verificó que *D. isaea* fue la especie más representativa en el cultivo, se capturaron significativamente más individuos de esta especie en el estrato 3. En cuanto al parasitóide *D. sibirica* se capturaron más individuos en el estrato 1 y menos en el estrato 3. Se concluye que, siendo *D. isaea* el parasitóide más representativo en judía verde, las trampas cromotrópicas deberán ser colocadas en la zona baja de las plantas, o sea, hasta 50 cm sobre la superficie del suelo, de modo a que esta especie sea conservada.

Palabras clave: larvas minadoras, *Dacnusa sibirica*, *Diglyphus isaea*, *Phaseolus vulgaris*.

ABSTRACT

GONÇALVES M. A. 2006. Yellow sticky traps for sampling populations of *Liriomyza* spp. and their parasitoids in green beans. *Bol. San. Veg. Plagas*, **32**: 169-174.

The influence of height of yellow sticky traps on capture of adults *Liriomyza* spp. and their parasitoids, *Dacnusa sibirica* (Telenga) and *Diglyphus isaea* (Walker), in protected green beans (*Phaseolus vulgaris*), was studied. The main goal of this study was the evaluation of insect spacial activity in the host plant and the determination of the best position of the traps to capture adults of the leafminer taking into account the preservation of natural enemies. Three traps were placed in each green bean plant. A total of ten green beans plants were used. The traps were placed vertically in free rotation at three different

levels [first level: until 50 cm; second level: between 50 and 100 cm and third level: top of the plant]. Weekly, the captured insects were counted and identified.

Results showed that for leafminers the height of the traps it was not significant, besides more individuals were captured in third level. For parasitoids it was verified that *D. sibirica* preferred the first level, however *D. isaea* preferred the third level. This parasitoid is the most important in our region, so the traps must be placed at the first level, in green beans plants.

Key words: leafminers, *Dacnusa sibirica*, *Diglyphus isaea*, *Phaseolus vulgaris*.

REFERENCIAS

- CHANDLER, L. D. 1985. Flight activity of *Liriomyza trifolii* (Diptera: Agromyzidae) in relation to placement of yellow traps in bell peppers. *J. Econ. Entomol.*, **78** (4): 825-828.
- HASSAN, A. A., MOHAMMED, A. D. 2004. Trapping efficiency of various colored traps for insects in cucumber crop under greenhouse conditions in Riyadh, Saudi Arabia. *Pakistan J. Biological Sciences*, **7** (7): 1213- 1216.
- GONÇALVES, M. A. A. C. 2001. Estudos bioecológicos da mosca mineira *Liriomyza* (Diptera: Agromyzidae) e dos seus parasitóides, em culturas protegidas, no Algarve. Dissertação de Doutoramento em Ciências Agrárias - especialidade Protecção de Plantas, Universidade do Algarve, 322pp.
- GONÇALVES, M. A. 2004. Diferenças morfológicas entre duas espécies de larvas mineiras *Liriomyza* (Diptera: Agromyzidae), existentes no Algarve. XI Congresso Ibérico de Entomologia, Funchal- Madeira: 195.
- GONÇALVES, M. A. 2005. Utilização de armadilhas cromotrópicas na monitorização de *Liriomyza* spp. e dos seus parasitóides, no tomate. V Congresso Ibérico de Ciências Hortícolas/IV Congresso Iberoamericano de Ciências Hortícolas, Porto – Portugal: 88-92.
- JONGDAE, P., YONGSOO, K., DUKSOO, C., SANGSOO, K. 2001. Damage aspects, seasonal fluctuations, and attractivity of various colors on *Liriomyza trifolii* Burgess (Diptera: Agromyzidae) in gerbera. *Korean J. Appl. Entomol.*, **40** (2): 97-103.
- LEITE, E. L. 1992. Larva mineira sul americana, *Liriomyza huidobrensis*, uma nova praga na hortofloricultura do entre douro e Minho. *Minho Terra Homem*, **23**: 26-29.
- SEYMOUR, P. R., DAVIS, M. E., ROBERTS, H. 1986. Insects and others invertebrates found in plant material import into England and Wales. ADAS, 442 (85), 72pp.
- ZOEBISH, T. G. 1990. Influence of height of yellow sticky cards on captures of adult leafminer (*Liriomyza trifolii*) (Diptera: Agromyzidae) in stacked tomatoes. *Fl. Entomol.*, **73** (3): 505-507.

(Recepción: 21 diciembre 2005)

(Aceptación: 27 febrero 2006)

***Scymnus (Pullus) cercyonides* Woll. Posibilidades en el control biológico**

F. M. HODGSON, C. D. LORENZO, C. PRENDES, R. CABRERA

En este trabajo se presenta la bioecología de *Scymnus (Pullus) cercyonides* Woll. Se estudian no sólo las características morfológicas de la especie, sino también su biología, especies de las que se alimenta, desarrollo y reproducción en condiciones de laboratorio, al mismo tiempo que se muestra su ciclo biológico en su medio natural, distribución, etología, competidores y enemigos naturales.

Esta especie tiene hábitos carnívoros, mostrando una clara preferencia por los áfidos, por lo que su carácter beneficioso como controlador de plagas es evidente.

F.M. HODGSON, C.D. LORENZO, C. PRENDES, R. CABRERA. U.D.I. de Fitopatología. Dpto. de Biología Vegetal. Universidad de La Laguna. Avda. Fco. Sánchez, s/n. 38206. La Laguna. Canarias.

clorenzo@ull.es, cprendes@ull.es, rcabrera@ull.es
Grupo de investigación CIPEV

Palabras clave: *Scymnus (Pullus) cercyonides*, biología, distribución, ciclo biológico, competidores, etología, enemigos naturales.

INTRODUCCIÓN

Las experiencias llevadas en Canarias sobre lucha biológica, son pocas y están muy dispersas. Existen trabajos de investigación basados en la búsqueda de depredadores o enemigos naturales con el fin de potenciar este tipo de control contra determinadas plagas que aparecen, bastante frecuentes, en la flora ornamental y en los cultivos del Archipiélago. Por ello, se ha decidido realizar este trabajo de investigación basado en el uso de depredadores ya existente en el Archipiélago para el control de determinadas plagas de interés agrícola y forestal.

La voracidad de los coccinélidos es representativa del beneficio que producen, puesto que se ha constatado que un solo individuo puede llegar a devorar del orden de diez o más áfidos por día.

El género *Scymnus* muestra una especificidad muy concreta en lo que se refiere a su alimento (DAUGUET, 1.949), ya que sus especies canarias, entre las que se encuentra *Scymnus (Pullus) cercyonides* Woll., lo hacen de un determinado grupo de invertebrados (áfidos), no manifestando ninguna otra predilección al cambiarles la fuente alimenticia. Esto sugiere que, al emplear a estos individuos en el control biológico, el desarrollo del ciclo biológico no está solo en función del tipo de alimento que forma parte de su dieta sino que también dependerá directamente del ciclo biológico de sus presas (DEBACH, 1.977).

MATERIAL Y MÉTODOS

En primer lugar se procedió a la revisión bibliográfica orientada hacia el género *Scymnus* uno de los mejores representados y

poco estudiado desde el punto de vista de lucha biológica, en las Islas. Se ampliaron los conocimientos que sobre la anatomía o morfología externa se tenía sobre estos insectos, para lo que se efectuaron disecciones extrayéndose las piezas o partes más interesantes para su posterior clasificación (PLAZA, 1.977).

Paralelamente al estudio del material muerto, se llevó a cabo la "cria" en el laboratorio de *S. cercyonides* (Fig. 1). Las capturas se realizaron con "cazamariposas" introduciéndose los ejemplares en frascos de vidrio cubiertos con una fina malla de seda para ser trasladados vivos al laboratorio. Las salidas al campo se realizaron durante todo el año para comprobar la presencia de la especie y su desarrollo evolutivo en su medio natural.

La experiencia de laboratorio supuso una dedicación casi exclusiva al desarrollo de esta especie, pues para poder concluir con éxito la misma, fue necesario seguir una serie de normas y pasos que condujeron hacia la obtención de las conclusiones. Se hizo un seguimiento exhaustivo de todas y cada una de las fases por la que pasa el insecto, esto supuso estudiar: fecha y modo de llevar a cabo la copula, tiempo de duración del apareamiento y periodicidad del mismo, búsqueda por parte de los individuos de su alimento, puesta de huevo, tiempo de incubación y eclosión, estudio de la larva de pri-

mera edad, observación de la larva de segunda edad, observación de la larva de tercera edad, observación de la larva de cuarta edad, observación de la prepupa, observación del estado de pupa, emergencia del adulto.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Scymnus (Pullus) cercyonides Woll.

Scymnus cercyonides Wollaston, 1864:428

Descripción:

Longitud del cuerpo entre 1.5 a 1.65 mm. Forma un tanto oblonga, aunque más alargada y menos convexa que *S. canariensis* Woll. Superficie corporal muy brillante, con puntuación neta pero separada, pubescencia larga y densa. Cabeza negra en ambos sexos. Mandíbulas amarillentas, bífidas en el ápice y con los bordes internos lisos. Fig. 2.

Palpos, tanto labiales como maxilares, amarillos; los últimos con el último segmento cortado oblicuamente en el ápice. Tórax con la parte dorsal negro en casi su totalidad, Prosternon aquillado. Escudete oscuro. Élitros amarillo-rojizo, con una porción triangular negra localizada en la parte basal de los órganos que en ocasiones puede prolongarse, a lo largo de la sutura, pero sin alcanzar el ápice del mismo. Dicho extremo puede presentar una banda oscura y transversa. Abdomen oscuro casi en su totalidad, último ester-



Figura 1. Tubos de cría de *Scymnus cercyonides*.



Figura 2. Adulto de *Scymnus cercyonides*.



Figura 3. Larva de *Scymnus cercyonides* alimentándose de un áfido.

nito rojizo. Líneas femorales formando un semicírculo completo. Patas con las coxas y fémures pardo-negrucos; tibias y tarsos amarillentos.

Distribución geográfica:

Distribución mundial: Canarias

Distribución insular: Tenerife, La Gomera, La Palma, Gran Canaria, El Hierro. (IZQUIERDO *et al.*, 2001).

Esta especie, endémica de Canarias, está ligada a la zona de costa y medianías del norte de las Islas, en ocasiones se puede encontrar en zonas muy localizadas de cumbreres.

Dieta alimenticia:

Esta especie se sometió a una dieta a base de cóccidos y de trips y se pudo comprobar que hacía caso omiso de ella, llegando a morir por inanición e incluso llegar al canibalismo (IVO-HODEK, 1973). Nuestras observaciones y experiencias han demostrado que esta especie actúa sólo sobre pulgones con una tremenda eficacia, pudiendo un solo individuo llegar a devorar del orden de diez o más áfidos por día. Fig. 3.

Aparte de alimentarse de *Aphis gossypii* Glover y de *Myzus persicae* (Sulzer), también lo hacen, tal y como hemos comprobado, de otras especies de áfidos, como *Toxoptera aurantii* (B. de Fons), *Aphis craccivora* Koch, *Aphis fabae* Scopoli, *Aphis citricola* Van der Goot, *Macrosiphum euphorbiae*

(Thomas), *Hyalopterus pruni* (Geoffroy), *Aulacorthum solani* (Kaltenbach)

Ciclo biológico (Fig. 4 y 5):

Esta especie, por su distribución y condiciones climáticas, no pasa por proceso de invernación ni diapausa en zonas de costa. A medida que aumenta la altitud y se entra en zonas de medianías, las condiciones de temperatura y humedad obligan a este insecto a pasar un periodo de invernación, refugiándose en las resquebrajaduras de los tallos, hojas y flores de los vegetales sobre los que se encuentran.

Una vez que abandonan el refugio de invierno, proceden a la búsqueda de alimento. No se observó, durante este tiempo, acoplamientos.

El acoplamiento se inicia en la segunda quincena del mes de enero. La temperatura ideal para que el ciclo transcurra en las mejores condiciones está comprendida entre los 20°- 25°C, mientras que la humedad oscila entre 60-70%.

Una vez realizada la copula, la hembra necesita un periodo de reposo, entre siete y diez días, antes de llevar a cabo la puesta. Hacia el diez de febrero tiene lugar la primera puesta. La ovoposición puede seguir prolongándose hasta el mes de noviembre, en aquellos lugares de temperatura y humedad desfavorables. En zonas de climas favorables está puede prolongarse todo el invierno.

Un poco antes del quince de febrero se produce la eclosión de los huevos. No obstante, esta fecha puede dilatarse en zonas de mayor altitud y condiciones más extremas. No constatamos eclosiones por debajo de 10°C ni por encima de 30°C.

A partir de la eclosión de los huevos se inicia el desarrollo endógeno del insecto (Fig. 6). Será necesario que transcurran del orden de diez a diecisiete días para que tenga lugar la fase de pupación. Ésta tiene una duración aproximada de seis a ocho días. Así que sobre el diez u once del mes de marzo es cuando se produce la emergencia del adulto.

Estos nuevos adultos necesitan un breve periodo de tiempo para madurar antes de

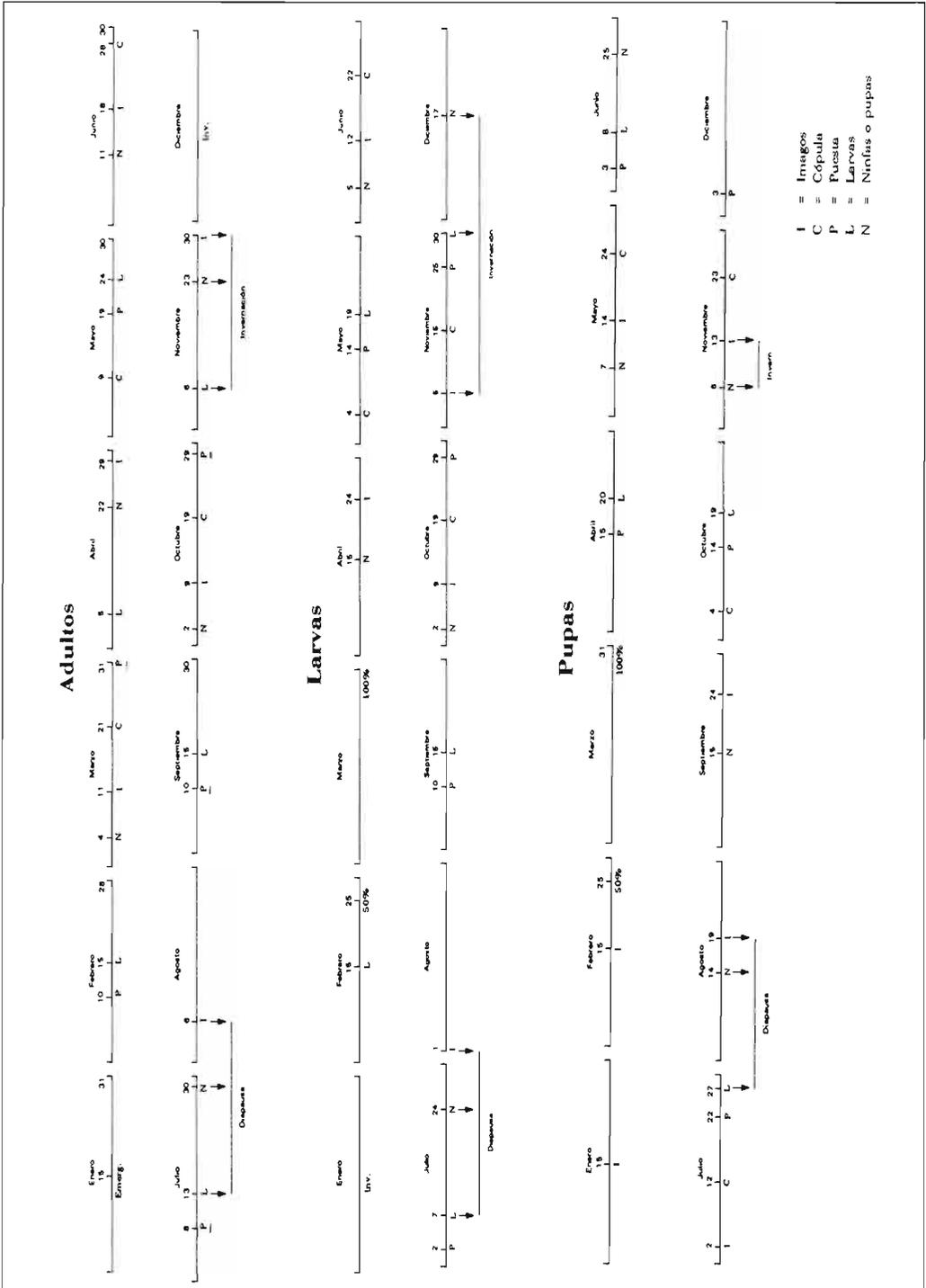


Figura 4 y 5. Ciclo biológico de *Scymnus cercyonides*.



Figura 6. Larva de *Scymnus cercyonides*.

comenzar la copula, por lo tanto transcurren de nueve a diez días hasta que los primeros apareamientos tienen lugar. A partir de este momento hay una continuidad repetitiva de los ciclos biológicos hasta el mes de julio, en el cual, si las condiciones climáticas no son las "ideales" para que los individuos completen su desarrollo, entran en periodo de diapausa.

La duración de este periodo depende del tiempo en que la temperatura y la humedad alcancen niveles idóneos para que el ciclo biológico del individuo pueda desarrollarse con plena normalidad. El periodo de diapausa termina a finales del mes de agosto o principios de septiembre, en algunos lugares del Archipiélago puede durar hasta mediado e incluso final de septiembre.

Llegado el mes de noviembre y siguiendo el ciclo de la generación de esta época, dependiendo de las condiciones climáticas reinantes, las larvas pueden no desarrollarse si las condiciones son extremas, o bien ninfar. En este último caso las larvas pueden invernar o completar su desarrollo endógeno e invernar en forma de pupa. También puede ocurrir que la pupa complete su desarrollo, con lo cual se produce la emergencia del adulto a final del mencionado mes; a partir de ahí queda claro que la hibernación afecta al adulto.

En el mejor de todos los casos, cuando los niveles de temperatura y humedad son los idóneos, se observa que en el desarrollo evo-

lutivo de la especie no sufre interrupción alguna.

Cuando esta especie pasa el periodo de hibernación como larva, éstas comienzan a aparecer a mediados de febrero del siguiente año, así pues sobre el día veinticinco de febrero ya han aparecido el 50% y el 100% sobre los últimos días de marzo.

Cuando el invierno lo pasa en forma de pupa, los imagos comienzan a hacer su aparición hacia el 15 de febrero, prolongándose hasta finales de marzo, momento en que han aparecido el 100% de los adultos.

A partir de estos momentos el ciclo continúa con normalidad.

Hay un claro solapamiento de generaciones y con el comienzo de cada año se encontrarán individuos en estado de larvas, pupas y adultos. Al no observar huevos invernantes, se ha descartado su existencia.

CONCLUSIONES

Scymnus cercyonides Woll. ofrece todas las características y condiciones para poder considerarlo como un buen controlador de áfidos.

Con la dieta alimenticia apropiada y las condiciones ambientales favorables, temperaturas entre 20 y 25°C y humedades relativas entre 60 y 70%, la duración media del ciclo biológico oscila entre 39 y 50 días. A temperatura por debajo de 10°C o por encima del 30% no se produce eclosión de los huevos.

La media de tiempo de desarrollo de cada estadio se concreta en: de 3 a 5 días para la fase de huevos, 17 días para el desarrollo larvario, de 6 a 8 días para la pupación, de 9 a 10 días desde la emergencia del adulto hasta la primera cópula, de 7 a 10 días desde la primera cópula hasta la primera puesta.

Las mejores condiciones para su desarrollo son los meses de abril, mayo, junio y julio.

Este insecto muestra una gran voracidad a lo largo de su vida. Un individuo puede devorar en un solo día 10 pulgones o más, lo que supone una gran disminución en las poblaciones de áfidos y una gran ayuda al medio agrícola, ornamental y forestal.

ABSTRACT

HODGSON F. M., C. D. LORENZO, C. PRENDES, R. CABRERA. 2005. *Scymnus (Pullus) cercyonides* Woll. Possibilities in biological control. *Bol. San. Veg. Plagas*, **32**: 175-180.

In this work we show the bioecology of *Scymnus (Pullus) cercyonides* Woll. We studied not only morphological characteristics but also its biology, feeding and development and reproduction in laboratory conditions. At the same time we present the biological cycle in its natural environment, and its distribution, etology, competitors and natural enemies.

S.cercyonides has carnivore habits, and shows preference for the aphids, so its importance as a pest control seems to be evident.

Key words: *Scymnus (Pullus) cercyonides*, biology, distribution, biological cycle, competitors, etology, natural enemies.

REFERENCIAS

- DAUGUET, P., 1949: Les Coccinellini de France. Entomologie Pratique. Editions de L'Entomologiste. Paris: 45pp.
- DEBACH, P., 1977: Lucha biológica contra los enemigos de las plantas. Ed. Mundi-Prensa. Madrid: 399 pp.
- IVO-HODEK, 1973: Biology of Coccinellidae. Junk, The Hague: 260 pp.
- IZQUIERDO, I., J. L. MARTÍN, N. ZURITA & M. ARECHA-VALETA (eds.). 2001. Lista de especies silvestres de Canarias (hongos, plantas y animales terrestres) 2001. Consejería de Política Territorial y Medio Ambiente Gobierno de Canarias. 437 pp.
- PLAZA, E., 1977: Claves para la identificación de los géneros Paleárticos Occidentales de la Familia Coccinellidae (Coleoptera). Dep. Zool. Cat. Artr. Facultad de Biología, Univ. Complutense de Madrid: 31 pp.
- WOLLASTON, T. V., 1864: Catalogue of the Coleopterous Insects of the Canaries in the Collection of the British Museum. London: 421-431.
- WOLLASTON, T. V., 1871: On Additions to the Atlantic Coleoptera. Trans. Ent. Soc. part II: 277-278
- (Recepción: 27 diciembre 2005)
(Aceptación: 30 marzo 2006)

Nivel de daño económico para *Aulacorthum solani* (Hemiptera, Aphididae) sobre pimiento en invernadero comercial

A. HERMOSO DE MENDOZA, M. LA SPINA, F. MARCO, S. TABANERA, P. VINACHES, E. A. CARBONELL, J. PÉREZ-PANADÉS

Entre las especies de pulgones que atacan al pimiento (*Capsicum annuum*) en las zonas de invernaderos de Valencia y Murcia, la más agresiva es *Aulacorthum solani* (Kaltenbach). Para averiguar su nivel de daño económico se ha realizado un experimento en un invernadero comercial de pimiento Orlando en el Pilar de la Horadada (en la comarca valenciana del Bajo Segura), consistente en infestar plantas de pimiento con diversos niveles de *A. solani* y seguir su evolución a lo largo de la temporada 2003-2004, a la vez que semanalmente se iban cosechando, pesando y caracterizando los pimientos.

La cantidad máxima de pulgones por hoja de cada nivel de *A. solani* se ha correlacionado con la pérdida de producción correspondiente, y se ha obtenido así la función "densidad de plaga / porcentaje de pérdida de producción". A partir de esta función se ha deducido la fórmula del nivel de daño económico.

Se ha obtenido el nivel de daño económico que corresponde a los valores usuales en la actualidad de precio y producción de pimiento y de coste y eficacia del tratamiento, con el resultado de un nivel tan bajo que implica tratar en cuanto se detecten pulgones si no se quiere que las pérdidas económicas superen el coste del tratamiento.

A. HERMOSO DE MENDOZA, M. LA SPINA, E. A. CARBONELL, J. PÉREZ-PANADÉS. Institut Valencià d'Investigacions Agràries. Carretera de Nàquera, Km 5. 46113 Montcada (València). Correo electrónico: ahermoso@ivia.es

F. MARCO, S. TABANERA, P. VINACHES. Àrea d'Innovació Agrària. Professor Manuel Sala, 2. 03003 Alacant.

Palabras clave: *Capsicum annuum*, pulgones, umbral de intervención.

INTRODUCCIÓN

La zona limítrofe meridional de las comunidades de Valencia y Murcia alberga la segunda superficie española de producción de pimiento (*Capsicum annuum*) para consumo en fresco, en su mayor parte en invernaderos, cuyo control de plagas se realiza en elevada proporción con métodos de control biológico o integrado. Estos métodos han provocado en los últimos años el desarrollo del pulgón *Aulacorthum solani* (Kaltenbach, 1843), especie conocida como transmisora de virus (MÜLLER *et al.*, 1973) y plaga habi-

tual de diversos cultivos en invernadero (BLACKMAN y EASTOP, 1985) entre los que se encuentra el pimiento (VASICEK *et al.*, 2001). Esta especie, a pesar de ser atacada por enemigos naturales como los himenópteros braconídeos del género *Aphidius* (ROBERT y RABASSE, 1977), es más agresiva en esta zona que las demás especies afídicas habituales en pimiento

Para combatir esta plaga en un sistema de lucha integrada es preciso averiguar sus umbrales de tratamiento. De estos umbrales, el nivel de daño económico (EIL) es el fundamental, y de él deriva el umbral económi-

co (ET), según los conceptos de STERN *et al.*, 1959. Su cálculo se realiza a partir de una serie de parámetros (HIGLEY y PEDIGO, 1996): coste del tratamiento, precio del fruto, eficacia del insecticida y, por último, pérdida de producción, que es una función dependiente de la densidad de plaga. En relación con estos umbrales hay otros dos en los que se considera el coste ecológico que representa la aplicación de insecticidas: el nivel de daño económico ambiental (EEIL) y el umbral económico ambiental (EET).

Los objetivos de este trabajo son, en primer lugar, determinar la función pérdida de producción en pimiento de invernadero según la densidad de plaga de *A. solani* y, en segundo lugar, calcular en base a esta función los diversos umbrales de tratamiento.

MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento se realizó durante la temporada 2003-2004 en un invernadero comercial de 1.150 m² del Pilar de la Horadada (en la comarca valenciana del Bajo Segura), con pimiento de la variedad Orlando sembrado el 22 de diciembre de 2003. En él se delimitó un espacio de 10,35 x 5,45 m con 125 plantas repartidas en 5 filas (numeradas del 1 al 5); cada fila constaba de 25 plantas distribuidas en 5 grupos (caracterizados por 5 letras, de la "a" a la "e") de 5 plantas contiguas cada uno, o sea, 25 grupos de 5 plantas en todo el espacio, con una combinación de letra y número distinta para cada grupo. El 24-3-2004, cuando las plantas de pimiento tenían 60 cm de altura por término medio, se infestaron 5 de los grupos con ejemplares de *Aulacorthum solani* procedentes de una cría sobre patata (*Solanum tuberosum*) mantenida en una cámara climatizada del IVIA en Montcada (Valencia), y desde esa fecha se fue siguiendo semanalmente la evolución de los pulgones de esta manera:

En cada una de las 125 plantas se contaba el número de pulgones presentes en el ápice, en la primera hoja verdadera, en una hoja de la tercera cruz desde el ápice y en una hoja de la quinta cruz desde el ápice; el valor

medio de estos cuatro valores representa el número de pulgones por hoja de la planta. Estos conteos semanales se fueron realizando hasta que se trató todo el invernadero con pirimicarb el 22-5-2004, fecha en que varias de las plantas infestadas inicialmente habían llegado a morir por la acción de los pulgones, que habían ido infestando en grados diversos el resto de las plantas (aunque al menos uno de los grupos se mantuvo con un nivel de plaga próximo a cero, tratándolo con el mismo insecticida si se empezaba a infestar).

El 29-4-2004 se empezaron a cosechar los pimientos: semanalmente se recolectaban los frutos de cada uno de los 25 grupos de plantas por separado, y cada fruto se pesaba, se medía su altura y calibre (su circunferencia media) y se apuntaba su calidad (1, 2, 3 ó 4, de mayor a menor calidad). Se continuó de esta manera hasta el 9-9-2004, en que se dio por finalizado el cultivo anual del pimiento.

La producción anual de cada uno de los 24 grupos de plantas que habían soportado más pulgones se restó de la del grupo con nivel de plaga más próximo a cero, y se calculó el porcentaje de esta resta con respecto a la producción de ese grupo con nivel mínimo de plaga. Después se calculó por regresión no lineal la fórmula que relaciona este porcentaje de pérdida de producción con el número máximo de pulgones por hoja (correspondiente a cada grupo), obtenido en los conteos semanales realizados a lo largo del año. Para ello se utilizó la fórmula de la hipérbola rectangular que COUSENS (1985) desarrolló para malas hierbas y que HERMOSO DE MENDOZA *et al.* (2001) adaptaron para el pulgón *Aphis gossypii* Glover, 1877 en clementino (*Citrus clementina*):

$$y = \frac{I(x - B)}{1 + \frac{I(x - B)}{A}} \quad [1]$$

donde y = porcentaje de pérdida de producción; x = densidad de plaga (en este caso, número máximo anual de *Aulacorthum solani* por hoja); B = número de pulgones por

hoja al que se puede mantener el grupo de plantas con densidad de plaga mínima (o sea, la mínima infestación de áfidos detectable antes de tratarlos para mantenerlos a un nivel de plaga próximo a cero); A = valor de y cuando $x \rightarrow \infty$ (= asíntota horizontal); I = valor de $y/[x-B]$ cuando $[x-B] \rightarrow 0$ (= pendiente de la recta $y = I[x-B]$).

Para calcular el nivel de daño económico (EIL) hay que igualar el valor de las pérdidas con el coste del tratamiento (HIGLEY y PEDIGO, 1996; HIGLEY y WINTERSTEEN, 1996):

$$C = V \cdot D' \cdot K \quad [2]$$

donde C = coste total por Ha de insecticida (= coste del producto + coste de aplicación); V = precio por Kg del fruto; K = reducción de daño con el tratamiento (= eficacia del producto en tanto por uno); D' = pérdida de producción por unidad de plaga. Este último valor se puede expresar de la manera siguiente:

$$D' = \frac{P_0}{100} y \quad [3]$$

donde P_0 = producción por Ha de un cultivo con nivel mínimo de plaga. Así pues la fórmula [2], al sustituir en ella la [3] y la [1], se queda así:

$$C = \frac{VP_0 K}{100} \cdot \frac{I(x - B)}{1 + \frac{I(x - B)}{A}} \quad [4]$$

La fórmula del EIL se obtiene despejando x en la fórmula [4]

Para averiguar si el precio del Kg de fruto (V) era una constante, o bien estaba influido por la cantidad de pulgones que había soportado la planta, se analizó por regresión lineal la relación entre el número máximo de pulgones por hoja correspondiente a cada grupo de plantas y cada uno de los parámetros del fruto que podrían influir en su precio: peso (en gr), altura (en cm), calibre (perímetro de la sección transversal media en cm) y calidad

(según una escala de más a menos: 1, 2, 3, 4).

El cálculo del umbral económico se realizó considerándolo como la densidad de plaga correspondiente al día anterior a aquél en que se alcanza el EIL, para poder programar el tratamiento con 24 horas de antelación. Con este objetivo hubo que calcular previamente la función que relaciona las fechas de conteo expresadas como días del año (x) con el valor medio (de todas las plantas) del número de pulgones por hoja (y), ajustando los valores según una distribución de tipo normal definida por esta fórmula:

$$y = \frac{4ae^{\frac{b-x}{c}}}{\left[1 + e^{\frac{b-x}{c}}\right]^2} \quad [5]$$

Para deducir los umbrales ambientales (EEIL y EET) a partir de EIL y ET, se utilizó la aproximación obtenida experimentalmente por HIGLEY y WINTERSTEEN (1996), según la cual EEIL \cong 1,66 EIL, y EET \cong 1,66 ET.

Cuadro 1. Regresión entre el número máximo de *Aulacorthum solani* por hoja (x) y el peso, dimensiones y calidad (y) del fruto de pimiento: $y = ax+b$ (\pm error típico).

Parámetro del fruto	Fórmula
Peso (g)	$y_1 = 143,08 (\pm 3,75)$
Altura (cm)	$y_2 = 8,65 (\pm 0,20)$
Calibre (cm)	$y_3 = 75,60 (\pm 1,32)$
Calidad (1-4)	$y_4 = 3,23 (\pm 0,05)$

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El cuadro 1 presenta los resultados de la regresión entre el número máximo de *A. solani* soportado por hoja (x) y cada uno de los cuatro parámetros (y) que pueden influir en el precio unitario del fruto, definida por la fórmula $y = ax+b$. En los cuatro casos $a = 0$, es decir $y = b$, una constante: la cantidad de pulgón no influye ni en el peso, ni en las

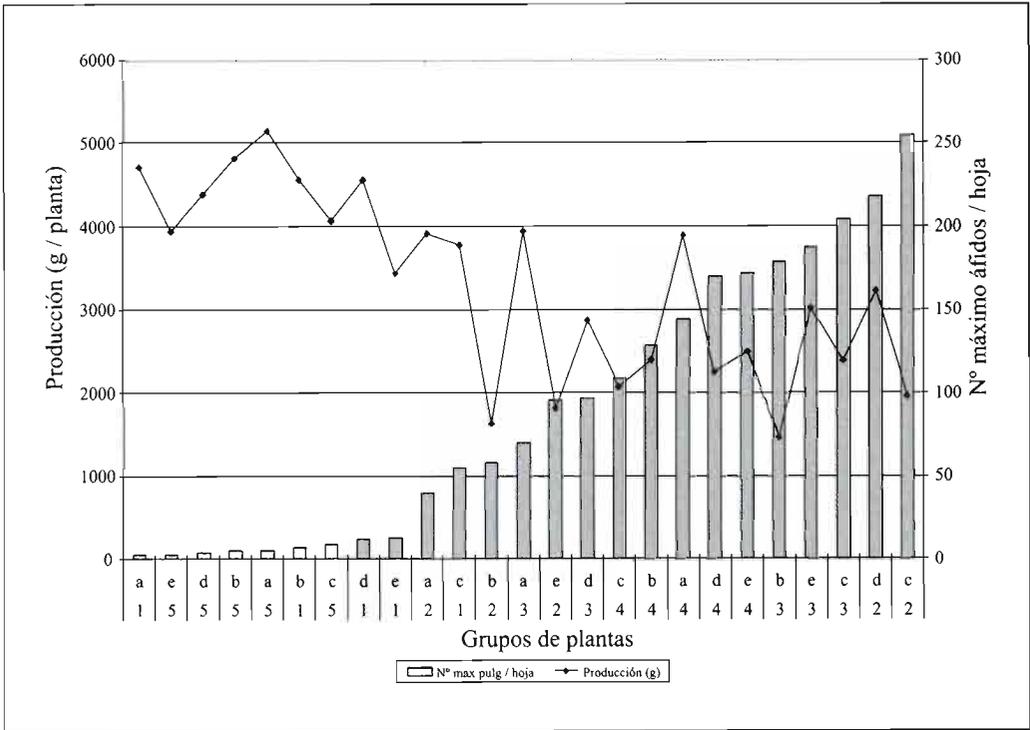


Figura 1. Número máximo de *Aulacorthum solani* por hoja, y producción por planta, de cada grupo de plantas de pimienta.

dimensiones ni en la calidad del fruto, ni por tanto en su precio unitario. Así pues, V es constante con respecto a los pulgones que ha soportado la planta.

En la figura 1 se representa el número máximo anual de pulgones por hoja que ha soportado cada uno de los 25 grupos de 5 plantas de pimienta, ordenados según número creciente de pulgones. En la misma figura se indica la producción anual por planta de cada grupo, que (con las oscilaciones lógicas) va en disminución a medida que aumenta la cantidad de pulgones soportada por las plantas.

Al relacionar por regresión, utilizando la fórmula [1], los valores (correspondientes a cada grupo) de número máximo de pulgones por hoja y de porcentaje de pérdida de producción con respecto al grupo con nivel mínimo de plaga (el a-1), se han obtenido

unos valores de I = 1,49, B = 1,53, A = 58,16, con un valor de p < 0,0001 que indica un ajuste muy bueno. Así pues, la función “porcentaje de pérdida de producción (y) / número máximo de *A. solani* por hoja (x)” en pimienta en invernadero ha resultado ser:

$$y = \frac{1,49(x - 1,53)}{1 + \frac{1,49(x - 1,53)}{58,16}} \quad [6]$$

La representación gráfica de esta función, sobre los puntos observados, se plasma en la figura 2.

La fórmula del nivel de daño económico se ha deducido sustituyendo en la fórmula [4] los valores de I, B y A de la fórmula [6], y despejando x:

$$x = \frac{88,98 \cdot VP_0K + 3750,36 \cdot C}{58,16 \cdot VP_0K - 100 \cdot C} = \text{EIL (áfidos/hoja)} \quad [7]$$

Como ejemplo práctico se pueden utilizar unos valores aceptables en la actualidad para pimientos Orlando de: $C = 85,35 \text{ €/Ha}$; $V = 0,60 \text{ €/Kg}$; $K = 1$; $P_0 = 100.000 \text{ Kg/Ha}$. Sustituyéndolos en la fórmula [7] resultará un EIL de 1,63 áfidos por hoja, que tan solo es una décima mayor que el valor de $B (1,53)$, la densidad de plaga más próxima a cero que se puede observar. Es decir, que con estos valores el nivel de daño económico es tan bajo que en cuanto se detecten pulgones habrá que tratar si no se quiere que las pérdidas económicas superen al coste del tratamiento. Si cambiaran las circunstancias de rentabilidad del cultivo de pimiento también cambiaría el EIL, aunque se calcularía de la misma manera porque la fórmula [7] es válida para cualquier tipo de condiciones económicas.

En previsión de este posible cambio de circunstancias de rentabilidad se han realizado

los pasos necesarios para obtener el ET. En primer lugar se han calculado por regresión los parámetros de la fórmula [5], que da la evolución en el tiempo (x) (sólo hasta la fecha en que se trató el invernadero) del número medio de pulgones por hoja (y): Ha resultado un buen ajuste (valor de $p < 0,0001$), obteniéndose unos valores (seguidos del error típico) de $a = 63,92 (\pm 1,65)$, $b = 134,60 (\pm 0,19)$, $c = 3,456 (\pm 0,111)$, y en la figura 3 se representa esta función sobre los puntos observados. Si en la fórmula obtenida se aplicara el EIL de nuestro ejemplo práctico ($y = 1,63$) y se despejara la x , al valor de $x-1$ le correspondería un valor de y que sería el ET = 1,22 áfidos por hoja, umbral inviable en este caso al ser menor que la mínima densidad de plaga detectable ($B = 1,53$).

Los valores de los umbrales ambientales, según se ha indicado en la metodología,

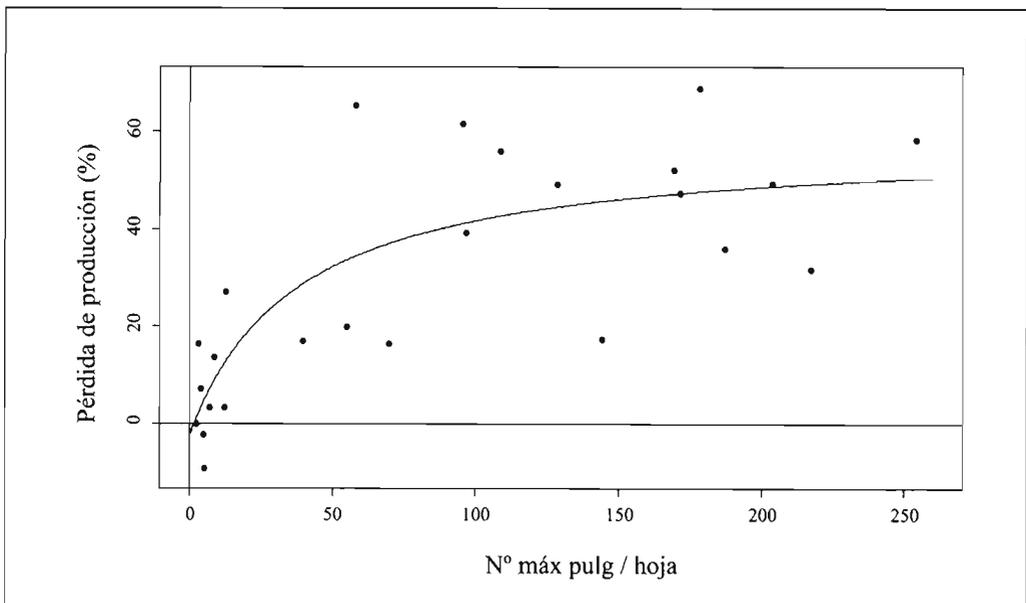


Figura 2. Representación de la función que relaciona el porcentaje de pérdida de producción en pimiento con el número máximo anual de *Aulacorthum solani* por hoja, sobre los valores observados.

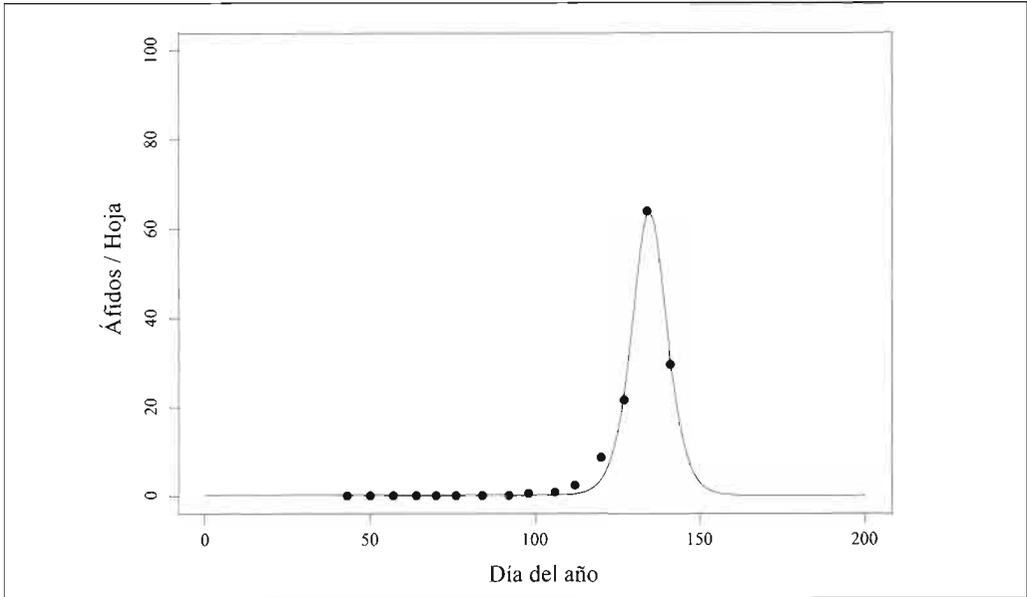


Figura 3. Gráfica teórica de la evolución en el tiempo del número medio de *Aulacorthum solani* por hoja de pimiento, sobre los valores observados.

corresponderían a $EEIL \cong 1,66$ EIL, y $EET \cong 1,66$ ET. En nuestro ejemplo, $EEIL \cong 2,7$ y $EET \cong 2$ ejemplares de *A. solani* por hoja de pimiento, que aunque algo más elevados que los anteriores siguen siendo unos umbrales muy bajos, por lo que la conclusión es básicamente la misma que cuando se emplea el EIL: en las condiciones del ejemplo, la conveniencia económica de tratar contra *A. solani* es prácticamente inmediata a su detección.

AGRADECIMIENTOS

Queremos expresar nuestro reconocimiento a Francisco Torró Valls y a la cooperativa Surinver del Pilar de la Horadada por su ayuda en la localización del invernadero de la experiencia, así como a Ginés Vera Casas, propietario de éste, y a sus recolectores por la colaboración prestada. Este trabajo se ha realizado en el marco del Proyecto RTA03-101-C2-1, financiado por el INIA.

ABSTRACT

HERMOSO DE MENDOZA A., M. LA SPINA, F. MARCO, S. TABANERA, P. VINACHES, E. A. CARBONELL, J. PÉREZ-PANADÉS. 2006. Economic injury level for *Aulacorthum solani* (Hemiptera, Aphididae) on commercial greenhouse pepper. *Bol. San. Veg. Plagas*, **32**: 181-187.

Aulacorthum solani (Kaltenbach) is the most severe aphid species attacking pepper (*Capsicum annuum*) in greenhouses from Valencia and Murcia zones in Spain. In order to obtain the economic injury level, an experiment has been carried in a commercial greenhouse of Orlando pepper at Pilar de la Horadada (in the Valencian shire of Bajo Segura), consisting in the infestation of pepper plants at different levels of *A. solani*. Weekly, along the season 2003-2004, we followed aphid evolution and weighed and characterized the pepper harvest.

The maximum quantity of aphids by leaf corresponding to each level of *A. solani* has been correlated to the corresponding crop loss, and the function "pest density / percentage of crop loss" has been obtained this way. Starting from this function, the formula of the economic injury level has been inferred.

Using the common values at this moment for pepper price and production and for cost and efficiency of the treatment, current economic injury level has been obtained, with the result of such a low level that it demands to treat as soon as aphids are detected if we don't want that the economic losses overcome the cost of the treatment.

Key words: *Capsicum annuum*, aphids, intervention threshold.

REFERENCIAS

- BLACKMAN, R.L. y EASTOP, V.F., 1985: *Aphids on the world's crops: An identification guide*. John Wiley and sons. Chichester, 466 pp.
- COUSENS, R., 1985: A simple model relating yield loss to weed density: *Ann. Appl. Biol.*, **107**: 239-252.
- HERMOSO DE MENDOZA, A., BELLIORE, B., CARBONELL, E.A. y REAL, V., 2001: Economic thresholds for *Aphis gossypii* (Hemiptera: Aphididae) on *Citrus clementina*. *J. Econ. Entomol.*, **94** (2): 439-444.
- HIGLEY, L.G. y PEDIGO, L.P., 1996: The EIL concept. In: Higley, L.G. and L.P. Pedigo (Ed.). *Economic thresholds for integrated pest management*. University of Nebraska Press. Lincoln, 9-21.
- HIGLEY, L.G. y WINTERSTEEN, W.K., 1996: Thresholds and environmental quality. In: Higley, L.G. and L.P. Pedigo (Ed.). *Economic thresholds for integrated pest management*. University of Nebraska Press. Lincoln, 249-274.
- MÜLLER, F.P., HINZ, B. y MÖLLER, F.W., 1973.: Übertragung des Enationenvirus der Erbse durch verischeidenen Unterarten und Biotypen der Grünfleckig Kartoffelblattlaus *Aulacorthum solani* (Kaltenbach). *Zbl. Bakt.* (II), **128**: 72-80.
- ROBERT, Y. y RABASSE, J.M., 1977: Role écologique de *Digitalis purpurea* dans la limitation naturelle des populations du puceron strié de la pomme de terre *Aulacorthum solani* par *Aphidius urticae* dans l'ouest de la France. *Entomophaga*, **22**: 373-382.
- STERN, V.M., SMITH, R.F., VAN DEN BOSCH, R. y HAGEN, K.S., 1959: The integrated control concept. *Hilgardia*, **29** (2): 81-101.
- VASICEK, A., DE LA ROSSA, F. y PAGLIONI, A., 2001: Aspectos biológicos y poblacionales de *Aulacorthum solani*, *Myzus persicae* y *Macrosiphum euphorbiae* (Homoptera: Aphidoidea) en Pimiento (*Capsicum annuum* L.). *Bol. San. Veg. Plagas*, **27**: 439-446.

(Recepción: 27 diciembre 2005)

(Aceptación: 21 febrero 2006)

Comportamiento local de poblaciones de *Lobesia botrana* Denis & Schiffermüller (Lepidoptera: Tortricidae)

H. PELÁEZ, R. MARAÑA, P. VAZQUEZ DE PRADA, A. PURAS, Y. SANTIAGO

La racionalización del seguimiento y del control de un insecto que provoca daños directos o pueda causar pérdidas de forma indirecta, como la *Lobesia botrana* o polilla del racimo, es necesario para el establecimiento de estrategias de monitoreo y de control poco o nada agresivas con el medio, económicas para el agricultor y sin repercusiones negativas en el proceso de elaboración del vino.

Utilizando la geoestadística como herramienta para establecer los mapas de distribución espacial y de densidad de insectos, e identificando y analizando los potenciales factores que pueden explicar porqué se detectan mayores daños, mayores poblaciones o índices de capturas en zonas específicas de parcelas concretas, se quiere facilitar el muestreo y el control de la polilla del racimo en parcelas individuales de viñedo.

Para ello se ha establecido en una parcela de la variedad Verdejo en la D.O. Rueda una red de estaciones de trapeo para el seguimiento de la emergencia de adultos y de los daños que causa en su primera y en su segunda generación. Con este trabajo se quiere estudiar la distribución espacial de las concentraciones o densidades que tiene la polilla del racimo en parcelas o áreas de cultivo limitadas en el espacio, en el conjunto del año y en cada una de las generaciones que tiene en un ciclo vegetativo.

H. PELÁEZ. Dr. Ingeniero Agrónomo. P. VAZQUEZ DE PRADA, A. PURAS. Consejo Regulador de la Denominación de Origen Rueda. C/ Real 8. 47490 Rueda (Valladolid). Y. SANTIAGO. Ingeniero Técnico Agrícola. R. MARAÑA. Vinos de los Herederos del Marqués de Riscal. Crta. Madrid s/n. 47490 Rueda (Valladolid)

Palabras clave: *Lobesia botrana*, distribución espacial, densidad de población, geoestadística, vid.

INTRODUCCIÓN

Se han aplicado técnicas geoestadísticas en ciencias ambientales para establecer los mapas de distribución espacial y de densidad de insectos (MORAL GARCÍA, F.J., 2004) y concretamente en insectos que llegan a ser plagas como *Helicoverpa armigera* (Hübner) sobre tomate (MORAL GARCÍA, F.J., 2003 y MORAL GARCÍA *et al.*, 2004) y otros lepidópteros tortricidos como *Pandemis heperana* (Denis & Schiffermüller) y *Cydia pomonella* L., de la misma familia que *Lobesia botrana* (RIBES *et al.*, 1998).

En plagas que afectan a la vid, se han utilizado estas técnicas para el mosquito verde, *Jacobiasca lybica* (Bergevin & Zanon) en viñedos andaluces para conocer como le afectan diferentes técnicas de cultivo (RAMÍREZ *et al.*, 2004). En polilla del racimo se ha estudiado el comportamiento y la distribución de la polilla del racimo en áreas amplias que abarcan una Denominación de Origen en toda su superficie (PELÁEZ *et al.*, 2003 y PELÁEZ *et al.*, 2004b).

Gracias a la aplicación de estas técnicas se han podido plantear propuestas de reparto de feromonas tanto con vistas al seguimien-

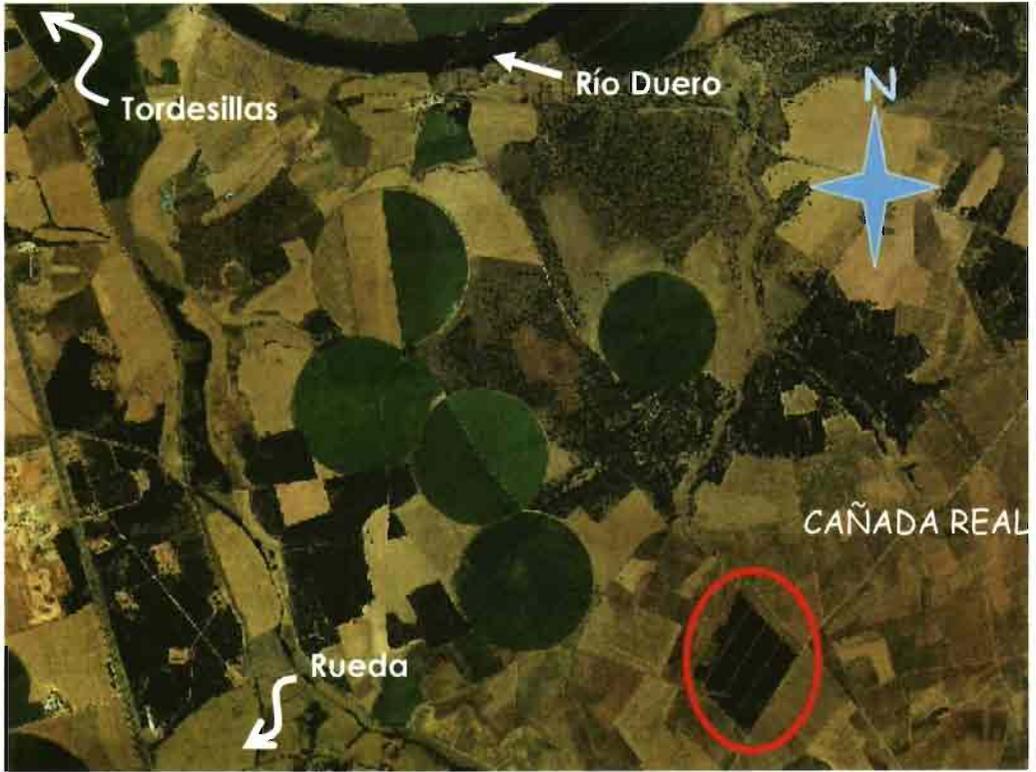


Figura 1. Situación de la parcela.



Figura 2. Panorámica de la parcela.

to de la plaga como para un posible desarrollo de métodos biotécnicos de control (confusión sexual o trapeo masivo).

El objetivo de este trabajo es analizar y estudiar la distribución de las capturas de adultos de *Lobesia botrana* y de los daños que provocan sus larvas en una parcela concreta de vid.

MATERIAL Y MÉTODOS

El trabajo se ha desarrollado durante el año 2005 en una parcela de la variedad Verdejo situada en la D.O. Rueda (Figura 1), en la zona conocida como Cañada Real en el municipio de La Seca (Valladolid). El año de plantación fue 1990, por lo tanto la edad de las plantas es de 15 años. El patrón utilizado es R-110 y el sistema de conducción es en espaldera con poda en doble Guyot (Figura 2).

Para la captura de adultos se utilizaron trampas delta de color blanco, situadas sobre una estaca de 1,5 m de altura (Figura 3) de longitud total y clavada en el terreno aproximadamente 20 cm, colocando en su interior una placa engomada y una cápsula de feromona. Se situaron 56 puntos de muestreo formado una cuadrícula de 54 por 54 metros, de 8 filas con 7 trampas por fila, cubriendo una superficie de 10 hectáreas, de las 19 hectáreas del total de la parcela (Figura 4). Cada uno de los puntos se localizó con GPS (Figuras 5 y 6).



Figura 3. Trampa tipo Delta.

Los puntos de muestreo se colocaron y cebaron con feromonas a primeros de mayo del año 2005 y se quitaron el día previo a la vendimia, a mediados de septiembre. Los muestreos, contando y eliminando el número de adultos adheridos en la placa engomada, se hicieron con una periodicidad semanal anotando el estado fenológico de las plantas o cualquier otra anomalía o hecho de interés. Se realizó una valoración de los daños sobre 4 racimos por estación de trapeo, un total de 224 racimos, de la primera generación contando los glomérulos (Figura 7), y de la segunda y tercera generación, contando los focos (Figura 8).

Las labores, riegos y tratamientos fitosanitarios que se realizaron en la parcela fueron anotados y suministrados por los responsables de la finca.

Los datos meteorológicos se obtuvieron de una estación completa de la Junta de Castilla y León situada en el término municipal de Tordesillas y de otra termo-pluvio-



Figura 4. Situación de las estaciones de trapeo y de los cultivos limítrofes.



Figura 5. Detalle GPS.

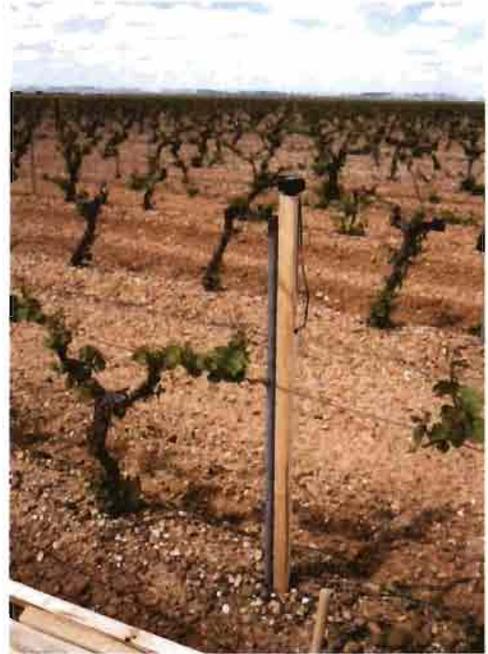


Figura 6. Colocación GPS.

métrica del I.N.M. localizada en el municipio de Rueda.

Para el análisis de los datos se utilizaron los programas estadísticos Variowin y Surfer.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Figura 4 se localizan los cultivos limítrofes a la parcela en estudio, predomina

la vid, de diferentes variedades como Viura y Verdejo y también de distintas edades y sistemas de conducción (vaso y espaldera). Variedades como la Viura y la Garnacha debido a la compacidad de su racimo, con las bayas muy apretadas o juntas dentro del racimo, favorecen el ambiente para que la polilla del racimo se instale y desarrolle. Por otro lado sistemas de conducción como el vaso



Figura 7. Glomérulo – daño 1ª generación.



Figura 8. Foco – daño de 2ª y 3ª generación.

crean un microclima favorable para la polilla del racimo, produciéndose en algunas parcelas un desarrollo de la vegetación que cubre la calle impidiendo la realización de tratamientos fitosanitarios (PELÁEZ *et al.*, 2004a).

Del resto de cultivos, principalmente herbáceos, destacan los cereales. Hacemos esta consideración por la posible confusión que se produce entre la *Lobesia botrana* y la *Cnephasia pumicana*, más cuando adultos de esta última pueden volar en los viñedos y caer con facilidad en las trampas de feromonas de la *L. botrana*. Se diferencian bien en su forma y tamaño (Figura 9), en los momentos del día en que vuelan y son visibles, y en su ciclo, porque la mayor emergencia de *C. pumicana* se da entre las dos primeras generaciones de *L. botrana*, cuando no hay o apenas hay capturas de la última.

Un primer análisis de los datos obtenidos es comparar las curvas de vuelo en las diferentes estaciones, comprobando si el comportamiento es o no homogéneo en toda la plantación. En las Figuras 10 y 11 se muestran estas curvas de emergencia para la estación 1 que es la situada más al Norte y la estación 50 que es la situada más al Sur. Las curvas obtenidas en las 54 estaciones restan-



Figura 9. Adulto de *Lobesia botrana* y *Cnephasia pumicana*.

tes tienen un comportamiento semejante a las mostradas.

Durante las últimas campañas agrícolas en las zonas vitícolas de la Cuenca del Duero, y de forma concreta desde el año 2000 en la Denominación de Origen Rueda, ha sido constatada la existencia de una tercera generación con mayor o menor intensidad. En esta campaña del 2005, la cuál ha sido muy seca, la tercera generación de adultos ha aparecido con igual intensidad que la primera tal como podemos observar en las Figuras 10 y 11. Las diferentes oscilaciones en el número de cap-

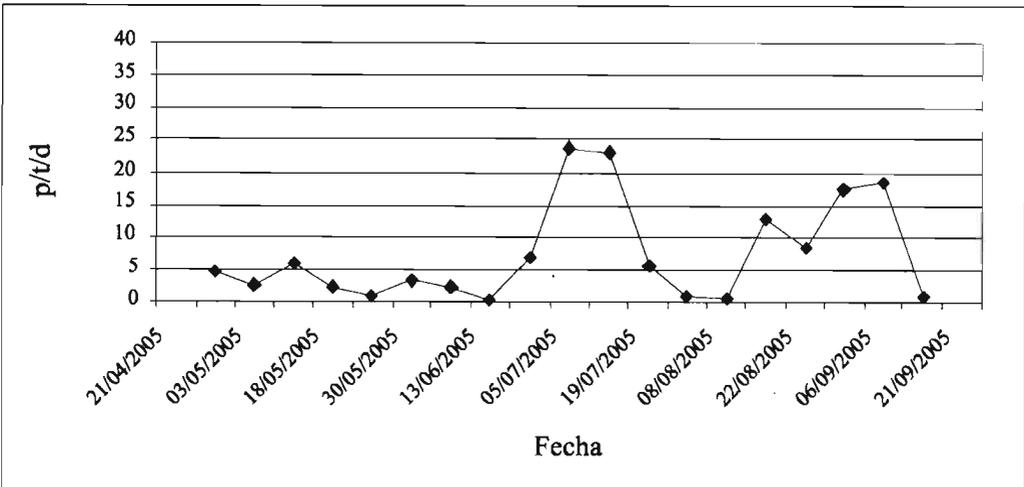


Figura 10. Curva de vuelo Estación de trampeo 1.

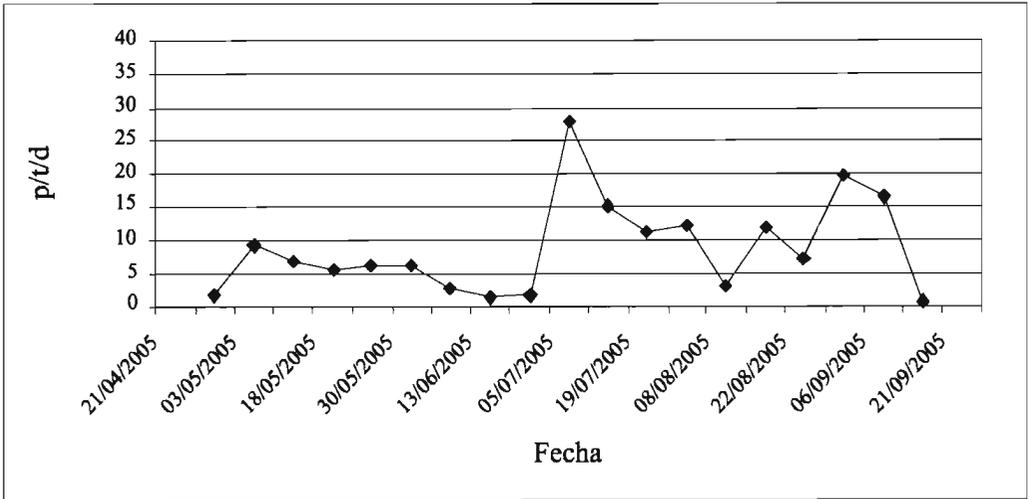


Figura 11. Curva de vuelos Estación de trampeo 50.

turas se han debido a descensos bruscos en las temperaturas y lluvias intensas.

Para el análisis de la variabilidad espacial de los resultados de densidad de capturas de adultos se ha utilizado el programa Variowin. En un primer paso se ha analizado la estructura de correlación espacial de los datos a través de los variogramas para la acumulación de capturas para cada una de las tres generaciones por separado y para el conjunto de capturas. El variograma es una función monótona creciente, alcanzando un valor límite denominado meseta. La meseta se alcanza para un valor

conocido como rango o alcance y el rango determina la zona de influencia en torno a un punto, más allá del cuál la autocorrelación es nula. La dependencia espacial disminuye a medida que se incrementa la distancia y finaliza a una cierta distancia. Más allá del rango la tasa media de cambio es independiente de la separación entre las observaciones. Para cada una de las generaciones y para el conjunto del ciclo, el rango obtenido ha oscilado entre 280 y 300 metros (Figuras 12 y 13). La parcela tiene unas dimensiones aproximadas de un cuadrilátero de 450 por 450 metros, con lo que

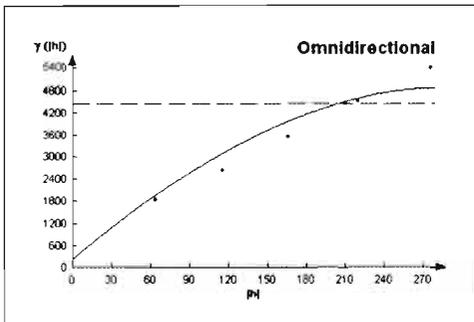


Figura 12. Variograma primera generación.

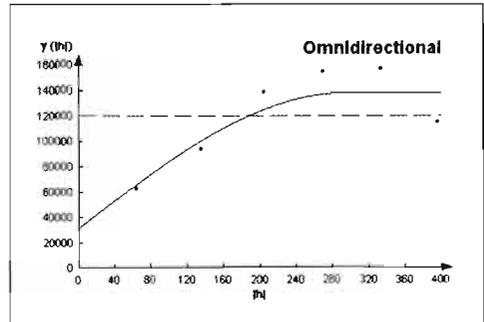


Figura 13. Variograma conjunto de todas las generaciones.

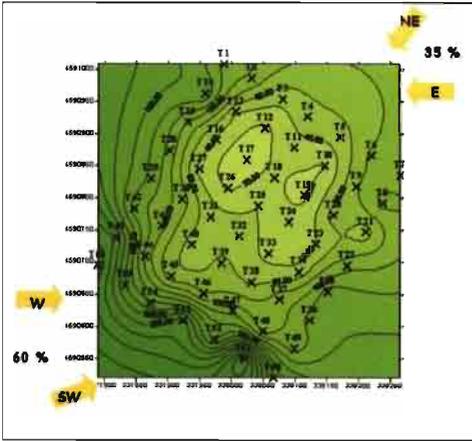


Figura 14. Mapa de distribución de las capturas de adultos de primera generación de Polilla del racimo y vientos dominantes en porcentajes de días.

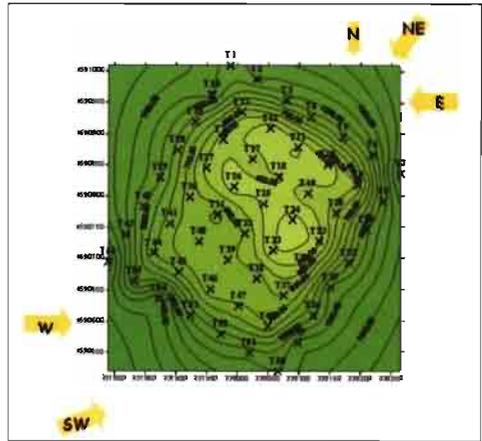


Figura 15. Distribución espacial de capturas totales de adultos de Polilla del racimo y vientos dominantes.

con una sola estación de trampeo estratégicamente situada se podría cubrir toda el área del viñedo en estudio, aunque por motivos de previsión y para evitar cualquier accidente fortuito (caída de la trampa, pérdida de la feromona, ...) se recomienda tener dos estaciones de muestreo.

Con los métodos de estimación geoestadística, "krigeado", se han elaborado los mapas de distribución y de densidad de las

capturas para los cuatro supuestos antes mencionados, de acumulación de adultos capturados para cada una de las tres generaciones y para el conjunto de capturas. Con el "krigeado" se caracterizan además de las capturas de adultos, también los daños en racimo en todas las localizaciones posibles dentro de la parcela, partiendo de la información suministrada por los puntos muestrales o de control.

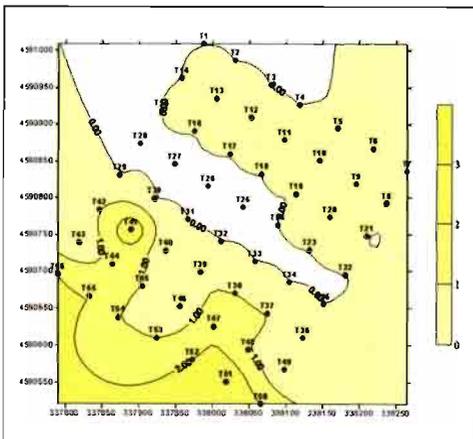


Figura 16. Distribución de daños en primera generación - Glomérulos.

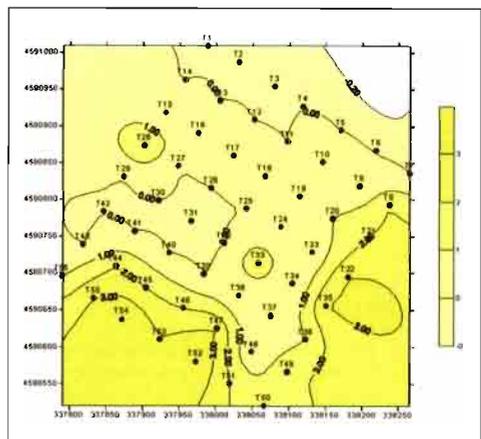


Figura 17. Distribución de daños en 2ª y 3ª generación - Focos.

La variable dirección del viento dominante se ha tenido en cuenta en los resultados y discusión de los mapas de densidad, indicándose los días o mejor dicho el porcentaje de días, en la componente en que fue dominante. En la Figura 14 se presenta la distribución de capturas de adultos para la primera generación. Se observa como en las zonas orientadas al Norte-Oeste (NW) y Sur-Oeste (SW) de la parcela de control, hasta en las dos primeras líneas de estaciones de trapeo, las capturas son superiores a los otros dos laterales. Hay una disminución general hacia el centro de la parcela desde cualquiera de las zonas exteriores. Estudiando los vientos dominantes, en un 60 % son los de componente Oeste (W) y Sur-Oeste (SW) los que dominan, frente a un 35 % de los días en que dominan los de componente Norte-Este (NE) y Este (E). En la Figura 4 vemos como en el Oeste y en el Este se sitúan viñedos de la variedad Viura conducidos en vaso, variable que se ha tenido en cuenta. Esta distribución y concentración se da tanto en la segunda como en la tercera generación: mayor en las zonas orientadas al Oeste y Sur-Oeste y al Norte-Este, Este y Norte, disminuyendo hacia el interior de la parcela en estudio. Semejante comportamiento de distribución de capturas se obtuvo en una parcela de tomate para *Helicoverpa armigera* (MORAL GARCÍA *et al.*, 2004).

Para el total de capturas en el conjunto de la campaña 2005, Figura 15, la distribución es general en toda la parcela, superior en el número de individuos en las zonas perimetrales, más en el Oeste y Sur-Oeste y en el Norte-Este y Este. En el interior de la parcela dismi-

nuye la densidad de capturas, pero la menor densidad se da en un área más cercana a los laterales Este y Norte-Este. Ya se ha visto que los vientos dominantes son del Oeste, lo que facilita la penetración de los individuos hacia el interior desde esta orientación.

La situación de los daños de la primera generación o glomérulos, y de la segunda-tercera generaciones o focos tal como se pueden ver en las Figuras 16 y 17, se concentraron en las zonas limítrofes del área muestreada dónde los vientos son dominantes, al igual que las capturas de adultos, y en los laterales en cuyas proximidades hay variedades y/o sistemas de conducción que son más susceptibles a tener mayor concentración de polilla del racimo.

CONCLUSIONES

- Rango o alcance: una estación de muestreo cubriría toda la superficie de una parcela de 25-30 hectáreas
- Capturas inferiores en el interior de la parcela, el viento dominante factor importante en la distribución de los adultos
- Distribución de daños en el conjunto de la parcela, localizados en bordes o zonas perimetrales determinadas, sin una relación directa y clara con el número de adultos capturados.

AGRADECIMIENTOS

A la Bodega Vinos de los Herederos del Marqués de Riscal S.A., especialmente a su encargado Emilio Cantalapiedra y al Consejo Regulador de la D.O. Rueda.

ABSTRACT

PELÁEZ H., R. MARAÑA, P. VAZQUEZ DE PRADA, A. PURAS, Y. SANTIAGO. 2006. Local population behaviour of *Lobesia botrana* Denis & Schiffermüller (Lepidoptera: Tortricidae). *Bol. San. Veg. Plagas*, **32**: 189-197.

The rational monitoring and control of damage insect like *Lobesia botrana* or European grapevine moth, is necessary to establish monitoring and control strategies that would be good for the environment, farmers economy and without undesirable repercussion in wine processes.

Geostatistical analysis provides insects spatial distribution maps that with external factors analysis can explain why you see higher damage, more adults in specifically areas in certain plots

It was established in Verdejo plot (D.O. Rueda) several delta traps to study the adult phenology and damages in these points. The goal is to study European grapevine moth spatial distribution in a particular plot in the different generations.

Key words: *Lobesia botrana*, spatial distribution, density population, vine, geostatistical.

REFERENCIAS

- MORAL GARCÍA, F.J., 2003. Representación gráfica de la distribución espacial de una plaga en una plantación mediante el uso de técnicas geoestadísticas. *Mapping*, nº 87: 20-34.
- MORAL GARCÍA, F.J., 2004. Aplicación de la geoestadística en las ciencias ambientales. *Ecosistemas: revista científica y técnica de ecología y medio ambiente*, nº 1.
- MORAL GARCÍA, F.J., RODRÍGUEZ BERNABÉ, J.A., ARRANZ ROMERO, A., DE LA CRUZ BLANCO, J.L. y HONORIO GUIADO, F. 2004. Técnicas geoestadísticas aplicadas al análisis de la distribución de capturas de *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) mediante trampas con feromonas sexuales en una plantación de tomate. *Bol. San. Veg. Plagas*, 30: 733-744.
- PELÁEZ, H., MARAÑA, R., BARRIGÓN, J.M., GARCÍA, D. y SERVICIOS TÉCNICOS C.R. RUEDA. 2001. Simulación de daños de la primera generación de la polilla del racimo (*Lobesia botrana* Denis y Schiffmüller) en variedades de vid de Castilla y León. II Congreso Nacional de Entomología Aplicada, Pamplona (España).
- PELÁEZ, H., GARCÍA, D., MORENO, C.M., MARTÍN, M.C., SANTIAGO, Y. y MORO, S. 2003. Estudio de la distribución espacial y optimización en la monitorización con trampas de feromonas de la polilla del racimo *Lobesia botrana* Denis y Schiffmüller (Lepidoptera; Tortricidae). III Congreso Nacional de Entomología Aplicada – IX Jornadas Científicas de la Sociedad Española de Entomología Aplicada. Ávila – octubre 2003: 204.
- PELÁEZ, H., MORO, S., SINOVAS, M., MORENO, C.M., MARTÍN, M.C., SANTIAGO, Y., MARAÑA, R., URBEZ, J.R., BARRIGÓN, J. y TÉCNICOS D.O. RUEDA. 2004a. Canopy management and variety morphology influence in the European grapevine moth (*Lobesia botrana* Denis y Schiffmüller) (Lepidoptera: Tortricidae). XXII International Congress of Entomology – Brisbane (Australia).
- PELÁEZ, H., SANTIAGO, Y., GARCÍA-SINOVAS, D., MARTÍN, M.C., MORO, S., ARMENDÁRIZ, I., SINOVAS, M., MORENO, C.M., BARRIGÓN, J.M., UTSET, A., PÉREZ, A. y MANZANO, R. 2004b. Distribución espacial y su aplicación en la monitorización de la polilla del racimo (*Lobesia botrana* Denis y Schiffmüller) (Lepidoptera; Tortricidae). *PHYTO-MA España*, Nº 164: 149-150.
- RAMÍREZ DÁVILA, J.F., GONZÁLEZ ANDÚJAR, J.L., LÓPEZ MARTÍNEZ, M.A., OCETE RUBIO, R. y LARA BENÍTEZ, M. 2004. La problemática causada por el mosquito verde, *Jacobiasca lybica* (Bergevin & Zanon) (Hemiptera, Cicadellidae) en el viñedo andaluz: modelización y generación de mapas de distribución par su aplicación en agricultura de precisión. Ed. Junta de Andalucía. 337 pp.
- RIBES, M., BASCUÑANA, M. y AVILLA, J. 1998. Estudio de la distribución espacial de *Cydia pomonella* (L.) y *Pandemis heperana* en Torregrosa (Lleida) mediante métodos estadísticos. *Bol. San. Veg. Plagas*, 24: 935-948.

(Recepción: 20 enero 2006)

(Aceptación: 16 marzo 2006)

Comunicación

Survey of *Eucalyptus* gall wasps (Hymenoptera: Eulophidae) in Portugal

M. BRANCO, J. C. FRANCO, C. VALENTE, Z. MENDEL

The occurrence of a new eucalyptus pest, *Leptocybe invasa* Fisher & LaSalle (Hymenoptera: Eulophidae), is reported from Portugal. The insect is a gall maker of several *Eucalyptus* species. The galls are induced on petiole and leaf mid rib. The wasp was observed for the first time in Portugal, in January of 2003. It has been detected in the south and eastern centre of the country. The wasp was identified based on specimens emerged in the laboratory from galls mostly collected from *E. camaldulensis*. However, galls were also observed in *E. globulus* and *E. teraticornis*.

M. BRANCO, J. C. FRANCO. Instituto Superior de Agronomia, Tapada da Ajuda. 1349-017. Lisboa, Portugal.

C. VALENTE, RAIZ. Instituto de Investigação da Floresta e Papel, Quinta de S. Francisco, Apartado 15, 3801-501 Eixo, Portugal.

Z. MENDEL. Department of Entomology, ARO, the Volcani Center, Bet Dagan, 50250, Israel

Key words: *Eucalyptus*, gall wasps, Eulophidae, *Leptocybe invasa*, Portugal.

INTRODUCTION

Gall damage on *Eucalyptus* spp. caused by *Leptocybe invasa* Fisher & LaSalle (Hymenoptera: Eulophidae) (Figure 1), a wasp species recently described as a new genus after its discovery in East Mediterranean, in 2000, have been reported during the last five years in vast areas of the Palaearctic region, including many countries in the Middle East, Southern Europe and North Africa (e.g. MENDEL *et al.*, 2004). Another eulophid wasp *Ophelimus maskelli* Ashmead (Hymenoptera: Eulophidae) (Figure 2), named by mistake as *O. eucalypti* Gahan (e.g., VIGGIANI & NICOTINA, 2001), is also spreading in the Mediterranean basin and already reached the Iberian Peninsula

(SÁNCHEZ, 2003; VILLAR and FLINCH, 2004).

The spread of these native Australian species poses a serious threat to the forestry and the timber industry. While heavy galling by *L. invasa* degenerates young trees and affect tree growth of adult ones, infestation by *O. maskelli* leads to severe defoliation damage induced by the gall formation which can in severe cases lead to tree death (e.g. MENDEL *et al.*, 2004, PROTASOV *et al.* 2005).

In 2003, we detected for the first time the presence of *L. invasa* in Portugal. Owing to the economic importance and the environmental significance of the planted eucalyptus forest in Portugal, a survey was carried out aiming at sketching the current distribution in the region of the gall wasps.



Figure 1. Adult of *Leptocybe invasa*.



Figure 2. Adult of *Ophelimus maskelli*.

The results are presented in this paper.

MATERIAL AND METHODS

Indications of the presence of *Eucalyptus* gall wasps were investigated by searching for the typical bump-shaped galls on the leaf midribs, petioles and stems induced by *L. invasa* (Figures 3 and 4) and for leaves with numerous small galls, visible on both sides of the leaf induced by *O. maskelli* (Figure 5). Visual surveys of *Eucalyptus* plantations started in 2003. In 2004, more intensive surveys were carried, first in eastern Alentejo and Algarve, and then extended to other regions. *Eucalyptus* trees with gall formations were identified. For further identification small branches with galls were brought

to the laboratory and kept in sealed plastic cages at room temperature until emergence of the wasps. The survey continues in 2005 with the emphasis is put on the presence of *O. maskelli*.

RESULTS AND DISCUSSION

Galls similar to the ones formed by *L. invasa* were detected for the first time in January 2003 in the northeast of Alentejo near the Spain border. Galling tissues were first observed on *E. camaldulensis* planted along roadsides. Adult wasps emerged in the laboratory from the galling materials collected in the field were identified as *L. invasa*. Actually, the area of distribution of *L. invasa* in Portugal covers almost all South

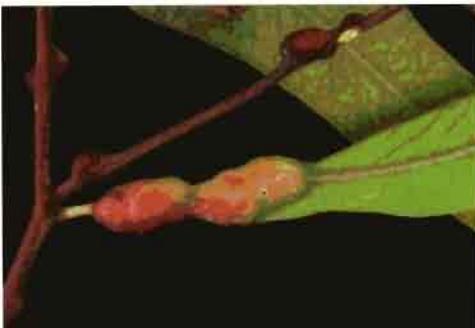


Figure 3. Gall formations on petiole and on main leaf rib by *Eucalyptus camaldulensis*



Figure 4. Damage in *Eucalyptus camaldulensis* caused by *Leptocybe invasa*.



Figure 5. Damage in *Eucalyptus* sp. caused by *Ophelimus maskelli*.

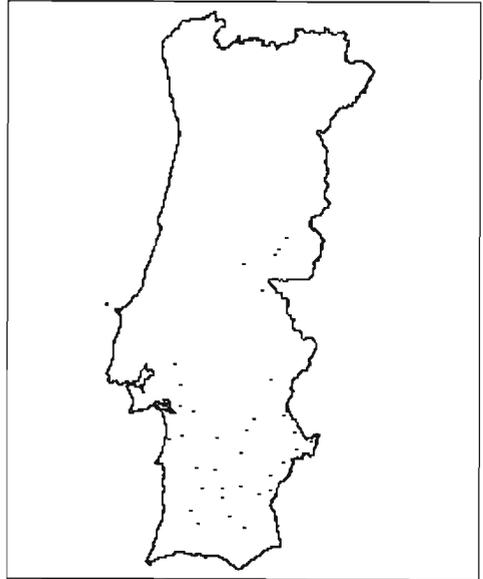


Figure 6. Sites in Portugal where gall damage by *L. invasa* was observed.

and part of the centre of Portugal, c.a. latitude 40° N (Figure 6).

L. invasa was mostly found in *E. camaldulensis* (Figure 4). However, in 2005 we could further observe symptoms of its presence in *E. globulus*, in trees near the roadside, and both in *E. globulus* and *E. tereticornis* in nursery seedlings. These findings are in agreement with previous works where these *Eucalyptus* species as well as other species from the same sections, *Maidenaria*

and *Exsertaria*, respectively, were assigned as suitable hosts for *L. invasa* (MENDEL *et al.*, 2004).

So far, *O. maskelli* was not found in our survey. However, since this species was previously reported in Spain (SÁNCHEZ, 2003; VILLAR AND FLINCH, 2004) there is no doubt that it will soon appear. The coexistence of the two species on the same tree as observed in other regions (Figure 7) will intensify the damage to *Eucalyptus* plantations.



Figure 7. Heavily galled *Eucalyptus* sp. by both *Leptocybe invasa* (a) and *Ophelimus maskelli* (b).

ABSTRACT

BRANCO M., J. C. FRANCO, C. VALENTE, Z. MENDEL. 2006. Pesquisa de avispas produtoras de agallas (Hymenoptera: Eulophidae) en *Eucalyptus* en Portugal. *Bol. San. Veg. Plagas*, **32**: 199-202.

Se registra la aparición en Portugal de una nueva plaga del eucalipto, *Leptocybe invasa* Fisher & LaSalle (Hymenoptera: Eulophidae). El insecto es un formador de agallas en varias especies de eucalipto. Las agallas son inducidas en el peciolo y nervio medio de la hoja. La avispa fué observada por primera vez en Portugal en Enero de 2003. Ha sido detectada en el sur y en el área centro-oriental del país. La avispa se ha identificado en base a especímenes salidos en laboratorio de agallas recogidas en *E. camaldulensis*. Sin embargo, también se observaron agallas en *E. globulus* y *E. teraticornis*.

Palabras clave: *Eucalyptus*, avispas productoras de agallas, Eulophidae, *Leptocybe invasa*, Portugal.

REFERENCIAS

- MENDEL Z., PROTASOV A., FISHER N., LA SALLE J. 2004. Taxonomy and biology of *Leptocybe invasa* gen. & sp. n. (Hymenoptera: Eulophidae), an invasive gall inducer on *Eucalyptus*. *Aust. J. Entomol.*, **43**: 101-113.
- SÁNCHEZ, I. 2003. Descubiertas dos nuevas plagas del eucalipto en España. *Quercus*, **214**: 32-33.
- VILLAR J.P.; M.R. FLINCH, 2004. Dos especies australianas de eulófidos, muy dañinas para *Eucalyptus* spp., introducidas en el nordeste ibérico (Hymenoptera: Eulophidae). *Boln. S.E.A.*, **1**: 299-301.
- PROTASOV, A., BLUMBERG, D., BRAND, D., SAPHIR, NICOLE FISHER, N., LA SALLE, J., MENDEL, Z. 2005. Seasonal history, host range, and infestation studies of the invasive eucalyptus gall wasp *Ophelimus maskelli* in Israel. *Phytoparasitica* (abstract of a symposium, in press).
- VIGGIANI G.; NICOTINA M. 2001. The eulophid leaf gall-making of eucalypts *Ophelimus eucalypti* (Gahan) (Hymenoptera: Eulophidae) in Campania. *Boll. Zool. Agr. Bach.*, **33**: 79-82.
- (Recepción: 16 enero 2006)
(Aceptación: 26 marzo 2006)

Influencia en el control biológico del cotonet *Planococcus citri* (Hemiptera: Pseudococcidae) de la liberación inoculativa de enemigos naturales y la eliminación de hormigas, en parcelas de cítricos

M. VILLALBA, N. VILA, C. MARZAL, F. GARCIA MARÍ

Se realizó un ensayo en 32 parcelas de cítricos de las comarcas del Camp de Turia y Ribera Alta, en la Comunidad Valenciana, para evaluar la influencia en el control biológico del cotonet (*Planococcus citri* (Risso)) (Hemiptera: Pseudococcidae) de las liberaciones inoculativas del parasitoide *Leptomastix dactylopii* (Howard) (Hymenoptera: Encyrtidae) y el depredador *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant (Coleoptera: Coccinellidae), así como de la eliminación parcial de las hormigas. Cada uno de los tres factores estudiados, liberación de *L. dactylopii*, liberación de *C. montrouzieri* y eliminación de hormigas, se aplicó en la mitad de las parcelas de forma cruzada. *L. dactylopii* se establece y multiplica bien en la mayoría de parcelas donde se libera, desplazándose a parcelas vecinas. Sin embargo, no hemos detectado reducción de la población de cotonet en las parcelas donde se liberó. *C. montrouzieri* apenas se observó en los muestreos y tampoco detectamos reducción de las poblaciones de cotonet en las parcelas en que se liberó. La eliminación parcial de las hormigas sí parece causar una reducción del ataque del cotonet ya que en el grupo de 16 parcelas donde no se eliminaron las hormigas se encontraron las únicas cuatro de todo el ensayo que hubo que tratar con insecticidas por superar el umbral de tratamiento (20% de frutos con presencia de cotonet). Además, en las parcelas donde se eliminaron las hormigas las poblaciones de cotonet fueron significativamente menores que en las parcelas en que no se eliminaron. Se encontró en muchas parcelas el parásito autóctono *Anagyrus pseudococci* (Girault) (Hymenoptera: Encyrtidae), aunque el diseño de la experiencia no ha permitido establecer su influencia en el control biológico.

M. VILLALBA, N. VILA, C. MARZAL, F. GARCIA MARÍ. Institut Agroforestal Mediterrani, Universitat Politècnica de València, Camí de Vera 14, 46022 València. fgarciam@eaf.upv.es

Palabras clave: *Leptomastix dactylopii*, *Cryptolaemus montrouzieri*.

INTRODUCCIÓN

El cotonet (*Planococcus citri* (Risso)) (Hemiptera: Pseudococcidae) es un insecto polífago que causa daños a muchas plantas cultivadas en todo el mundo. Forma densas colonias algodonosas produciendo abundante melaza sobre la que se desarrolla la negrilla (BODENHEIMER, 1951; EBELING, 1959;

FRANCO *et al.*, 2000). En España es fundamentalmente una plaga en los cítricos (GÓMEZ-MENOR, 1937; MARTÍNEZ-FERRER, 2003) y en la vid (RUIZ CASTRO, 1941; TOLEDO, 1965).

El control biológico de *P. citri* en cítricos se consigue en plantaciones comerciales en diversos países con liberaciones inoculativas de dos enemigos naturales, el coleóptero

coccinélido *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant (Coleoptera: Coccinellidae) y el himenóptero encírtido *Leptomastix dactylopii* (Howard) (Hymenoptera: Encyrtidae) (DE BACH y ROSEN, 1991; HAMID y MICHELAKIS, 1994; KATSOYANNOS, 1996). *C. montrouzieri* es un pequeño coleóptero de forma hemisférica y color negro con las partes anterior y posterior anaranjadas. La hembra pone los huevos en las masas algodonosas del cotonet. Las larvas están recubiertas de secreciones algodonosas, por lo que se las puede confundir con las del mismo cotonet de que se alimentan. Este insecto beneficioso tiene el inconveniente de que no pasa bien el invierno en nuestra zona debido al frío. Debido a ello hay que criarlo en insectario y soltarlo periódicamente, preferiblemente en primavera o principio del verano. Los insectarios de *C. montrouzieri* están desde 1928

en Valencia, y también en otros lugares, entregando el coccinélido depredador a petición de los agricultores.

L. dactylopii es un himenoptero encírtido que puede ser muy eficaz en la limitación de las poblaciones de *P. citri* (SMITH *et al.*, 1988; CARVALHO *et al.*, 1997). Fue introducido en España en 1948 procedente de California (GÓMEZ CLEMENTE, 1943). Presenta una mala aclimatación en nuestro país, por lo que desde hace años el insectario de Almazora (Castellón) multiplica este insecto en cámaras de cría y realiza sueltas en el campo con objeto de controlar de forma biológica a las poblaciones del cotonet en el cultivo de los cítricos. Se considera que *L. dactylopii* complementa la acción de *C. montrouzieri* en la época en que este tiene poca eficacia, septiembre y octubre. Junto a las dos especies de enemigos naturales de cotonet intro-



Figura 1. Intensos daños producidos por cotonet *Planococcus citri* en frutos y hojas.



Figura 2. Los frutos en contacto son un lugar preferente de desarrollo de colonias de cotoñet *Planococcus citri*.



Figura 3. Hembra adulta de *Planococcus citri*.

ducidas existen también varias especies de parásitos autóctonos que en muchos casos son capaces de controlar a la plaga, como *Leptomastidea abnormis* (Girault) o *Anagyrus pseudococci* (Girault) (Hymenoptera: Encyrtidae) (BLUMBERG *et al.*, 1995; ISLAM *et al.*, 1997).

Las sueltas en campo de los dos enemigos naturales se realizan en España preferentemente al final de la primavera. La tasa de liberación es de 10 a 20 *L. dactylopii* y de 5 a 10 *C. montrouzieri* por árbol (RIPOLLÉS, 1990). Actúan de forma complementaria, atacando diferentes estadios de desarrollo de la presa. *L. dactylopii* actúa sobre L3 y hembras jóvenes de *P. citri*, las larvas de *C. montrouzieri* se alimentan de huevos y los adultos de hembras de *P. citri*, mientras que los parásitos autóctonos (*Leptomastidea abnormis* y *Anagyrus pseudococci*) parasitan L2 y L3 (ISLAM *et al.*, 1997).

Las colonias de *P. citri* en cítricos, como las de otros homópteros, se encuentran con frecuencia acompañadas por poblaciones de hormigas que, a cambio de la melaza, protegen a los fitófagos de sus enemigos naturales (CAMPOS *et al.*, 2006) y los transportan a lugares más favorables. En muchos países productores de cítricos se ha comprobado que las hormigas son uno de los factores más importantes responsables de las proliferacio-

nes de algunas plagas del cultivo (HANEY *et al.*, 1987; MORENO *et al.*, 1987; SAMWAYS *et al.*, 1982). En España se han publicado recientemente varios trabajos sobre la identidad y abundancia de las hormigas en parcelas de cítricos (PALACIOS *et al.*, 1999; ALVIS y GARCIA-MARÍ, 2006; URBANEJA *et al.*, 2006).

El objetivo de este trabajo ha sido evaluar la influencia en el control biológico del cotoñet (*Planococcus citri* (Risso)) de las liberaciones inoculativas del himenóptero parásito *Leptomastix dactylopii* (Howard) y el coleóptero depredador *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant, así como de la eliminación parcial de las hormigas, en parcelas cultivadas de cítricos de la Comunidad Valenciana.

MATERIAL Y MÉTODOS

El trabajo se ha realizado el año 2002 en colaboración con los técnicos de nueve cooperativas de las comarcas de Camp de Turia y Ribera Alta, en la provincia de Valencia, que cedieron cada uno de ellos cuatro plantaciones comerciales de cítricos para la experiencia (excepto dos cooperativas que cedieron dos cada una). En total se han incluido por tanto 32 parcelas en este trabajo. Las plantaciones eran todas de naranjo dulce (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) variedad



Figura 4. Liberación en campo de *Cryptolaemus montrouzieri*.

Navelina. Las cooperativas fueron las de Carlet, Catadau, Godella, La Pobla de Vallbona, Lliria, Pedralba, Real de Montroi, Turís y Vilamarxant. Las plantaciones se eligieron por haber tenido en años anteriores poblaciones medias o elevadas de *P. citri* y por tener bajas poblaciones de otras plagas, sobre todo de piojo rojo de California *Aonidiella aurantii* (Maskell) (Hemiptera: Diaspididae) u otros diaspididos, a fin de no tener que realizar aplicaciones de plaguicidas durante todo el periodo del ensayo. Para esta experiencia se acotó en cada plantación una superficie aproximada de 0,3 hectáreas y en esta parcela de ensayo se realizaron las prácticas de cultivo habituales en la zona excepto los tratamientos fitosanitarios para otras plagas, que no se aplicaron en todo el periodo en que duró la experiencia. Cuando en las parcelas objeto del ensayo se sobrepasó el nivel poblacional del 20% de frutos ocupados por *P. citri* se avisó al técnico de la cooperativa correspondiente, que tenía la opción de aplicar un plaguicida para el control de la plaga, con lo que automáticamente dejábamos de muestrear la parcela y esta quedaba



Figura 5. Liberación en campo de *Leptomastix dactylopii*.

fuera de la experiencia, o esperar la confirmación de los niveles poblacionales en los siguientes muestreos para tomar una decisión.

En las 32 parcelas se han realizado tres actuaciones, liberación de *Leptomastix dactylopii*, liberación de *Cryptolaemus montrouzieri* y eliminación de las hormigas.



Figura 6. Cebo de azúcar con clorpirifos al pie del tronco empleado para eliminar las poblaciones de hormigas.



Figura 7. Trampa atrayente para captura de himenópteros parasitoides.

Cada una de estas actuaciones se ha realizado en la mitad de las parcelas, en un diseño multifactorial en el que los tres factores se combinan entre sí de todas las formas posibles, con 4 repeticiones de cada una de las 8 combinaciones posibles de los tres factores. Las sueltas de *Leptomastix dactylopii*, con insectos procedentes del insectario de Alma-



Figura 8. Larva y adulto de *Cryptolaemus montrouzieri*.

zora, se realizaron a razón de 4.000 insectos/ha. Las liberaciones se realizaron en dos mitades, la primera del 28 al 31 de mayo y la segunda del 20 al 27 de junio. Las sueltas de *Cryptolaemus montrouzieri*, con insectos procedentes del insectario de Silla (Valencia), se realizaron a razón de 2.000 insectos/ha. Las liberaciones se realizaron en dos mitades, la primera del 4 al 12 de junio y la segunda del 3 al 11 de julio. La eliminación de las hormigas se realizó repartiendo a mano dos puñados de azúcar blanco comercial con el 10% (v/p) del insecticida comercial Dursban (que contiene el 48% de la materia activa clorpirifos) por árbol depositado en el suelo junto al tronco. Este cebo envenenado se repartió en dos ocasiones, en la segunda quincena de junio y en la segunda quincena de julio.

En cada una de las 32 parcelas se realizaron muestreos periódicos quincenales durante cuatro meses, de julio a octubre de 2002. El primer muestreo, en la primera quincena de julio, se realizó observando la presencia del insecto debajo del cáliz del fruto, en 200 frutos muestreados al azar, a razón de 5 por árbol de 40 árboles. Para ello los frutos se llevaron al laboratorio y la observación se hizo a la lupa binocular. Desde la segunda quincena de julio y hasta la segunda quincena de octubre se evaluó la población de coto-net en la parcela estimando en campo de



Figura 9. Barriletes de color marrón como consecuencia del parasitismo por *Leptomastix dactylopii*.



Figura 10. *Leptomastix dactylopii*.

forma visual el porcentaje de frutos con presencia del insecto en un total de 160 frutos aislados y 40 frutos en contacto, a razón de cuatro frutos aislados (elegidos al azar en los cuatro puntos cardinales) y uno en contacto por árbol en 40 árboles al azar. Esta observación incluía anotar la presencia de parásitos o depredadores en las colonias de cotonet. Además se recogían muestras de frutos con colonias de cotonet y con síntomas de parasitismo (barriletes) y se llevaban a laboratorio, donde los frutos se mantenían en evolucionarios para obtener e identificar los adultos de parásitos resultantes.

Se instalaron también tres trampas amarillas por parcela, una de ellas con feromona de machos de *P. citri*. Estas trampas se recogían en cada muestreo quincenal, contándose en laboratorio los parásitos y depredadores de *P. citri*. La abundancia de hormigas se estimó de forma cualitativa por observación del tronco y ramas principales de varios



Figura 11. *Anagrus pseudococci*.

árboles de la parcela, tras la cuál se adjudicaba a ésta en cada muestreo un índice de abundancia, con los valores 0 (ausencia), 1 (muy pocas), 2 (pocas), 3 (bastantes) y 4 (muchas). Estos índices se establecieron sin cuantificar las hormigas, realizando el observador una estimación aproximada en relación al nivel máximo de 4 que fue aquel que mostró poblaciones de hormigas consideradas habitualmente elevadas en la zona.

Los tests estadísticos se realizaron usando el programa SAS/STAT (SAS Institute 1990). Las proporciones se transformaron con la función "arco seno de la raíz cuadrada" para estabilizar la varianza. Los datos del porcentaje de frutos ocupados por *P. citri*



Figura 12. *Planococcus citri* y hormigas sobre un fruto.

al comparar entre grupos de parcelas que habían recibido diferentes actuaciones de control biológico se analizaron con Análisis de Varianza unifactorial, usando el procedimiento Proc GLM. Las medias se separaron usando un test de mínima diferencia significativa protegido.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La presencia de cotonet *P. citri* fue habitual en la mayoría de parcelas, ya que en el primer muestreo realizado en la primera quincena de julio 29 de las 32 mostraron la presencia bajo cáliz de cotonet en al menos un fruto de los 200 muestreados. En este momento el porcentaje medio de frutos ocupados bajo el cáliz fue del $14,2 \pm 3,9\%$. Posteriormente, en los muestreos realizados sobre frutos, el porcentaje medio de frutos ocupados en todas las parcelas se redujo lentamente desde un máximo de $7,8 \pm 2,2\%$ a primeros de agosto hasta el $3,1 \pm 0,5\%$ en el último muestreo realizado en la segunda quincena de octubre. En esta evolución hay que tener en cuenta que a lo largo del periodo del muestreo se eliminaron cuatro parcelas que hubo que tratar contra cotonet al observarse en ellas elevados niveles poblacionales de la plaga, por encima del 20% de frutos ocupados. En otras dos parcelas el muestreo se interrumpió en agosto debido a que tenían poblaciones elevadas de piojo rojo de California *Aonidiella aurantii* y hubo que realizar un tratamiento con un insecticida organofosforado para controlar dicha plaga. En definitiva, el muestreo se inició en 32 parcelas en la primera quincena de julio y se concluyó en 26 parcelas en la segunda quincena de octubre.

De las cuatro parcelas que superaron el umbral del 20% de frutos ocupados por *P. citri*, dos habían recibido sueltas de *C. montrouzieri*. También dos de las cuatro parcelas tratadas habían recibido sueltas de *L. dactylopii*. Por otra parte, las cuatro parcelas tratadas pertenecían al grupo de aquellas en las que no se habían eliminado las poblaciones de hormigas. Por tanto, según el análisis de

las parcelas que superaron el umbral de tratamiento, la eliminación de hormigas resulta ser el único de los tres factores ensayados que parece influir en la reducción de la incidencia del cotonet en las parcelas.

Al comparar la media del porcentaje de frutos ocupados por cotonet entre el grupo de parcelas en que se había aplicado y el grupo en que no se había aplicado cada uno de los tres factores ensayados (liberación de *L. dactylopii*, liberación de *C. montrouzieri* y eliminación de hormigas), observamos (figura 13A y 13B) que para los dos primeros factores no se han encontrado diferencias significativas en el nivel poblacional de cotonet en ningún de los ocho muestreos realizados, entre las parcelas en que se liberaron y las parcelas en que no se liberaron los enemigos naturales. En el grupo de parcelas en que se liberó *C. montrouzieri* se observó un porcentaje medio de frutos ocupados en el conjunto de los muestreos del $7,4 \pm 1,9\%$, frente al $6,6 \pm 2,5\%$ en el grupo de parcelas en que no se liberó este depredador. Las observaciones de *C. montrouzieri* en campo han sido muy escasas a lo largo de esta experiencia. En total, en los evolucionarios donde manteníamos en laboratorio naranjas con colonias de cotonet se obtuvieron sólo 24 adultos de *C. montrouzieri*. De ellos, 11 (de 5 parcelas) se observaron en las parcelas de suelta y 13 (de 6 parcelas) en parcelas donde no se liberaron.

En el grupo de parcelas en que se liberó *L. dactylopii* se observó un porcentaje medio de frutos ocupados por cotonet en el conjunto de los muestreos del $7,0 \pm 1,8\%$, frente al $7,0 \pm 2,6\%$ en el grupo de parcelas en que no se liberó este parasitoide. De las 16 parcelas en que se liberó *L. dactylopii*, en diez se recuperaron en los muestreos posteriores más de diez adultos y en cuatro se recuperaron de uno a diez adultos. Estas cuatro parcelas, así como las dos donde no se recuperó ningún adulto del parasitoide, eran parcelas con muy bajo nivel poblacional de cotonet, menos del 2% de frutos ocupados. En 14 de las 16 parcelas en que no se liberó *L. dactylopii* no encontramos adultos de esta especie.

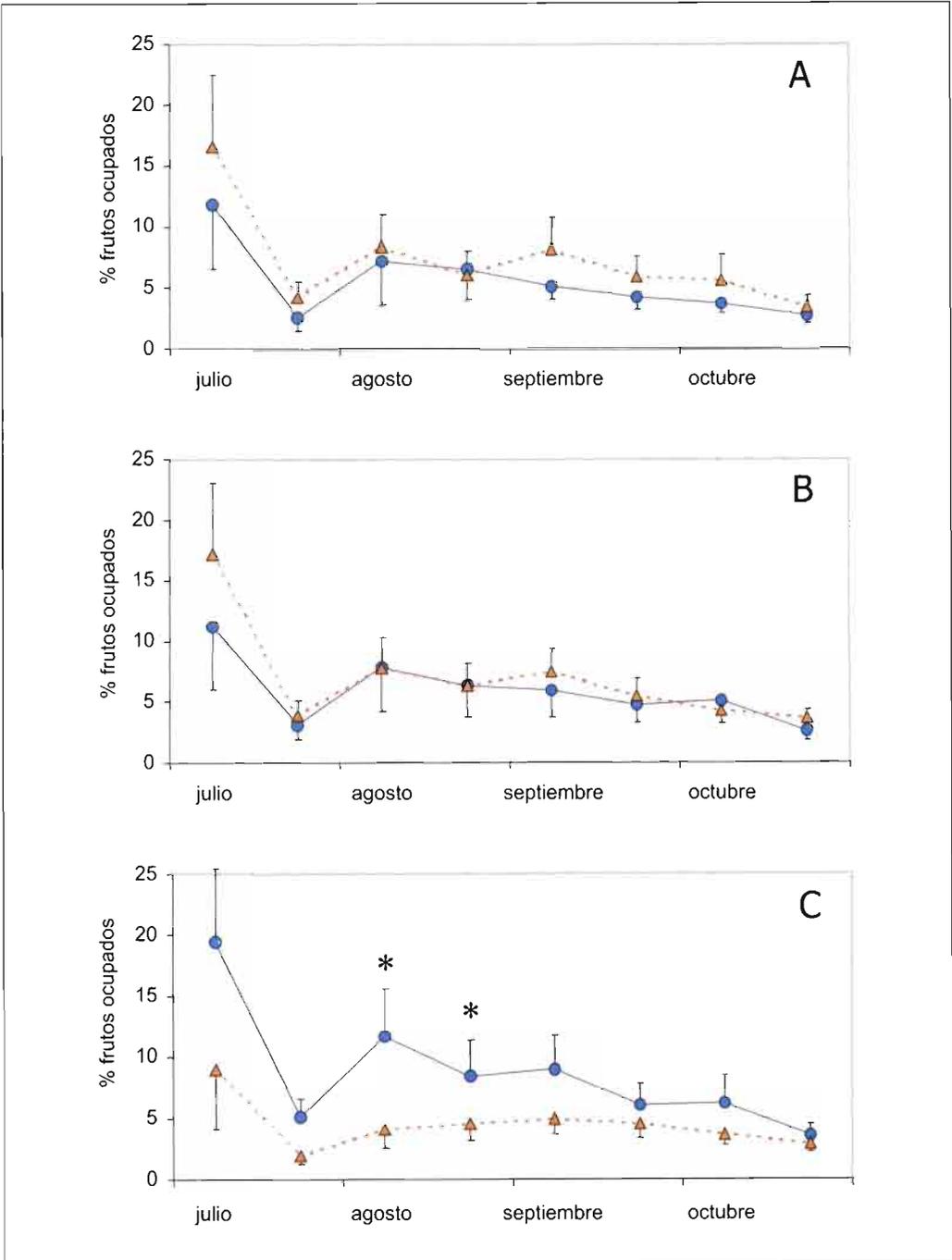


Figura 13. Comparación del porcentaje medio (\pm error estándar) de frutos ocupados por cotonet *Planococcus citri* entre los dos grupos de parcelas en que se había aplicado (línea de trazos) o no aplicado (línea continua) cada uno de los tres factores ensayados (A. Sueltas de *C. montrouzieri*, B. Sueltas de *L. dactylopii*, y C. Eliminación de hormigas). * indica que existen diferencias significativas entre los dos grupos para esa fecha (ANOVA; test MDS; $P < 0.05$).

Otras dos, sin embargo, mostraron poblaciones bastante altas del parasitoide a pesar de que en ellas no se realizó ninguna liberación. En los dos casos eran parcelas con mucho cotonet y que se encontraban colindantes con parcelas donde sí se liberó el parasitoide. De hecho, eran las únicas parcelas colindantes de todas las utilizadas en la experiencia.

Se han realizado otras observaciones comparando el grupo de las parcelas en que se liberó *L. dactylopii* y el grupo de parcelas en que no se liberó. En el primer grupo, el número medio de adultos de *L. dactylopii* por muestra obtenido de las naranjas con colonias de cotonet y síntomas de parasitismo puestas a evolucionar en laboratorio fue de 56.9 ± 23.9 , frente a 12.2 ± 18.4 en el grupo donde no se soltaron. También se encuentran notables diferencias en el porcentaje de colonias de cotonet en las que en campo se observan barriletes de parásitos, 14.9 ± 4.0 en las parcelas de suelta frente a 7.7 ± 2.3 en las testigo.

Junto a *L. dactylopii* se ha obtenido en los evolucionarios otra especie de parásito de cotonet que se encuentra de forma natural en las parcelas, *Anagyrus pseudococci*. En las naranjas con colonias de cotonet puestas a evolucionar en laboratorio se han obtenido 1.107 adultos de *L. dactylopii* frente a 372 adultos de *A. pseudococci*. Sin embargo en las trampas amarillas, sobre todo en las cebadas con feromona de cotonet, se han capturado 497 *A. pseudococci* frente a sólo 33 *L. dactylopii*. Mientras *A. pseudococci* se encuentra en todo tipo de parcelas, casi todos los adultos de *L. dactylopii* se encuentran en las parcelas de suelta (1.4 ± 0.6 en las parcelas de suelta frente a 0.1 ± 0.1 en las testigo). Según estos datos, el parásito autóctono parece ser muy común en todo tipo de parcelas del ensayo, aunque es difícil concluir si su presencia y su acción son más o menos importantes que las del parásito introducido *L. dactylopii*, ya que los síntomas de parasitismo que produce son menos evidentes que los del parasitoide introducido.

En cuanto a la influencia de la eliminación de hormigas, se observa una tendencia a

que las poblaciones de cotonet sean más bajas en las parcelas en que se eliminaron las hormigas, alcanzando significación estadística esta diferencia en los dos muestreos del mes de agosto (figura 13C). Hay que decir que la eliminación de las hormigas no fue completa ni permanente. El índice medio de presencia de hormigas en las parcelas donde éstas se eliminaron fue de 0.6 ± 0.1 (en una escala cualitativa de abundancia de 0 a 4), mientras que este índice en las 16 parcelas donde no se eliminaron fue de 1.2 ± 0.2 . Vemos por tanto que conseguimos una eliminación incompleta y parcial. Los resultados obtenidos con esta eliminación parcial aparecen sin embargo como los más favorables de los tres factores ensayados. Las cuatro parcelas donde hubo que tratar por superarse el umbral fueron del grupo en que no se eliminaron las hormigas. La evolución estacional del porcentaje de frutos ocupados por cotonet en el grupo de parcelas en que se eliminaron las hormigas, frente al grupo de parcelas en que no se eliminaron, muestra que siempre es mayor el ataque de cotonet en aquellas parcelas en que se mantienen las hormigas (fig. 13 C).

En conclusión, de los resultados de nuestro ensayo se desprende que *Leptomastix dactylopii* se establece y multiplica bien en la mayoría de parcelas donde se libera e incluso se desplaza a parcelas vecinas. Sin embargo no hemos detectado reducción en los problemas de cotonet en las parcelas donde se liberó este parásito. *Cryptolaemus montrouzieri* apenas se observa en el transcurso de estas experiencias, y los pocos insectos observados los encontramos tanto en las parcelas en que se liberó como en aquellas en que no se liberó. Además, no se observa reducción de las poblaciones de cotonet en las parcelas donde se liberó. La eliminación parcial de las hormigas sí parece causar una reducción del ataque del cotonet. Las cuatro parcelas en que se superó el umbral de tolerancia y hubo que tratar la plaga pertenecen al grupo de parcelas en que no se eliminaron las hormigas. Además en las restantes parcelas la población de cotonet

fue más alta en las parcelas donde no se eliminaron las hormigas. Parece por tanto que, en nuestros cultivos de cítricos, se muestra como factor más favorable a la hora de mejorar el control biológico del cotonet *P. citri* la eliminación de las hormigas, complementada posiblemente por el respecto de la fauna nativa de parasitoides, aunque se requieren más estudios para aclarar el papel que puede jugar dicha fauna. Las sueltas inoculativas de enemigos naturales no nativos como *L. dactylopii* y *C. montrouzieri*, que se realiza habitualmente con éxito en muchas zonas cítricas del mundo (FRONTEDDU *et al.*, 1996; KATSOYANNOS, 1996), entre ellas en España (MARTÍNEZ-FERRER *et al.*, 2003; OLIVERO *et al.*, 2003), no ha dado los resultados esperados en nuestro estudio. Tendrán por tanto que estudiarse las condiciones para optimizar los resultados de dichas sueltas, relacionadas posiblemente con el clima, la situación de la plaga en el momento de las liberaciones de insectos en campo, la calidad de las crías, u otros facto-

res. La presencia de hormigas puede ser uno de los factores que interfiera de forma decisiva en las liberaciones inoculativas de enemigos naturales para el control biológico del cotonet *P. citri*.

AGRADECIMIENTOS

Deseamos agradecer a los técnicos de las cooperativas de Carlet (Andrés Alonso), Catadau (José Manuel Rodríguez), Godella (Ana García), La Pobla de Vallbona (Salvador Larrocha), Lliria (Belen Tamargo), Pedralba (Reyes Barrachina), Real de Montroi (Raúl Martínez), Turís (Vicent Insa) y Vilamarxant (Fina Cervera), y de forma especial a los técnicos de la Federación de Cooperativas de la Comunidad Valenciana (FECOAV) Ana Cano y Francisco Girona, por la cesión de las parcelas, así como por su ayuda en la planificación de los ensayos y en los muestreos. Este trabajo ha sido financiado por la Conselleria de Agricultura de la Generalitat Valenciana.

ABSTRACT

VILLALBA M., N. VILA, C. MARZAL, F. GARCIA MARÍ. 2006. Influence of inoculative releases of natural enemies and exclusion of ants in the biological control of the citrus mealybug *Planococcus citri* (Hemiptera: Pseudococcidae), in citrus orchards. *Bol. San. Veg. Plagas*, **32**: 203-213.

A trial was carried out in 32 citrus orchards from the Camp de Turia and Ribera Alta areas, in the Comunidad Valenciana, to evaluate the influence on the biological control of the citrus mealybug (*Planococcus citri* (Risso)) (Hemiptera: Pseudococcidae) of inoculative releases of the parasitoid *Leptomastix dactylopii* (Howard) (Hymenoptera: Encyrtidae) and the predator *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant (Coleoptera: Coccinellidae), and the partial exclusion of ants. Each one of the three factors studied, releases of *L. dactylopii*, releases of *C. montrouzieri*, and ant exclusion, was applied to half of the orchards in a crossed design. *L. dactylopii* readily established and multiplied in most of the orchards where it was released, dispersing to nearby orchards. However, we could not find any influence in the citrus mealybug populations compared with non-release orchards. *C. montrouzieri* was rarely recovered and no reduction in citrus mealybug populations was observed in the release orchards. On the contrary, in the orchards where ants had been partially excluded, a significant reduction in citrus mealybug populations and damage could be observed. The four orchards in all the trial which went beyond the threshold level established for the citrus mealybug populations (20% of occupied fruits), and consequently ought to be treated with pesticides to control the pest, belonged to the group of orchards where ants had not been excluded. Moreover, the group of orchards with excluded ants showed significantly lower mealybug population levels than the unaltered orchards. The native parasitoid *Anagyrus pseudococci* (Girault) (Hymenoptera: Encyrtidae) was found in many orchards of this trial, though the design of the experience did not allow us to establish its influence in the biological control of the mealybug.

Key words: *Leptomastix dactylopii*, *Cryptolaemus montrouzieri*.

REFERENCIAS

- ALVIS, L., GARCIA-MARÍ, F. 2006. Identification and abundance of ants (Hymenoptera: Formicidae) in Citrus trees from Valencia (Spain). *Boletín IOBC-WPRS*, en prensa.
- BLUMBERG, D., KLEIN, M., MENDEL, Z. 1995. Response by encapsulation of four mealybug species (Hemiptera; Pseudococcidae) to parasitization by *Anagyrus pseudococci*. *Phytoparasitica*, **2** (23): 157-163.
- BODENHEIMER, F. S. 1951. Citrus Entomology in the Middle East. Ed. W. Junk. La Haya (Holanda). 663 pp.
- CAMPOS, J. M., MARTÍNEZ-FERRER, M. T., FORÉS, V. 2006. Parasitism disruption by ants of *Anagyrus pseudococci* (Girault) and *Leptomastix dactylopii* Howard (Hymenoptera: Encyrtidae), two parasitoids of the citrus mealybug *Planococcus citri* (Risso) (Homoptera: Pseudococcidae). *Boletín IOBC-WPRS*, en prensa.
- CARVALHO, C. J., SILVA, E. B., FRANCO, J. C., MEXIA, A. 1997. Utilização de *Leptomastix dactylopii* Howard (Hymenoptera: Encyrtidae) na limitação de *Planococcus citri* (Risso) (Homoptera: Pseudococcidae) em Portugal continental. Universidade Dos Açores. Departamento de Ciências Agrárias. IV Encontro Nacional de Protecção Integrada. "A importância da protecção integrada numa agricultura sustentável".
- DE BACH, P., ROSEN D. 1991. Biological control by natural enemies. Cambridge University Press, Cambridge, UK. 440 pp.
- EBELING, W. 1959. Subtropical fruit pests. University of California, Division of Agricultural Science, Berkeley, California, USA. 436 pp.
- FRANCO, J. C., BORGES DA SILVA, E., PASSOS DE CARVALHO, J. 2000. Cochonilhas algodão (Hemiptera, Pseudococcidae) associadas aos citrinos em Portugal. ISA Press, Lisboa, Portugal.
- FRONTEDDU, F., CANU, D., D'AMICO, R. 1996. Applicazioni di metodologie di controllo integrato in agrumicoltura: lotta biotecnica contro *Ceratitidis capitata* e controllo biologico del *Planococcus citri*. *Informatore fitopatologico*, **11** (1): 34-39.
- GÓMEZ CLEMENTE, F. 1943. Cochinitas que atacan a los agrios en la región de Levante. *Bol. Pat. Veg. Ent. Agr.*, **XII**: 299-328.
- GÓMEZ-MENOR, J. 1937. Cócidos de España. Instituto de Investigaciones Agronómicas. Estación de Fito-patología Agrícola de Almería. Madrid, España. 432 pp.
- HAMID, H. A., MICHELAKIS, S. 1994. The importance of *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant (Col., Coccinellidae) in control of the citrus mealybug *Planococcus citri* (Risso) (Hom., Coccoidea) under specific conditions. *J. Appl. Ent.*, **118**: 17-22.
- HANEY, P. B., LUCK, R. F., MORENO, D. S. 1987. Increases in densities of the citrus red mite, *Panonychus citri* (Acarina: Tetranychidae) in association with the Argentine ant, *Iridomyrmex humilis* (Hymenoptera: Formicidae), in southern California citrus. *Entomophaga*, **32**(1): 49-57.
- ISLAM, K. S., PERERA, H. A. S., COPLAND, M. J. W. 1997. The effects of parasitism by an encyrtid parasitoid, *Anagyrus pseudococci* on the survival, reproduction and physiological changes of the mealybug, *Planococcus citri*. *Entomol. Exp. Appl.*, **34**: 77-83.
- KATSOYANNOS, P. 1996. Integrated insect pest management in Northern Mediterranean countries. Benaki Phytopathological Institute. Atenas, Grecia. 110 pp.
- MARTÍNEZ-FERRER, M. T. 2003. Biología y control del cotonet *Planococcus citri* (Homoptera: Pseudococcidae) en huertos de cítricos. Tesis Doctoral. Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos. Universitat Politècnica de València. Valencia, España. 208 pp.
- MARTÍNEZ-FERRER, M. T., GARCIA-MARÍ, F., RIPOLLÉS, J. L. 2003. Population dynamics of *Planococcus citri* (Risso) (Homoptera: Pseudococcidae) in citrus groves in Spain. *Boletín IOBC-WPRS*, **26** (6): 141-154.
- MORENO, D. S., HANEY, P. B., LUCK, R. F. 1987. Chlorpyrifos and diazinon as barriers to Argentine ant (Hymenoptera: Formicidae) foraging on citrus trees. *J. Econ. Entomol.* **80**(1): 208-214.
- OLIVERO, J., E. GARCÍA, E. WONG, E., MARQUEZ, A., GARCÍA, S. 2003. Defining a method to determine the release dose of *Cryptolaemus montrouzieri* Muls. based on the incidence of *Planococcus citri* Risso in Citrus orchards. *Boletín IOBC-WPRS*, **26** (6): 155-162.
- PALACIOS, R., MARTÍNEZ-FERRER, M. T., CERDÁ, X. 1999. Composición, abundancia y fenología de las hormigas (hymenoptera: Formicidae) en campos de cítricos de Tarragona. *Bol San. Veg. Plagas*, **25**: 229-240.
- RIPOLLÉS, J. L. 1990. Las cochinillas de los agrios. IV Symposium nacional de Agroquímicos, Sevilla. *Levante Agrícola*, 1º trim.: 297-298.
- RUIZ CASTRO, A. 1941. El "melazo" (*Pseudococcus citri* Risso) en los parrales de Almería. *Bol. Pat. Veg. Ent. Agr.*, **X**: 157-216.
- SAMWAYS, M. J., NEL, M., PRINS A. J. 1982. Ants (Hymenoptera: Formicidae) foraging in citrus trees and attending honeydew-producing Homoptera. *Phytophylactica*, **14**: 155-157.
- SMITH, D., PAPACEK, D., MURRAY, D. A. H. 1988. The use of *Leptomastix dactylopii* Howard (Hymenoptera: Encyrtidae) to control *Planococcus citri* (Risso) (Hemiptera: Pseudococcidae) in Queensland citrus orchards. *Qld. J. Agric. Anim. Sci.*, **45** (2): 157-164.
- TOLEDO, J. 1965. Melazo o cochinilla algodona. (*Pseudococcus citri*, Risso). En: *Parásitos de la vid*, pp. 58-61. M.A.P.A., Madrid, España. 387 pp.
- URBANEJA, A., GARCIA-MARÍ, F., TORTOSA, D., NAVARRO, C., VANACLOCHA, P., BARGUES, P., CASTAÑERA, P. 2006. Influence of ground predators on the survival of the Mediterranean fruit fly pupae, *Ceratitis capitata*, in Spanish citrus orchards. *Biocontrol*, en prensa.

(Recepción: 17 enero 2006)

(Aceptación: 3 abril 2006)

Avaliação do parasitismo por *Anagyrus pseudococci* (Girault) em cochonilhas-algodão em proteáceas

A. M. PASSARINHO, M. J. LEANDRO, M. OLIVEIRA, E. FIGUEIREDO, J. C. FRANCO, J. NEVES-MARTINS, A. MEXIA

As cochonilhas-algodão têm vindo a constituir praga-chave em Proteaceae (*Protea cynaroides*, *Protea* var. "Susara", *Leucospermum* var. "Scarlet Ribbon". *Leucospermum* var. "High Gold"), cultivadas como flor-de-corte no Sudoeste alentejano. Embora a identificação específica, ainda, não esteja esclarecida, os dados disponíveis apontam para a existência de duas espécies dos géneros *Paracoccus* e *Delottococcus*, nenhum deles referido em Portugal.

Devido às limitações da luta química, quer em termos de eficácia, quer em termos de impacto ambiental, foram efectuados ensaios de luta biológica, através de largadas de *Cryptolaemus montrouzieri* Muls., com bons resultados em *Leucospermum*, mas insatisfatórios em *P. cynaroides*. Em consequência, decidiu-se avaliar a possibilidade de utilização de parasitóides por terem maior capacidade potencial de alcançar as cochonilhas instaladas entre as brácteas da flor, devido à sua dimensão. Foi seleccionado o endoparasitóide indígena *Anagyrus pseudococci* (Girault) cujo potencial de parasitismo foi estudado, em estufa, entre Novembro de 2004 e Junho de 2005, utilizando 20 conjuntos de duas plantas envasadas de *Leucospermum*, infestadas com cochonilhas das duas espécies. Em cada repetição foram observadas, à lupa, após dissecação, cerca de 90 cochonilhas, para determinação das taxas de parasitismo e encapsulação.

A taxa de parasitismo variou entre 18,2% e 55,1%; com valores mais elevadas na Primavera, coincidindo com a subida da temperatura e com o aumento da abundância relativa de uma das espécies. A taxa de encapsulação foi 7,6%.

A. M. PASSARINHO, E. FIGUEIREDO, J. C. FRANCO, J. NEVES-MARTINS, A. MEXIA. Instituto Superior de Agronomia (DPPF), Tapada da Ajuda, 1349-017 Lisboa. anapassarinho@gmail.com

M. J. LEANDRO, M. OLIVEIRA. Europrotea, Herdade do Sardão, Entrada da Barca, 7630-734 Zambujeira do Mar.

Palavras-chave: *Anagyrus pseudococci*, *Paracoccus* sp., *Delottococcus* sp., Proteaceae, parasitismo, encapsulação, luta biológica.

INTRODUÇÃO

As cochonilhas-algodão (Hemiptera: Pseudococcidae) têm-se destacado como praga-chave de *Protea cynaroides*, *Protea* var. "Susara", *Leucospermum* var. "Scarlet Ribbon" e *Leucospermum* var. "High Gold", proteáceas cultivadas como flor-de-corte, no Sudoeste alentejano (Figuras 1 e

2). Os dados disponíveis apontam para a existência de duas espécies, ainda não identificadas, dos géneros *Delottococcus* e *Paracoccus*. A sua presença foi detectada pela primeira vez no ano 2000, em *Leucospermum* sp., desconhecendo-se a sua origem. Nenhum dos géneros se encontra referenciado na Península Ibérica (BEN-DOV, 2005).

Devido às limitações da luta química, quer em termos de eficácia, quer de impacte ambiental, foram efectuados ensaios de luta biológica, através de largadas de *Cryptolaemus montrouzieri* Muls. Apesar dos bons resultados obtidos em *Leucospermum* sp., a eficácia foi insatisfatória em *P. cynaroides*, devido ao facto das brácteas da flor constituírem refúgio para as colónias da cochonilha, limitando o acesso do coccinelídeo (LEANDRO *et al.*, 2005). Consequentemente, decidiu-se avaliar a possibilidade de utilização de parasitóides, por possuírem maior capacidade potencial de alcançar as cochonilhas, devido à sua menor dimensão, e por puderem originar elevada mortalidade (MILLS & GETZ, 1996; MURDOCH & BRIGGS, 1996), além de serem, em geral, mais selectivos na escolha dos seus hospedeiros do que os predadores em relação às presas, tendo-se seleccionado o endoparasitóide indígena *Anagyrus pseudococci* (Girault) (Hymenoptera: Encyrtidae).

Contudo, no caso dos endoparasitóides, a resposta imunitária do hospedeiro, através da encapsulação dos ovos, é um factor que pode condicionar a sua eficácia (BLUMBERG, 1990, 1997a,b; PASSARINHO, 2004). O estudo da encapsulação possibilita melhores predições acerca da gama de hospedeiros dos parasitóides e da acção no campo, antes da sua utilização como agentes de luta biológica (ALLEYNE & WIEDENMANN, 2001).

No presente trabalho, apresentam-se resultados de um estudo efectuado, em condições de estufa, com o objectivo de avaliar o potencial de *A. pseudococci* como agente de limitação natural de *Delottococcus* sp. e *Paracoccus* sp., tendo-se para o efeito procedido à determinação das taxas de parasitismo e encapsulação.

MATERIAL E MÉTODOS

Os ensaios decorreram, entre Novembro de 2004 e Junho de 2005, na estufa do Departamento de Protecção de Plantas (Entomologia) da Estação Agronómica Nacional, local onde se mantiveram as plantas utilizadas, tendo as observações laboratoriais sido efectuadas no Laboratório de Bioecologia de Pragas e Auxiliares do Departamento de Protecção das Plantas e Fitoecologia, do Instituto Superior de Agronomia (Universidade Técnica de Lisboa).

Origem e criação de *Delottococcus* sp. e *Paracoccus* sp.

As criações de cochonilhas foram iniciadas a partir de ovos provenientes de sacos ovígeros de fêmeas recolhidas em proteáceas, na Zambujeira do Mar (Alentejo - Portugal). As cochonilhas foram mantidas em plantas envasadas do género *Leucospermum*, uma vez que a sua manutenção em brotos



Figura 1. Cochonilhas-algodão instaladas entre as brácteas da flor de *Protea cynaroides* L.



Figura 2. Cochonilhas-algodão instaladas no ápice vegetativo de *Leucospermum* var. "Scarlet Ribbon".



Figura 3. Gaiola contendo duas plantas envasadas do género *Leucospermum* (unidade experimental).



Figura 4. Pormenor do ápice vegetativo de *Leucospermum* sp., na unidade experimental, infestado por cochonilhas-algodão.

de batata (caules estiolados de *Solanum tuberosum* L.) se mostrou difícil. As plantas foram colocadas, duas a duas, em gaiolas com 40x50x60cm envolvidas por tulle, em estufa de vidro não climatizada.

Origem e criação de *Anagyrus pseudococci* (Girault)

Os parasitóides foram obtidos a partir de cochonilhas parasitadas, recolhidas em pomares de citrinos da região de Loulé (Algarve - Portugal). Após a emergência, foram transferidos para contentores de criação contendo colónias de *Planococcus citri* (Risso) (Hemiptera: Pseudococcidae) instaladas em batatas abroalhadas. Os contentores de criação foram mantidos, em câmara climatizada, à temperatura de 24-26°C, humidade de 70±10% H.R. e fotoperíodo de 14L:10E.

Procedimento experimental

Considerou-se como unidade experimental uma gaiola contendo no seu interior duas

plantas envasadas do género *Leucospermum*, infestadas com *Paracoccus* sp. e *Delottococcus* sp. (Figuras 3 e 4), i.e., cerca de 90 ninfas do 3º ou 4º instar, não identificadas especificamente. Realizaram-se 20 repetições: repetição 1, em Novembro de 2004; repetições 2 a 4, em Dezembro de 2004; repetições 5 e 6, em Janeiro de 2005; repetições 7 e 8, em Fevereiro de 2005; repetições 9 e 10, em Março de 2005; repetições 11 a 14, em Abril de 2005; repetições 15 a 18, em Maio de 2005; e repetições 19 e 20, em Junho de 2005.

Cada unidade experimental foi exposta a grupos de 10 fêmeas adultas fecundadas de *A. pseudococci* (Figura 5), com menos de 48h de idade, que permaneceram nas gaiolas até à sua morte.

Decorridos 10 dias da introdução do parasitóide, transferiram-se as cochonilhas para uma solução de etanol a 70%, onde foram conservadas para posterior observação.

O estudo da encapsulação em pseudococcídeos não é fácil, devido às secreções



Figura 5. Fêmea adulta de *Anagyrus pseudococci* (Girault) (2-3mm) (Original de Mil-Homens).

cerosas que não permitem a visualização da cápsula melanizada que envolve o ovo ou larva encapsulada do parasitóide (Figura 6). Assim, antes de se proceder à dissecação de cada exemplar, efectuada ao microscópio estereoscópico (10 a 40x), com auxílio de pinças entomológicas, submetem-se as cochonilhas a um processo de clarificação, por imersão numa solução 1:1 de fenolcloral e ácido acético, durante 24 horas.

Para cada exemplar estudado, determinou-se o número de ovos postos pelo parasitóide e o número de ovos encapsulados, com base nos quais se estimou as taxas de parasitismo (percentagem de hospedeiros parasitados) superparasitismo (percentagem de hospedeiros parasitados, com dois ou mais ovos de parasitóide) e encapsulação agregada (percentagem de ovos encapsulados, em relação ao total de ovos postos pelo parasitóide).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Postura e superparasitismo

Na grande maioria dos casos (99,0±2,0%), as fêmeas de *A. pseudococci* efectuaram posturas solitárias. O superpara-

sitismo foi pouco frequente, tendo sido observado, apenas, em cinco das 20 repetições e apresentando sempre baixo nível de ocorrência, i.e., inferior ou igual a 7,4% (Figura 7). Quatro das cinco repetições em que se registou superparasitismo referem-se ao período Abril-Maio, o que poderá estar associado a interacção entre as fenologias das cochonilhas e do respectivo hospedeiro vegetal. Em termos globais, correspondeu a uma taxa de 1,0% (±2,0%), incluindo 0,6% (±1,3%) de cochonilhas com dois ovos e 0,4% (±1,1%), com três, o nível máximo observado.

Taxa de parasitismo

A taxa de parasitismo variou entre 18,2% e 55,1%, com um valor médio de 34,5% (±10,5%) (Figura 8), tendo apresentado níveis mais elevados na Primavera, coincidindo com a subida da temperatura e com o aumento da abundância relativa de uma das espécies (*Paracoccus* sp.).

Taxa de encapsulação

A taxa de encapsulação agregada observada foi baixa, oscilando entre 0% e 22,2%,



Figura 6. Ovo de *Anagyrus pseudococci* (Girault) encapsulado (24 horas após a postura).

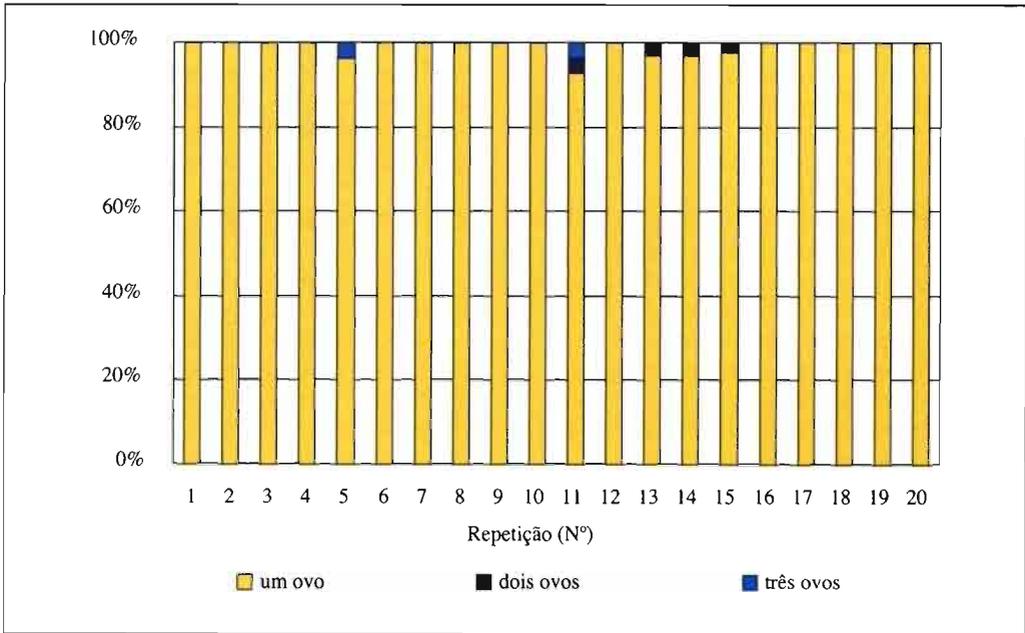


Figura 7. Distribuição das frequências do número de ovos postos por fêmea de *Anagyrus pseudococci* (Girault) em *Delottococcus* sp. e *Paracoccus* sp., em cada uma das 20 repetições efectuadas.

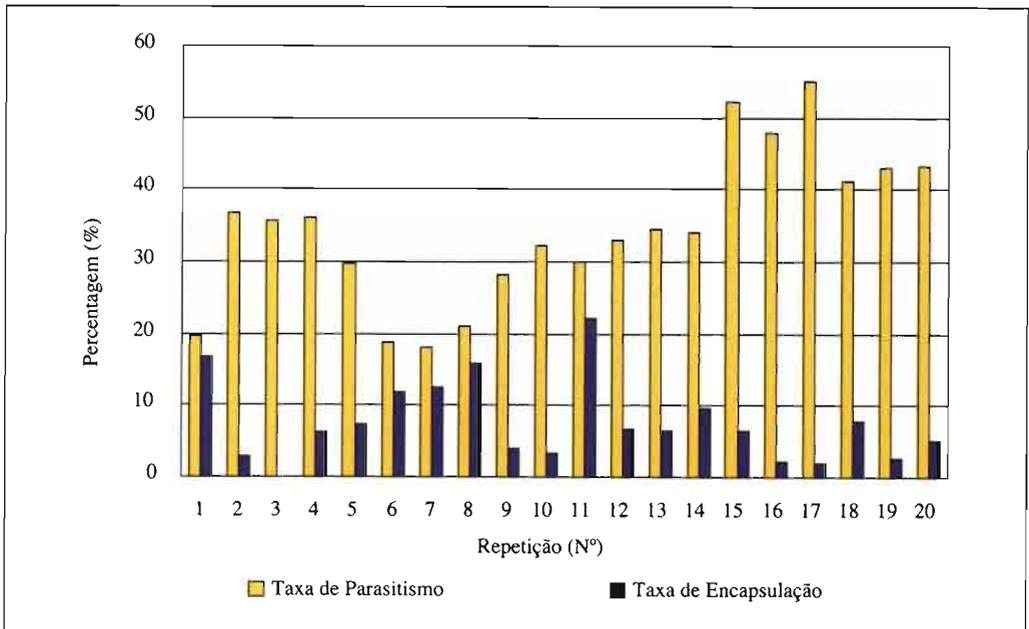


Figura 8. Taxas de parasitismo e de encapsulação observadas na interacção *Anagyrus pseudococci* (Girault) x *Delottococcus* sp. e *Paracoccus* sp., em cada uma das 20 repetições efectuadas.

com o valor médio de 7,6% ($\pm 5,7\%$), correspondendo normalmente a uma a três cochinilhas com ovos encapsulados, excepto em duas repetições (Figura 8).

CONCLUSÃO

Considerando os valores da taxa de parasitismo e os baixos níveis de superparasitismo e encapsulação, que segundo BLUMBERG *et al.* (2001) sugerem elevada adaptabilidade fisiológica do parasitóide relativamente aos dois hospedeiros estudados, *A. pseudococci* parece possuir características que o tornam um potencial agente de luta biológica a utilizar na limitação das populações das cochinilhas *Delottococcus* sp. e *Paracoccus* sp. em proteáceas. Há necessidade, no entanto, de avaliar o seu comportamento em condições de

campo. Factores relacionados com os mecanismos de localização do hospedeiro (MILLS, 1994), bem como a sua interacção com as condições climáticas da região, podem afectar a sua eficácia. Nesse sentido está prevista a realização de ensaios, na Primavera de 2006.

AGRADECIMENTOS

Ao Departamento de Protecção de Plantas (Entomologia), da Estação Agronómica Nacional, por ter disponibilizado a estufa onde se realizaram os ensaios de parasitismo; à Dra Elsa Borges da Silva pelo fornecimento dos parasitóides; aos Drs. A. Russo e Pompeo Suma (Universidade de Catania, Itália), pela confirmação dos géneros das cochinilhas. Este trabalho foi financiado pelo programa POCI/Med.2.3 – Projecto PROTEA II.

RESUMEN

PASSARINHO, A. M., M. J. LEANDRO, M. OLIVEIRA, E. FIGUEIREDO, J. C. FRANCO, J. NEVES-MARTINS, A. MEXIA. 2006. Evaluación del parasitismo por *Anagyrus pseudococci* (Girault) en cochinillas harinosas en Proteaceae. *Bol. San. Veg. Plagas*, **32**: 215-221.

Las cochinillas harinosas han venido a constituir plaga-clave en las Proteaceae (*Protea cynaroides*, *Protea* var. "Susara", *Leucospermum* var. "Scarlet Ribbon", *Leucospermum* var. "High Gold"), cultivadas como flor-de-corte en el Suroeste alentejano. Aunque la identificación específica, todavía, no esté esclarecida, los datos disponibles apuntan hacia la existencia de dos especies de los géneros *Paracoccus* y *Delottococcus*, ninguno de ellos referidos en Portugal.

Debido a las limitaciones de la lucha química, en términos de eficacia y de impacto ambiental, fueron efectuados ensayos de control biológico, a través de salidas de *Cryptolaemus montrouzieri* Muls., con buenos resultados en *Leucospermum*, pero insatisfactorios en *P. cynaroides*. En consecuencia, se decidió evaluar la posibilidad de utilizar parasitoides, porque tienen un mayor potencial de alcanzar las cochinillas instaladas entre las brácteas de la flor, debido a la su dimensión. Fue seleccionado el endoparasitóide indígena *Anagyrus pseudococci* (Girault) cuyo potencial de parasitismo fue estudiado, en invernadero, entre noviembre de 2004 y junio de 2005, utilizando 20 conjuntos de dos plantas envasadas de *Leucospermum*, infestadas con cochinillas de las dos especies. En cada repetición fueron observadas, a la lupa, después de la disección, cerca de 90 cochinillas, para la determinación de las tasas de parasitismo y encapsulación.

La tasa de parasitismo varió entre un 18,2% y un 55,1%; con valores más elevados en la Primavera, coincidiendo con la subida de la temperatura y con el aumento de la abundancia relativa de una de las especies. La tasa de encapsulación fue de un 7,6%.

Palabras clave: *Anagyrus pseudococci*, *Paracoccus* sp., *Delottococcus* sp., Proteaceae, parasitismo, encapsulación, control biológico.

ABSTRACT

PASSARINHO, A.M., M.J. LEANDRO, M. OLIVEIRA, E. FIGUEIREDO, J. C. FRANCO, J. NEVES-MARTINS, A. MEXIA. 2005. Parasitism of mealybugs by *Anagyrus pseudococci* (Girault) in Proteaceae. *Bol. San. Veg. Plagas*, **32**: 215-221.

Mealybugs attained key-pest status in Proteaceae cultivated as cut flowers in the Southwest of Alentejo, namely *Protea cynaroides*, *Protea* var. "Susara". *Leucospermum* var. "Scarlet Ribbon", *Leucospermum* var. "High Gold". Although the specific identification is not yet clarified, the available data point to the existence of two new species for Portugal, *Paracoccus* sp. and *Delottococcus* sp..

Due to the ineffectiveness and environmental impact of chemical control, experiments of biological control were carried out, based on releases of *Cryptolaemus montrouzieri* Muls., with good results in *Leucospermum*, but unsatisfactory in *P. cynaroides*. Therefore, the possibility of using the indigenous endoparasitoid *Anagyrus pseudococci* (Girault) as an alternative biological control agent was evaluated in greenhouse experiments, in potted plants, by determining the respective rates of parasitism, superparasitism and aggregated encapsulation. Considering the observed level of parasitism (18.2%-55.1%) and the low level of superparasitism (0%-7.4%) and encapsulation (0%-22.2%) of the parasitoid, it is suggested that *Paracoccus* sp. and *Delottococcus* sp. are susceptible hosts of *A. pseudococci* and that this parasitoid constitutes a good candidate for biological control agent of the mealybugs in Proteaceae.

Key words: *Anagyrus pseudococci*, *Paracoccus* sp., *Delottococcus* sp., Proteaceae, parasitism, encapsulation, biological control.

REFERENCIAS

- ALLEYNE, M., WIEDENMANN, R.N. 2001. Encapsulation and hemocyte numbers in three lepidopteran stem-borers parasitized by *Cotesia flavipes*-complex endoparasitoids. *Entomol. exp. et appl.*, **100** (3): 279-293
- BEN-DOV, Y. 2005. ScaleNet, Pseudococcidae. 14 de Março de 2006.
<http://www.sel.barc.usda.gov/scalenet/scalenet.htm>.
- BEN-DOV, Y., HODGSON, C. J. (eds) 1997. Soft scale Insects – their biology, natural enemies and control. Elsevier Science Publishers BV, Amsterdam, Netherlands.
- BLUMBERG, D. 1990. Host resistance: encapsulation of parasites. In: ROSEN, D. (ed) The armored scale insects, their biology, natural enemies and control. Vol B. Elsevier Science Publishers BV, Amsterdam, Netherlands, pp 221-228.
- BLUMBERG, D. 1997a. Encapsulation of Parasitoids. In: BEN-DOV, Y., HODGSON, C.J. (eds) Soft scale Insects – their biology, natural enemies and control. Elsevier Science Publishers BV, Amsterdam, Netherlands, pp 375-387.
- BLUMBERG, D. 1997b. Parasitoid encapsulation as a defense mechanism in the Coccoidae (Homoptera) and its importance in biological control. *Biol. Control*, **8**: 225-236.
- BLUMBERG, D., FRANCO, J. C., SUMA, P., RUSSO, A., MENDEL, Z. 2001. Parasitoid encapsulation in mealybugs (Hemiptera: Pseudococcidae) as affected by the host-parasitoid association and superparasitism. *Boll. Zool. Agr. Bachic.*, **33** (3): 385-395.
- HAWKINS, B. A., SHEEHAN, W. (eds). 1994. Parasitoid community ecology. Oxford University Press, Oxford.
- LEANDRO, M. J., OLIVEIRA, M., FIGUEIREDO, E., MEXIA, A. 2005. Biological control in Proteaceae - An effort to solve some problems. *Acta hort.* (in press).
- MILLS, N. J. 1994. The structure and complexity of parasitoid communities in relation to biological control. In: HAWKINS, B.A., SHEEHAN, W. (eds). Parasitoid community ecology. Oxford University Press, Oxford, pp 397-417.
- MILLS, N. J., GETZ, W. M. 1996. Modelling the biological control of insect pests: a review of host-parasitoid models. *Ecol. Modelling*, **92**: 121-143.
- MURDOCH, W. W., BRIGGS, C. J. 1996. Theory for biological control: recent developments. *Ecol.*, **77**: 2001-2013.
- PASSARINHO, A. M. 2004. Efeito da encapsulação na actividade do parasitóide *Anagyrus pseudococci* (Girault) como agente de limitação natural da cochonilha-algodão. Rel. TFC, ISA/UTL, Lisboa, 93 p.
- ROSEN, D. (ed) 1990. The armored scale insects, their biology, natural enemies and control. Vol B. Elsevier Science Publishers BV, Amsterdam, Netherlands.

(Recepción: 20 enero 2006)
(Aceptación: 5 abril 2006)

Plagas del arroz almacenado y sus enemigos naturales en España

M.J. PASCUAL-VILLALOBOS, R. CARRERES, J. RIUDAVETS, M. AGUILAR, J.M. BOZAL, M.C. GARCÍA, A. SOLER, A. BAZ, P. DEL ESTAL

Se ha continuado con la prospección de las plagas y sus enemigos naturales presentes en los almacenes de arroz en España. Durante los años 2004 y 2005 se colocaron trampas así como se tomaron muestras en Sueca, Amposta, Arguedas (Navarra), Isla Mayor (Sevilla) y Huesca. Con respecto a las plagas, se identificaron 14 especies de coleópteros, 3 de lepidópteros y 8 de psicópteros. Entre las especies frecuentes, se ha encontrado a *Rhyzoperta dominica* Fabricius, que es plaga primaria, aunque *Cryptolestes pusillus* Schönherr y *Cryptolestes ferrugineus* Stephens (que son secundarias) también se presentaron en abundancia en Sueca, Sevilla y Amposta. *Sitophilus oryzae* Linnaeus, que también es muy dañino para el grano, se captura de forma más ocasional en casi todos los lugares muestreados. *Sitotroga cerealella* Olivier sólo se manifestaba en niveles preocupantes para causar daños en un almacén de Amposta. Los psócidos fueron frecuentes en todas las localidades estudiadas: entre las especies identificadas *Dorypterys longipennis* Smithers se cita por primera vez en España. Además se capturaron diversos enemigos naturales como el parasitoide: *Anisopteromalus calandrae* Howard y los ácaros depredadores *Blattisocius keegani* Fox y *Blattisocius gracilis* Rack., además del gamásido *Eulaelaps stabularis* Koch. Los valores de temperatura y humedad relativa a la que se almacenaba el arroz cáscara, se mantenían dentro de los niveles aceptables durante la primavera aunque fuera del óptimo a medida que se acercaba el verano.

M.J. PASCUAL-VILLALOBOS, A. SOLER. Instituto Murciano de Investigación y Desarrollo Agrario y Alimentario, Estación Sericícola, 30150 La Alberca, Murcia.
R. CARRERES. Departamento del Arroz, Ronda País Valencia, 36, 46410 Sueca, Valencia.
J. RIUDAVETS. IRTA, Ctra. de Cabrils, s/n, 08348 Cabrils, Barcelona
M. AGUILAR. CIFA Las Torres, Ctra. Sevilla-Cazalla, km. 12, 41200 Alcalá del Río, Sevilla.
J.M. BOZAL. ITGA, Camino Caritat, 2, 31500 Tudela, Navarra.
M.C. GARCÍA. Atria Arroz, Plaza S. Lorenzo, 3, 22212 S. Lorenzo del Flumen, Huesca.
A. BAZ. Departamento de Biología Animal, Universidad de Alcalá, 28871 Alcalá de Henares, Madrid
P. DEL ESTAL. Unidad de Protección de Cultivos. E.T.S.I. Agrónomos, Ciudad Universitaria s/n, 28040 Madrid.

Palabras clave: gorgojos, arroz, psocoptera, *Rhyzoperta dominica*, *Sitophilus oryzae*, *Cryptolestes* sp., *Sitotroga cerealella*, *Dorypterys longipennis*, *Blattisocius* sp.

INTRODUCCIÓN

España dedica al cultivo del arroz 113.468 ha (datos año 2002), lo que coloca a nuestro País en el segundo lugar entre los productores europeos detrás de Italia. Por

Autonomías, Andalucía con 39.206 ha es la más destacada, seguida de Extremadura (25.800 ha), Cataluña (21.336 ha) y Comunidad Valenciana (ANÓNIMO, 2003).

Las plagas del arroz en campo han sido objeto de diversos trabajos en España (BATA-

LLA, 1989; CANO *et al.*, 2003; GÓMEZ y DEL RIVERO, 1952; RAMONEDA y HARO, 1988; SERRANO *et al.*, 1994). No así con las plagas de almacén de las que hay una información escasa (CARRERES, 1989).

En un estudio anterior se citaban las plagas del arroz almacenado en la D.O. Calasparra (PASCUAL-VILLALOBOS y DEL ESTAL, 2004). Esta denominación de origen dedica al cultivo del arroz algo más de 1.000 ha y es muy pequeña frente al total Peninsular, por lo que el objetivo de este trabajo ha sido ampliar la prospección de las plagas de almacén a otras zonas más representativas del País, considerándose distintos tipos de almacenes y productores de arroz con el fin de tener un conocimiento más amplio de su distribución y presencia.

MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio se ha llevado a cabo durante los años 2004 y 2005 en las siguientes localidades:

- Sueca (Valencia), en dos almacenes de agricultores y en una cooperativa (marzo-julio 2004)
- Amposta (Tarragona), en dos cooperativas (junio - agosto 2004)
- Isla Mayor Sevilla), en un almacén un agricultor y en una cooperativa (abril - junio 2005)
- Arguedas (Navarra), en una cooperativa y en un molino (marzo - mayo 2005)
- San Lorenzo del Flúmen y Torres de Barbués (Huesca), en dos almacenes (julio - agosto 2005).

La metodología empleada consistió en muestrear arroz cáscara (1 Kg) cada mes y la posterior observación e identificación de insectos después de la colecta y tras un periodo de incubación (a 20°C y 30°C) de 6 meses. Además se colocaron: trampas pitfall (CSL PC trap) en el arroz a granel, polilleros con dispensadores de feromonas (para *Plodia interpunctella* Hübner y *Sitotroga cerealella* Olivier) colgando del techo, trampas planas con feromonas para coleópteros (CSL PC floor trap) colocadas en el suelo y tram-

pas con feromonas para ácaros de almacén (CSL BT mite trap) también en el suelo.

Se realizó un seguimiento de las capturas en las trampas cada 15-30 días. La abundancia de los artrópodos identificados se estableció en: anecdótico (cuando sólo se encontraba en una o raras veces en las muestras), ocasional (varias veces) o frecuente (repetitivamente en las muestras o con abundancia en algunas de ellas). Siendo el primer caso la temperatura y humedad relativa del grano se registraron utilizando Data Loggers (testostor 171-3) colocados a 10 cm de profundidad.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el Cuadro 1 se resume el inventario de plagas de almacén que han sido identificadas, todas pertenecientes a la Clase Insecta y ninguna a la Clase Arácnida.

Dentro de los coleópteros, la más frecuente de las plagas primarias ha sido *Rhyzopertha dominica* Fabricius en Sueca y en Sevilla. *Sitophilus oryzae* Linnaeus, que también es muy dañino para el grano, se captura de forma más ocasional en casi todos los lugares muestreados a excepción de en uno de los almacenes de Sevilla. En estos momentos, sin embargo, es *S. oryzae* la plaga que más preocupa tanto en Amposta como en Sevilla, aunque no haya aparecido tan frecuentemente como *R. dominica*. El motivo es que *S. oryzae* pone los huevos en el interior del grano de arroz y existe una supervivencia en el proceso de pulido (LUCAS y RIUDAVETS, 2000) mientras que *R. dominica* lo hace en el exterior del grano y los granos con larvas se rompen en el proceso de pulido. Otras plagas, consideradas secundarias en cuanto a los daños que producen, pero también frecuentemente encontradas han sido *Cryptolestes pusillus* Schönherr y *Cryptolestes ferrugineus* Stephens en Amposta y Sueca y *Oryzaephilus surinamensis* Linnaeus en Navarra y Huesca. Merece la pena citar la presencia aunque de forma anecdótica de *Stegobium paniceum* Linnaeus (Coleoptera: Anobiidae) de algunos criptofágidos y derméstidos (Cuadro 1), incluso anticidos (que se alimentan de

Cuadro 1.- Plagas de almacén del arroz

Familia	Especie	Lugar	Abundancia ¹
CLASE INSECTA			
Orden Coleoptera			
Anobiidae	<i>Lasioderma serricorne</i> Fabricius	Amposta	A
Anobiidae	<i>Stegobium paniceum</i> Linnaeus	Amposta, Sueca	A
Bostrichidae	<i>Rhyzopertha dominica</i> Fabricius	Sueca, Sevilla	F
Bostrichidae	<i>Bostrychus</i> sp.	Amposta	A
Cryptophagidae	<i>Cryptophagus cellaris</i> Scopoli	Sueca	A
Cryptophagidae	<i>Cryptophagus</i> sp.	Navarra, Sevilla	O,A
Cucujidae	<i>Cryptolestes pusillus</i> Schönherr	Amposta, Sueca, Sevilla	F,F,A
Cucujidae	<i>Cryptolestes ferrugineus</i> Stephens	Amposta, Sueca, Navarra, Sevilla, Huesca	F,F,O,A,O
Curculionidae	<i>Sitophilus granarius</i> Linnaeus	Sueca, Sevilla, Navarra, Huesca	A
Curculionidae	<i>Sitophilus oryzae</i> Linnaeus	Amp., Sueca, Navarra, Sevilla, Huesca	O,O,O,F,A
Dermestidae	<i>Attagenus</i> sp.	Amposta	A
Dermestidae	<i>Trogoderma</i> sp.	Amposta	O
Latridiidae	<i>Dienerella argus</i> Reitter	Amposta	A
Silvanidae	<i>Oryzaephilus surinamensis</i> Linnaeus	Navarra, Huesca	F,O
Silvanidae	<i>Ahasverus advena</i> Watl	Sueca	A
Tenebrionidae	<i>Tribolium castaneum</i> Herbst	Amposta, Sueca, Navarra, Sevilla	O
Tenebrionidae	<i>Tribolium confusum</i> Jacquelin du Val	Amposta	O
Orden Lepidoptera			
Gelechiidae	<i>Sitotroga cerealella</i> Olivier	Amposta, Sueca, Sevilla	F ²
Pyrilidae	<i>Plodia interpunctella</i> Hübner	Amposta, Sueca	O ³
Pyrilidae	<i>Ephestia kuehniella</i> Zeller	Amposta, Sueca	O ³
Orden Psocoptera			
Liposcelidae	<i>Liposcelis bostrychophila</i> Badonnel	Amposta, Sueca, Sevilla ⁴	F
Liposcelidae	<i>Liposcelis brunnea</i> Motschulsky	Amposta	O
Liposcelidae	<i>Liposcelis decolor</i> Pearman	Amposta, Sueca, Sevilla ⁴ , Navarra, Huesca	F
Liposcelidae	<i>Liposcelis entomophila</i> Enderlein	Amposta, Sueca, Sevilla ⁴	F
Liposcelidae	<i>Liposcelis mendax</i> Pearman	Amposta, Sueca	O
Liposcelidae	<i>Liposcelis rufa</i> Broadhead	Amposta	A
Psyllipsocidae	<i>Dorypteryx longipennis</i> Smithers	Sueca	A
Trogiidae	<i>Lepinotus reticulatus</i> Enderlein	Sueca, Sevilla	O,F

¹ A = anecdótico, O = ocasional, F = frecuente; en cada uno de los lugares citados sucesivamente

² en polilleros en todos los casos, en arroz cáscara sólo en Amposta

³ en polilleros solamente

⁴ En Sevilla, además de en arroz cáscara, los psócidos también eran frecuentes en arroz partido / embrión

detritos), que no habían sido encontrados en el estudio anterior realizado en Calasparra (PASCUAL-VILLALOBOS y DEL ESTAL, 2004). Precisamente en la D.O. Calasparra se ha identificado además la presencia (poco frecuente) de *Gnatocerus cornutus* Fabricius (Coleoptera:

Tenebrionidae). No podemos corroborar la presencia en los almacenes de arroz, de *Tenebrio molitor* Linnaeus ni *Tenebrioides mauritanicus* Linnaeus que han sido citadas como plagas por otros autores (AGUILAR, 2001; CARRERES, 1989; VIÑUELA *et al.*, 1993).

Cuadro 2.- Enemigos naturales de las plagas de almacén del arroz

Familia	Especie	Modo de acción	Lugar	Abundancia ¹
CLASE INSECTA				
Orden Heteroptera				
Anthocoridae	<i>Lycocoris campestris</i> Fabricius	depredador	Navarra	A
Orden Himenoptera				
Chalcididae	<i>Psilochalcis</i> sp. Kieffer	parásito	Sevilla	A
Pteromalidae	<i>Anisopteromalus calandrae</i> Howard	parasitoide	Amposta, Sueca, Sevilla	O
CLASE ARACHNIDA				
Orden Acari				
Ascidae	<i>Blattisocius keegani</i> Fox	depredador	Sueca	O
Ascidae	<i>Blattisocius tarsalis</i> Berlese	depredador	Amposta	O
Raphignathidae	<i>Raphignathus gracilis</i> Rack	depredador	Amposta	A
Orden Mesostigmata				
Haemogamasidae	<i>Eulaelaps stabularis</i> Koch	depredador	Sevilla	O
Orden Phrosthigmata				
Cheyletidae	<i>Cheyletus malaccensis</i> Oudemans	depredador	Sevilla	O

¹ A = anecdótico. O = ocasional

Dentro del Orden Lepidoptera se ha identificado a las especies más comunes de almacén (Cuadro 1), siendo *Sitotroga cerealella* Olivier, la más frecuente aunque las capturas se han reducido a los polilleros y sólo ha sido observada causando daños en el arroz cáscara en uno de los almacenes de Amposta. Esto difiere de la importancia económica que se suele dar a esta plaga a nivel mundial. Por otra parte no hemos capturado a la polilla del arroz *Corcyra cephalonica* Stainton (Lepidoptera: Pyralidae), si bien es más propia de regiones tropicales (REES, 1996)

Más frecuentes que los gorgojos, en todos los almacenes, han sido los psócidos, de los cuales se ha identificado a 8 especies (Cuadro 1). Las más abundantes son: *Liposcelis bostrychophila* Badonnel, *Liposcelis decolor* Pearman, *Liposcelis entomophila* Enderlein y *Lepinotus reticulatus* Enderlein en Sueca, Amposta, Sevilla y Navarra. En Huesca la única especie presente ha sido, *L. decolor*. Además se cita por primera vez en España a *Dorypteryx longipennis* Smithers, recogida en Sueca. Por otra parte, *Liposcelis mendax* Pearman no está citada entre las especies mencionadas por REES (2004). Está poco

estudiado cuáles son los daños que pueden causar estos pequeños insectos en el arroz, su presencia es indeseable y según REES (2003) los psócidos se han convertido en los insectos más frecuentes en el almacenamiento de cereales debido a que las fumigaciones con fosfuro de aluminio son más efectivas para los coleópteros y en ausencia de estos, aquellos proliferan con rapidez.

En el Cuadro 2 se citan los enemigos naturales recogidos in situ. Se han identificado dos especies de parasitoides, el pteromárido *Anisopteromalus calandrae* Howard, parasitoide de gorgojos y *Psilochalcis* sp. (Hymenoptera: Chalcididae) parásito de orugas de lepidópteros. Entre los depredadores destacan los ácaros *Blattisocius keegani* Fox y *Blattisocius tarsalis* Berlese, en Sueca y Amposta respectivamente (Figura 1a). *B. tarsalis* puede depredar plagas de almacén tanto coleópteros como lepidópteros, ácaros o psócidos (RIUDAVETS y QUERO, 2003). Resulta original la captura de *Eulaelaps stabularis* Koch (Mesostigmata: Haemogamasidae) que en la literatura se cita por ser causante de dermatitis en mamíferos aunque también como posible depredador



Figura 1. Ácaros depredadores. a) *Blattisocius tarsalis*. b) *Eulaelaps stabularis*

de ácaros e insectos de almacén (HUGHES, 1976) (Figura 1b).

Si comparamos con los enemigos naturales identificados en Calasparra (PASCUAL-VILLALOBOS y DEL ESTAL, 2004), hay coincidencias como *A. calandrae* y los ácaros depredadores (de ácaros según BROWER *et al.* 1996) *Cheyletus malaccensis* Oudemans. En cambio, el pseudoescorpión *Withius piger* E. Simon, únicamente está presente en ésta denominación de origen. Por su parte, en un estudio anterior (RIUDAUVETS *et al.*, 2002) encontraron, entre otros, al parasitoide pteromárido *Lariophagus distinguendus* Foester, en Amposta. El potencial del control biológico de las plagas de almacén del arroz, está poco estudiado en España.

Con respecto a las condiciones de almacenamiento. En Sueca (Valencia), en la SAT, durante marzo y abril el grano se encontraba a valores adecuados de temperatura (13-17°C) y algo altos de humedad relativa (70-85%), mientras que en los antiguos almacenes de

pequeños agricultores, las condiciones eran algo mejores (15°C y 60-75% HR). En mayo y junio la temperatura subía por encima de 25°C (favoreciendo la multiplicación de insectos), aunque disminuyendo la HR hasta 50-65%.

En Sevilla, la temperatura del grano dentro de los sacos se mantiene dentro de un rango moderado (17-23°C) hasta abril, alcanzando en mayo y junio niveles altos (23-31°C). La humedad relativa era entre el 40 – 65% que es adecuada para guardar el arroz cáscara, aunque en el caso del pequeño agricultor se superaban estos valores.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado por el INIA (Proyecto RTA01-024). Agradecemos las identificaciones taxonómicas realizadas por A. Baz (psócidos), F. Ferragut (ácaros), M.J. Verdú (himenópteros). También apreciamos la ayuda de M. Ocaña y M.D. López en la recogida de muestras.

ABSTRACT

PASCUAL-VILLALOBOS M.J. , R. CARRERES, J. RIUDAVETS, M. AGUILAR, J.M. BOZAL, M.C. GARCIA, A. SOLER, A. BAZ, P. DEL ESTAL. 2006. Pests and natural enemies in stored rice in Spain. *Bol. San. Veg. Plagas*, **32**: 223-229

The second part of a study of the pests and natural enemies present in rice stores in Spain was done during 2004 and 2005 by trapping and sampling in Sueca, Amposta, Arguedas (Navarra), Sevilla and Huesca. Fourteen species of coleoptera, three lepidoptera and eight psocoptera were identified. The lesser grain borer (*Rhizopertha dominica* Fabricius) was the main primary pest found. Although *Cryptolestes pusillus* Schönherr and *Cryptolestes ferrugineus* Stephens (secondary pests) were also abundant at Sueca, Sevilla and Amposta. The most damaging pest, *Sitophilus oryzae* Linnaeus, was only occasionally captured at many sampling sites. *Sitotroga cerealella* Olivier caused grain damages only at one store in Seville. Psocids are quite widespread in all the stores sampled and the species *Dorypterys longipennis* Smithers was cited for the first time in Spain. Relevant natural enemies caught were the beetle parasitoid, *Anisopteromalus calandrae* Howard and the predatory mites *Blattisocius keegani* Fox, *Blattisocius gracilis* Rack, and *Eulaelaps stabularis* Koch. Temperature and relative humidity values of paddy were within reasonable range values in early spring but over the safer limits recommended for storage towards the summer.

Key words: rice, beetles, psocids, *Rhizopertha dominica*, *Sitophilus oryzae*, *Cryptolestes* sp., *Sitotroga cerealella*, *Dorypterys longipennis*, *Blattisocius* sp.

REFERENCIAS

- AGUILAR, M. 2001. Cultivo del arroz en el Sur de España. Caja de Ahorros El Monte. Depósito Legal CR 398/01. Sevilla.
- ANÓNIMO. 2003. Anuario de Estadística Agroalimentaria. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Secretaría General Técnica. Madrid. 705 pp.
- BATALLA, J.A. 1989. Plagas del cultivo del arroz en España. *El campo*. **113**: 25-28.
- BROWER, J.R., SMITH, L. VAIL, P.V., FLINN, P.W. 1996. Biological control En: Subramanyam, B., Hagstrum, D.W. (eds.): *Integrated Management of Insects in Stored Products*. Marcel Dekker, Inc., New York, Estados Unidos. pp. 223-286.
- CANO, E., JIMÉNEZ, A., OCETE, M.E. 2003. Evolución de *Ephydra riparia* Fall (Diptera: Ephydriidae) en los arrozales de las Marismas del Bajo Guadalquivir (España). *Bol. San. Veg. Plagas*, **29(2)**:227-232.
- CARRERES, R. 1989. Plagas del arroz almacenado. *El campo*, **113**:29-31.
- GÓMEZ, F., DEL RIVERO, J.M. 1952. Contribución al conocimiento de la biología y medios de lucha contra el "barrenador" del arroz, *Chilo suppressalis* Wlk. (*simplex* Btlr.). *Boletín de Patología Vegetal y Entomología Agrícola*, vol. **XIX**: 161-188.
- HUGHES, A.M. 1976. The mites of Stored Food and Houses. Technical Bulletin 9. Ministry of Agriculture, Fisheries and Food. London. 400 pp.
- LUCAS, E., RIUDAVETS, J. 2000. Lethal and sublethal effects of rice polishing process on *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of Economic Entomology* **93(6)**:1837-1841.
- PASCUAL-VILLALOBOS, M.J., DEL ESTAL, P. 2004. Plagas de almacén del arroz y enemigos naturales en Calasparra. *Bol. San. Veg. Plagas*, **30**:363-368.
- RAMONEDA, J., HARO, A. DE. 1988. Desarrollo larvario del barrenador del arroz, *Chilo suppressalis* Walker (Lepidoptera: Pyralidae), en condiciones de campo y de laboratorio. *Bol. San. Veg. Plagas*, **14**:107-118.
- REES, D.P. 1996. Lepidoptera and Psocoptera. En: Subramanyam, B., Hagstrum, D.W. (eds.): *Integrated Management of Insects in Stored Products*. Marcel Dekker, Inc., New York, Estados Unidos. pp. 1-40.
- REES D.P. 2003. Psocoptera (psocids) as pests of bulk grain storage in Australia: a cautionary tale to industry and researchers. En: Credland, P.F., Armitage, D.M., Bell, C.H., Cogan, P.M., Highley, E. (eds.): *Advances in Stored Product Protection*. Proceedings of the 8th International Working Conference on Stored Product Protection. CAB International, Oxon, UK. pp. 59-64.
- REES, D.P. 2004. Insects of stored products. CSIRO Publishing, Australia. pp. 181.
- RIUDAVETS, J., QUERO, R. 2003. Prey preference of the predatory mite *Blattisocius tarsalis* (Acari: Ascidae). En: Credland, P.F., Armitage, D.M., Bell, C.H., Cogan, P.M., Highley, E. (eds.): *Advances in Stored Product Protection*. Proceedings of the 8th International Working Conference on Stored Product Protection. CAB International, Oxon, UK. pp. 297-299.
- RIUDAVETS, J., LUCAS, E., PONS, M.J. 2002. Insects and mites of stored products in the northeast of Spain. *IOBC/WPRS Bulletin*, **25(3)**:41-44.

SERRANO, C., LÓPEZ, J., MORENO, J., JIMÉNEZ, R. 1994. Relación entre la constante termica acumulada y el ciclo biologico de *Chilo suppressalis* Walker (Lepidoptera: Pyralidae). *Bol. San. Veg. Plagas*, **20(2)**:317-327.

VINUELA, E., ADÁN, A., DEL ESTAL, P., MARCO, V., BUDÍA, F. 1993. Plagas de los productos almace-

nados. *Hojas divulgadoras* Núm 1/93 HD. MAPA, Madrid. 31 pp.

(Recepción: 20 enero 2006)

(Aceptación: 2 marzo 2006)

Detección e identificación por técnicas moleculares de especies del género *Armillaria* a partir de muestras de suelo

P. E. ESCOFET CRESPO, O. AGUÍN CASAL, J. P. MANSILLA VÁZQUEZ

En este trabajo se presentan los resultados de identificación de especies de *Armillaria* realizada directamente a partir de muestras de suelo, sin la necesidad de aislar y cultivar previamente el micelio en placa. El ADN se extrajo a partir de 250 mg de suelo y la región ITS del hongo se amplificó por nested PCR con los cebadores externos ITS1 e ITS4 y los internos AR1 y AR2. Los productos resultantes de la doble amplificación se analizaron por RFLP utilizando para la digestión las enzimas de restricción *Hinf*I y *Mbo*I. Este método permite discriminar entre especies de *Armillaria* mediante diferentes patrones de bandas característicos de cada especie. El 70% de las muestras analizadas se identificaron como *A. mellea*, el 16% como *A. gallica* y el 14% de las muestras no presentaron infección por *Armillaria*.

P. E. ESCOFET CRESPO, O. AGUÍN CASAL, J. P. MANSILLA VÁZQUEZ. Excma. Diputación Provincial de Pontevedra, Servicio Agrario, Estación Fitopatológica do Areeiro, Subida a la Robleda, s/n; 36153 Pontevedra-España. E-mail: efa@efa-dip.org

Palabras clave: *Armillaria mellea*, *Armillaria gallica*, nested-PCR, RFLP, suelo.

INTRODUCCIÓN

El género *Armillaria* (Fr.:Fr.) Stauda incluye más de 40 especies que se distribuyen extensamente por todo el mundo. En Europa se han identificado: *A. borealis* Marxmüller & Korhonen, *A. cepistipes* Velenovsky, *A. gallica* Marxmüller & Romagnesi (= *A. bulbosa* (Barla) Kile & Watling), *A. mellea* (Vahl: Fries) Kummer, *A. ostoyae* (Romagnesi) Herink (= *Armillaria obscura* (Schaeff.) Herink), *A. tabescens* (Scop.) Emel (MARXMÜLLER, 1982, 1987; ROMAGNESI y MARXMÜLLER, 1983; TERMORSHUIZEN y ARNOLDS, 1987) y una especie de poco interés patológico denominada inicialmente *Agaricus ectypus* y posteriormente *Armillaria ectypa* (Fries) Lamoure (LAMOURE, 1965). *A. mellea* y *A. ostoyae* son altamente patógenas para plantas leñosas, causando una enfermedad conocida como podredum-

bre blanca radicular, que ocasiona grandes pérdidas económicas. *A. mellea* invade las raíces y cuello de numerosas especies silvestres y/o cultivadas, sobre todo vid, árboles frutales y forestales, mientras que *A. ostoyae* causa daños importantes en coníferas (AGUÍN *et al.*, 2004a; AGUÍN *et al.*, 2004b). Las plantas afectadas muestran inicialmente clorosis, decaimiento de la parte aérea y caída de hojas, llegando en los casos más graves a la muerte (GUILLAUMIN, 1986). *A. borealis*, *A. cepistipes*, *A. gallica* y *A. tabescens* son patógenos débiles, pero pueden causar enfermedad en árboles debilitados (SICOLI *et al.*, 2002). La mayoría de las especies de *Armillaria* se propagan por crecimiento vegetativo subterráneo y se extienden por el sistema radicular de árboles susceptibles (KILE *et al.*, 1991).

Hasta hace pocos años la identificación de especies de *Armillaria* se llevaba a cabo



Figura 1. Micelio característico del género *Armillaria* en pino.

mediante procedimientos complejos y lentos. En la década de 1990, se desarrollaron métodos moleculares (ANDERSON y STASOVSKI, 1992; HARRINGTON y WINGFIELD, 1995), basados en la amplificación del ADN a partir de diferentes estructuras fúngicas: micelio situado en la planta (Figura 1), basidiocarpos (Figura 2), rizomorfos, o micelio en cultivo, y la obtención de patrones de restricción, que están siendo utilizados de manera rutinaria en los laboratorios de diagnóstico (PÉREZ-SIERRA *et al.*, 1999; MANSILLA *et al.*, 2000; AGUÍN *et al.*, 2004b). La detección de *Armillaria* en campo no se produce hasta que aparecen plantas sintomáticas de podredumbre blanca radicular, pero en ese momento el hongo puede estar ya muy extendido en el suelo, creando múltiples focos de infección. Esto es debido a que el desarrollo y persistencia de *Armillaria* en el suelo se ve favorecido por su carácter saprófito y su capacidad para formar rizomorfos subterráneos, que pueden alcanzar gran profundidad (FOX, 2003). Actualmente no hay ningún método eficaz que controle *Armillaria* cuando aparecen plantas enfermas, aunque estudios recientes *in vitro* y en viñedo y plantaciones de almendro (sobre patrones de melocotonero) han mostrado resultados prometedores de ciertos azoles (ciproconazol y propiconazol) para el control de *A. mellea* (ADASKAVEG *et al.*, 1999; AGUÍN *et al.*, 2006). La prevención y control de la podre-

dumbre causada por *Armillaria* podrían verse facilitados si el hongo pudiese ser detectado en suelo antes de la aparición de plantas enfermas. Recientemente LOCHMAN *et al.* (2004) han descrito dos cebadores específicos, AR1 y AR2, basados en secuencias conservadas de la región ITS del ADNr, utilizándolos con éxito para la identificación de las especies europeas de *Armillaria* (excepto *A. ectypa*) a partir de muestras de suelo.

El objetivo de este trabajo fue desarrollar un método rutinario de diagnóstico para la detección e identificación de especies de *Armillaria* en suelos gallegos, utilizando los cebadores descritos por LOCHMAN *et al.* (2004) para la amplificación del ADN fúngico.

MATERIAL Y MÉTODOS

La detección y amplificación del ADN fúngico de *Armillaria* en suelos infestados se ha basado en el protocolo propuesto por LOCHMAN *et al.* (2004) con modificaciones en las diferentes etapas del proceso que se detallan a continuación: así para la obtención del ADN se ha variado el kit de extracción; en la etapa de amplificación se han utilizado las “PuReTaq Ready-To-Go™ PCR Beads” (Amersham-Pharmacia) y para analizar el polimorfismo de la longitud de los fragmentos de restricción (RFLP) se llevaron a cabo electroforesis en gel de agarosa.



Figura 2. Cuerpos de fructificación de *Armillaria mellea* sobre castaño.

Cuadro 1. Código, procedencia y cultivo de todas las muestras de suelo utilizadas.

CODIGO MUESTRA	PROCEDENCIA	CULTIVO
664	Vigo	Castaño
726	Cambados	Magnolio
744	Pontevedra	Magnolio
719	Estrada	Olmo
771	Sotomayor	Boj
772	Sotomayor	Tejo
773	Sotomayor	Cedro
774	Sotomayor	Roble
775	Sotomayor	Pseudotsuga
776	Sotomayor	Camelia
777	Sotomayor	Azalea
825	Sotomayor	Olivo
826	Sotomayor	Olivo
827	Sotomayor	Olivo
828	Sotomayor	Olivo
876	Bayona	Abeto
877	Bayona	Peral
881	Marín	Seto
884	Estrada	Acacia
885	Estrada	Roble
886	Villagarcía	Castaño
895	Vilaboa	Roble
905	Pontevedra	Camelia
906	Pontevedra	Camelia

Recogida de muestras de suelo

Se tomaron muestras de suelo (aproximadamente 1 Kg) en la proximidad de las raíces (entre 10-30 cm de profundidad en el terreno) de 24 especies ornamentales, frutales y forestales que mostraban clorosis, decaimiento y caída de hojas, y se consideraba que podrían estar afectadas por podredumbre blanca radicular causada por *Armillaria*. Todas las muestras se recogieron en localidades de la provincia de Pontevedra. En el Cuadro 1, se indica la localidad y la especie vegetal afectada. En el laboratorio, se procedió a una inspección visual del suelo, que permitió detectar la presencia de micelio y/o rizomorfos en seis muestras. Posteriormente todas las muestras se almacenaron a 4 °C hasta su análisis.

Extracción de ADN

Para cada muestra de suelo, la extracción de ADN de *Armillaria* se llevó a cabo en dos submuestras de 250 mg siguiendo el protocolo del kit comercial "PowerSoil™ DNA Isolation" (MO BIO Laboratories, Inc.). Cada submuestra se introdujo en un tubo *PowerBead* del kit para romper las células fúngicas. La lisis celular se consigue mediante métodos mecánicos y químicos. Tras sucesivas centrifugaciones con diferentes reactivos del kit, el ADN genómico total se capturó en la membrana del filtro de una columna de centrifugación, posteriormente se lavó y se recuperó con el eluyente, conservándose a -20 °C hasta su amplificación.

La extracción de ADN con el kit "PowerSoil™ DNA Isolation" se llevó a cabo también en muestras de control positivo, que consistieron en 250 mg de suelo esterilizado a los que se añadieron 30-40 mg de micelio de cultivos puros de *A. gallica*, *A. mellea* ó *A. ostoyae*, muestras de control negativo en las que al suelo se añadió micelio de *Rosellinia necatrix* Prill, y muestras de control de extracción que sólo contenían suelo esterilizado. Se eligió *R. necatrix* por la similitud de su micelio y de la podredumbre radicular que causa en numerosas especies leñosas respecto a *Armillaria*. Todos los cultivos fúngicos se mantenían en medio agar-malta en la colección de la Estación Fitopatológica Do Areeiro (EFA). El suelo, para la realización de los controles, procedió de la finca de la EFA y se esterilizó en autoclave a 121 °C durante 30 minutos dos días consecutivos.

Amplificación de la región ITS mediante nested-PCR

Se llevó a cabo la amplificación del espaciador transcrito interno (ITS) del ADN_r obtenido a partir de las muestras de suelo mediante nested-PCR. Para la primera PCR, se probaron dos procedimientos diferentes aunque con los mismos cebadores, ITS1 e ITS4 (WHITE *et al.*, 1990). La secuencia de los cebadores se presenta en el Cuadro 2.

Cuadro 2. Secuencia de los cebadores utilizados para la amplificación de la región ITS de *Armillaria*.

CEBADOR	SECUENCIA (5' → 3')	TAMAÑO (nº de bases)
ITS1	TCCGTAGGTGAACCTGCGG	19
ITS4	TCCTCCGCTTATTGATATGC	20
AR1	CTGACCTGTAAAGGGTATGTGC	23
AR2	AAGCTGAATCCTTCTACAAAGTCAA	25

En el primer procedimiento, se introdujo en un tubo Eppendorf 1 μ l del ADN aislado, 0,3 μ l de cada cebador (10 μ M) y una bolita "PuReTaq Ready-To-Go™ PCR Beads" (Amersham-Pharmacia), completando con agua pura hasta un volumen final de 25 μ l.

En el segundo procedimiento, se siguió el protocolo descrito por LOCHMAN *et al.* (2004). La mezcla de PCR consistió en 1 μ l del ADN aislado, 10 mM Tris-HCl (pH 8,3), 50 mM KCl, 1,5 mM MgCl₂, 200 μ M dNTP, 20 nM de cada cebador, 1,5 U de Taq DNA polymerase (Bioline), y agua pura hasta un volumen final de 25 μ l.

En ambos procedimientos, la amplificación se realizó en un termociclador "PCR Express" (Thermo Hybaid) programado con las condiciones propuestas por LOCHMAN *et al.* (2004): desnaturalización inicial a 94 °C durante 150 segundos, seguida de 35 ciclos de desnaturalización a 94 °C durante 30 segundos, anillamiento de los cebadores a 55 °C durante 40 segundos, elongación a 72 °C durante 30 segundos, y una elongación final a 72 °C durante 5 minutos.

En la segunda PCR, se probaron los dos procedimientos utilizados para la primera pero ambos con los cebadores AR1 y AR2 propuestos por LOCHMAN *et al.* (2004). La secuencia de los cebadores se presenta en el Cuadro 2.

Para esta segunda reacción, el primer procedimiento se varió ligeramente: se utilizaron 2 μ l del producto de la primera amplificación, 0,5 μ M de cada cebador y una bolita "PuReTaq Ready-To-Go™ PCR Beads" (PCR beads), completando con agua hasta un volumen final de 50 μ l. El segundo procedimiento se llevó a cabo de forma análoga a la primera reacción, solo que utilizando

también 2 μ l del producto de la primera amplificación y cambiando el volumen final a 50 μ l. Para la amplificación, el termociclador se programó con los mismos parámetros que en la primera PCR, con excepción del anillamiento de cebadores que se realizó a 60 °C y la elongación final a 7 minutos.

Los productos de la primera y segunda PCR se visualizaron mediante electroforesis en gel de agarosa. Se cargaron 5 μ l del producto amplificado de cada muestra con 2 μ l de tampón de carga (4 g/ml de sacarosa y 0,25 g/ml de azul de bromofenol) en un gel de agarosa al 2 % (p/v) sumergido en tampón 0,5x TBE (Tris-HCl 0,89 M, ácido bórico 0,89 M y EDTA 0,02 M, pH 8,4). En cada prueba se utilizó un control negativo y un marcador de 100 pares de bases (pb) hasta 2642 pb (MXIV, Roche Diagnostics). La electroforesis se realizó a 120 voltios durante 50 minutos. Los geles se tiñeron con bromuro de etidio (0,5 μ g/ml) y se observaron con un transiluminador de luz ultravioleta.

RFLP

Siguiendo el método de LOCHMAN *et al.* (2004), los productos no purificados de la segunda amplificación fueron digeridos con las endonucleasas de restricción *Hinf* I y *Mbo* I (Fermentas®) para analizar el polimorfismo de la longitud de los fragmentos de restricción. Las mezclas de restricción se prepararon con 20 μ l de cada producto amplificado y 4 unidades de la enzima *Mbo* I u 8 unidades de la enzima *Hinf* I, y se incubaron a 37 °C durante 12 horas. Se llevó a cabo la electroforesis en un gel de agarosa al 3 % a 100 voltios durante 80 minutos. Para la estimación del tamaño de las bandas, se cargó en el gel un marcador

Cuadro 3. Tamaño de los productos de amplificación obtenidos con los cebadores ITS1/ITS4 y AR1/AR2, en los cuatro controles y en cada una de las muestras de suelo.

CÓDIGO MUESTRA	TAMAÑOS DE AMPLIFICACIÓN (pb)		RESULTADO
	ITS1/ITS4	AR1/AR2	
Control positivo 1	882	724	<i>A. mellea</i>
Control positivo 2	868	711	<i>A. gallica</i>
Control positivo 3	870	713	<i>A. ostoyae</i>
Control negativo 1	-	-	<i>Rosellinia necatrix</i>
664	882	724	<i>A. mellea</i>
726	882	724	<i>A. mellea</i>
744	882	724	<i>A. mellea</i>
719	-	-	negativo
771	882	724	<i>A. mellea</i>
772	882	724	<i>A. mellea</i>
773	882	724	<i>A. mellea</i>
774	882	724	<i>A. mellea</i>
775	882	724	<i>A. mellea</i>
776	-	-	negativo
777	882	724	<i>A. mellea</i>
825	868	711	<i>A. gallica</i>
826	882	724	<i>A. mellea</i>
827	882	724	<i>A. mellea</i>
828	-	-	negativo
876	882	724	<i>A. mellea</i>
877	-	-	negativo
881	882	724	<i>A. mellea</i>
884	882	724	<i>A. mellea</i>
885	882	724	<i>A. mellea</i>
886	-	-	negativo
895	868	711	<i>A. gallica</i>
905	882	724	<i>A. mellea</i>
906	882	724	<i>A. mellea</i>

Cuadro 4. Tamaño de las amplificaciones con los cebadores de ITS y AR y tamaño de los fragmentos de restricción obtenidos con las enzimas *Hinf* I y *Mbo* I, en el trabajo de Lochman *et al.* (2004).

MUESTRA	TAMAÑO AMPLIFICACIONES	FRAGMENTOS DE RESTRICCIÓN (pb)	
	(pb) ITS/AR	<i>Hinf</i> I	<i>Mbo</i> I
<i>A. mellea</i>	882/724	401, 159, 148	235, 215, 149, 125
<i>A. gallica</i>	868/711	294, 227, 69, 63, 43	277, 222, 214
<i>A. ostoyae</i>	870/713	294, 228, 75, 69, 31	351, 222, 137
<i>A. borealis</i>	868/711	293, 172, 75, 68, 56, 31	490, 221
<i>A. cepistipes</i>	868/711	293, 227, 132, 43	277, 222, 214
<i>A. tabescens</i>	847/690	295, 129, 125, 93, 32	223, 216, 126

Cuadro 5. Tamaño de los fragmentos de restricción obtenidos con las enzimas *Hinf I* y *Mbo I*, en los cuatro controles y en cada una de las muestras de suelo.

CÓDIGO MUESTRA	FRAGMENTOS DE RESTRICCIÓN (pb)		RESULTADO
	<i>Hinf I</i>	<i>Mbo I</i>	
Control positivo 1	401, 159, 148	235, 215, 149, 125	<i>A. mellea</i>
Control positivo 2	294, 227, 69, 63, 43	277, 222, 214	<i>A. gallica</i>
Control positivo 3	294, 228, 75, 69, 31	351, 222, 137	<i>A. ostoyae</i>
Control negativo 1	-	-	<i>Rosellinia necatrix</i>
664	401, 159, 148	235, 215, 149, 125	<i>A. mellea</i>
726	401, 159, 148	235, 215, 149, 125	<i>A. mellea</i>
744	401, 159, 148	235, 215, 149, 125	<i>A. mellea</i>
771	401, 159, 148	235, 215, 149, 125	<i>A. mellea</i>
772	401, 159, 148	235, 215, 149, 125	<i>A. mellea</i>
773	401, 159, 148	235, 215, 149, 125	<i>A. mellea</i>
774	401, 159, 148	235, 215, 149, 125	<i>A. mellea</i>
775	401, 159, 148	235, 215, 149, 125	<i>A. mellea</i>
777	401, 159, 148	235, 215, 149, 125	<i>A. mellea</i>
825	294, 227, 69, 63, 43	277, 222, 214	<i>A. gallica</i>
826	401, 159, 148	235, 215, 149, 125	<i>A. mellea</i>
827	401, 159, 148	235, 215, 149, 125	<i>A. mellea</i>
876	401, 159, 148	235, 215, 149, 125	<i>A. mellea</i>
881	401, 159, 148	235, 215, 149, 125	<i>A. mellea</i>
884	401, 159, 148	235, 215, 149, 125	<i>A. mellea</i>
885	401, 159, 148	235, 215, 149, 125	<i>A. mellea</i>
895	294, 227, 69, 63, 43	277, 222, 214	<i>A. gallica</i>
905	401, 159, 148	235, 215, 149, 125	<i>A. mellea</i>
906	401, 159, 148	235, 215, 149, 125	<i>A. mellea</i>

de 50 pb hasta 2000 pb (Hyperladder II, Bioline). El gel se tiñó con bromuro de etidio y se visualizó en el transiluminador de luz ultravioleta. La imagen del gel se capturó con un sistema de fotodocumentación y el tamaño de bandas se analizó con el software 1-D Manager (TDI, Madrid). La identificación de las especies de *Armillaria* se basó en la comparación del tamaño de los fragmentos digeridos con los publicados por LOCHMAN *et al.* (2004).

Secuenciación

Para validar los resultados de identificación de especies de *Armillaria* mediante nested-PCR y RFLP, se secuenció el ADN de cinco muestras de suelo estudiadas (elegidas al azar) y de las tres muestras de con-

trol positivo (suelo esterilizado + *A. mellea*, *A. gallica* ó *A. ostoyae*). El producto de amplificación se purificó con el kit "High Pure PCR Product Purification" (Roche Diagnostic). La reacción de secuenciación consistió en 15 µl del amplicón purificado, 2 µl de terminador marcado (Big Dye® Terminator V3.1 Cycle Sequencing Kit, Applied Biosystems), 3 µl de tampón de secuenciación 5x (400 mM Tris-HCl pH 9.0 y 10 mM MgCl) y 0,32 µl de cada cebador (20 µM) AR1 ó AR2 (un solo cebador por cada reacción). Los ciclos de temperaturas en el termociclador fueron: un minuto a 96 °C y 25 ciclos de 96 °C durante 10 segundos, 50 °C durante 5 segundos, y finalmente 60 °C durante 4 minutos. Para eliminar contaminantes, la reacción de secuenciación se

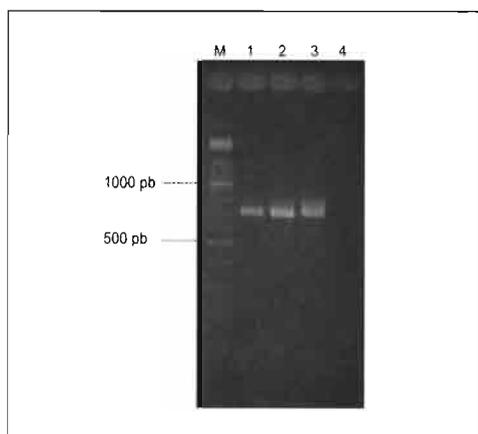


Figura 3. Gel de agarosa al 2% mostrando el fragmento de ADN amplificado con los cebadores AR1 y AR2 de los controles positivos: *A. ostoyae* (1), *A. gallica* (2) y *A. mellea* (3), y del control negativo: *Rosellinia necatrix* (4). M: marcador XIV de 100 hasta 2642 pb.

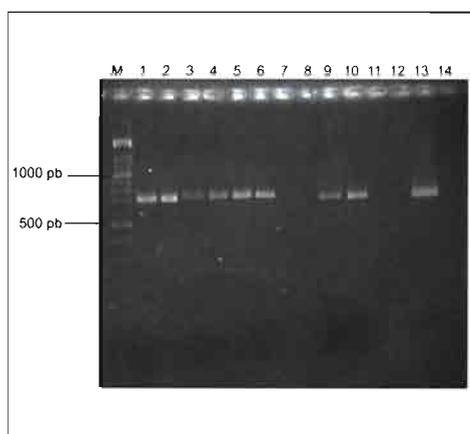


Figura 4. Gel de agarosa al 2% mostrando el fragmento de ADN amplificado con los cebadores AR1 y AR2 en las muestras: 825 (1 y 2), 826 (3 y 4), 827 (5 y 6), 828 (7 y 8), 876 (9 y 10), control de extracción (11), control negativo de amplificación (12), control positivo *A. ostoyae* (13) y control negativo *Rosellinia necatrix* (14). M: marcador XIV de 100 hasta 2642 pb.

precipitó con etanol. El precipitado se resuspendió en formamida “Hi-Di™” (Applied Biosystems). Tras ser sometido a una desnaturalización a 94 °C durante 3 minutos, el ADN amplificado se cargó en un secuenciador ABI PRISM™ 310 Genetic Analyzer (Applied Biosystems). Las secuencias obtenidas se analizaron con el Sequencing Analysis 5.1 y mediante el programa de alineamiento BLAST, de acceso libre en Internet, se compararon las secuencias de las muestras con las que existen en el Gen-Bank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La detección y amplificación del ADN fúngico de *Armillaria* en suelos infestados se consiguió utilizando el protocolo de amplificación secuencial o nested-PCR. El mayor problema para la caracterización molecular de los hongos patógenos que infestan suelos es disponer de un método de extracción que dé lugar a un ADN de calidad ya que los suelos contienen una elevada cantidad de ácidos húmicos que son inhibidores de la PCR (TSAI y OLSON, 1991). Los resultados obte-

nidos con el kit “PowerSoil™ DNA Isolation” (MO BIO Laboratories) indican su conveniencia para la extracción eficaz de ADN de *Armillaria*, a partir de las muestras de suelo; si bien los resultados son óptimos, se analiza solo 0,5 g de suelo por muestra por lo que sería conveniente probar algún kit que permita trabajar con una cantidad de tierra más representativa.

La amplificación tanto con las PCR beads como con la mezcla de reacción dió resultados satisfactorios similares. Sin embargo nuestra experiencia apoya el uso de las PCR beads por su rapidez y comodidad de trabajo.

De las 24 muestras analizadas, 5 de ellas no mostraron banda de amplificación, por lo que se determinaron como negativas para *Armillaria*. Dos presentaban una banda de amplificación de 864 pb en la primera PCR y de 711 pb en la segunda (para cada submuestra) y las 17 restantes presentaron un tamaño de amplificación de 882 pb en la primera PCR y de 724 pb en la segunda para cada una de las submuestras (Cuadro 3). Al comparar los tamaños de bandas obtenidos

en las dos ampliificaciones con los publicados por LOCHMAN *et al.* (2004), se comprobó que en el primer caso las muestras se correspondían con *A. gallica* y el segundo con *A. mellea* (Cuadro 4). En ningún experimento se obtuvo ampliificación en los controles negativos.

Los fragmentos de ADN obtenidos en la nested-PCR (Figuras 3 y 4) aportaron información para la identificación pero no pudo ser utilizada como método rutinario de diagnóstico porque la similitud del tamaño de las bandas entre las especies no permite su discriminación de forma fiable. Fue necesario hacer digestiones y analizar los fragmentos de restricción para la obtención de diagnósticos concluyentes.

El tamaño de los fragmentos de restricción de los controles positivos y de muestras de suelo, obtenidos por la digestión con las enzimas endonucleasas *Hinf I* y *Mbo I*, se muestran en el Cuadro 5. En total se realizaron 19 digestiones de las muestras y una digestión por cada control positivo utilizado. De las 19, dos de ellas presentaban un patrón de bandas de ADN de 294, 227, 69, 63, 43 pb con *Hinf I* y 277, 222, 214 pb con *Mbo I* correspondiéndose con lo publicado por LOCHMAN *et al.* (2004) para *A. gallica* y las 17 restantes pertenecen a *A. mellea* claramente diferenciadas del resto, por un patrón de bandas característico: 401, 159, 148 pb fragmentos digeridos con *Hinf I* y 235, 215, 149, 125 con *Mbo I*. Paralelamente, en tres de las muestras estudiadas (726, 881 y 884) además del suelo también se analizó material vegetal sintomático, con presencia de micelio blanco en el sistema radicular, mediante la técnica PCR-RFLP (MANSILLA *et al.*, 2000); en los tres casos el resultado fue *A. mellea*, lo que confirmó los resultados de suelo. En ninguna de las muestras naturales se encontró *A. ostoyae* pero se obtuvo su patrón de bandas correspondiente en el control positivo con unos fragmentos de 294, 228, 75, 69, 31 pb en la primera digestión con *Hinf I* y 351, 222, 137 para la segunda con *Mbo I*. Los fragmentos de restricción de los controles positivos (*A.*

mellea, *A. gallica* y *A. ostoyae*) digeridos con *Hinf I* y separados en un gel se muestran en la Figura 5. A la vista de los resultados, la especie más extendida en los suelos analizados fue *A. mellea* en un porcentaje del 70%. Resultados similares encuentran AGUÍN *et al.* (2004b) en muestras analizadas en el noroeste de España indicando que la especie más frecuente es *A. mellea* (71%) y que causa sintomatología en arbustos ornamentales, kiwi, viña, árboles frutales y árboles de hoja ancha. En el 16% de las muestras analizadas se detectó *A. gallica*, cuya presencia fue ya publicada en Galicia, aunque con baja incidencia, en ornamentales, coníferas, árboles frutales, árboles de hoja ancha y viña (AGUÍN *et al.*, 2004b).

La comparación de las secuencias de las muestras estudiadas con las secuencias depositadas en el Gen-Bank dió valores de similitud entre un 92-99%. Así, al contrastar la secuencia obtenida con el fragmento de ADN amplificado de la muestra 876 con las secuencias depositadas en el Gen-Bank, este mostró un 99% de similitud con la región ITS del ADN ribosómico de *Armillaria mellea*, en donde de los 539 nucleótidos analizados, 536 se correspondían con la secuencia del Gen Bank y solo 3 eran diferentes.

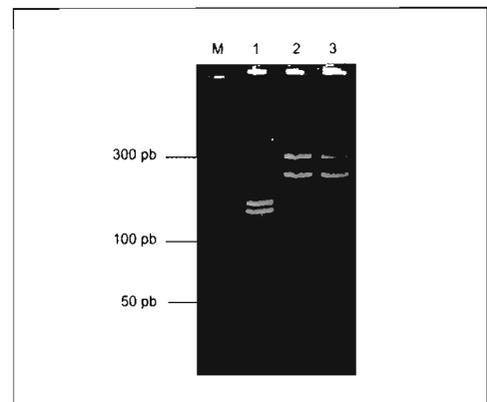


Figura 5. Gel de agarosa al 3% mostrando los fragmentos de digestión del ADN amplificado, con la enzima *Hinf I* en los controles positivos: *A. mellea* (1), *A. gallica* (2) y *A. ostoyae* (3). M: marcador Hyperladder II de 50 hasta 2000 pb.

Las muestras 772, 775, 826 y 885, también elegidas al azar y secuenciadas aportaron resultados similares entre 92-97% de similitud. En los controles positivos, *A. mellea* muestra un 99% de similitud en los 628 nucleótidos analizados mientras que *A. gallica* y *A. ostoyae* presentan un 92%. Estos resultados de secuenciación corroboran las identificaciones conseguidas anteriormente por nested-PCR y RFLP.

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos confirman que el procedimiento utilizado puede ser empleado como método eficaz de diagnóstico rutinario de las especies de *Armillaria* a partir de muestras de suelo, sin necesidad de aislar el hongo ni observar presencia de estructuras fúngicas (micelio, rizomorfos, etc.) en las muestras. La rápida extracción de ADN con el kit comercial "Power-

SoilTMDNA Isolation", la fácil amplificación usando "PuReTaq Ready-To-GoTM PCR Beads" y el análisis de fragmentos de restricción en geles de agarosa, hacen posible una detección e identificación efectiva de especies de *Armillaria*.

Esta metodología permite un diagnóstico temprano y óptimo, previo a la aparición de plantas sintomáticas, para conocer el grado de infestación del terreno por el hongo y poder aplicar las medidas preventivas necesarias para reducir la incidencia de la enfermedad causada por *Armillaria*.

A pesar de haber encontrado una buena técnica para la extracción de ADN directamente del suelo y haber logrado la amplificación, se valora la necesidad de obtener los mismos resultados partiendo de una mayor cantidad de suelo. El próximo paso en esta línea de investigación es evaluar otras metodologías de extracción que permitan trabajar con una cantidad más representativa de muestra.

ABSTRACT

ESCOFET CRESPO P. E., O. AGUÍN CASAL, J. P. MANSILLA VÁZQUEZ. 2006. Detection and Identification with molecular techniques of species of the genus *Armillaria* from soil samples. *Bol. San. Veg. Plagas*, **32**: 231-240.

In the present work *Armillaria* species were identified taking soil samples without isolating and cultivating the mycelium on a plate. DNA was extracted from 250 mg of soil and the ITS region of the rDNA was amplified using Nested-PCR with external primers ITS1 and ITS2 and internal primers AR1 and AR2. Products obtained were analysed by RFLP using the restriction enzymes *Hinf* I and *Mbol* I, thus obtaining fragments of different molecular weight. This method allows the discrimination among *Armillaria* species using band patterns specific for each species. The 70% of the analyzed samples corresponds to *A. mellea*; the 16% corresponds to *A. gallica*, and the 14% of the samples does not present *Armillaria* infection.

Key words: *Armillaria mellea*, *Armillaria gallica*, nested-PCR, RFLP, soil.

REFERENCIAS

- ADASKAVEG, J. E., FÖRSTER, H., WADE, L., THOMPSON, D. F., CONNELL, J. H. 1999. Efficacy of sodium tetrathiocarbonate and propiconazole in managing *Armillaria* root rot of almond on peach rootstock. *Plant Dis.*, **83**: 240-246.
- AGUÍN, O., SAINZ, M. J., MANSILLA, J. P. 2004a. *Armillaria* species infecting vineyards in northwestern Spain. *Eur. J. Plant Pathol.*, **110**: 683-687.
- AGUÍN, O., MANSILLA, J. P., SAINZ, M. J. 2004b. Intraspecific variation in *Armillaria* species from shrubs and trees in northwestern Spain. *Phytopathologia Mediterranea*, **43**: 299-304.
- AGUÍN, O., MANSILLA, J. P., SAINZ, M. J. 2006. *In vitro* selection of an effective fungicide against *Armillaria mellea* and control of white root rot of grapevine in the field. *Pest Manag. Sci.*, **62**: 223-228.

- ANDERSON, J. B., STASOVSKI, E. 1992. Molecular phylogeny of Northern Hemisphere species of *Armillaria*. *Mycologia*, **84**: 505-516.
- BAHNWEG, G., SCHULZE, S., MÖLLER, E. M., ROSENBRÖCK, H., LANGEBAEDEL, C., SANDERMANN, H. 1998. DNA isolation from recalcitrant materials such as tree roots, bark, and forest soil for the detection of fungal pathogens by polymerase chain reaction. *Anal. Biochem.*, **262**: 79-82.
- FOX, R. T. V. 2003. *Armillaria* root rot: biology and control of honey fungus. 23e Salon du Champignon de Montpellier 18-20 October, Institut de Botanique, 163 rue Auguste Broussonet, 34090 Montpellier.
- GUILLAUMIN, J. J. 1986. Le pourridié de la vigne. *Phytoma-Défense des cultures*, Novembre: 19-26.
- HARRINGTON, T. C., WINGFIELD, B. D. 1995. A PCR-based identification method for species of *Armillaria*. *Mycologia*, **87**(2): 280-288.
- KILE, G. A. 1991. *Armillaria root disease*. Agriculture Handbook No. 691. Forest Service, United States Department of Agriculture. Washington, D.C., 233 pp.
- LAMOURE, D. 1965. *Armillaria ectypa*. Comptes rendu hebdomadaire. Séances Acad. Sci., Paris 260: 4562.
- LOCHMAN, J., SERY, O., MIKES, V. 2004. The rapid identification of European *Armillaria* species from soil samples by nested PCR. *FEMS Microbiol. Lett.*, **237**: 105-110.
- MANSILLA, J. P., AGUÍN, O., ABELLEIRA, A., SAINZ, M. J. 2000. Adaptación de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para la identificación de especies de *Armillaria* en Galicia. *Bol. San. Veg. Plagas*, **26**: 79-88.
- MANSILLA, J. P., AGUÍN, O., SAINZ, M. J. 2001. A fast method for production of *Armillaria* inoculum. *Mycologia*, **93**: 612-615.
- MARXMÜLLER H. 1982. Etude morphologique des *Armillaria* ss. str. à anneau. *Bulletin Trimestriel de la Société Mycologique de France*, **98**: 87-124.
- MARXMÜLLER H. 1987. Quelques remarques complémentaires sur les *Armillaires* annelées. *Bulletin Trimestriel de la Société Mycologique de France*, **103** (2): 137-156.
- PÉREZ-SIERRA, A., WHITEHEAD, M., WHITEHEAD, D. 1999. Investigation of a PCR-based method for the routine identification of British *Armillaria* species. *Mycol. Res.*, **103**: 1631-1636.
- ROMAGNESI H., MARXMÜLLER H. 1983. Étude complémentaire sur les *Armillaires* annelées. *Bulletin Trimestriel de la Société Mycologique de France*, **99**: 310-321.
- SICOLI G., ANNESE V., GIOIA T., LUISI N. 2002. *Armillaria* pathogenicity tests on oaks in southern Italy. *Journal of Plant Pathology*, **84** (2): 107-111.
- TERMORSHUIZEN A.J., ARNOLDS E. J. M. 1987. On the nomenclature of the European species of the *Armillaria mellea* group. *Mycotaxon*, **30**: 101-116.
- TSAI YL, OLSON BH. 1991. Rapid method for direct extraction of DNA from soil and sediments. *Appl Environ Microbiol.* Apr; **57** (4):1070-1074
- TORREL, A. 1998. Podredumbre de la raíz (*Armillaria mellea* Vahl, *Rosellinia necatrix* Hartig). En: Los parásitos de la vid. Estrategia de protección razonada. 4ª edic. Ed. MAPA/Mundi-Prensa, pp. 182-187.
- WHITE, T. J., BRUNS, T., LEE, S., TAYLOR, J. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. En: PCR protocols: a guide to methods and application. Academic Press, San Diego (CA, USA), pp. 315-322.

(Recepción: 26 diciembre 2005)

(Aceptación: 15 marzo 2006)

Muerte de árboles cítricos causada por ataques de *Phytophthora citrophthora* a ramas principales

L. A. ÁLVAREZ, A. VICENT, D. GARCÍA-RELLÁN, P. MARTÍNEZ-CULEBRAS, E. DE LA ROCA, J. BASCÓN, J. ARMENGOL, P. ABAD-CAMPOS, A. ALFARO-LASSALA, J. GARCÍA-JIMÉNEZ

En los últimos años, una inusual afección de árboles cítricos caracterizada por la presencia de chancros y exudaciones gomosas sobre ramas principales y secundarias ha sido observada en la Comunidad Valenciana y la provincia de Huelva. Esta enfermedad afecta principalmente a la zona de la variedad causando la muerte del árbol cuando las lesiones rodean completamente el tronco o las ramas impidiendo el flujo de savia. *Phytophthora citrophthora* se aisló consistentemente de los tejidos afectados siendo identificada sobre la base de sus características culturales, morfológicas, fisiológicas y moleculares. Cincuenta y dos aislados representativos de diversas zonas geográficas y diferentes cultivares se inocularon sobre frutos de naranja cv. Valencia Late para seleccionar los más virulentos. Las cepas seleccionadas se inocularon mediante herida en plantas de dos años de edad de los cultivares Clemenules, Nour, Hernandina, Nova, Fortune y naranjo dulce cv. Navelina, injertados sobre citrange Carrizo. El experimento se realizó en invernadero y las evaluaciones se hicieron 60, 90 y 120 días después de la inoculación. Se encontraron diferencias estadísticas significativas en cuanto a susceptibilidad de cultivares frente a la infección y también de agresividad entre los aislados ensayados.

L. A. ÁLVAREZ, A. VICENT, D. GARCÍA-RELLÁN, P. MARTÍNEZ-CULEBRAS, J. ARMENGOL, P. ABAD-CAMPOS, J. GARCÍA-JIMÉNEZ. Instituto Agroforestal Mediterráneo, Universidad Politécnica de Valencia, Camino de Vera s/n, 46022 Valencia. E-mail: luialber@eaf.upv.es

E. DE LA ROCA, J. BASCÓN. Laboratorio de Sanidad Vegetal de Huelva. Ctra. El Portil - Rompido s/n, 21459, Cartaya-Huelva.

A. ALFARO-LASSALA. Servicio de Sanidad Vegetal de Silla - Generalitat Valenciana. Ctra. Alicante - Valencia km 276.5. Apartado 125, Silla - Valencia.

Palabras clave: Susceptibilidad varietal, gomosis, chancros.

INTRODUCCIÓN

Desde 2002 se ha tenido constancia de una severa afección de árboles cítricos caracterizada por la formación de chancros extensos con exudaciones de goma sobre ramas y troncos de la variedad, ocasionando frecuentemente la muerte del árbol. Este síndrome se observó inicialmente en la provincia de Huelva afectando diversos cultivares de cítricos, principalmente del grupo de las mandarinas tales como Clemenules y Nour, híbridos

como Nova y Fortune, y naranjas como Salustiana y Navelina. Posteriormente, esta enfermedad se ha observado en la Comunidad Valenciana afectando originalmente el cultivar Hernandina y, recientemente, en Clemenules, Marisol, Clemenules, Fortune y Navelina.

Estudios preliminares de este nuevo síndrome mostraron que los síntomas observados están ligados a ataques de *Phytophthora sp.* (VICENT *et al.*, 2004). Enfermedades ocasionadas por *Phytophthora* en cítricos han

Cuadro 1. Características morfológicas, fisiológicas y culturales de los aislados de *Phytophthora* estudiados.

Código	Origen	Variedad/Patrón	Estructuras asexuales				Estruct. Sexuales	Temperaturas cardinales		Especie	
			Esporangios		Forma	Crecimiento 5°C		Crecimiento 35°C	Diámetro de la colonia a 24°C		
			Long. (µm)	Anch. (µm)							L/A
Phy 001	Castellón	Hernandina/Carrizo	46,3*	34,5*	1,3:1	Obpiriforme	26,7 *	Si	No	64,1**	<i>P. citrophthora</i>
Phy 002	Castellón	Hernandina/Carrizo	46,5	30,0	1,6:1	Obpiriforme	24,3	Si	No	51,3	<i>P. citrophthora</i>
Phy 003	Castellón	Hernandina/Carrizo	56,0	31,0	1,8:1	Obpiriforme	No	Si	No	51,8	<i>P. citrophthora</i>
Phy 004	Castellón	Hernandina/Carrizo	49,3	35,0	1,4:1	Obpiriforme	25,5	Si	No	63,2	<i>P. citrophthora</i>
Phy 005	Castellón	Hernandina/Carrizo	41,5	30,5	1,4:1	Obpiriforme	24,6	Si	No	69,6	<i>P. citrophthora</i>
Phy 006	Huelva	Fortune/Volkameriana	44,5	31,5	1,4:1	Obpiriforme	No	Si	No	64,8	<i>P. citrophthora</i>
Phy 007	Huelva	Fortune/Volkameriana	44,8	33,5	1,3:1	Obpiriforme	12,3	Si	No	66,4	<i>P. citrophthora</i>
Phy 008	Huelva	Fortune/Volkameriana	46,5	33,0	1,3:1	Obpiriforme	No	Si	No	64,5	<i>P. citrophthora</i>
Phy 010	Huelva	Fortune/Volkameriana	42,8	30,0	1,4:1	Limomiforme	12,5	Si	No	66,0	<i>P. citrophthora</i>
Phy 011	Huelva	Fortune/Volkameriana	52,0	35,5	1,5:1	Obpiriforme	17,0	Si	No	64,2	<i>P. citrophthora</i>
Phy 012	Huelva	Fortune/Volkameriana	35,6	27,5	1,3:1	Obpiriforme	No	Si	No	65,7	<i>P. citrophthora</i>
Phy 013	Huelva	Fortune/Volkameriana	50,0	31,8	1,6:1	Obpiriforme	No	Si	No	65,3	<i>P. citrophthora</i>
Phy 014	Huelva	Fortune/Volkameriana	49,2	32,5	1,5:1	Obpiriforme	No	Si	No	69,5	<i>P. citrophthora</i>
Phy 016	Huelva	Clemenules/amargo	38,5	28,0	1,4:1	Obpiriforme	No	Si	No	64,5	<i>P. citrophthora</i>
Phy 017	Huelva	Clemenules/amargo	41,3	31,3	1,3:1	Obpiriforme	No	Si	No	64,3	<i>P. citrophthora</i>
Phy 018	Huelva	Clemenules/amargo	44,0	29,0	1,5:1	Obpiriforme	No	Si	No	67,3	<i>P. citrophthora</i>
Phy 020	Huelva	Clemenules/amargo	45,0	31,3	1,4:1	Obpiriforme	No	Si	No	70,0	<i>P. citrophthora</i>
Phy 022	Huelva	Clemenules/amargo	43,9	26,1	1,7:1	Obpiriforme	20,0	Si	No	58,3	<i>P. citrophthora</i>
Phy 023	Huelva	Clemenules/amargo	51,5	34,3	1,5:1	Obpiriforme	21,7	Si	No	66,3	<i>P. citrophthora</i>
Phy 025	Huelva	Hernandina/Carrizo	44,4	26,0	1,7:1	Obpiriforme	17,0	Si	No	64,7	<i>P. citrophthora</i>
Phy 026	Huelva	Hernandina/Carrizo	45,0	32,8	1,4:1	Obpiriforme	No	Si	No	67,5	<i>P. citrophthora</i>
Phy 027	Huelva	Clemenules/amargo	47,5	34,5	1,4:1	Obpiriforme	18,8	Si	No	58,7	<i>P. citrophthora</i>
Phy 028	Huelva	Nour/carrizo	39,0	28,8	1,4:1	Obpiriforme	No	Si	No	66,2	<i>P. citrophthora</i>
Phy 029	Huelva	Nour/carrizo	52,3	32,0	1,6:1	Obpiriforme	35,0	Si	No	65,8	<i>P. citrophthora</i>
Phy 030	Huelva	Nour/carrizo	42,5	30,8	1,4:1	Obpiriforme	No	Si	No	38,4	<i>P. citrophthora</i>
Phy 031	Huelva	Nour/carrizo	53,5	30,8	1,7:1	Limomiforme	21,3	Si	No	44,8	<i>P. citrophthora</i>
Phy 032	Huelva	Nour/carrizo	34,5	28,8	1,2:1	Obpiriforme	14,0	Si	No	47,2	<i>P. citrophthora</i>

Cuadro 1. Características morfológicas, fisiológicas y culturales de *Phytophthora* estudiados. (Continuación)

Código	Origen	Variedad/Patrón	Estructuras asexuales				Estruct. Sexuales	Temperaturas cardinales		Especie		
			Esporangios		Clamidiasporas			Crecimiento 5°C	Crecimiento 35°C			
			Long. (µm)	Anch. (µm)	L/A	Forma					Ø (µm)	
Phy 033	Huelva	Nour/carrizo	40,3	29,5	1,4:1	Obpiriforme	27,5	estéril	Si	No	63,0	<i>P. citrophthora</i>
Phy 041	Huelva	Hernandina/Carrizo	45,6	33,8	1,4:1	Obpiriforme	No	estéril	Si	No	25,3	<i>P. citrophthora</i>
Phy 044	Castellón	Hernandina/Carrizo	84,9	33,0	1,6:1	Obpiriforme	21,3	estéril	Si	No	35,8	<i>P. citrophthora</i>
Phy 045	Castellón	Hernandina/Carrizo	62,2	42,5	1,5:1	Obpiriforme	No	estéril	Si	No	69,5	<i>P. citrophthora</i>
Phy 046	Castellón	Hernandina/Carrizo	52,3	33,5	1,6:1	Obpiriforme	No	estéril	Si	No	68,7	<i>P. citrophthora</i>
Phy 047	Castellón	Hernandina/Carrizo	42,8	27,0	1,6:1	Limoniiforme	No	estéril	Si	No	68,0	<i>P. citrophthora</i>
Phy 048	Castellón	Hernandina/Carrizo	37,3	24,0	1,6:1	Limoniiforme	28,0	estéril	Si	No	68,9	<i>P. citrophthora</i>
Phy 049	Castellón	Hernandina/Carrizo	52,8	29,5	1,8:1	Limoniiforme	No	estéril	Si	No	61,2	<i>P. citrophthora</i>
Phy 050	Castellón	Hernandina/Carrizo	59,3	39,5	1,5:1	Obpiriforme	20,0	estéril	Si	No	68,4	<i>P. citrophthora</i>
Phy 051	Castellón	Hernandina/Carrizo	51,2	29,6	1,7:1	Obpiriforme	16,0	estéril	Si	No	66,2	<i>P. citrophthora</i>
Phy 052	Castellón	Hernandina/Carrizo	48,3	28,7	1,7:1	Obpiriforme	19,0	estéril	Si	No	64,3	<i>P. citrophthora</i>
Phy 053	Castellón	Hernandina/Carrizo	44,8	22,3	2,0:1	Distorsionada	16,3	estéril	Si	No	64,7	<i>P. citrophthora</i>
Phy 054	Castellón	Hernandina/Carrizo	40,5	24,5	1,7:1	Obpiriforme	No	estéril	Si	No	60,0	<i>P. citrophthora</i>
Phy 055	Castellón	Hernandina/Carrizo	60,8	19,3	3,2:1	Distorsionada	No	estéril	Si	No	62,2	<i>P. citrophthora</i>
Phy 056	Valencia	Hernandina/Carrizo	38,0	21,3	1,8:1	Obpiriforme	17,2	estéril	Si	No	57,2	<i>P. citrophthora</i>
Phy 057	Valencia	Hernandina/Carrizo	41,7	20,5	2,0:1	Distorsionada	No	estéril	Si	No	67,1	<i>P. citrophthora</i>
Phy 058	Valencia	Hernandina/Carrizo	39,8	23,1	1,7:1	Obpiriforme	22,0	estéril	Si	No	28,7	<i>P. citrophthora</i>
Phy 061	Castellón	Hernandina/Carrizo	38,3	21,3	1,8:1	Obpiriforme	20,6	estéril	Si	No	60,5	<i>P. citrophthora</i>
Phy 062	Huelva	Nour/carrizo	44,8	31,0	1,4:1	Obpiriforme	No	estéril	Si	No	30,8	<i>P. citrophthora</i>
Phy 063	Huelva	Nour/carrizo	73,5	33,3	2,2:1	Distorsionada	No	estéril	Si	No	64,5	<i>P. citrophthora</i>
Phy 064	Huelva	Hernandina/Carrizo	54,5	36,3	1,5:1	Limoniiforme	No	estéril	Si	No	64,3	<i>P. citrophthora</i>
Phy 065	Huelva	Fortune/Volkameriana	70,0	20,0	3,5:1	Distorsionada	32,5	estéril	Si	No	62,6	<i>P. citrophthora</i>
Phy 066	Huelva	Fortune/Volkameriana	50,5	34,0	1,5:1	Obpiriforme	No	estéril	Si	No	63,7	<i>P. citrophthora</i>
Phy 067	Huelva	Fortune/Volkameriana	94,3	58,6	1,6:1	Obpiriforme	No	estéril	Si	No	64,3	<i>P. citrophthora</i>
Phy 068	Huelva	Hernandina/Carrizo	51,5	30,8	1,7:1	Obpiriforme	19,5	estéril	Si	No	69,3	<i>P. citrophthora</i>

* Media de 25 medidas

** Media en mm de 6 diámetros a los 7 días de crecimiento.

sido citadas desde hace mucho tiempo en España. Aunque el agente causal aparentemente no fue correctamente identificado en un principio, se considera que la epidemia de pudrición de raíces y del cuello de árboles cítricos a finales del siglo XIX en las Islas Baleares y Castellón (BOU, 1879; RULLÁN, 1896) fue ocasionada por *Phytophthora*. FAWCETT (1932) identificó a *P. citrophthora* como el agente causal del “aguado de los frutos” (TUSET, 1977, ERWIN y RIBEIRO, 1996). TUSET (1983) hace referencia a la amplia distribución de *P. parasitica* y *P. citrophthora* en todas las plantaciones cítricas del país como los agentes causales de la “gomosis” y “podredumbre del cuello de la raíz”.

A pesar de todas estas referencias, no se tiene conocimiento de citas sobre afecciones en cítricos con esta sintomatología encontrada recientemente en España. Por tal motivo, el presente estudio tuvo como objetivos identificar el agente causal, determinar la susceptibilidad de diversos cultivares de cítricos frente a dicho agente y caracterizar la patogenicidad de aislados representativos del patógeno.

MATERIALES Y MÉTODOS

Caracterización del síndrome

Se visitaron parcelas afectadas en diversas localidades de la Comunidad Valenciana y provincia de Huelva, correspondiente a diferentes variedades y edades de plantas. Paralelamente, en el laboratorio se recibieron muestras de plantas afectadas, anotándose en todos los casos la sintomatología observada.

Aislamiento y conservación de aislados

Las muestras analizadas procedían del cultivar *Hernandina* de las provincias de Castellón y Valencia en la Comunidad Valenciana, y de los cultivares *Fortune*, *Clemenules*, *Nour* y *Nova* de la provincia de Huelva en Andalucía.

A partir de chancros de ramas y troncos de árboles afectados en campo, se extrajeron secciones de corteza conteniendo tejido sano

y afectado. En laboratorio, se seleccionaron fragmentos de tejidos, se lavaron con agua del grifo y, posteriormente, se desinfectaron superficialmente con etanol. Pequeños segmentos del frente de avance de las lesiones se sembraron en el medio selectivo para oomicetos PARPH, compuesto por medio CMA (Agar harina de maíz) como medio base con 10 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de pimarcina, 200 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de ampicilina, 10 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de rifampicina, 25 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de pentachloronitrobenzeno (PCNB), 10 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de benomilo, y 50 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de himexazol (Jeffers y Martin, 1986). Las placas se incubaron en estufa a 24 °C en oscuridad durante 5 días. De las colonias desarrolladas en este medio se extrajeron puntas de crecimiento hifal, las cuales se transfirieron a medio de cultivo PDA (Patata Dextrosa Agar).

Para la conservación de aislados, alrededor de 10 a 12 discos de agar de 8 mm de diámetro de cada cepa se adicionaron a viales de vidrio conteniendo 15 ml de solución de extracto de suelo estéril, y conservados a 7 y 20 °C.

Caracterización fenotípica de los aislados

Se utilizaron un total de 52 aislados (Cuadro 1) que fueron caracterizados morfológicamente, cultural y fisiológicamente. El estudio de la morfología de las estructuras asexuales de cada cepa incluyó la observación de esporangios y clamidosporas producidos en discos de agar colonizado en solución de extracto de suelo estéril. Para la observación de caracteres sexuales se indujo la producción de gametangios apareando las cepas a identificar mediante la técnica de los cultivos duales con los aislados de referencia CBS-308.62 y CBS-307.62 pertenecientes respectivamente a los grupos de apareamiento A_1 y A_2 de *P. cryptogea* Pethybridge et Lafferty. Las placas se incubaron en oscuridad a 24 °C y se realizaron observaciones a los 15, 30 y 45 días después de las siembras para comprobar la formación de oosporas. El apareamiento de A_1 y A_2 de *P. cryptogea* se incluyó como control.

Para el estudio de las características fisiológicas, las cepas se sembraron en placas con medio de cultivo PDA en grupos de tres repeticiones por aislado y se evaluó su crecimiento a temperaturas de 5 °C, 24 °C y 35 °C. El patrón cultural de la colonia y la tasa de crecimiento de cada aislado se determinó tras siete días de crecimiento en medio PDA a 24 °C en oscuridad.

Caracterización molecular de los aislados

La extracción del DNA de los cultivos se realizó a partir del micelio recogido de una placa Petri, y se llevó a cabo con el “kit” de extracción EZNA (Omega Bio-tek) siguiendo las instrucciones sugeridas por el proveedor. Para amplificar por PCR el DNA ribosómico de las cepas de *Phytophthora* se utilizaron los

Cuadro 2. Patogenicidad de aislados de *P. citrophthora* de diversos orígenes geográficos en frutos de naranja cv. Valencia Late.

Aislado	I.D. ^X	LSD	Localidad	Provincia
Phy 031	0,2	a ^Y	Gibraleón	Huelva
Phy 032	0,2	a	Gibraleón	Huelva
Phy 013	0,3	a	z	Huelva
Phy 057	0,4	a	Ribaroja	Valencia
Phy 003	0,4	a	Onda	Castellón
Phy 004	0,4	a	Onda	Castellón
Phy 065	0,5	a	-	Huelva
Phy 008	0,5	a	-	Huelva
Phy 040	0,6	ab	Zalamea	Huelva
Phy 064	0,8	abc	Nerva	Huelva
Phy 056	0,8	abc	Ribaroja	Valencia
Phy 049	1	abcd	Villareal	Castellón
Phy 017	1	abcd	Zalamea	Huelva
Phy 059	1	abcd	-	Huelva
Phy 001	1	abcd	Onda	Castellón
Phy 055	1,4	bcdef	Burriana	Castellón
Phy 044	1,6	bcdef	Alquerias	Castellón
Phy 054	1,8	cdefg	Burriana	Castellón
Phy 026	2	efgh	Nerva	Huelva
Phy 020	2,2	efghi	Zalamea	Huelva
Phy 058	2,2	efghi	Ribaroja	Valencia
Phy 009	2,2	efghi	-	Huelva
Phy 030	2,2	efghi	Gibraleón	Huelva
Phy 027	2,4	fghi	Zalamea	Huelva
Phy 005	2,6	ghi	Onda	Castellón
Phy 033	2,8	hi	El Campillo	Huelva
Phy 053	2,8	hi	Burriana	Castellón
Phy 051	3	i	Alquerias	Castellón

^X I.D. Índice de daño en una escala de 0 (sin síntomas) a 5 (76-100 % de fruto superficie del fruto afectado).

^Y En la misma columna, números seguidos de la misma letra no son significativamente diferentes según la prueba de significación LSD (P<0,05).

^Z -No existen datos.



Figura 1. Amarilleo de nervaduras en hojas.

oligonucleótidos *its5* e *its4* (WHITE *et al.*, 1990). Estos cebadores amplifican una región (5.8S-ITS) del DNA ribosómico que contiene los espaciadores internos ITS1 e ITS2 y el gen que codifica el RNA ribosómico 5.8S. Las reacciones de PCR se llevaron a cabo en un termociclador (Eppendorf Mastercycler personal) consistiendo en 35 ciclos de 1 min a 95°C, 1 min a 55 °C y 1 min a 72 °C. En cada reacción se utilizó una unidad de enzima (Netzyme, N.E.E.D. S.L), dNTPs a una concentración de 100 μ M y los oligonucleótidos a una concentración de 0,2 μ M, todo ello en el tampón de reacción suministrado por el proveedor.

La purificación de los fragmentos amplificados por PCR se realizó con el “kit” “high pure PCR product purification” de Roche, siguiendo las instrucciones sugeridas por el proveedor. Los fragmentos purificados se secuenciaron directamente, utilizando los cebadores *its5* e *its4* y el “kit” ABI PRISM™, que utiliza terminadores marcados y como enzima se utilizó la Amplitaq DNA polimerasa de Perkin Elmer. El trabajo se realizó con el secuenciador automático ABI 373 DNA sequencer.

Ensayos de patogenicidad

a. Inoculación de frutos

Se realizó un ensayo preliminar para determinar la patogenicidad y agresividad de

los aislados de *Phytophthora* sobre frutos. Se seleccionaron 28 aislados representativos en función de sus zonas de procedencia y cultivar de aislamiento (Cuadro 2).

Se inocularon cinco frutos maduros de naranja cultivar Valencia Late por cada cepa seleccionada. Para ello, se colocaron dos discos de micelio del mismo aislado sobre cada fruto previamente desinfectado con etanol. Uno de los discos se colocó directamente sobre el fruto y el segundo sobre una herida de aproximadamente 3 mm de longitud y 2 mm de profundidad realizada con bisturí. Se realizaron cinco repeticiones (frutos) para cada aislado y los frutos se incubaron en cámaras húmedas con un fotoperiodo de 12 horas de luz a 25 °C durante 7 días. Para la evaluación de los resultados de las inoculaciones se diseñó una escala basada en el porcentaje del fruto afectado por el patógeno con respecto al área total del mismo: 0 = Sin síntomas; 1 = 1-5%; 2 = 6-25%; 3 = 26-50%; 4 = 51-75% y 5 = 76-100%.



Figura 2. Oscurecimiento de la corteza y exudación de gomas.

b. Inoculación de plántones

Este ensayo tuvo como objetivos evaluar la susceptibilidad de diversos cultivares de cítricos frente al patógeno así como determinar la agresividad de los aislados seleccionados mediante inoculaciones artificiales a diversos cultivares de cítricos. Para esta prueba se eligieron ocho de los aislados que resultaron más virulentos en el ensayo anterior.

Como hospedantes se utilizaron plántones de cítricos de dos años de edad de los cultivares Hernandina, Fortune, Clemenules, Nour, Nova y Navelina injertados sobre citrange Carrizo. Las plantas se mantuvieron en invernadero a una temperatura entre 26 ± 2 °C y la humedad relativa alrededor del 90% durante todo el ensayo. El experimento se realizó mediante un diseño completamente aleatorizado con 54 tratamientos (8 aislados + 1 testigo x 6 cultivares de cítricos) y 5 repeticiones (plántones) por tratamiento.

Para la inoculación, se emplearon cultivos de cinco días de crecimiento de cada aislado en medio PDA. A partir de la zona del avance de la colonia, se extrajeron discos de agar de 5 mm de diámetro mediante un sacabocados. Mediante el uso de un injertador, se realizaron heridas longitudinales de aproximadamente 15 x 10 mm en la zona de la variedad de cada planta con la finalidad de separar la corteza de la madera pero manteniéndola unida por uno de los lados. Una vez realizada la herida, se levantó la corteza y se introdujo en el interior un disco de agar con micelio de cada aislado. La herida se selló con parafilm y el conjunto se cubrió con papel de aluminio para evitar la desecación del inóculo. Los controles fueron inoculados utilizando discos de PDA estéril.

A las 8, 12 y 16 semanas después de la inoculación se midió la longitud de la lesión desarrollada a partir del punto de inoculación, a este valor se le restó la longitud de la herida inicial de inoculación. Tras la última evaluación, se procedió al reaislamiento del patógeno en laboratorio a partir de una de las plantas de cada combinación mediante

siembra de fragmentos del frente de avance de las lesiones en medio selectivo PARPH.

Análisis de datos

Se realizó un análisis de la varianza (ANOVA) de los promedios de índice de daño en el ensayo de inoculación de frutos y de los valores de las longitudes de las lesiones de las tres evaluaciones en el ensayo de inoculación de plántones. La significación del experimento se realizó empleando el test de la Mínima Diferencia Significativa de Fisher-LSD (Least Significant Difference). Los datos fueron procesados utilizando el software estadístico Statgraphics Plus 5.1 (Manugistics, Inc. Rockville - Maryland, USA).

RESULTADOS

Sintomatología

Las plantas afectadas en campo mostraron hojas verde-pálidas con un marcado amarillamiento en sus nervaduras (Fig. 1). Sobre la corteza de troncos, ramas principales y secundarias, se observaron manchas de color oscuro en las que se originaron heridas o grietas con exudaciones gomosas (Fig. 2). Sobre estas lesiones se formaron posteriormente chancros a diferentes alturas del árbol (Fig. 3). El frente de avance de las lesiones progresó en sentido ascendente y descendente a partir del punto de infección (Fig. 4), que en algunos casos, coincidió con la zona de inserción de las ramas o axilas (Fig. 5), afectando posteriormente las ramas principales y secundarias (Fig. 6). Estas lesiones no tuvieron conexión con infecciones en la parte inferior del árbol (Fig. 7).

La enfermedad afectó únicamente a la zona de la variedad, ya que la destrucción de tejidos en síntomas avanzados no sobrepasó la zona límite del punto de unión entre el patrón y el injerto (Fig. 8). Al extenderse las lesiones descritas, se produjo el colapso de los tejidos floemáticos provocando la muerte de ramas (Fig. 9) y finalmente del árbol (Fig. 10). Los cultivares en los cuales se ha detectado esta enfermedad, que en su



Figura 3. Formación de chancro en rama.

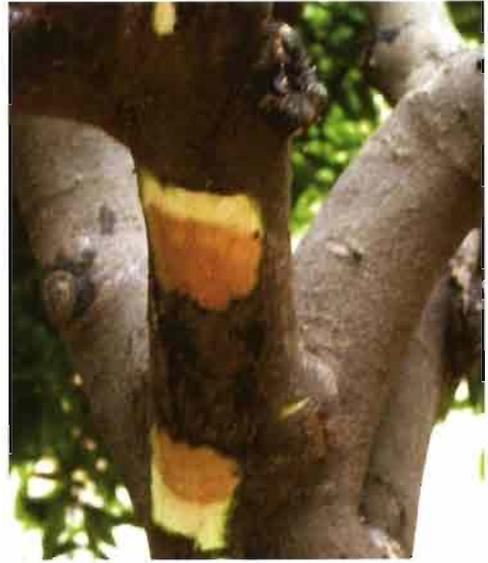


Figura 4. Progresión de las lesiones en sentido ascendente y descendente a partir de la zona de infección.

mayoría son mandarinas del grupo de las clementinas, son altamente susceptibles a la infección, este hecho ha sido corroborado en inoculaciones a ramas con el patógeno (Fig. 11). La importancia de esta enfermedad ha llegado al extremo que en algunas zonas de la provincia de Huelva han sido eliminadas parcelas enteras afectadas con este síndrome.

Aislamiento y caracterización de los aislados

De las lesiones descritas, se aisló consistentemente *Phytophthora* sp. Todas las cepas mostraron un patrón de crecimiento tipo petaloide a 24 °C sobre PDA y carentes de micelio aéreo. Se apreciaron diferencias entre las tasas de crecimiento de los aislados (Cuadro 1). La mayor parte de las cepas mostraron a los 7 días diámetros de colonia entre 50 - 70 mm, aunque algunos presentaron tasas de crecimiento menores, de hasta 25,3 mm.

Morfológicamente, los esporangios fueron papilados o semipapilados con una o dos

papilas, no caducos, no proliferantes y con simpodios de 2 a 3 esporangios frecuentemente unidos lateralmente al esporangióforo. El tamaño de los esporangios fue de (34,5-) 40,8 (-94,3) x (19,3-) 29,5 (-58,6) μm . El ratio Longitud:Anchura (L:A), fue de (1,2:1-) 1,4:1 (-1,8:1). La forma dominante de los esporangios fue obpiriforme en un 75 % de los casos, seguida por limoniforme (15 %) y de formas distorsionadas en el 10 % restante; estos últimos no se tuvieron en cuenta para las medias de mediciones de esporangios. Algunos aislados produjeron clamidosporas que fueron terminales o intercalares y promediaron un diámetro de 29,6 μm . En las pruebas de temperatura todos los aislados llegaron a crecer a 5 °C, pero ninguno lo hizo a 35 °C.

El apareamiento de los aislados de este estudio con las cepas A_1 y A_2 de *P. cryptogea* no indujo la formación de estructuras sexuales en ninguno de los intervalos de evaluación.

Basándose en las características culturales, morfológicas y fisiológicas estudiadas, todos



Figura 5. Lesiones en la zona de bifurcación de ramas.



Figura 6. Lesiones en ramas secundarias.



Figura 7. Infección en tronco en la zona de la variedad, con progresión descendente.

los aislados se identificaron como *Phytophthora citrophthora* (R. E. & E. H. Smith) Leonian. Los productos de PCR secuenciados (5.8S-ITS) de los diferentes aislados de *Phytophthora* analizados, presentaron una longitud de 850 pb. Mediante el programa BLAST (National Center for Biotechnology Information, USA), se compararon dichas secuencias con aquellas otras depositadas en las bases de datos (GenBank). Los resultados confirmaron la pertenencia de todos los aislados a la especie *P. citrophthora*.

Pruebas de patogenicidad

Inoculación de frutos

En frutos inoculados mediante herida, al final de la incubación no pudo realizarse un análisis de la agresividad de las cepas debido a que todas produjeron extensas lesiones en la zona inoculada sin ninguna diferencia aparente entre los diversos tratamientos. Por tal motivo, sólo se evaluaron las lesiones producidas en la inoculación sin herida, donde se caracterizó la agresividad de los aislados en función de su capacidad de producir lesiones en el fruto. El análisis de datos de este ensayo mostró diferencias estadísticas significativas de agresividad entre los aislados ensayados de

acuerdo con la prueba de significación LSD (Cuadro 2). Ocho aislados que no mostraron entre sí diferencias estadísticas significativas, cuatro de la Comunidad Valenciana (Phy 051, Phy 053, Phy 005 y Phy 058) y cuatro de la provincia de Huelva (Phy 033, Phy 027, Phy 030 y Phy 009) se seleccionaron para el ensayo de inoculación de plántones.

Inoculación de plántones

Los resultados de las evaluaciones en diversos cultivares de cítricos con los aislados seleccionados de *P. citrophthora* se muestran en el Cuadro 3. En este experimento, los ensayos de susceptibilidad de cultivares de cítricos frente al patógeno (Cuadro 4), indicaron que existen diferencias estadísticas significativas entre cultivares de acuerdo a la prueba de significación LSD. En la primera evaluación (60 días de la inoculación), sólo se observaron diferencias significativas entre el cultivar Nova (más susceptible) y Naveli-



Figura 8. Patrón resistente y variedad susceptible a *P. citrophthora*. Nótese la línea de demarcación entre el tejido resistente (inferior) y el tejido necrosado susceptible (superior).

Cuadro 3. Longitud media (cm) de las lesiones ocasionadas por aislados de *P. citrophthora* sobre diversos cultivares de cítricos.

Aislado	Cultivares																	
	Clementules			Fortune			Hernandina			Navelina			Nour			Nova		
	1ª eval.	2ª eval.	3ª eval.	1ª eval.	2ª eval.	3ª eval.	1ª eval.	2ª eval.	3ª eval.	1ª eval.	2ª eval.	3ª eval.	1ª eval.	2ª eval.	3ª eval.	1ª eval.	2ª eval.	3ª eval.
Phy 005	1,12	1,95	4	0,82	1,85	3,78	1,94	2,5	3,5	0,78	1,63	3,1	0,46	2,75	4	1,86	2,5	4,9
Phy 009	1,42	2,43	3,48	1,18	1,43	3,65	0,84	2,18	4,18	0,98	1	3,73	0,46	0,9	5,3	1,16	2,03	5,8
Phy 027	1,7	2,98	3,3	1,5	1,2	3,65	1,88	1,88	4,2	1,64	2,77	4,33	1,42	2,15	2,95	1,08	1,16	3,45
Phy 030	1,24	1,8	3,55	0,82	2,1	3,02	1,24	1,68	3,65	1,04	1,48	3,28	0,78	0,78	3,8	2,68	3,05	4,8
Phy 033	1,74	1,93	4,033	1,16	1,23	3,5	1,88	2,18	3,35	1,54	1,6	2,57	4,48	4,48	4,48	0,88	3,87	5,13
Phy 051	3,02	3,1	4,55	1,06	2,1	3,43	2,86	3	4,5	1,17	1,23	3,47	5,34	5,34	5,34	2,66	7,84	9,3
Phy 053	0,64	1,8	3,7	1,02	1,55	3,53	0,6	2,43	3,37	0,24	0,58	3	0,2	2,1	4,2	2,74	1,68	3,58
Phy 058	1,02	2,5	3,1	0,94	2,35	3,38	1,2	1,35	3,93	0,58	1,83	3,73	0,78	1,45	4,8	0,9	2,5	2,95
Testigo	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

w Observaciones a los 60 días de la inoculación
 x Observaciones a los 90 días de la inoculación
 y Observaciones a los 120 días de la inoculación
 z. Cada dato es la media de 5 repeticiones.

na y Fortune. En la segunda y tercera evaluación (90 y 120 días de la inoculación), los cultivares más susceptibles resultaron ser Nova y Nour sin diferencias estadísticas significativas entre ellos.

En el Cuadro 5, se observan los resultados del ensayo de agresividad de aislados sobre cultivares de cítricos. La prueba de significación LSD mostró diferencias estadísticas significativas entre aislados, siendo Phy 051 de Alquerías (Castellón), y Phy 033 de El Campillo (Huelva) los que mostraron mayores promedios de longitud de lesión en todas las evaluaciones.

DISCUSIÓN

El presente estudio describe un síndrome inusual caracterizado por la presencia de chancros y exudaciones gomosas afectando ramas principales y secundarias de árboles cítricos. Los resultados obtenidos demuestran que *P. citrophthora* es el agente causal de la enfermedad debido a que este patógeno se aisló de todas las lesiones ligadas a la enfermedad y por los resultados de los ensayos de patogenicidad.

Diversas enfermedades ocasionadas por *Phytophthora* spp. tales como “podredumbre del pie”, “podredumbre fibrosa de la raíz”, “gomosis”, “damping off” y “aguado en frutos” han sido descritas en cítricos a nivel mundial (TIMMER *et al.*, 1993; ERWIN y RIBEIRO, 1996; TUSET, 2000). Sin embargo, existen escasas citas de afecciones a la parte aérea de árboles cítricos. FAWCETT (1936) mencionó la presencia de *P. citrophthora* atacando todas las partes del árbol desde las raíces hasta las ramas secundarias en pomelos en la provincia del Western Cape en Sudáfrica. Este autor hace referencia a un caso similar en Egipto, donde las lesiones en árboles afectados empezaron a la altura de las raíces progresando hasta las ramas secundarias. GRAHAM y MENGE (1999) mencionan que grandes chancros pueden formarse en las ramas de los árboles, provocando su muerte al estrangularlas. Este fenómeno se produce en especies susceptibles de cítricos

Cuadro 4. Ensayo de inoculación en plántones de cítricos: Prueba de susceptibilidad de cultivares en función del promedio de longitud de lesión.

Cultivar	Longitud de lesión (cm)		
	1ª evaluación (60 días después de la inoculación)	2ª evaluación (90 días después de la inoculación)	3ª evaluación (120 días después de la inoculación)
Navelina	0,89 ^Y a ^Z	1,64 a	3,40 a
Fortune	0,94 a	1,72 a	3,49 a
Clemenules	1,29 ab	1,98 a	3,71 a
Hernandina	1,38 ab	2,03 a	3,81 a
Nour	1,54 ab	2,84 b	5,36 b
Nova	2,67 b	3,02 b	5,56 b

^Y Cada dato es media de 40 repeticiones.

^Z En la misma columna, números seguidos de la misma letra no son significativamente diferentes según la prueba de significación LSD ($P < 0,05$).

Cuadro 5. Ensayo de inoculación de plántones de cítricos: Prueba de agresividad de aislados de *P. citrophthora* en función del promedio de longitud de lesión en cm.

Aislado	Evaluaciones		
	1ª evaluación (60 días después de la inoculación)	2ª evaluación (90 días después de la inoculación)	3ª evaluación (120 días después de la inoculación)
Testigo	0,01 ^Y a ^Z	0,01 a	0,01 a
Phy 058	0,91 ab	1,84 b	3,64 b
Phy 053	0,93 ab	1,84 b	3,68 b
Phy 030	1,05 ab	2,2 bc	3,87 bc
Phy 005	1,82 abc	2,26 bc	3,89 bc
Phy 009	1,85 abc	2,33 bc	4,33 bcd
Phy 027	2,35 bc	2,56 bc	4,46 bcd
Phy 033	2,75 bc	2,8 c	4,67 cd
Phy 051	4,00 c	4,00 d	5,23 d

^Y Cada dato es media de 5 repeticiones.

^Z En la misma columna, números seguidos de la misma letra no son significativamente diferentes según la prueba de significación LSD ($P < 0,05$).

como limones cuando las condiciones de lluvias son elevadas.

No obstante, las afecciones observadas para este síndrome en campo difieren de los síntomas citados anteriormente debido a que las lesiones en ramas aparentemente no están conectadas con infecciones en la parte inferior del árbol. Esto sugiere un mecanismo de infección diferente a los típicamente observados o descritos para *Phytophthora* spp. en cítricos.

Las cepas aisladas en este estudio reúnen las características morfológicas, fisiológicas,

culturales y moleculares descritas para *P. citrophthora*. Dentro de las características morfológicas, los esporangios de este hongo han sido catalogados como caducos (STAMPS *et al.*, 1990) y como no caducos (KELLAM y ZENTMYER, 1986; ERWIN y RIBEIRO, 1996). Todos los aislados de este estudio presentaron esporangios no caducos. STAMPS *et al.*, (1990) y ERWIN y RIBEIRO, (1996), contemplan ratios longitud:anchura (L:A) menores de 1,6:1 para los esporangios de *P. citrophthora*, sin embargo, KELLAM y ZENTMYER,



Figura 9. Muerte de ramas por el colapso de los tejidos floemáticos.



Figura 10. Muerte del árbol.

(1986) citan ratios de 1,6:1 o mayores para esta especie. Los ratios (L:A) de los esporangios de los aislados de este estudio variaron entre 1,2:1 y 1,8:1, siendo la media de 1,4:1 y observándose además formas distorsionadas que llegaban a ratios L:A de hasta 3,5:1.

En la descripción inicial de la especie por Smith y Smith (1906), la formación de clamidosporas no fue incluida; sin embargo, KELLAM y ZENTMYER (1986) la citaron en aislados de *P. citrophthora* procedentes de cacao en Brasil. En este estudio, se ha observado que alrededor del 52% de los aislados estudiados presentaron clamidosporas.

La sexualidad de *P. citrophthora*, no está bien definida; algunos investigadores han caracterizado la especie como estéril (STAMPS *et al.*, 1990), mientras que otros la han descrito como heterotálica con anteridios anfígenos (RIBEIRO, 1978; LIYANAGE y WHEELER, 1989). En el presente estudio, ninguno de los aislados fue capaz de inducir la formación de oosporas cuando fue emparejado con los grupos de apareamiento de la especie heterotálica relacionada, *P. cryptogea*.

Las temperaturas cardinales fueron de gran ayuda para la identificación de especies de *Phytophthora*. ERWIN y RIBEIRO (1996), señalan que la temperatura mínima para el crecimiento de *P. citrophthora* es menor de 5 °C, y la máxima de 32 a 33 °C. En este estudio, no se obtuvo crecimiento a 35 °C de ninguno de los aislados identificados como *P. citrophthora*. Estos resultados sugieren que la incapacidad de los aislados de esta especie de crecer a 35 °C puede ser un criterio útil para la caracterización de los mismos y separarlos de otras especies patógenas de cítricos como *P. parasitica*.

Las características morfológicas, culturales y fisiológicas de los aislados estudiados concuerdan con la descripción de *P. citrophthora*. No obstante, las diferencias observadas en el ratio de crecimiento diario entre aislados de esta especie, así como las diferencias en sus características asexuales como son la presencia o ausencia de clamidosporas, en el ratio L:A de los esporangios, y la diferencia de agresividad entre cepas,



Figura 11. Lesiones en las ramas de cultivares susceptibles 30 días después de la inoculación.

son evidencias de la existencia de variabilidad, sugiriendo una variación a nivel intra-específico de la población estudiada. Estos resultados concuerdan con estudios previos sobre otras especies de *Phytophthora* que señalan la variabilidad poblacional de este patógeno (LINDE *et al.*, 1997; ROBIN *et al.*, 1998; HÜBERLI *et al.*, 2001; COHEN *et al.*, 2003; VERNIÈRE *et al.*, 2004; EIKEMO *et al.*, 2004).

En los experimentos de inoculación en cultivares de cítricos llevados a cabo en este estudio, todos los aislados utilizados fueron patogénicos; no obstante, se observaron diferencias estadísticas significativas de agresividad entre ellos. Asimismo, todos los cultivares comerciales ensayados fueron en mayor o menor medida susceptibles a la enfermedad. Este resultado corrobora las afirmaciones de GRAHAM y MENGE (1999) quienes afirman que todos los cultivares son susceptibles o muy susceptibles a la infección por *Phytophthora*. Estos resultados reflejan un comportamiento similar entre la severidad de afección de los cultivares en

invernadero y el observado en campo, en donde aparentemente las mandarinas y sus híbridos son más afectadas que las naranjas.

P. citrophthora se citó por primera vez en España en 1932 por FAWCETT (ERWIN y RIBEIRO, 1996). En las últimas décadas ha sido la principal especie asociada al “aguado de frutos”, “gomosis” y “podredumbre del cuello de la raíz” (TUSET, 1977; TUSET, 1983; TUSET *et al.* 1990). Los trabajos de BOCCAS y LAVILLE (1978), RICCI *et al.*, (1990) y COHEN *et al.* (2003) en Córcega – Francia, corroboran la importancia de esta especie en las afecciones de cítricos en la cuenca Mediterránea en donde es la especie dominante.

La importancia de *P. citrophthora* en zonas con climas mediterráneos (primaveras lluviosas y veranos secos), se debe a que su desarrollo es favorecido por temperaturas suaves (alrededor de 15 a 24 °C) y alta pluviometría (ERWIN Y RIBEIRO, 1996). Estas condiciones se producen en España en primavera y otoño donde esta especie se puede aislar fácilmente (TUSET, 1983). En campo, dada la alta susceptibilidad a la infección por algunos cultivares y debido a que las condiciones medioambientales son propicias para su desarrollo, las infecciones en ramas y troncos de árboles cítricos es muy rápida. FONS (2005), en inoculaciones con *P. citrophthora* a árboles del cultivar Hermandina, encontró lesiones de alrededor de 18 cm de longitud en un lapso de 30 días en la estación primaveral, ocasionando la muerte de las ramas inoculadas. Esto indica que bajo condiciones medioambientales favorables para el patógeno, el desarrollo de las lesiones es muy rápido, ocasionando en periodos relativamente cortos la muerte de ramas e incluso árboles enteros.

Hermandina es el cultivar en el cual se ha observado con mayor incidencia y severidad la enfermedad a nivel de campo en la Comunidad Valenciana. Este cultivar en las pruebas de patogenicidad presentó promedios de lesión inferiores que otros cultivares. Este hecho podría explicarse debido a que, a nivel experimental, se alojó directamente al patógeno en el interior de la corteza, obviando

los pasos de reconocimiento y penetración en el hospedante, etapas claves en el proceso de infección.

La re-emergencia de este patógeno en los cítricos españoles y que difieren de las típicas enfermedades observadas anteriormente pueden ser consecuencia de diversos factores. Dentro de éstos, un cambio en la población pre-existente del patógeno pudo acontecer como consecuencia de las variaciones en las prácticas culturales, a la introducción de nuevos patrones o cultivares de cítricos, a una adaptación de la población de *P. citrophthora* a nuevos mecanismos de diseminación, a cambios climáticos que han favorecido la diseminación a nivel epidémico de la enfermedad o a la influencia de todos estos factores en conjunto. Otras posibilidades pueden ser la introducción de nuevas poblaciones dando origen a cruces intraespecíficos (COHEN *et al.*, 2003), o interespecíficos (COOK *et al.*, 2003; APPIAA *et al.*, 2003).

Dentro de los mecanismos de diseminación, es probable que el impacto de las gotas de lluvia sobre el suelo pueda transportar propágulos del patógeno hacia la parte superior de árbol como las ramas y que éstas puedan ser infectadas directamente. Mediante este mismo mecanismo, otra posibilidad es que al producirse la infección de frutos o “aguado”, éste sirva como una fuente terciaria de inóculo de *Phytophthora* sobre la copa, y que las infecciones de las ramas sean una consecuencia de esta infección. Esta hipótesis viene apoyada por la capacidad de *P. citrophthora* de producir abundantes esporangios sobre la superficie del fruto, y que éstos puedan ser diseminados a frutos más altos en el árbol por el impacto de las lluvias (GRAHAM *et al.*, 1998). No obstante, no se han observado fuertes ataques de “aguado” en frutos de parcelas afectadas, lo que podría indicar que es otro el mecanismo de infección de ramas por *P. citrophthora*.

El viento y el impacto de las lluvias pueden dispersar esporangios siempre que éstos sean caducos, sin embargo, *P. citrophthora* produce esporangios no caducos. Otros

mecanismos de diseminación de la enfermedad desde el suelo hacia las partes aéreas de la planta incluyen el transporte de propágulos mediante hormigas, roedores y caracoles (EL-HAMALAWI y MENGE, 1996; KONAM y GUEST, 2004).

Cambios poblaciones en especies de *Phytophthora* han sido documentados en muchos patosistemas (LINDE *et al.*, 1997; HÜBERLI *et al.*, 2001; APPIAH *et al.*, 2003; EIKEMO *et al.*, 2004). COHEN *et al.* (2003), encontraron que existen cuatro poblaciones de *P. citrophthora* en cítricos en Córcega (Francia), siendo el grupo 1 (G1) la población mayoritaria en esta zona citrícola y más virulenta sobre patrones que sobre cultivares y caracterizado por ser cepas sexualmente estériles. Asimismo, cepas del G2, caracterizadas por ser heterotálicas mayormente del grupo de apareamiento A2, fueron más virulentas sobre variedades que sobre patrones. Los grupos G3 y G4 fueron grupos minoritarios dentro de la población y semejantes al G1 molecularmente.

Un factor cultural que puede haber influido en la presencia de la enfermedad podría ser el desarrollo de nuevos sistemas de irrigación. Durante los últimos 5 años, las zonas citrícolas del país se han implementado con nuevos sistemas de irrigación. Cerca del 95 % de los campos muestreados en este ensayo usaban el sistema de riego por goteo. El incremento de la humedad del suelo por sistemas de irrigación durante periodos normalmente secos de julio a septiembre, podría favorecer la supervivencia y dispersión del patógeno. Este hecho ha sido observado

anteriormente en enfermedades ocasionadas por *Phytophthora* en otros cultivos (BRASIER *et al.*, 1993; REILLY *et al.*, 1998). La transmisión de inóculo por equipo de poda y heridas sobre árboles ha sido demostrada en otras especies de *Phytophthora*. El “chancro del cacao” causado por *P. palmivora* fue fácilmente transmitido por el equipo de poda (ZAIGER y ZENTMEYER, 1965).

Hasta el momento, no se conoce cual es el factor o factores ligados a la aparición y desarrollo de este nuevo síndrome en España. Aunque se observó inicialmente a finales de 2002, su amplia distribución geográfica sugiere que la enfermedad ha estado presente anteriormente o que posiblemente el patógeno se ha diseminado a estas áreas por el material vegetal tales como plantones infectados en viveros. La falta de citas adicionales publicadas puede ser una consecuencia de que la enfermedad inicialmente no ha sido grave, o que ha estado presente y no diagnosticada satisfactoriamente. Este síndrome puede estar causando actualmente daños más graves de lo que se conoce, debiendo ponerse más énfasis sobre la naturaleza potencialmente destructiva de la misma.

AGRADECIMIENTOS

Los autores desean expresar su agradecimiento al Servicio de Sanidad Vegetal de Silla de la Generalitat Valenciana, y a la Asociación de Citricultores de la Provincia de Huelva por el apoyo logístico y financiero en la realización de este estudio; así como a J. M. Rodríguez-Reina por su ayuda técnica.

ABSTRACT

ÁLVAREZ L. A., A. VICENT, D. GARCÍA-RELLÁN, P. MARTÍNEZ-CULEBRAS, E. DE LA ROCA, J. BASCÓN, J. ARMENGOL, P. ABAD-CAMPOS, A. ALFARO-LASSALA, J. GARCÍA-JIMÉNEZ. 2006. **Death of citrus trees caused by attacks of *Phytophthora citrophthora* on main branches.** *Bol. San. Veg. Plagas*, 32: 241-258.

In the last years, an unusual disease characterized by the formation of cankers and exudation of gums on branches and trunks of citrus trees has been observed in the Comunidad Valenciana and the Huelva province. This disease affects mainly the scion causing the death of the tree when the lesions girdle completely the branches or the trunk. *Phytophthora citrophthora* was consistently isolated from affected tissues and was identified

on the basis of cultural, morphological, physiological and molecular characteristics. Fifty-two representative isolates of diverse geographical origins and varieties were inoculated on orange fruits cv. Valencia Late to select the most virulents. The isolates selected were inoculated in two year old plants of the cultivars Clemenules, Nour, Hemandina, Nova, Fortune and sweet orange cv. Navelina, grafted on Carrizo citrange. The experiment was carried out in a greenhouse and the development of the lesions was evaluated 60, 90 and 120 days after the inoculation. There were statistically significant differences between cultivars affected and virulence between isolates tested.

Key words: Varietal susceptibility, gums, cankers.

REFERENCIAS

APPIAH, A. A., FLOOD, J., BRIDGE, P. D. and ARCHER, S. A. 2003. Inter- and intraspecific morphometric variation and characterization of *Phytophthora* isolates from cocoa. *Plant Pathology*, **52**: 168-180.

BOCCAS, B. et LAVILLE, F. 1978. Les maladies à *Phytophthora* des agrumes. Inst. Rech. Fruits Agrumes (IRFA), 162 pp.

BOU, F. 1879. Estudio sobre el naranjo, limonero, cidro y otros árboles de la familia de las Auranciáceas que se cultivan en la provincia de Castellón. Editorial F. Segarra, Castellón-España. 422 pp.

BRASIER, C. M., ROBREDO, F., and FERRAZ, J. F. P. 1993. Evidence for *Phytophthora cinnamomi* in Iberian oak decline. *Plant Pathology*, **42**:140-145.

COHEN, S., ALLASIA, V., VENARD, P., NOTTER, S., VERNIERE, C. and PANABIÈRES, F. 2003. Intraspecific variation in *Phytophthora citrophthora* from citrus trees in Eastern Corsica. *European Journal of Plant Pathology*, **109**: 791-805.

COOK D. E. L., DUNCAN J. M., BRASIER C. M. 2003. The role of hybridization in the origin of new *Phytophthora* species. *Phytopathology*, **93**: S98.

EIKEMO, H., KLEMSDAL, S. S., RUSBERG, I., BONANTS, P., STENSVAND, A. and TRONSMO, A. M. 2004. Genetic variation between *Phytophthora cactorum* isolates differing in their ability to cause crown rot in strawberry. *Mycological Research*, **108**: 317-324.

EL-HAMALAWI, Z. and Menge, J. A. 1996. The role of snails and ants in transmitting the avocado stem canker pathogen, *Phytophthora citricola*. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, **121**(5): 973-977.

ERWIN, D.C. and RIBEIRO, O. K. 1996. *Phytophthora* diseases worldwide. American Phytopathological Society, St. Paul, MN, 562 pp.

FAWCETT, H. S. 1932. Brown rot of citrus in Mediterranean countries identical with that here. *California Citrograph*, **16**: 81.

FAWCETT, H. S. 1936. Citrus diseases and their control. McGraw-Hill, New York. 656 pp.

FONS, A. 2005. Ensayos de eficacia de fungicidas sistémicos en el control de los ataques de *Phytophthora citrophthora* a tronco y ramas principales de cítricos. TFC. Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos. Universidad Politécnica de Valencia. 67 pp.

GRAHAM, J. H., TIMMER, L. W., DROUILLARD, D. L., and PEEVER, T. L. 1998. Characterization of *Phytophthora* spp. causing outbreaks of citrus brown rot in Florida. *Phytopathology*, **88**: 724-729.

GRAHAM, J. H. and MENGE, J.A. 1999. Root diseases. En "Timmer, L.W. and Duncan, L. W. (edit.): Citrus Health Management. The American Phytopathological Society, 126-135.

HÜBERLI, D., TOMMERUP, I. C., DOBROWOLSKI, M. P., CALVER, M. C. and HARDY, J. 2001. Phenotypic variation in a clonal lineage of two *Phytophthora cinnamomi* populations from Western Australia. *Mycological Research*, **105**:1053-1064.

JEFFERS, S. N. and MARTIN, S. B. 1986. Comparison of two media selective for *Phytophthora* and *Pythium* species. *Plant Disease*, **70**: 1038-1043.

KELLAM, M. K., and ZENTMYER, G. A. 1986. Comparisons of single-oospores isolates of *Phytophthora* species from naturally infected cocoa pods in Brazil. *Mycologia*, **78**: 351-358.

KONAM, J. K. and GUEST, D. I. 2004. Role of beetles (Coleoptera: Scolytidae and Nitidulae) as vectors of *Phytophthora palmivora* diseases of cocoa in Papua New Guinea. *Australasian Plant Pathology*, **33**: 55-59.

LINDE, C., DRENTH, A., KEMP, G. H., WINGFIELD, M. J. and BROEMSEN, S. L. 1997. Population structure of *Phytophthora cinnamomi* in South Africa. *Phytopathology*, **87**: 822-827.

LIYANAGE, N. I. S. and WHEELER, B. E. J. 1989. Comparative morphology of *Phytophthora* species of rubber. *Plant Pathology*, **38**: 592-597.

REILLY, C. C.; HOTCHKISS, M. W.; HENDRIX, F. F. JR. 1998. *Phytophthora* shuck and kernel rot, a new disease of pecan caused by *Phytophthora cactorum*. *Plant Disease*, **82**: 347-349.

RIBEIRO, O. K. 1978. A source book of the genus *Phytophthora*. Cramer, Vaduz, Liechtenstein. 417 pp.

RICCI, P., POPE DE VALLAVIEILLE, C., PANABIÈRES, F., MARAIS, A. et AUGE, G. 1990. Caractères comparés des espèces de *Phytophthora* pathogènes des agrumes. *OEPIE/EPPO Bulletin*, **20** : 19-28.

ROBIN, C. and DESPREZ-LOUSTAU, M. L. 1998. Testing variability in pathogenicity of *Phytophthora cinnamomi*. *European Journal of Plant Pathology*. **104**: 465-475.

RULLÁN, J. 1896. Cultivo del naranjo en las Baleares. Imprenta La Sinceridad. Soller- España. 189 pp.

SMITH, R. E., and SMITH, E. H. 1906. A new fungus of economic importance. *Botanical Gazette*, **42**: 215-221.

- STAMPS, D. J., WATERHOUSE, G. M., NEWHOOK, F. J. and HALL, G. S. 1990. Revised tabular key to the species of *Phytophthora*. Second Edition. Mycological Papers 162. CAB International: Wallingford, U.K.
- TIMMER, L. W., MENDGE, J. A., ZITKO, S. E., POND, E., MILLER, S. A., and JOHNSON, E. L. V. 1993. Comparison of ELISA techniques and standard isolation methods for *Phytophthora* detection in citrus orchards in Florida and California. *Plant Disease*, **77**:791-796.
- TUSET, J. J. 1977. Contribución al conocimiento del género *Phytophthora* de Bary en España. *Anales del INIA, serie protección vegetal*, **7**: 11-106.
- TUSET, J. J. 1983. La gomosis y podredumbre del cuello de la raíz de nuestros agrios. I: Aspectos biológicos y patológicos. *Levante Agrícola*, **246**: 90-96.
- TUSET, J. J., HINAREJOS, C. and GARCÍA, J. 1990. Control of *Phytophthora* brown rot of citrus fruits. *Bulletin OEPP*, **20**: 153-161.
- TUSET, J. J. 2000. Enfermedades causadas por *Phytophthora*. En: Enfermedades de los cítricos. Monografía de la sociedad española de fitopatología N° 2. 165 pp.
- VERNIÈRE, C., COHEN, S., RAFFANEL, B., DUBOIS, A., VENARD, P. and PANABIERES, F. 2004. Variability in pathogenicity among *Phytophthora* spp. isolated from citrus in Corsica. *Journal of Phytopathology*, **152**: 476-483.
- VICENT, A., ALVAREZ, L. A., MARTÍNEZ-CULEBRAS, P., ABAD-CAMPOS, P., ARMENGOL, J., GARCÍA-JIMÉNEZ, J., ALFARO-LASSALA, F. and DE LA ROSA, E. 2004. Outbreak of *Phytophthora* gummosis of Citrus in Spain. The Xth International Citrus Congress, Agadir-Morocco, p. 41.
- WHITE, T. J., BRUNS, T., LEE, S. and TAYLOR, J. 1990. Amplification and direct sequencing of fungi ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis MA, Gelfand D.H., Sninsky J.J. and White TJ (eds). PCR protocols. A guide to methods and applications (pp 315-322) Academic Press. San Diego.
- ZAIGER, D., and ZENTMEYER, G. A. 1965. *Phytophthora* canker of cacao in the Caroline Island. *Plant Disease Reporter*, **49**: 565-567.

(Recepción: 29 diciembre 2005)

(Aceptación: 13 marzo 2006)

Eficacia de cebos atrayentes y trampas en el control de *Ips acuminatus* (Coleoptera: Scolytidae)

G. PÉREZ, J. M. SIERRA

Se han empleado dos tipos de trampa y un cebo feromonal comercial para comparar su efectividad frente al método tradicional de los árboles cebo en el control de las poblaciones de *Ips acuminatus* Gyllenhal mediante la captura masiva del escoltído. Las trampas utilizadas fueron la canadiense de "Embudo Múltiple" (Multiple funnel) y la alemana de "Ranura" (Theysöhn), consistiendo el cebo feromonal en una combinación de ipsenol, ipsdienol y cis-verbenol. Los puntos cebo se constituyeron mediante 8-11 trozas de pino de 1.5 metros y 15-25 cm de diámetro.

Los tratamientos se dispusieron en los vértices de un triángulo equilátero de 150 metros de lado, repitiéndose en seis bloques diferentes separados al menos 1 kilómetro entre sí. Los ensayos se desarrollaron en una masa de *Pinus sylvestris* L. en Navafría (Segovia) desde mediados de mayo hasta principios de octubre de 2004. Las trampas se revisaron semanalmente, y tanto los puntos cebo como las feromonas se renovaron cada seis semanas.

Se discute la eficacia de los tratamientos ensayados en la captura de *Ips acuminatus* Gyllenhal, así como el efecto negativo de la atracción cairomonal de las feromonas sobre diversos depredadores (*Cleridae*, *Trogossitidae*).

G. PÉREZ. Centro de Sanidad Forestal de Calabazanos. Consejería de Medio Ambiente. Junta de Castilla y León. Polígono de Villamuriel. 34190 Villamuriel de Cerrato. Palencia. censanfor@jcy.l.es

J. M. SIERRA. Dirección de Programas de Formación e Investigación. Consejería de Medio Ambiente. Junta de Castilla y León. C/Rigoberto Cortejoso, 14. 47014 Valladolid. sievigjo@jcy.l.es

Palabras clave: escoltídos, feromonas, cairomonas, *Pinus sylvestris*

INTRODUCCIÓN

El manejo integrado de *Ips acuminatus* y de otros escoltídos semiagresivos supone tanto el aumento del vigor de los árboles como la reducción de la propia población, aspecto que puede lograrse mediante la supresión de las condiciones que favorecen la multiplicación de estos insectos ó mediante su captura masiva.

Tradicionalmente ha venido utilizándose la atracción dirigida de las poblaciones remanentes hacia puntos cebo, método efi-

caz contra los escoltídos pero con importantes limitaciones que condicionan su empleo, por lo que se hace necesario comparar su utilidad y eficacia frente a la captura en trampas cebadas con compuestos semioquímicos. Un estudio de este tipo ya se ha realizado en nuestro país con *Ips sexdentatus* (SIERRA y MARTÍN, 2004), cuya captura en trampas cebadas con α -pineno, Ipsdienol y 2-metil-3-buten-2-ol resultó más eficiente que el método de los árboles cebo y comienza a sustituirle ventajosamente en el manejo de focos del escoltído. Los buenos resultados

obtenidos con esta especie sugieren la conveniencia de estudiar la aplicación de estos métodos en otros escolítidos semiagresivos como *Ips acuminatus*, barrenillo asociado específicamente al pino silvestre.

La extracción de individuos machos y hembras (captura masiva) requiere el empleo de cebos que actúen de señal agregativa. En el caso de *Ips acuminatus* se han identificado (-)Ipsenol, (+)Ipsdienol y (S) cis-verbenol como los principales componentes feromonales (KOHLE *et al.*, 1988, VITÉ *et al.*, 1972). Además, la captura masiva con compuestos semioquímicos requiere el desarrollo de trampas eficientes, y aunque se han empleado diferentes tipos (FURNISS, 1977; BAKKE *et al.*, 1983; LINDGREN, 1983; ROSS y DATERMAN, 1998), sólo algunas de ellas se han comercializado con fines prácticos. Las más ampliamente empleadas son la trampa de Embudo Múltiple en Norte América y la trampa de Ranura en Europa, con resultados contradictorios en cuanto a su eficacia comparada (ROSS y DATERMAN, 1998; SIERRA y MARTÍN, 2004; PÉREZ *et al.*, 2005).

Un hecho que debe considerarse además es el impacto de la captura masiva con trampas de feromona sobre las poblaciones de depredadores de escolítidos debido a la respuesta cairomonal de estos enemigos (ROSS y DATERMAN, 1998), especialmente en el caso de los coleópteros *Thanasimus formicarius* (Cleridae) y *Temnochila coerulea* (Trogossitidae). La importancia de estos enemigos en la regulación de las poblaciones de escolítidos ha sido mostrada para *Thanasimus dubius* en América del Norte (ERGBILGIN y RAFFA, 2002; REEVE, 1997; TURCHIN *et al.*, 1999; REEVE y TURCHIN, 2002; WESLIEN, 1994), o para *Thanasimus formicarius* en Europa (SCHROEDER, 1999).

En este trabajo se pretendió: comparar la eficacia de dos tipos de trampa, Ranura y Embudo Múltiple, cebadas con feromona, frente a los tradicionales puntos cebo en la captura masiva de *Ips acuminatus*, así como evaluar el efecto de captura de estas trampas sobre los principales depredadores de este escolítido.

MATERIAL Y MÉTODOS

Los experimentos se desarrollaron en el monte UP-198 de Navafría (Segovia), una masa de *Pinus sylvestris* de más de 50 años de edad localizada en el Sistema Central a más de 1300 m de altitud. La permanencia cercana de material colonizable tras cortas en masas particulares, y la aparición de daños por viento y nieve, habían incrementado notablemente las poblaciones de *Ips acuminatus* en los últimos años, apareciendo numerosos corros de árboles secos. Los trabajos se desarrollaron desde principios de mayo hasta mediados de octubre de 2004 (excepto la semana del 22 de septiembre, de la que no se pudieron obtener resultados).

Se compararon tres tratamientos en un diseño de bloques al azar con seis repeticiones. Los bloques estuvieron compuestos por una trampa de Embudo Múltiple (LINDGREN, 1983; Phero Tech Inc., Canadá) de 16 embudos, una trampa de Ranura (Theysohn, Alemania), y un punto cebo tradicional formado por un número de entre 8 y 11 trozas de *Pinus sylvestris* recién apeadas de unos 15-25 cm de grosor y 1.5 m de longitud (figuras 1, 2 y 3 respectivamente). Los bloques estuvieron distanciados aproximadamente 1 km a lo largo del monte, próximos a los focos de plaga registrados los años anteriores. Dentro de cada bloque, los tratamientos se dispusieron según los vértices de un triángulo equilátero de unos 150 metros de lado.

Tanto las trampas como los puntos cebo se localizaron en zonas lo más abiertas posible pero evitando su continua insolación. Se empleó un cebo feromonal elaborado para la captura masiva de *Ips acuminatus* compuesto por Ipsenol, Ipsdienol, y cis-verbenol. Las revisiones de las trampas se realizaron semanalmente, y tanto las feromonas como los puntos cebo se renovaron cada seis semanas.

Se decidió no tratar ninguna troza del punto cebo ya que en ensayos previos se constató la dificultad de conocer con fiabilidad el número de insectos atraídos (tras morir, un número importante de escolítidos fue arrastrado por el viento o sirvió de ali-



Figura 1. Trampa de Embudo Múltiple.



Figura 2. Trampa de Ranura.

mento a la fauna silvestre). De esta forma, el número de *Ips acuminatus* atraídos se estimó a partir del número de entradas contabilizadas en cada una de las trozas (que teóricamente responden a la entrada de un macho y de tantas hembras como galerías maternas tenga cada sistema), multiplicado por el ratio medio observado al descortezarlas parcialmente antes de su destrucción (para evitar la emergencia de la nueva generación de insectos adultos).

Las variables respuesta registradas en el experimento fueron el número de individuos capturados de *Ips acuminatus* en los dos tipos de trampas y en los árboles cebo, así como el número de los depredadores *Thanasimus formicarius* (figura 4) y *Temnochila coerulea* (figura 5) capturados por ambos tipos de trampa.

Análisis estadístico

Los datos de capturas obtenidos, una vez comprobada su normalidad y homocedasticidad, fueron sometidos no transformados a un análisis de varianza (ANOVA GLM) de bloques completos aleatorios con el programa SAS System Software (SAS Institute Inc., 1.999-2.000). Los datos de capturas de *Thanasimus formicarius* en la comparativa entre ambos tipos de trampas fueron transformados previamente mediante $\log_{10}(x+1)$ para cumplir las condiciones de normalidad y homocedasticidad. Las medias se compararon

mediante el Test de múltiples comparaciones de Tukey para $p=0.05$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A partir de las capturas obtenidas en las trampas se observó que *Ips acuminatus* presenta en la zona una única generación completa, apreciándose en la curva de vuelo una drástica disminución de las capturas debido a las bajas temperaturas y al fuerte viento registrado durante la primera quincena de julio. Se observó también a finales de septiembre y principios de octubre un repunte en las capturas que podría responder al inicio de un vuelo de colonización parcial favoreci-



Figura 3. Colocación de punto cebo.



Figura 4. Ejemplar adulto de *Thanasimus formicarius* acechando a un individuo adulto de *Ips acuminatus*.



Figura 5. Ejemplar adulto de *Temnochila coerulea*.

do por las suaves temperaturas registradas durante esas semanas de principio de otoño. En cuanto a *Thanasimus formicarius*, se apreció un único vuelo comprendido fundamentalmente entre principios de junio y mediados de Agosto.

Eficacia atractiva de diversos tratamientos frente a los puntos cebo

Tanto la trampa de Embudos Múltiples como la de Ranura resultaron muy efectivas en la captura de *Ips acuminatus*, y aunque la primera capturó un número mayor de insectos, las diferencias no fueron significativas (10.279 frente a 8.913 en todo el periodo respectivamente). Este resultado coincide con lo encontrado para *Ips sexdentatus*, donde tampoco se observaron diferencias significativas entre ambos tipos de trampa (SIERRA y MARTÍN, 2004), si bien en este caso la trampa de Ranuras capturó ligeramente más individuos. Contrariamente, ROSS y DATERMAN (1998) obtuvieron que la trampa de Embudo Múltiple resultó significativamente más eficiente en la captura de *Dendroctonus ponderosae* en Norte América.

Esta evidente eficacia en la captura de escolítidos no se observó en los puntos cebo, que apenas capturaron insectos (563 individuos en todo el periodo de vuelo) comparados con los dos tipos de trampa. El resultado de capturas para los tres tratamientos a lo largo del periodo de vuelo se muestra en la figura 6. A esta menor eficacia de captura

(figura 7 y Cuadro 1) se añaden otros inconvenientes al empleo de puntos cebo: la necesidad de presencia relativamente continua de personal en el monte que realice los trabajos, el seguimiento de la evolución de la colonización de los árboles, el volumen importante de madera que hay que apearse y posteriormente destruir antes de la emergencia de los adultos, y el elevado coste económico. Así pues, nuestros resultados indican claramente que el empleo de trampas cebadas con feromona es una clara alternativa al empleo de árboles cebo en el manejo integrado de las poblaciones de escolítidos.

Efecto cairomonal sobre los depredadores

Las capturas de los depredadores *Thanasimus formicarius* y *Temnochila coerulea* por su atracción cairomonal hacia las feromonas de *Ips acuminatus* han sido estudiadas únicamente en ambos tipos de trampa, ya que el dispositivo experimental no permite

Cuadro 1. Valores medios de capturas y rango de capturas de *Ips acuminatus* para cada tratamiento en todo el periodo de vuelo.

TRATAMIENTOS	Media Capt/Trampa [Rango] <i>Ips acuminatus</i>
Trampa E.Múltiple	10279 [2820_15580] a
Trampa Ranura	8913 [2233_13846] a
Árbol cebo	563 [377_840] b

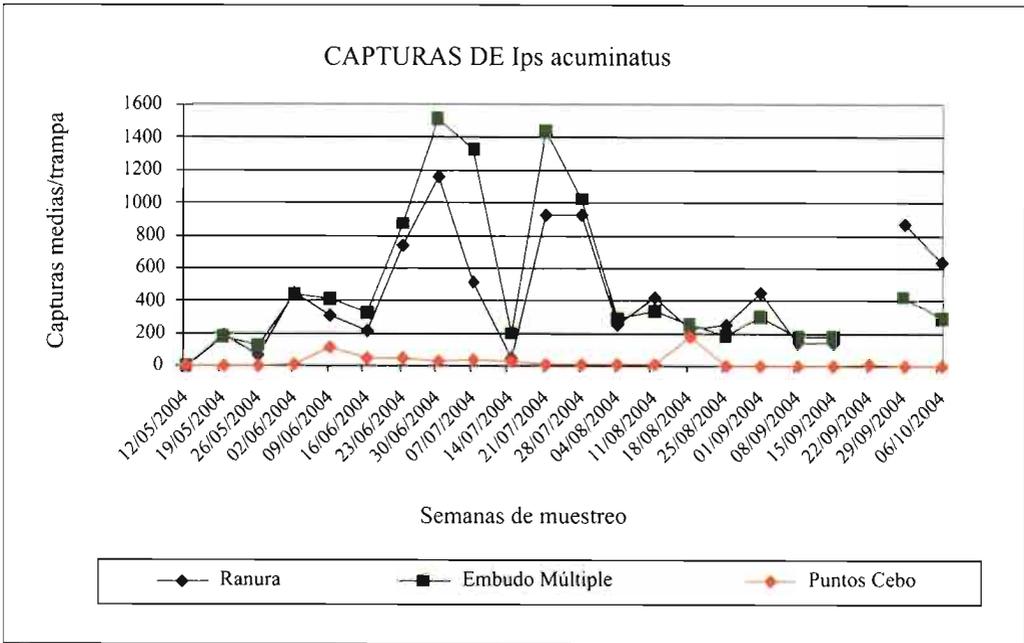


Figura 6. Capturas medias de *Ips acuminatus* con tres tratamientos diferentes a lo largo de todo el periodo de vuelo.

conocer el número de depredadores atraídos a los puntos cebo. Además, esta atracción al no suponer la captura de los enemigos no incide sobre sus poblaciones, al menos sobre los individuos adultos. Las larvas de *Thana-*

simus formicarius y *Temnochila coerulea* depredan la progenie de los escolítidos, mientras que los adultos se alimentan de escolítidos adultos.

La captura de *Thanasimus formicarius* difirió mucho según el tipo de trampa empleado (figura 8). Como se observa en las figuras 9 y en la Cuadro 2, la trampa de Embudo Múltiple capturó un número significativamente mayor de *Thanasimus formicarius* que la trampa de Ranura (317 vs. 56 respectivamente). Esto coincide con los resultados obtenidos para esta especie en España en trampas cebadas con feromona de *Ips sexdentatus* (SIERRA

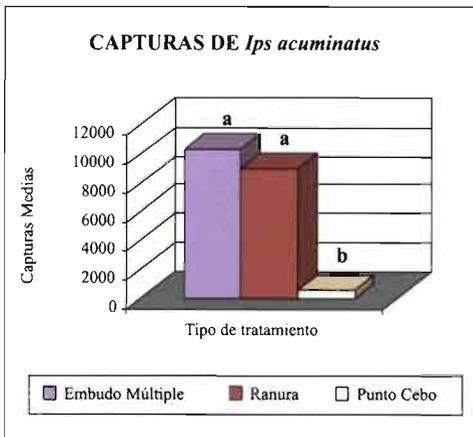


Figura 7. Capturas medias de *Ips acuminatus* con tres tratamientos diferentes en todo el periodo de vuelo.

Cuadro 2. Valores medios de capturas y rango de capturas de *Thanasimus formicarius* para cada trampa en todo el periodo de vuelo.

TRAMPAS	Media Capt/Trampa [Rango] <i>T. formicarius</i>
Trampa E.Múltiple	317 [152_634] a
Trampa Ranura	56 [11_146] b

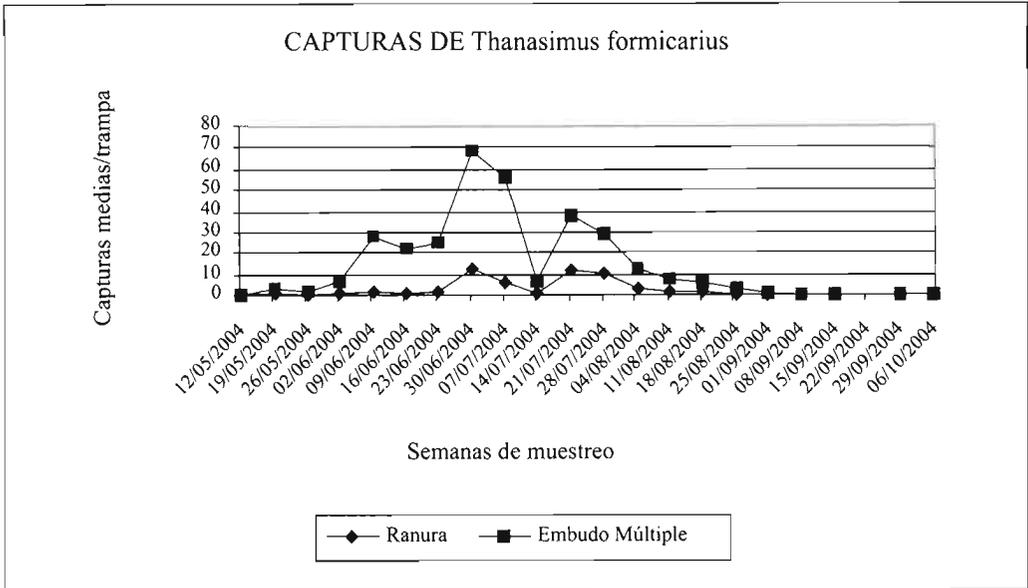


Figura 8. Capturas medias de *Thanasimus formicarius* con cada tipo de trampa a lo largo de todo el periodo de vuelo.

y MARTÍN, 2004; PÉREZ *et al.*, 2005) y para *Thanasimus undatulus* en Norteamérica (ROSS y DATERMAN, 1998) durante la captura de *Dendroctonus ponderosae*.

En lo referente al segundo depredador, el Trogossítido *Temnochila coerulea*, su pre-

sencia en ambas trampas fue muy escasa, capturando únicamente 6 individuos en todo el periodo de vuelo, por lo cual no fue analizado. La escasa presencia de este insecto en las trampas indica seguramente poblaciones bajas en la zona, ya que su respuesta cairomonal a los compuestos utilizados en las trampas (Ipsdienol, Ipsenol, cis-verbenol) ha sido confirmada previamente (PAJARES *et al.*, 2004), lo que contrasta con los resultados obtenidos en áreas menos frías (SIERRA y MARTÍN, 2004; PÉREZ *et al.*, 2005) y sugiere un carácter más termófilo para esta especie. Además de la especie objetivo y de los depredadores, también se han registrado numerosas capturas de los escolítidos *Ips sexdentatus* e *Hylastes* sp., junto con menores capturas de los cerambícidos *Spondylis buprestoides*, *Rhagium inquisitor*, *Rhagium bifasciatum*, *Acanthocinus aedilis*, *Acanthocinus griseus*, y del clérido *Allonyx quadrimaculatus*.

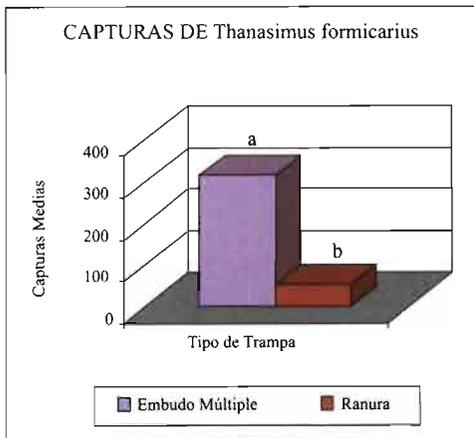


Figura 9. Capturas medias de *Thanasimus formicarius* con dos trampas diferentes en todo el periodo de vuelo.

Eficacia global de los tratamientos

Los resultados obtenidos en capturas de *Ips acuminatus* y de su depredador *Thanasi-*

Cuadro 3. Eficiencia global de cada tipo de trampa en el control de *Ips acuminatus*.

TRATAMIENTO	Capturas media de <i>I. acuminatus</i>	Capturas medias de <i>T. formicarius</i>	Equiv. Escolítidos (Estimac.=E.N.x30)	Balance <i>I. acuminatus</i>
E. Múltiples	10279	317	-9510	769
Ranura	8912	56	-1680	7232
Punto cebo	563	-	-	563

mus formicarius obligan a un estudio minucioso de la elección del tipo de trampa a emplear en los programas de captura masiva. Si se estima que cada adulto de *Thanasimus formicarius* capturado ha dejado de eliminar unos 30 *Ips acuminatus* adultos en campo (considerando su acción depredadora sobre *Ips sexdentatus* de 10 individuos adultos –Pajares J. A., comunicación oral-, y el menor tamaño de *Ips acuminatus*), y sin considerar pues el papel depredador de su progeñe sobre la del escolítido, el resultado neto de capturas en las trampas, al descontar en cada tratamiento el número total de escolítidos librado de la depredación del número de capturas obtenido, presentaría un balance (Cuadro 3) en su efecto de control de poblaciones claramente menor que en la trampa de Ranura, 769 frente a 7232 respectivamente, y ligeramente superior que en los puntos cebo (563).

El menor impacto de la trampa Ranura sobre los depredadores y su eficacia en la captura de escolítidos (similar a la de Embudo Múltiple) hace que sea más recomendable para la captura masiva de *Ips acuminatus*. La trampa de Embudo Múltiple es muy eficaz en la captura de escolítidos, pero atrapa también numerosos individuos depredadores, un serio inconveniente que le resta eficiencia en el manejo mediante captura masiva. Estudios

previos han mostrado que la liberación operativa de los depredadores capturados no es factible debido a su baja supervivencia en ambos tipos de trampas, por lo que es necesario desarrollar nuevas trampas o modificaciones de trampas que disminuyan el impacto sobre los depredadores sin mermar su eficacia de captura sobre los escolítidos, como el uso de filtros excluyentes estudiado en especies como *Dendroctonus pseudotsugae* (ROSS y DATERMAN, 1998) ó *Ips sexdentatus* (PÉREZ *et al.*, 2005). La reducción del impacto debido a la respuesta cairomonal de los depredadores permitiría aprovechar la mayor versatilidad y operatividad de manejo de la trampa de Embudo Múltiple.

AGRADECIMIENTOS

Este estudio no hubiera sido posible sin la ayuda de los Agentes Medioambientales de la Comarca de Navafría y de Ana Martín, fundamentales en los trabajos de campo y gabinete. Gracias a todos ellos y a Felipe Barrio, Juan Carlos Domínguez, Miguel Ángel Puyo, Fernando Ibeas y a los compañeros de la Sección de Protección de la Naturaleza (Segovia) y del Centro de Sanidad Forestal de Calabazanos por su apoyo y colaboración. Finalmente, queremos agradecer a Juan Pajares su inestimable ayuda y consejo.

ABSTRACT

PÉREZ, G., J. M. SIERRA. 2006. Pheromone-baits and traps effectiveness in mass trapping of *Ips acuminatus* Gyllenhal (Coleoptera: Scolytidae). *Bol. San. Veg. Plagas*, 32: 259-266.

Two types of traps, Canadian Multifunnel and German Slot panel (Theysöhn), both lured by a commercial pheromone-bait (consisting of ipsenol, ipsdienol and cis-verbenol), have been used to compare their effectiveness in mass trapping of *Ips acuminatus* Gyllenhal opposite to the traditional method of trap trees (8-11 pine logs about 1.5 m in length and 15-25 cm).

A complete randomized block design, replicated 6 times, was used. Within blocks, treatments were placed in the vertices of an equilateral triangle of 150 m side, whereas distance among blocks was at least 1 km. The study was carried out in *Pinus sylvestris* stands located in Navafria (Segovia province), from early May to the end of October 2004. The pheromone-baited traps were checked every week, and trap trees and pheromone baits were replaced every 6 weeks.

Effectiveness of tested treatments in the mass trapping of *Ips acuminatus* Gyllenhal is discussed, as well as the negative effect of trapping two predator beetles (*Cleridae*, *Trogossitiidae*) due to their kairomonal response to bark beetle pheromones.

Key words: bark beetles, pheromones, predators, kairomones, *Pinus sylvestris* L.

REFERENCIAS

- BAKKE, A., SAETHER, T., KVAMME, T. 1983. Mass trapping of the spruce bark beetle *Ips typographus*. Pheromone and trap technology. *Medd. Nor. Inst. Skogforsk*, **38**: 1-35.
- ERBILGIN, N., RAFFA, K. 2002. Association of declining pine stands with reduced populations of bark beetle predators, seasonal increases in root colonizing insects, and incidence of root pathogens. *For. Ecol. Manage.*, **164**: 221-236.
- FURNISS, M.M., CAROLIN, V.M., 1977. Western forest insects. U.S. Dep. Agric. Misc. Publ. 1339.
- KOHNLE, U., VITÉ, J.P., ERBACHER, C., BARTELS, J., FRANCKE, W. 1988. Aggregation response of European engraver beetles of the genus *Ips* mediated by terpenoid pheromones. *Entomol. exp. Appl.*, **49**: 43-53.
- LINDGREN, B. S. 1983. A multiple funnel trap for scolytid beetles (Coleoptera). *Can. Entomol.*, **115**: 299-302.
- PAJARES, J. A., IBEAS, F., DÍEZ, J., GALLEGU, D. 2004. Attractive Responses by *Monochamus galloprovincialis* (Col. *Cerambycidae*) to host and bark beetle semiochemicals. *J. Appl. Ento.*, **128**: 633-638.
- PÉREZ G., SIERRA J. M., DÍEZ J., PAJARES, J. A. 2005. Eficacia de cebos atrayentes y trampas en el control de *Ips sexdentatus* y reducción del impacto sobre sus depredadores. Actas IV Congreso Forestal Nacional. p. 367.
- REEVE, J. D. 1997. Predation and bark beetle dynamics. *Oecologia*, **112**: 48-54.
- REEVE, J. D., TURCHIN, P. 2002. Evidence for predator-prey cycles in a bark beetle. En: Berryman A.A. (ed.), Population cycles: evidence for trophic interactions: 92-108. Oxford University Press, New York.
- ROSS, D. W., DATERMAN, G. E. 1998. Pheromone-Baited Traps for *Dendroctonus pseudotsugae* (Coleoptera: Scolytidae): Influenced of Selected Release Rates and Traps Designs. *J. Econ. Entomol.*, p1 (2): 500-506.
- SCHROEDER, L. M. 1999. Population levels and flight phenology of bark beetle predators in stands with and without previous infestations of the bark beetle *Tomicus piniperda*. *For. Ecol. Manage.*, **123**: 31-40.
- SIERRA, J. M., MARTÍN, A. B. 2004. Efectividad de trampas de feromona en la captura masiva de *Ips sexdentatus* Boern. (Coleoptera: Scolytidae), escoltido perforador de los pinos. *Bol. San. Veg. Plagas*, **30** (4): 745-752.
- TURCHIN, P., TAYLOR, A. D., REEVE, J. D. 1999. Dynamic role of predators in population cycles of a forest insect: an experimental test. *Science*, **285**: 1068-1071.
- VITE, J. P., BAKKE, A., RENWICK, J. A. A. 1972. Pheromones in *Ips* (Coleoptera: Scolytidae): 1967-1975.

(Recepción: 16 enero 2006)

(Aceptación: 21 marzo 2006)

Estudo ecológico de abelhas silvestres (Hymenoptera, Apidae) no parque ambiental de Teresina-PI, com ênfase em polinizadores potenciais da guabiroba (*Campomanesia xanthocarpa*) (Myrtaceae)

L.S. FONTES, A. J. D. ALMEIDA FILHO, V. ARTHUR

O presente estudo teve por objetivo o levantamento preliminar das abelhas nativas que visitam as flores da guabiroba (*Campomanesia xanthocarpa* Berg.), no Parque Ambiental de Teresina-PI. Seguiu-se aqui a técnica da captura de abelhas que se encontravam nas flores. Esse método de amostragem pode apresentar algumas distorções, porém, dada a característica de distribuição das flores e das abelhas silvestres associadas a ela, forneceu boas informações sobre a abundância relativa e diversidade das espécies na área pesquisada.

L.S. FONTES: Universidade Federal do Piauí. Departamento de Biologia. Campus Universitário Ministro Petrônio Portela. Ininga. CEP: 64.049-550. Teresina-PI- Brasil. Email: lsfontes@uol.com.br

A. J. D. ALMEIDA FILHO: Universidade Federal do Piauí. Departamento de Biologia. Campus Inviensitario Ministro Pertinho Portela. Ininga. CEP: 64.049-550. Teresina- PI Brasil.

V. ARTHUR: Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Av. Centenário, 303, CP 96, CEP 13400-970 – Piracicaba – SP – Brasil. Email: arthur@cena.usp.br

Palavras-chave: Abelha, Hymenoptera, Apidae, Myrtaceae, *C. xanthocarpa*.

INTRODUÇÃO

As abelhas – incluindo as espécies solitárias e sociais (mamangavas, abelhas sem ferrão e domésticas) – são os polinizadores mais importantes da maioria das culturas. Isso se deve às suas características morfológicas, aos seus padrões de comportamento por ocasião da visita às flores e à necessidade de coletar e armazenar pólen e néctar para as crias jovens. *Apis mellifera* L. é considerada o polinizador mais efetivo das plantas agrícolas. Este fato decorre da facilidade de se controlar a abundância e a biologia desta espécie (POPOV, 1958). De acordo com YARRIS (1977), a idéia de que as colônias de

abelhas domésticas são mais fáceis de transportar e manejar do que as abelhas silvestres para a polinização dirigida nunca foi suficientemente investigada e demonstrada. *Osmia lignaria*, em Utah, nos Estados Unidos (TORCHIO, 1976, 1982) e *Osmia cornifrons*, no Japão (YAMADA, 1971), são espécies com um potencial polinizador de macieira, superior a *A. mellifera* e são biologicamente melhores adaptadas para a realização desse trabalho, além de serem facilmente criadas e manejadas.

Dentro do contexto da ecologia da polinização, a participação de todos os agentes polinizadores é importante, dada a heterogeneidade de comportamento e as distintas

estratégias de exploração dos recursos florais.

CASE & GILPIN (1974), abordaram a teoria do nicho, e observaram que a densidade das populações (como um todo) de um local diminui mediante a exclusão da população de um predador, uma vez que, eventualmente, as demais populações podem ser menos eficientes na exploração dos recursos previamente consumidos pela espécie excluída. JOHNSON & HUBBEL (1975) encontraram *Trigona fuscipennis* e *Trigona fulviventris* coletando pólen sobre *Cassia biflora* na Costa Rica, porém com distintas estratégias: enquanto a primeira visitava as plantas agrupadas com floração abundante, a segunda obtinha o pólen das plantas isoladas.

A eficiência individual de cada espécie de abelha na polinização das plantas que não apresentam mecanismos especiais foi abordada por vários autores. ATWAL & GREWAL (1968) observaram que as operárias das abelhas sociais gastam muito tempo na coleta de néctar para as crias jovens, enquanto que as fêmeas das abelhas solitárias gastam quase todo o seu tempo na coleta de pólen e assim podem ser individualmente mais eficientes como polinizadores. Por sua vez, FREE (1970), CHANSIGAUD (1972) e KENDALL & SOLOMON (1973) chamaram a atenção para a forma de como as abelhas solitárias transportam o pólen. Estas espécies não formam bolotas de pólen umidificados, típicos das abelhas da família Apidae, porém transportam o pólen seco e aderidos às escopas e regiões adjacentes, recobrando uma grande área da região ventral do corpo. Esse pólen pode desprender-se facilmente sobre as flores visitadas pelas abelhas. Por outro lado, as abelhas sociais caracterizam-se pela abundância durante todo o ano.

Os estudos feno-ecológicos em Apoidea propiciam a obtenção de dados relacionados com a disponibilidade e potencialidade de insetos polinizadores. Através desses estudos se pode se determinar quais os insetos que potencialmente polinizam determinadas culturas de interesse econômico, levando em conta a fenologia da planta e dos insetos

polinizadores, bem como a interação do inseto e da flor. USUI (1976) referindo-se ao problema da polinização da alfafa, afirma que a correlação abelha-planta faz parte de um complexo maior, que é abelha-flor em um determinado local e que a solução racional do problema envolve um conhecimento bem fundamentado da fauna de abelhas.

WADDINGTON (1976, 1979), estudou os padrões de vôo de *Augodhlorella striata*, *Agorpostemon texanus* e *lasioglossum* sp (Hymenoptera Halictidae) forrageando em *Convolvulus arvensis* em Kansa (EUA) e observou que os padrões estão correlacionados com a densidade de flores. Esta influência também foi observada em *Apis e Bombus*.

DECELLES & LAROCA (1979), observaram que entre as abelhas que visitam *Vernonia baldwini* ocorre o deslocamento de abelhas menores pelas espécies maiores, nas atividades de forragem. LAROCA & DEQUECH (1979) confirmaram essas ocorrências em flores de *Vernonia westiniana* em Curitiba-PR.

MORSE (1977), observou que em *Solidago canadensis*, as operárias de *Bombus ternarius* evitam forragear na parte proximal das inflorescências na presença de grandes operárias de *Bombus terricola*, porém a forragem é feita na ausência destas.

LINSLEY (1958), comentou que a constância das abelhas pode ser de dois tipos: o primeiro é característico de abelhas individuais que em uma ou várias visitas sucessivas coletam a maior parte do pólen de apenas uma espécie vegetal, embora a espécie seja politética. O segundo é típica de algumas espécies, que é caracterizada pela fidelidade das visitas a determinada planta.

MICHENER (1979), afirmou que a região sul do Brasil é uma das áreas mais ricas em espécies de Apoidea do mundo, devido principalmente à presença de espécies da região temperada do sul e à presença de vários taxons de abelhas nitidamente neotropicais.

LECLERQ (1964), sugeriu que muitas vezes, devido à insuficiência de dados e estudos das faunas locais, torna-se necessária

uma abordagem ecológica em níveis supra-específicos, tais como gêneros, tribos e famílias. Somente em algumas regiões como a Europa, com informações acumuladas de mais de 100 anos de pesquisas, pode-se fazer uma abordagem mais completa, uma vez que a fauna já é relativamente conhecida.

CASTRO & OLIVEIRA (1999), estudaram em uma região da Bahia a diversidade de abelhas nas flores da pitomba (*Talisia esculenta*, Raldk) e observaram que as abelhas *Apis mellifera scutellata* e *Melipona scutellaris*, concentraram suas visitas na planta masculina da pitomba. E mostraram que estas espécies apresentaram maior abundância relativa de (53,2% e 34,4%) respectivamente, sendo consideradas espécies polinizadores potenciais da pitomba.

BARBOSA *et al.* (1999), no Estado do Piauí, especificamente no município de Teresina, realizaram um levantamento das espécies das famílias Apidae e Anthophoridae, registrando para esta localidade um número expressivo de espécies para as duas famílias, sendo a mais abundante a família Apidae.

ARAÚJO & CASTRO (1999), estudaram as espécies de abelhas polinizadores potenciais da pitanga (*Stinocalyx michelli*, Berg), uma espécie da família Myrtaceae e determinaram que as seguintes espécies eram polinizadores potenciais da pitanga: *Melipona scutellaris* com uma abundância relativa de (45,2%); *Trigona spinipes* com (32,8%); *Apis mellifera scutellata* com (19,1%) e *Frieseomellita doederleini* com (2,9%).

OLIVEIRA & CASTRO (1999), no Estado da Bahia, realizaram uma pesquisa sobre as visitas de abelhas em algumas fruteiras tropicais nativas e exóticas. (Ebernaceae) e determinaram entre as quatro famílias de abelhas coletadas na planta masculina de mobolo, a mais abundante foi *Euglossa* sp com 50,6%.

SILVA *et al.* (1999), registraram a visita de abelhas à flores de Phalsa (Tiliaceae) (*Grewia asiatica*, L.), e constataram as espécies mais abundantes foram: *Apis mellifera scute-*

llata com (24,5%) e *Melipona scutellaris* (21,9%) dentre outras.

RÊGO & BRITO (1999), no Estado do Maranhão, realizaram uma pesquisa sobre *Byrsonima* (Malpighiaceae), em uma área de cerrado, e determinaram que as espécies mais abundantes foram: Meliponini com 202 indivíduos seguido por Centridini com 79 indivíduos e Tapinotaspini com 6%. E observaram ainda *Trigona pallens* com população muito inibida a visitas de *Centris* sp.

SILVA & VIANA (1999), estudaram a ecologia de abelhas da espécie *Centris (Hemisiella) tarsata*, Smith 1874, em cavidades preexistentes nas dunas litorânea de Abaetê, Salvador-BA. E determinaram que o período de nidificação desta espécie ocorre nos meses de dezembro a fevereiro e em abril, sendo mais abundantes em dezembro.

VIANA & CARVALHO (1999), desenvolveram uma pesquisa sobre a comunidade de abelhas Euglossinae nas dunas litorâneas do Abaetê, Salvador-BA, e determinaram que as espécies mais abundantes foram: *Euglossa cordata* com (64,6%) e *Eulaema nigrita* com (21,8%), e as demais espécies coletadas juntas representaram apenas (1,6%).

O presente estudo teve por objetivo fazer o levantamento das abelhas nativas em flores da guabiroba (*Campomanesia xanthocarpa* Berg.), no Parque Ambiental de Teresina, Estado do Piauí, bem como obter informações sobre a fenologia das abelhas.

MATERIAL E MÉTODOS

As coletas foram realizadas na cidade de Teresina, Estado do Piauí, Brasil, no parque Ambiental de Teresina situado a 10 km do centro da cidade, sentido norte, Bairro Mocambinho. A estação de pesquisa situa-se a uma altitude média de 72,7m, e a 5° 05' 13" de latitude sul e 42° 48' 41" de longitude Oeste, o clima é tropical subúmido quente, fica em uma zona ecológica de transição. As coletas das abelhas foram concentraram nas plantas de guabiroba (*Campomanesia xanthocarpa*) Myrtaceae dentro do perímetro do Parque Ambiental de Teresina,

com uma área de 38 hectares, toda área com vegetação nativa de caatinga e cerrado. Adotou-se a técnica de levantamento de abelhas descrita em SAKAGAMI, LAROCA & MOURE (1967), que consistiu em capturar as abelhas que se encontravam nas flores com redadas dirigidas, sem lançar mão da técnica de "varredura". Os insetos foram amostrados semanalmente durante 5 horas por dia, as coletas foram iniciadas no horário entre 08:00 e 11:00 horas e finalizadas entre 13 e 15 horas, nos meses de março de 1997 a agosto de 1998. Todo material era colocado em vidros com álcool a 70% e levados ao laboratório para posterior identificação, obedecendo o método por comparação, as espécies duvidosas foram remetidas a especialistas para sua identificação específica. apesar deste método de amostragem apresentar algumas distorções (SAKAGAMI, LAROCA & MOURE, 1967, LAROCA, 1974), porém, dada a característica de distribuição das flores e das abelhas silvestres associadas a elas, informações foram obtidas sobre a abundância relativa e diversidade das espécies na área pesquisada.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As coletas de abelhas silvestres, na guabi-roba (*Campomanesia xanthocarpa*) (Myrtaceae), no Parque Ambiental de Teresina apresentaram um número relativamente elevado de insetos pertencentes a família Apidae. Talvez esse número elevado de insetos coletados foi influenciado possivelmente pelas condições ecológicas favoráveis a nidificação, e consequentemente condicionou a maior ocorrência dessas abelhas das espécies de *Trigona* nos locais amostrados.

Na amostragem geral coletou-se um total de 741 espécimes, para um total de 6 espécies, mostrando que a apifauna é muito pouco diversificada, e praticamente representada por quatro espécies de abelhas correspondendo a 85,4% do total de insetos coletados. A partir dos dados coletados (Tabela 1) calculou-se a frequência relativa das espécies, o índice de diversidade e a

identificação das espécies predominantes, que estão apresentados em ordem decrescente em percentagem das espécies que foram de: *Trigona spinipes* com (37,4%), *Oxitrigona tataira cagafogo* (21,6%), *Trigona fulviventris* (15,1%) e *Apis mellifera* (9,9%). As demais espécies coletadas obtiveram percentual abaixo de 9%. Apesar do trabalho se constituiu no primeiro levantamento faunístico de abelhas silvestres, utilizando-se uma técnica padronizada, em áreas restritas, no Estado do Piauí, pela associação da comunidade de abelhas às flores da guabi-roba (*C. xanthocarpa*) Myrtaceae, não foi possível determinar com precisão uma afetiva participação das abelhas nativas na polinização da guabi-roba, mas devido ao elevado número de espécies e indivíduos capturados nas flores, e a maioria deles com carga de pólen no aparelho de transporte, e de acordo com suas frequências amostradas, provavelmente essas espécies poderiam estar agindo como polinizadoras potenciais da guabi-roba, estando estes resultados de acordo com os obtidos por ARAUJO e CASTRO, 1999.

Foram coletadas 6 espécies de abelhas distribuídas das quais as 4 primeiras foram

Tabela 1. Frequência relativa e espécies predominantes de abelhas polinizadores potenciais da guabi-roba (*C. xanthocarpa*) (Myrtaceae) no Parque Ambiental de Teresina.

TAXONS	FREQUÊNCIA %
<i>Trigona spinipes</i>	37,4
<i>Oxitrigona tataira cagafogo</i>	21,6
<i>Trigona fulviventris</i>	15,1
<i>Apis mellifera</i>	9,9
<i>Trigona fuscipennis</i>	8,1
<i>Trigona pallens</i>	6,5

Tabela 2. Número de taxons (S), de indivíduos (N) e índice de diversidade (α) da fauna de abelhas capturadas nas flores da guabi-roba (*C. xanthocarpa*) (Myrtaceae), no Parque Ambiental de Teresina.

AMBIENTE	S	N	α
GUABIRABA	6	741	0,75%

consideradas as mais predominantes. Essas espécies representaram 83,6% dos indivíduos coletados. Sendo todas elas pertencentes a família Apidae. Portanto os dados obtidos nesta pesquisa, sugerem que os polinizadores potenciais da guabiroba (*C. xanthocarpa*) apresentaram-se ecologicamente muito pouco favoráveis em agrupar um número muito grande de espécies conforme seu índice de diversidade (Tabela 2).

CONCLUSÕES

O número relativamente elevado de espécies capturados nas flores, a maioria com carga de pólen no aparelho de transporte, e que de acordo com suas frequências amostradas, pode-se considerar essas espécies de maior frequência como possíveis polinizadoras potenciais da guabiroba (*Campomanesia xanthocarpa*) (Myrtaceae).

RESUMEN

FONTES L. S., ALMEIDA FILHO A. J., ARTHUR V. 2006. El estudio ecológico de abejas salvajes (Hymenoptera, Apidae) en el parque medioambiental de Teresina-PI, con el énfasis en polinizaciones potencial de guabiroba (*Campomanesia xanthocarpa*) (Myrtaceae). *Bol. Veg. Plagas*, **32**: 267-272.

El estudio presente tenía para el objetivo el subiendo preliminar de las abejas nativas que visitan las flores de guabiroba (*Campomanesia xanthocarpa*), en el Parque Medioambiental de Teresina. La técnica de captura de abejas que encontraron en las flores se procedió aquí. Ese método de muestreo puede presentar un poco de distorsiones, sin embargo, dado la característica de distribución de las flores y de las abejas salvajes asociadas a ellos, proporciona la información buena sobre la abundancia relativa y diversidad de las especies en el área investigada.

Palabras clave: Abeja, Hymenoptera, Apidae, Myrtaceae, guabiroba, *C. xanthocarpa*.

ABSTRACT

FONTES L. S., ALMEIDA FILHO A. J., ARTHUR V. 2006. Study ecological of wild bees (Hymenoptera, Apidae) in the environmental park of Teresina-PI, with emphasis in potential polinizations of guabiroba (*Campomanesia xanthocarpa*) (Myrtaceae). *Bol. Veg. Plagas*, **32**: 267-272.

The present study had for objective the preliminary rising of the native bees that visit the flowers of guabiroba (*Campomanesia xanthocarpa*), in the Environmental Park of Teresina. The technique of capture of bees that they found in the flowers was proceeded here. That sampling method can present some distortions, however, given the characteristic of distribution of the flowers and of the wild bees associated to them, it supplies good information about the relative abundance and diversity of the species in the researched area.

Key words : Bee, Hymenoptera, Apidae, Myrtaceae, guabiroba, *C. xanthocarpa*.

REFERENCIAS

- ARAÚJO, V. M. L., CASTRO, M. S. de. 1999. Abelhas (Hymenoptera; Apoidea) polinizadores potenciais da Pitanga (*Stinocalyx michelli* Berg.). In: Encontro Nordestino de Zoologia, 12. Feira de Santana, BA. (Resumo), p.289.
- BARBOSA, O. A. A., FONTES, L. S., ALMEIDA FILHO, A. J. de. 1999. Espécies das famílias Apidae e Anthophoridae (Hymenoptera) do município de Teresina-PI. In: Encontro Nordestino de Zoologia, 12, Feira de Santana-BA. (Resumo), p.287.
- CARVALHO, A. G. 1983. Insetos polinizadores de *Leucaena leucocephala* (lam.) de Wil. Na região de Piracicaba. In: Congresso Brasileiro de Entomologia, 8., Brasília, 1983. (Resumo). p. 43.

- CARVALHO, C. M., VIANA, B. F. 1999. Biologia de nidificação de *Centris (Hemisiella) tarsata* Smith 1874 (Hymenoptera: Anthophoridae) que ocupam cavidades preexistentes nas dunas litorâneas do Abaeté, Salvador, Bahia. In: Encontro Nordestino de Zoologia, 12, Feira de Santana, BA, (Resumo), p.296.
- CASTRO, M. S. de., OLIVEIRA, C. M. 1999. Diversidade de abelhas (Hymenoptera; Apoidea) nas flores da Pitomba (*Talisia esculenta* Raldk). In: Encontro Nordestino de Zoologia, 12, Feira de Santana, BA, (Resumo), p. 285.
- CURE, J. R. Estudo ecológico da comunidade de abelhas silvestres (Hymenoptera, Apoidea) do Parque da Cidade, comparado ao de outras áreas de Curitiba, Paraná. Curitiba, 1983. 100p. Tese, Mestrado, Universidade Federal do Paraná.
- DECELLES, P., LAROCA, S. 1979. Behavioral interations among solitarily foraging bees (Hymenoptera, Apoidea). *J. Kans. Entomol. Soc.*, 52(3): 483-488.
- GIORGINI, J. F., GUSMAN, A. B. 1972. A importância das abelhas na polinização. In: Camargo, J. M. F. , Manual de apicultura. São Paulo, Agronômica Ceres, p.155-214.
- KERR, W. E., SAKAGAMI, S. F., ZUCHI, R., ARAÚJO, V. P., CAMARGO, J. M. F. 1967. Observações sobre arquitetura dos ninhos e comportamento de algumas espécies de abelhas sem ferrão das vizinhanças de Manaus, Amazonas (Hymenoptera, Apoidea). In: CNPq, 1967. 5: 255-309.
- LAROCA, S. 1970. Notas adicionais sobre a bionomia das espécies de *Melissoptila* que ocorrem nas vizinhanças de Curitiba, Paraná (Hymenoptera, Apoidea). *Bol. Univ. Fed. Paraná, Zool.*, 3(15): 293-306.
- LAROCA, S. Estudo feno-ecológico em Apoidea do litoral e primeiro Planalto Paranaense. Curitiba, 1974. 62 p. Tese, Mestrado, Universidade Federal do Paraná.
- LAROCA, S., CURE, J. R., BORTOLI, C. 1982. A associação de abelhas silvestres (Hymenoptera, Apoidea) de uma área restrita no interior da cidade de Curitiba (Brasil): uma abordagem biocenótica. *Dusenía*, 13(3): 93-117.
- LAROCA, S., DEQUECH, S. T. 1958. Interações comportamentais entre abelhas (Hymenoptera, Apoidea) sobre flores de *Vernonia westiniana* (Compositae). *Dusenía*, 11(2): 79-81.
- LINSLEY, E. G. The scology of solitary bees. *Hilgardia*, 27(19): 543-599,
- MICHENER, C. D., LANGE, R. B. 1958. Observations on the behavior of Brazilian halictid bees (Hymenoptera, Apoidea). I. *Pseudagapostemon*. *Ann. Entomol. Soc. Amer.*, 51(12): 155-164.
- MICHENER, C. D., LANGE, R. B., BIGARELLA, J. J. SALAMUNI, R. 1958. Fatores determinantes da distribuição de ninhos de abelhas em barrancos terrosos. *Dusenía*, 8(1): 1-24.
- MORSE, D. H. 1977. Resource partitioning in bumble bees: the role of behavioral factors. *Science*, 197(4304): 678-680.
- MOURE, J. S., SAKAGAMI, S. F. 1962. As mamangavas sociais do Brasil (*Bombus* Latreille) (Hymenoptera, Apoidea). *Stud. Entomol.*, 5: 65-194.
- OLIVEIRA, F. F. de., CASTRO, M. S. de. 1999. Visita de abelhas (Hymenoptera; Apoidea) à algumas famílias de fruteiras tropicais nativas e exóticas. 3 – Ebenaceae. In: Encontro Nordestino de Zoologia, 12, Feira de Santana, BA, (Resumo), p. 292.
- ORTH, A. I. 1984. Levantamento das abelhas nativas (Hymenoptera, Apoidea) associadas às flores da macieira (*Pirus malus* L.) em Caçador, SC. (Apostilha Didática), 34p.
- POPOV, V. B. 1958. Bees, their relations to mellitophilous plants and the problem of alfalfa pollination. In: International Congress of Entomology, 10., Montreal, 1956. *Proceedings*. Ottawa, Mortimer, 4: 983-990.
- RÊGO, M. & BRITO, C. 1999. Interações entre abelhas visitantes de Byrsonima (Malpighiaceae) em uma área do cerrado (Chapadinha – MA). In: Encontro Nordestino de Zoologia, 12, Feira de Santana, BA, (Resumo), p. 294
- SAKAGAMI, S. F.; LAROCA, S.; MOURE, S. J. Wild bee biocenotics in ão José dos Pinhais (PR), south Brasil. Preliminary report. *J. Fac. Hokkaido Univ. Ser. VI, Zool.*, 16(2): 253-291, 1967.
- SAKAGAMI, S. F. & LAROCA, S. Observations on the bionomics of some neotropical Xylocopinae bees, with comparative and biofaunistic notes (Hymenoptera, Anthophoridae). *J. Fac. Sci. Hokkaido Univ., Ser. VI, Zool.*, 18(1): 57-127, 1971.
- SAKAGAMI, S. F. & LAROCA, S. Relative abundance, phenology and flower visits of apid bees in Eastern Paraná, Southern Brasil (Hymenoptera, Apidae). *Kontyú*, 39(3): 217-230, 1971.
- SILVA, L. G. S.; CASTRO, M. S. de; OLIVEIRA, C. M. Visita de abelhas (Hymenoptera; Apoidea) às flores da Phalsa (*Grewia asiatica*, L.). In: Encontro Nordestino de Zoologia, 12, Feira de Santana, BA, Resumo, 1999, p. 293.
- SILVA, F. O. de. & VIANA, B. F. Ecologia de abelhas da espécie *Centris (Hemisiella) tarsata* Smith 1874 (Hymenoptera: Anthophoridae: centridini) em cavidades preexistentes nas dunas litorâneas de Abaeté, Salvador, Bahia. In: Encontro Nordestino de Zoologia, 12, Feira de Santana, BA, Resumo, 1999, p. 295.
- USUI, M.; NISHIMA, Y.; FUKUDA, H.; SAKAGAMI, S. F. A wild bee survey in Obihiro, eastern Hokkaido. *Res Bull. Obihiro Univ.*, 10: 225-251, 1976.
- VIANA, B. F. & CARVALHO, C. M. A comunidade de Euglossinae (Hymenoptera, Apidae) das dunas litorâneas da APA do Abaeté, Salvador, Bahia. In: Encontro Nordestino de Zoologia, 12, Feira de Santana, BA, Resumo, 1999, p. 297.
- YARRIS, L. C. Non-apis bees – the pollinators. *Agric. Res. (Wash. D. c.)*, 26(2):12-13, 1977.

(Recepción: 1 julio 2005)

(Aceptación: 27 febrero 2006)

Efeito da aplicação de fungicidas no padrão espacial de ácaros fitoseídeos associados à cultura da vinha

S. BACELAR, R. RODRIGUES, L. M. BRITO, A. MEXIA

O conhecimento do padrão espacial dos fitoseídeos é necessário para o desenvolvimento de métodos de amostragem e para o estudo da toxicidade de campo dos pesticidas sobre estas populações. Num ensaio realizado em Ponte de Lima numa vinha da casta Loureiro avaliou-se o efeito de três aplicações consecutivas de cinco fungicidas (mancozebe, folpete, propinebe, oxicloreto de cobre, a mistura cimoxanil+famoxadona) e da água sobre as populações autóctones de fitoseídeos. O número médio de fitoseídeos por folha foi quantificado periodicamente, após a aplicação dos tratamentos, de acordo com a metodologia da Organização Internacional de Luta Biológica e Protecção Integrada e os resultados analisados segundo os modelos de regressão de Taylor e de Iwao.

As taxas de mortalidade mais elevadas de *Phytoseius plumifer* (Canestrini & Fanzago), a espécie mais abundante nesta vinha (97,9%), verificaram-se com os fungicidas propinebe e mancozebe que se classificaram respectivamente como tóxico e moderadamente tóxico. Os restantes fungicidas foram inócuos para este auxiliar. Ambos os modelos de regressão foram adequados para descrever o padrão espacial de *P. plumifer*, ainda que o modelo de Taylor se ajustasse melhor às situações de baixas densidades populacionais. A população de *P. Plumifer* nas videiras pulverizadas com propinebe apresentou um padrão espacial aleatório, verificado pelo coeficiente $b=1$ do modelo de Taylor e $\beta=1$ do modelo de Iwao. Nas restantes populações estes coeficientes foram superiores a um, indicando um padrão espacial agregado. Este estudo revelou que a aplicação do fungicida mais tóxico, para além de ter reduzido a densidade populacional de *P. plumifer* modificou o comportamento da espécie, alterando o seu padrão espacial de agregado para aleatório.

S. BACELAR, R. RODRIGUES, L. M. BRITO. Escola Superior Agrária de Ponte de Lima, Refóios, 4990-706 Ponte de Lima. Tel: 258 909 740 – Fax: 258 909 779 – E-mail: sofia-bacelar@gmail.com

A. MEXIA. Instituto Superior de Agronomia, Tapada da Ajuda, 1349-017 Lisboa. Tel: 213653100 – Fax: 213635031 – E-mail: amexia@isa.utl.pt

Palavras-chave: Fungicidas, Toxicidade, *Phytoseius plumifer*, *Vitis vinifera*, Lei de potência de Taylor, Modelo de regressão de Iwao.

INTRODUÇÃO

A dispersão das populações de auxiliares resulta da interacção entre os indivíduos de uma espécie e o seu habitat (SEVACHERIAN & STERN, 1972). O conhecimento desta dispersão permite uma melhor compreensão da relação entre um determinado artrópode e o

ambiente específico onde este habita (HARCOURT, 1961; IWAO, 1970; TAYLOR, 1984) e fornece informação sobre os principais factores que determinam oscilações numéricas e sobre a persistência destes artrópodes nos seus ambientes naturais. Esta informação é determinante para a agricultura biológica ou para a protecção das culturas em geral, pois

existem artrópodes que combatem as pragas das culturas que normalmente sofrem os efeitos secundários tóxicos resultantes da aplicação de pesticidas, pondo em causa a sua acção de limitação natural de pragas.

Na protecção fitossanitária da vinha, os fungicidas são muito utilizados em aplicações sucessivas no combate a vários agentes causais de doenças, originando um efeito tóxico cumulativo sobre o ecossistema agrícola e sobre os ácaros fitoseídeos em particular, importantes agentes da limitação natural de ácaros fitófagos. Neste estudo avaliou-se o efeito tóxico de cinco fungicidas anti-míldio quer sobre as densidades populacionais de ácaros fitoseídeos da espécie *Phytoseius plumifer* (Canestrini & Fanzago) quer sobre os padrões de distribuição espacial dessas mesmas populações.

MATERIAL E MÉTODOS

A experiência decorreu na freguesia de Refóios do concelho de Ponte de Lima durante o período de Junho a Setembro de 2003, numa vinha com sete anos de idade da casta Loureiro, enxertada no porta-enxerto 196-17, com o compasso de plantação de 3 m x 3 m e conduzida em cordão simples ascendente. Para a avaliação da toxicidade dos fungicidas sobre os fitoseídeos seguiram-se os procedimentos propostos pela Organização Internacional Luta Biológica e Protecção Integrada/Secção Regional Oeste Paleártica (OILB/SROP): avaliação de efeitos secundários dos produtos fitossanitários sobre os artrópodes não visados (CANDOLFI *et al.*, 2000) e referidos por BLÜMEL *et al.* (2000).

Considerou-se um delineamento completamente casualizado, constituído por seis modalidades (folpete, oxiclreto de cobre, cimoxanil+famoxadona, mancozebe, propi-nebe e água) com cinco repetições. Cada amostra foi constituída por 25 folhas das duas videiras centrais de cada talhão experimental constituído por 4 videiras. As três aplicações dos tratamentos realizaram-se respectivamente, nos dias 27 de Junho (T1),

9 de Julho (T2) e 21 de Julho (T3), utilizando-se sempre as concentrações mínimas recomendadas pelos fabricantes. Registou-se o número de formas móveis de fitoseídeos presentes nas amostras de folhas quatro dias após cada uma das aplicações de fungicidas (T1+4, T2+4, T3+4) e 7, 14, 21, 28, 42 e 56 dias após a terceira e última aplicação de fungicidas (T3+7... T3+56). Em cada amostra de folhas determinou-se o número de fitoseídeos por contagem directa à lupa binocular (ampliação 10x). Duas a três formas móveis foram recolhidas e preparadas para identificação da espécie.

Aplicou-se a fórmula de Henderson-Tilton (STERK *et al.*, 1994) aos resultados, classificando-se os fungicidas em quatro classes toxicológicas, de acordo com o Grupo de Trabalho "Pesticidas e Auxiliares" da OLIB.

Algumas estimativas baseadas na média (m) e na variância (s^2) são usadas como índices de agregação das populações (LLOYD, 1967). Além do mais, esses índices são frequentemente convertíveis uns nos outros. Após a aplicação dos tratamentos calculou-se a densidade média de fitoseídeos por folha (m) e a variância (s^2) para cada modalidade por data de amostragem e relacionou-se respectivamente uma com a outra usando a Lei de Potência de Taylor (TAYLOR, 1984) e o modelo de regressão de Iwao (LLOYD, 1967).

A Lei de Potência de Taylor afirma que a variância (s^2) de uma população é proporcional à potência fraccionada da média aritmética

$$(m): s^2 = am^b \quad (\text{equação 1})$$

Para calcular a e b , estimou-se a regressão de $\ln(s^2)$ contra os valores de $\ln(m)$ usando o modelo

$$\ln(s^2) = \ln(a) + b \ln(m) \quad (\text{equação 2})$$

em que o parâmetro a está relacionado com o tamanho da amostra (Southwood, 1978), e o declive b é um índice de agregação que indica respectivamente, uma dispersão uni-

forme, aleatória e agregada quando $b < 1$, $b = 1$, $b > 1$.

O modelo de regressão de Iwao quantifica a relação entre o índice de aglomeração média de Lloyd (mc) e a média (m) através de:

$$mc = \alpha + \beta m \quad (\text{equação 3})$$

em que mc foi determinado por (Lloyd, 1967):

$$[m + (s^2/m-1)] \quad (\text{equação 4})$$

A intercepção (α) é o índice do agente contagiante principal e o declive (β) é o coeficiente da densidade de contágio interpretado da mesma maneira que o coeficiente b da regressão de Taylor.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As taxas de mortalidade mais elevadas de *P. plumifer*, a espécie mais abundante nesta vinha (97,9%), verificaram-se com os fungicidas propinebe e mancozebe que se classificaram respectivamente como tóxico e moderadamente tóxico. Os restantes fungicidas foram inócuos para este auxiliar (quadro 1).

Considerando as nove datas de amostragem ao longo do período em que decorreu o ensaio, a lei de potência de Taylor estabele-

ceu uma relação muito significativa entre a variância (s^2) e a densidade média de fitoseídeos por folha para cada uma das seis modalidades ensaiadas (quadro 2, fig. 1). O modelo de regressão de Iwao descreveu igualmente bem a relação entre a aglomeração média de Lloyd e a densidade média para as populações de *P. plumifer* (quadro 2, figura 2).

A população de *P. Plumifer* (figura 3) nas videiras pulverizadas com propinebe apresentou um padrão espacial aleatório, verificado pelo coeficiente $b=1$ ($P > 0,05$) do modelo de Taylor e $\beta=1$ ($P > 0,05$) do modelo de Iwao.

Nas restantes populações estes coeficientes foram superiores a um ($P < 0,05$). Os valores de $b > 1$ obtidos indicam um padrão de distribuição espacial agregado o que, segundo GARCÍA-MARÍ *et al.* (1990), constitui o padrão característico dos artrópodes em geral e dos ácaros em particular. Os mesmos autores referem ainda que, para a maioria dos artrópodes auxiliares, os valores de b variam entre 1 e 1,2. Os valores de b e β observados são semelhantes aos observados em muitos insectos moderadamente agregados (TAYLOR, 1961, 1971). Estudos sobre os padrões de distribuição espacial de populações de ácaros fitoseídeos da espécie *Euseius stipulatus* (Athias-Henriot) em laranjeira permitiram obter, com a observação de folhas no interior da copa, um valor $b=1,81$. Em macieira e para a espécie

Quadro 1. Taxa de mortalidade dos fitoseídeos em relação à testemunha para cada um dos fungicidas e respectiva classificação toxicológica, em cada uma das ocasiões de amostragem.

Amostragem	T1+4		T2+4		T3+4		T3+7		T3+14		T3+21		T3+28		T3+42		T3+56	
	%	Cl	%	Cl	%	Cl	%	Cl	%	Cl	%	Cl	%	Cl	%	Cl	%	Cl
Mancozebe	37	2	49	2	85	4	88	4	60	3	52	3	84	4	69	3	48	2
Folpete	-31	1	-10	1	-59	1	24	1	33	2	-15	1	-23	1	0	1	14	1
Oxiclor. Cu	6	1	23	1	-7	1	31	2	30	2	-13	1	6	1	-31	1	36	2
Propinebe	56	3	81	4	94	4	95	4	97	4	76	4	91	4	75	4	67	3
Cimox+fam	-40	1	-4	1	-40	1	35	2	24	1	-10	1	-7	1	-6	1	-35	1

Percentagem (%) de mortalidade de fitoseídeos em relação à testemunha. Cl - classificação toxicológica:

1 - inócuo; 2 - medianamente tóxico; 3 - moderadamente tóxico; 4 - muito tóxico;

Amostragens: quatro dias após cada uma das aplicações de fungicidas (T1+4, T2+4 e T3+4) e 7, 14, 21, 28, 42 e 56 dias após a terceira e última aplicação de fungicidas (T3+7 ... T3+56).

Taxa de mortalidade calculada segundo a fórmula de Henderson-Tilton (Sterk *et al.*, 1994):

Classificação toxicológica proposta pelo Grupo de Trabalho "Pesticidas e Auxiliares" da OILB/SROP.

Quadro 2. Estimativa dos parâmetros dos dois modelos lineares (Taylor, Iwao) para *P. plumifer* em vinha para cada uma das modalidades

Taylor	Declive \pm Se	Intercepção \pm Se	r^2	F
Testemunha	2,53 \pm 0,26	-0,67 \pm 0,24	0,93	95,22
Mancozebe	1,46 \pm 0,13	0,29 \pm 0,06	0,95	123,11
Folpete	1,90 \pm 0,29	-0,12 \pm 0,25	0,86	43,09
Oxicloreto Cu	2,03 \pm 0,17	-0,19 \pm 0,14	0,95	144,11
Propinebe	1,30 \pm 0,14	0,32 \pm 0,05	0,92	85,49
Cimoxanil+famoxadona	2,03 \pm 0,29	-0,27 \pm 0,27	0,88	49,65

Iwao	Declive \pm Se	Intercepção \pm Se	r^2	F
Testemunha	2,02 \pm 0,22	-3,52 \pm 1,97	0,93	87,01
Mancozebe	1,70 \pm 0,16	0,21 \pm 0,47	0,94	107,39
Folpete	1,43 \pm 0,17	0,55 \pm 1,38	0,91	68,60
Oxicloreto Cu	1,76 \pm 0,09	-1,44 \pm 0,60	0,98	423,81
Propinebe	1,65 \pm 0,39	0,40 \pm 0,70	0,72	18,13
Cimoxanil+famoxadona	1,67 \pm 0,16	-1,59 \pm 1,44	0,94	115,55

Se – erro padrão; r^2 – coeficiente de determinação; F – teste F

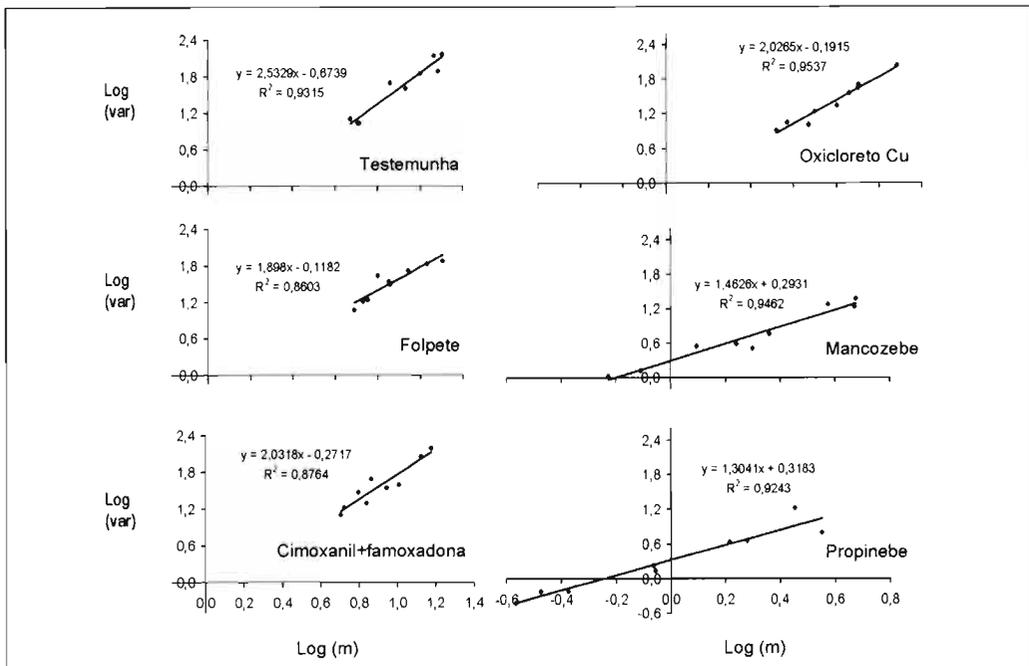


Figura 1. Análise de regressão da lei de potência de Taylor ($\ln(s^2) = \ln(0,34) + 1,30 \ln(m)$) em que m é a densidade média de *P. plumifer* em vinha para cada uma das modalidades ensaiadas. (Os pontos são valores estimados baseados nas observações).

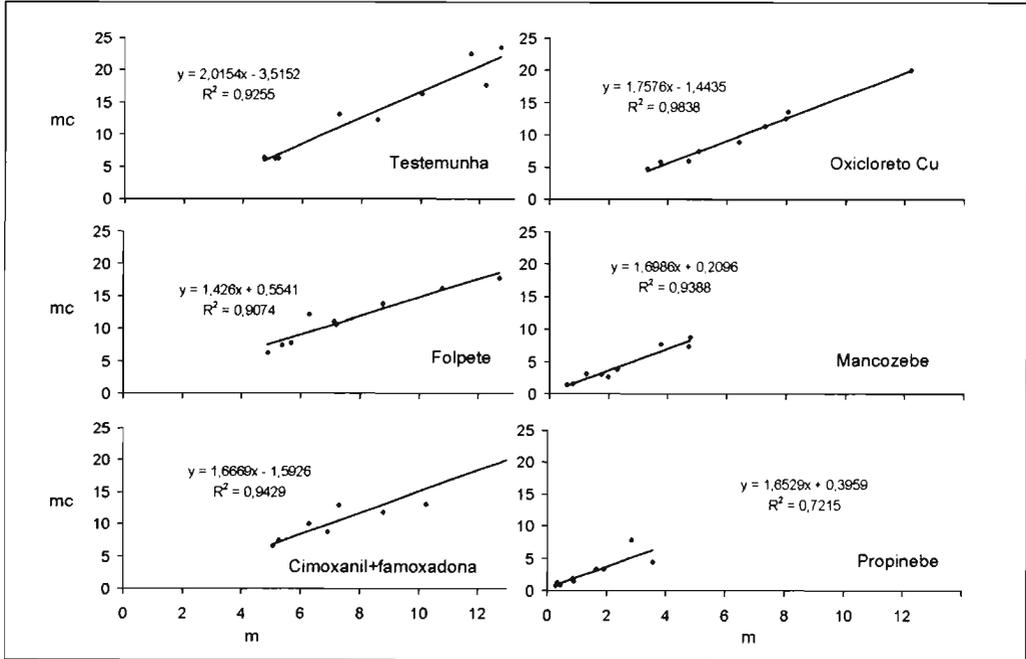


Figura 2. Análise de regressão do índice de aglomeração média de Lloyd (mc) sobre a densidade média (m) de *P. plumifer* em vinha para cada uma das modalidades ensaiadas. (Os pontos são valores estimados baseados nas observações).

Neoseiulus californicus (Mc Gregor) o índice de dispersão foi $b=1,21$ e para a espécie *Amblyseius andersoni* (Chant) esse índice foi $b=1,30$ (GARCÍA-MARÍ *et al.*, 1990). Trabalhos realizados em Portugal na cultura da vinha, permitiram calcular na região de Reguengos de Monsaraz, no Alentejo, um índice $b=1,26$ para a espécie *Typhlodromus phialatus* Athias-Henriot (TEIXEIRA, 1994) e na região de Ponte de Lima, em videiras da casta Loureiro, o índice foi $b=1,27$ para a espécie *Typhlodromus pyri* Scheuten (RODRIGUES & TORRES, 2004).

Verificou-se e, tal como referido por TRUMBLE (1985), que o índice b da Lei de Potência de Taylor pode depender do uso dos pesticidas. A explicar o comportamento de dispersão aleatória verificado na população de *P. plumifer* sujeita à acção do fungicida propinebe, trabalhos em laboratório realizados por BLÜMEL *et al.* (2000) revelaram que os fitoseídeos pulverizados com um outro



Figura 3 – Vista geral de *Phytoseius plumifer* sobre folha de videira da casta Loureiro (ampliação 25x à lupa binocular).

ditiocarbamato, o mancozebe, apresentaram igualmente uma mudança de comportamento que se traduziu pela fuga dos indivíduos o que consequentemente vai influenciar o padrão de dispersão dessas populações.

CONCLUSÃO

Os resultados obtidos evidenciam a falta de selectividade para os ácaros fitoseídeos revelada pelo fungicida propinebe que se traduziu numa redução imediata do número de

fitoseídeos após as três aplicações deste fungicidas e pela persistência da sua acção tóxica demonstrada pela dificuldade de recuperação das densidades populacionais de fitoseídeos nas semanas posteriores à terceira aplicação desses tratamentos. Para além de ter reduzido drasticamente a densidade populacional de *P. plumifer*, o efeito tóxico resultante da aplicação de propinebe modificou o comportamento desta espécie de ácaro fitoseídeo, alterando o seu padrão espacial de agregado para aleatório.

RESUMEN

BACELAR S. , R. RODRIGUES, L. M. BRITO, A. MEXIA. 2006. Efecto de la aplicación de fungicidas sobre el patrón de la distribución espacial de ácaros fitoseidos asociados al cultivo de viña. *Bol. San. Veg. Plagas*, **32**: 273-279.

El conocimiento de la distribución espacial de los fitoseidos es necesario para el desarrollo de métodos de muestreo y para el estudio de la toxicidad de campo de los pesticidas sobre estas poblaciones. En un ensayo realizado en Ponte de Lima en una viña de la variedad *Loureiro* se evaluó el efecto de tres aplicaciones consecutivas de cinco fungicidas (mancozeb, folpet, propineb, oxiclóruo de cobre, la mezcla cimoxanilo+famoxadona) y de agua sobre las poblaciones autóctonas de fitoseidos. El número medio de fitoseidos por hoja fue cuantificado periódicamente. después de la aplicación de los tratamientos, de acuerdo con la metodología de la Organización Internacional de Lucha Biológica y Protección Integrada y los datos analizados según los modelos de regresión de Taylor y de Iwao.

Las tasas de mortalidad más elevada de *Phytoseius plumifer*, la especie más abundante en esta viña (97,9%), corresponden a los fungicidas propineb e mancozeb que fueron clasificados como tóxico y moderadamente tóxico, respectivamente. Los restantes fungicidas fueron inocuos para este auxiliar. Ambos modelos de regresión fueron adecuados para describir la distribución espacial de *P. Plumifer*, a pesar que el modelo de Taylor se ajustase mejor a las situaciones de baja densidad poblacional. La población de *P. Plumifer* en las viñas pulverizadas con propineb presentó una distribución espacial aleatoria, comprobado por el coeficiente $b=1$ del modelo de Taylor y $\beta=1$ del modelo de Iwao. En las restantes poblaciones estos coeficientes fueron superiores a uno, indicando una distribución espacial agregada.

Este estudio reveló que la aplicación del fungicida más tóxico, además de reducir la densidad poblacional de *P. Plumifer* alteró el comportamiento de la especie, alterando su distribución espacial de agregada para aleatoria.

Palabras clave: Fungicidas, Toxicidad, *Phytoseius plumifer*, *Vitis vinifera*, Ley potencial de Taylor. Método de regresión de Iwao.

ABSTRACT

BACELAR S. , R. RODRIGUES, L. M. BRITO, A. MEXIA. 2006. Effect of fungicides application on the spatial distribution pattern of phytoseiid populations. *Bol. San. Veg. Plagas*, **32**: 273-279.

Knowledge of spatial pattern of phytoseiid mites distribution is essential for developing sampling methods and for studying the side effects of pesticides on these populations. Effects of three consecutive applications of five different fungicides (mancozeb, folpet, copper oxychloride, the mixture cymoxanil+famoxadone) and water as control, were evaluated in a field trial, carried out in a vineyard of *Loureiro* located in Ponte de

Lima (Northwest Portugal). The number of phytoseiids on the leaves was periodically assessed according to the methods of the International Organization for Biological and Integrated Control and data were analyzed according to the regression models: Taylor power law and Iwao's patchiness regression.

The highest taxes of mortality of *Phytoseius plumifer*, the dominant species in this vineyard, happened with the fungicides propineb and mancozeb which were respectively classified as harmful and moderately harmful to phytoseiid mites. In contrast, the other fungicides were harmless to these predatory mites. Both regression models were adequate to describe the spatial pattern of *P. plumifer*. However, for lower population density, Taylor's power law fit the data better. In vines sprayed with propineb, *P. plumifer* showed a random distribution (coefficient $b=1$ of the Taylor's model and $\beta=1$ of the Iwao's model). In all the other situations, Taylor's b and Iwao's β were both significantly >1 indicating that *P. plumifer* populations were aggregated.

This study revealed that the application of a harmful fungicide besides having reduced the population density of *P. plumifer*, also changed the behaviour of the species, altering its usually aggregated spatial pattern into a random one.

Key-words: Fungicides, toxicity, *Phytoseius plumifer*, *Vitis vinifera*. Taylor's power law, Iwao's patchiness regression

REFERENCIAS

- MEL, S., PERTL, C. & BAKKER, F.M. 2000. Comparative trials on the effects of two fungicides on a predatory mite in the laboratory and in the field. *Entomol. Exp. Appl.*, **97**: 321-330.
- CADAHIA, D. 1977. Repartición espacial de las poblaciones en Entomología aplicada. *Bol. Serv. Plagas*, **3**: 219-233.
- CANDOLFI, M.P., BLÜMEL, S., FORSTER, R., BAKKER, F.M., GRIM, C., HASSAN, S.A., HEIMBACH, U., MEAD-BRIGGS, M.A., REBER, B., SCHMUCK, R., VOGT, H. (Ed.) 2000. *Guidelines to evaluate side-effects of plant protection products to non-target arthropods*. IOBC, BART and EPPO joint initiative. IOBC/OILB, 158 p.
- GARCIA-MARI, F.; PÉREZ, F., COSTA-COMELLES, J., LABORDA, R., MARZAL-MORENO, C. & SOTO, T. 1990. *Acarología Agrícola*. Dep. Prod. Vegetal - E.T.S.I. Agronomos, Univ. Polit. València, València, 282 p.
- HARCOURT, D.G. 1961. Design of a sampling plan for studies on the population dynamics of the diamond-back moth, *Plutella maculipennis* (Curt.) (Lepidoptera: Plutellidae). *Canadian Entomol.*, **93**: 820-831. (Cit. in Tsai *et al.*, 2000).
- IWAO, S. 1970. Analysis of Spatial Patterns in animal populations: Progress of research in Japan. *Rev. Plant. Protec. Res.*, **3**: 41-54. (Cit. in Cadahia, 1977).
- LLOYD, M. 1967. Mean crowding. *J. Anim. Ecol.*, **36**: 1-30. (Cit. in Tsai *et al.*, 2000).
- RODRIGUES, R. & TORRES, L. 2004. Padrão espacial de *Typhlodromus pyri* Scheuten (Acari, Phytoseiidae) em três castas de videira na sub-região do Lima da Região Demarcada dos Vinhos Verdes. *XI Cong. Ibérico Entomol. - Prog. e Res.*, Funchal, 236p., URL: http://www.uma.pt/congresso.iberico.entomologia/cie_pt.htm. Acedido a 21 Set. 2004.
- SEVACHERIAN, V. & STERN, V.M. 1972. Spatial distribution patterns of *Lygus* bugs in California cotton fields. *Environ. Entomol.*, **1**: 695-704. (Cit. in Tsai *et al.*, 2000).
- SOUTHWOOD, T. 1966. Ecological methods, with particular reference to the study of insect population. Chapman Hall, London. 548 p.
- SOUTHWOOD, T. 1978. Ecological methods, with particular reference to the study of insect population, 2nd ed.. Chapman Hall, London, 524 p. (Cit. in Tsai *et al.*, 2000).
- STERK, G., CREEMERS, P. & MERCKX, K. 1994. Testing the side effects of pesticides on the predatory mite *Typhlodromus pyri* (Acari, Phytoseiidae) in field trials. *IOBC/WRPS Bull.*, **17** (10): 27-40.
- TAYLOR, L.R. 1961. Aggregation, variance and the mean. *Nature*, Lond. **189**, 732-735. (Cit. in Southwood, 1966).
- TAYLOR, L.R. 1971. Aggregation as a species characteristic, 357-377. In: G.P. Patil, E.C. Pielou and W.E. Waters (eds) *Statistical ecology*, vol. 1. Pennsylvania State University Press, University Park. 582 p. (Cit. in Tsai *et al.*, 2000).
- TAYLOR, L.R. 1984. Assessing and interpreting the spatial distribution of insect populations, *Ann. Rev. Entomol.*, **29**: 321-357.
- TEIXEIRA, L.A. 1994. Protecção Integrada da vinha contra o aranhaço amarelo, *Tetranychus urticae* Koch (Acari, Tetranychidae). Populações de ácaros e estimativa do risco. Mestr. Protec. Integrada. UTL, ISA, Lisboa, 97 p.
- TRUMBLE, J.T. 1985. Implications of changes in arthropod distribution following chemical application. *Res. Popul. Ecol.*, **27**: 277-285. (Cit. in Binns & Nyrop, 1992).
- TSAI, J.H., WANG, J-J & LIU, Y-H 2000. Sampling of *Diaphorina citri* (Homoptera: Psyllidae) on orange Jessamine in Southern Florida. *Florida Entomol.*, **83** (4): 446-459.

(Recepción: 16 enero 2006)

(Aceptación: 2 marzo 2006)

SUMARIO DEL VOL. 32 (2)

ENTOMOLOGÍA

- P. TURIENZO. Nota. Definitive incorporation of *Callidiellum rufipenne* (Motschulsky, 1860) to the argentinian fauna of Cerambycidae (Coleoptera) 155
- A. JIMÉNEZ, F. J. SORIA, M. VILLAGRÁN, M. E. OCETE. Seguimiento del ciclo biológico de *Cydia fagiglandana* (Zeller) (Lepidoptera: Tortricidae) en un encinar del sur de España 157
- M. A. GONÇALVES. Utilização de armadilhas cromotrópicas na monitorização de *Liriomyza* spp. (Diptera: Agromyzidae) e dos seus parasitoides, no feijão-verde 169
- F.M. HODGSON, C.D. LORENZO, C. PRENDES, R. CABRERA. *Scymnus (Pullus) cercyonides* Woll. Posibilidades en el control biológico 175
- A. HERMOSO DE MENDOZA, M. LA SPINA, F. MARCO, S. TABANERA, P. VINACHES, E.A. CARBONELL, J. PÉREZ-PANADÉS. Nivel de daño económico para *Aulacorthum solani* (Hemiptera, Aphididae) sobre pimiento en invernadero comercial 181
- H. PELÁEZ, R. MARAÑA, P. VÁZQUEZ DE PRADA, A. PURAS, Y. SANTIAGO. Comportamiento local de poblaciones de *Lobesia botrana* Denis & Schiffermüller (Lepidoptera: Tortricidae) 189
- M. BRANCO, J.C. FRANCO, C. VALENTE, Z. MENDEL. Comunicación. Survey of *Eucalyptus* gall wasps (Hymenoptera: Eulophidae) in Portugal 199
- M. VILLALBA, N. VILA, C. MARZAL, F. GARCIA MARÍ. Influencia en el control biológico del cotonet *Planococcus citri* (Hemiptera: Pseudococcidae) de la liberación inoculativa de enemigos naturales y la eliminación de hormigas, en parcelas de cítricos 203
- A.M. PASSARINHO, M.J. LEANDRO, M. OLIVEIRA, E. FIGUEIREDO, J.C. FRANCO, J. NEVES-MARTINS, A. MEXIA. Avaliação do parasitismo por *Anagyrus pseudococci* (Girault) em cochonilhas-algodão em proteáceas 215
- M. J. PASCUAL-VILLALOBOS, R. CARRERES, J. RIUDAVETS, M. AGUILAR, J. M. BOZAL, M. C. GARCÍA, A. SOLER, A. BAZ, P. DEL ESTAL. Plagas del artoz almacenado y sus enemigos naturales en España 223

PATOLOGÍA

- P.E. ESCOFET CRESPO, O. AGUÍN CASAL, J.P. MANSILLA VÁZQUEZ. Detección e identificación por técnicas moleculares de especies del género *Armillaria* a partir de muestras del suelo 231
- L.A. ÁLVAREZ, A. VICENT, D. GARCÍA-RELLÁN, P. MARTÍNEZ-CULEBRAS, E. DE LA ROCA, J. BASCÓN, J. ARMENGOL, P. ABAD-CAMPOS, A. ALFARO-LASSALA, J. GARCÍA-JIMÉNEZ. Muerte de árboles cítricos causada por ataques de *Phytophthora citrophthora* a ramas principales 241

TERAPÉUTICA

- G. PÉREZ, J.M. SIERRA. Eficacia de cebos atrayentes y trampas en el control de *Ips acuminatus* Coleoptera: Scolytidae 259

OTROS TEMAS

- L. S. FONTES, A. J. D. ALMEIDA FILHO, V. ARTHUR. Estudio ecológico de abejas silvestres (Hymenoptera, Apidae) no parque ambiental de Teresina-PI, com ênfase em polinizadores potenciais da guabiraba (*Eugenia* sp) (Myrtaceae) 267
- S. BACELAR, R. RODRIGUES, L. M. BRITO, A. MEXIA. Efeito da aplicação de fungicidas no padrão espacial de ácaros fitoseídeos associados à cultura da vinha 273

