

# PLAGAS



## 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



Estados de *Brachmia convolvuli* sobre su planta nutricia, una enredadera ornamental de *Ipomoea* en Playa Blanca, Lanzarote.

## 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 33**  
**núm. 1**  
**2007**  
**1<sup>er</sup> Trimestre**

DIRECTOR

*Francisco Mombiela*

DIRECTOR ADJUNTO

*Guillermo Artolachipi*

REDACTORA JEFE

*Adela Burgos*

CONSEJO DE REDACCIÓN

*Antonio Bello*

*Juan I. Calvo*

*José M.<sup>a</sup> Cobos*

*Pedro del Estal*

*José García-Jiménez*

*Concepción Jordá*

*Alfredo Lacasa*

*Cristina Noval*

*Cándido Santiago*

*Julio C. Tello*

*Juan J. Tuset*

*Fernando Varés*

*Carlos Zaragoza*

EDITOR

*Centro de Publicaciones*

*Agrarias, Pesqueras y*

*Alimentarias*

ISSN: 0213-6910

NIPO: 251-07-014-1

Depósito Legal: M-2975-1976

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

# SUMARIO

## ENTOMOLOGÍA

- L. DE LA IGLESIA, Y. SANTIAGO, C. M. MORENO, A. PÉREZ, H. PELÁEZ, N. DE PRADO, S. CEPEDA, F. FERRAGUT. Ácaros fitoseidos (Acari: *Phytoseiidae*) asociados a frutales de pepita y viñedo del Bierzo (León) ..... 3
- R. T. THULER, S. A. DE BORTOLI; C. L. T. P. VIANA, R. M. GOU-LART, D. PRATISSOLI. Efeito de inseticidas químicos e produtos vegetais sobre os parasitoides *Trichogramma pretiosum* e *Trichogramma exiguum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) ..... 15
- C. A. MANFRÉ MEDEIROS, A. L. BOIÇA JR., M. ROBLES ANGELINI. Efeito sub-letal de extratos vegetais aquosos de *Azadirachta indica* A. Juss. e *Sapindus saponaria* L. sobre aspectos biológicos de *Ascia monuste orseis* (Latreille) (Lepidoptera: Pieridae) em couve ..... 27
- S. A. DE BORTOLI, A. TAKAO MURATA. Aspectos biológicos de *Ceraeochrysa paraguayana* (Navás, 1920) (Neuroptera: Chrysopidae), em condições de laboratório ..... 35
- V. ARTHUR, G. A. GROppo. Nota. Influência da radiação gama sobre adultos de *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) ..... 43
- N. GONZÁLEZ GARCÍA, A. RODRÍGUEZ MANZANO, P. E. DE LA TORRE SANTANA, N. LASTRES GONZÁLEZ, X. GARCÍA MEDEROS, N. RAMOS GÓMEZ. Primera cita del ácaro *Calacarus flagelliseta* (Fletcher, 1911) (De Moraes y Barbosa, 2001) sobre el cultivo de la papaya "Maradol Roja" en Cuba ..... 45
- E. LÓPEZ-SEBASTIÁN, H.-P. TSCHORSNIG, J. PUJADE-VILLAR, M. GUARA, J. SELFA. Sobre los parasitoides asociados a las fases de larva y pupa de la procesionaria del pino en cuatro bosques mediterráneos (España) ..... 53
- E. TREJO, G. MAREGGIANI, C. REZZANO, E. MARTÍNEZ, P. CARRIZO. Distribución de larvas neonatas de mosca sierra del fram-bueso a través del eje vertical de la planta, como indicador de ovipostura ..... 61
- S. PASCUAL RUIZ, M<sup>a</sup> J. VERDÚ, J. A. JACAS, A. URBANEJA. Comunicación. Parasitismo natural de huevos de crisópidos por el parásitoide *Telenomus acrobates* Giard (Hymenoptera: Scelionidae) ... 65
- L. M. TORRES-VILA, P. DEL ESTAL PADILLO. Nota. Detección de *Brachmia convolvuli* (Lepidoptera: Gelechiidae) en Lanzarote (Islas Canarias) ..... 69
- M. BIANCHI, A. SÁNCHEZ. Biología de *Phoracantha recurva* Newman y *Phoracantha semipunctata* Fabricius (Coleoptera: Cerambycidae) en Laboratorio sobre dieta natural: *Eucalyptus ssp. Globulus* ..... 71

M. COCA-ABIA, C. QUERO LÓPEZ, J. M. SOPEÑA MAÑAS, E. MARTÍN BERNAL, A. GUERRERO. Contribución al conocimiento de la Ortopteroecosis de la Península Ibérica .....	79
---	----

### **PATOLOGÍA**

P. SÁNCHEZ TORRES, R. HINAREJOS, J. J. TUSET. <i>Fusicladium eriobotryae</i> : hongo causante del moteado del níspero en el mediterráneo español .....	87
--	----

A. ALFARO-FERNÁNDEZ, M. C. CÓRDOBA-SELLÉS, M. C. CEBRIÁN MICÓ, I. FONT, M. JUÁREZ, V. MEDINA, A. LACASA, J. A. SÁNCHEZ-NAVARRO, V. PALLÁS, C. JORDÁ GUTIÉRREZ. Avances en el estudio del “torrao” o cribado del tomate .....	99
--	----

### **TERAPÉUTICA**

R. M <sup>a</sup> NAVARRO CERRILLO, I. JORGE, D. ARIZA, C. PORRAS, J. JORRIN. Fitotoxicidad del fosfonato en brinzales de encina <i>Quercus ilex</i> L. subsp. <i>ballota</i> (Desf.) Samp.) .....	111
--	-----

### **OTROS TEMAS**

E. ROMERO DE LOS REYES, R. M <sup>a</sup> NAVARRO CERRILLO, A. GARCÍA-FERRER PORRAS. Aplicación de ortofotos para la estimación de pérdida de individuos en dehesas de encina ( <i>Quercus ilex</i> L. subsp. <i>ballota</i> (Desf.) Samp.) afectadas por procesos de decaimiento .....	121
---	-----

## Ácaros fitoseidos (Acari: Phytoseiidae) asociados a frutales de pepita y viñedo del Bierzo (León)

L. DE LA IGLESIA, Y. SANTIAGO, C. M. MORENO, A. PÉREZ, H. PELÁEZ, N. DE PRADO, S. CEPEDA, F. FERRAGUT

El objeto de este trabajo es conocer los ácaros fitoseidos presentes en los cultivos de manzano, peral y vid en la comarca del Bierzo, León, situada en el noroeste de Castilla y León.

El número de parcelas estudiadas y evaluadas ha sido de trece, habiéndose extraído un total de 1443 individuos de diferentes géneros. El cultivo de manzano es el que mayor número de fitoseidos presentó, superior a la vid y al peral, este último con apenas individuos.

El factor variedad también es determinante en el número de fitoseidos, así de las variedades más pilosas como la Reineta en manzano y Godello en vid se obtiene el mayor número de individuos.

Las especies identificadas son *Amblyseius andersoni* (Chant), *Neoseiulus californicus* (McGregor), y *Typhlodromus phialatus* (Athias-Henriot) cuya presencia y número varía en función del ciclo vegetativo y de la variedad de cada cultivo. El único individuo de *Kampimodromus aberrans* (Oudemans) que se encontró fue en el cultivo de peral.

L. DE LA IGLESIA, Y. SANTIAGO, C. M. MORENO, A. PÉREZ, H. PELÁEZ. Dpto. Hortofruticultura-Protección Vegetal. Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León. Ctra. Burgos km 119. 47071 Valladolid. ita-iglgutla@itacyl.es  
N. DE PRADO, S. CEPEDA. Estación de Avisos de Carracedelo. Ctra. Nacional VI, Km. 398. 24549 Carracedelo (León). cagavisos@jcyl.retecal.es  
F. FERRAGUT. Instituto Agroprofesional Mediterráneo. Universidad Politécnica. Camino de Vera, 14. 46022 Valencia. fjferragut@eaf.upv.es

**Palabras clave:** *Amblyseius andersoni*, *Neoseiulus californicus*, *Typhlodromus phialatus*, *Kampimodromus aberrans*, manzano, peral, vid.

### INTRODUCCIÓN

La comarca del Bierzo está asentada al noroeste de la provincia de León y es la mayor comarca leonesa, cubre con sus 2954,28 km<sup>2</sup> el 18 % de la superficie provincial. Está situada en un especial enclave geográfico, que le proporciona un clima benigno ideal para la producción de fruta de alta calidad.

Mucha superficie dedicada a la producción de fruta de pepita de esta comarca se cultiva

siguiendo las pautas de Producción Integrada. En este sistema es fundamental el conocimiento de los organismos susceptibles de ser plaga y de la fauna auxiliar que potencialmente pueda controlar dichas plagas. En este aspecto los ácaros fitoseidos son depredadores, tanto de ácaros fitófagos como de otros pequeños artrópodos. En arboricultura los ácaros fitófagos más importantes son *Panonychus ulmi* (Koch) o araña roja, *Tetranychus urticae* (Koch) o araña amarilla, *Bryobia rubrioculus* (Scheuten), *Amphitetranychus*

*viennensis* (Zacher), *Eotetranychus pruni* (Oudemans) y *Brevipalpus oudemansi* (Geijskes). En la vid se distinguen principalmente dos grupos de ácaros fitófagos: el llamado de "arañas rojas", que comprende *Panonychus ulmi*, *Tetranychus urticae* y *Eotetranychus carpini* (Oudemans), y el segundo grupo, que son unos minúsculos parásitos sólo visibles al microscopio o lupa binocular, que generan los daños conocidos como acariosis, generado por *Calepitrimerus vitis* (Nalepa), y erinosis causado por *Colomerus vitis* (Pagenster) (BOVEY, 1989).

Se han realizado diversos estudios de los ácaros fitoseidos en España. Ya en 1986 en Lérida (COSTA-COMELLES *et al.*, 1986) se analizaba su actuación en la Lucha Integrada. Continúan siendo relativamente abundantes los estudios dedicados a estos artrópodos pero, aunque hay trabajos sobre terrenos más o menos cercanos a la comarca del Bierzo, como el realizado en plantaciones de manzano de Asturias (MIÑARRO *et al.*, 2002), o el realizado en las plantaciones de manzano en el nordeste de Portugal (ESPINHA *et al.*, 1998), la acarofauna varía según las zonas, por lo que se hace necesario el estudio en cada área al no poder extrapolar los datos de unas a otras.

Está demostrada la importancia de los fitoseidos en el control de plagas tan importantes como *Panonychus ulmi* Koch, pero no todas las especies de esta familia son igual de eficaces para la Lucha Integrada, ya sea por su abundancia en la zona, su especificidad en la alimentación u otros motivos. Además de unas especies de fitoseido principales en cada zona existen otras, consideradas como de importancia secundaria, que actúan positivamente en el control de fitófagos pero no de forma tan eficaz. Por último existen otras especies de fitoseidos que son poco destacables dentro de un programa de Control Integrado (GARCÍA-MARÍ *et al.*, 1994).

De este modo el fitoseido más eficaz en el caso de zonas frutales de Lérida es *Amblyseius andersoni* (Chant) (GARCÍA-MARÍ *et al.*, 1994), en La Rioja destaca *Neoseiulus californicus* (McGregor) (PÉREZ-MORENO,

1998) y en Asturias *Kampimodromus aberrans* (Oudemans) (MIÑARRO *et al.*, 2002).

En el viñedo, al igual que en el caso de los frutales, la especie dominante es diferente en unas zonas y otras y así, en Castilla y León en las DD.OO. Cigales y Rueda, el fitoseido más encontrado ha sido *Kampimodromus aberrans* (BARREDA, 2003) coexistiendo con *Typhlodromus phialatus* Athias-Henriot que alguna campaña ha sido dominante (PELÁEZ *et al.*, 2003; PELÁEZ *et al.*, 2004). En Galicia destaca la participación de *Kampimodromus aberrans*, *Typhlodromus phialatus* y *Neoseiulus californicus* (PÉREZ-OTERO & MANSILLA, 2000).

El objetivo fundamental de este trabajo ha sido determinar los ácaros fitoseidos que se encuentran en algunos de los cultivos más significativos de la comarca del Bierzo, como son manzano, peral y vid.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Los muestreos se efectuaron sobre 13 parcelas de la comarca del Bierzo en el año 2003 de mayo a septiembre, aunque en las parcelas de peral y vid empezó en junio y agosto respectivamente. Las parcelas objeto de muestreo fueron 8 de manzano, de las cuales 1 actuó como testigo al llevar abandonada 2 años cuando se tomaron las muestras, 2 de peral y 3 de vid. Dentro de las parcelas de manzano, 5 fueron de variedad Reineta Blanca (1 de las cuales fue la testigo), 2 Golden Delicious y 1 Granny Smith. Las parcelas de peral fueron de la variedad Conferencia, y en las parcelas de vid se muestrearon las variedades Godello, Cabernet Sauvignon y Mencía.

Las parcelas de frutal tenían cubierta vegetal (Figura 1) y seguían un sistema de Producción Integrada. Las parcelas de vid seguían un régimen de cultivo tradicional, aunque sólo se realizaron aplicaciones de azufre y cobre.

Existían 2 parcelas de manzano (P02 y P03) de iguales características y manejo, salvo en la aplicación de un tratamiento fitosanitario acaricida con Abamectina encami-



Figura 1. Parcela de muestreo de manzano con su cubierta vegetal.

nado a la lucha de ácaros fitófagos, que se efectuó el 3 de mayo.

Los muestreos de las parcelas se efectuaban cada 2 semanas, recogiendo por parcela un total de 50 hojas. En cada parcela se cogían, sobre 10 árboles elegidos al azar, 5 hojas con disposiciones alternas. Las muestras se transportaban en nevera portátil refrigerada al laboratorio, y se extraían los ácaros mediante embudos Berlesse-Tullgren. Como líquido conservante se utilizó una mezcla 9:1 de etanol y glicerina, en la digestión se empleó ácido láctico al 50 % y se aceleró el proceso aplicando calor, mediante una placa calefactora con un aplique de rejilla, a 50 °C. Los ácaros se montaron de forma permanente utilizando líquido de Hoyer, para su posterior identificación utilizando microscopio óptico.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se extrajeron un total de 1443 fitoseidos de las especies:

*Amblyseius andersoni*

*Neoseiulus californicus*

*Typhlodromus phialatus*

*Kampimodromus aberrans*

Se registraron grandes diferencias en el número de fitoseidos extraídos en cada cultivo. En la Figura 2 se representa sólo el resultado de los muestreos realizados para los tres cultivos que van desde el 7 de agosto al 23 de octubre. El número de fitoseidos extraídos en las parcelas de manzano fue marcadamente superior al de los otros cultivos. Se aprecia cómo el número medio de fitoseidos obtenidos, en el caso de parcelas de manzano comercial Reineta, fue más del triple respecto a la variedad de vid en la que se encontraron más especímenes (Godello). Por otro lado la población registrada en el peral fue muy escasa.

Esta desigual población puede estar motivada por las diferentes características intrínsecas de cada cultivo, junto al hecho de que en las plantaciones de viñedo, a diferencia de las de frutal, no se mantuvo una cubierta vegetal que es considerada el reservorio más importante de fitoseidos y fitófagos (IRAOLA *et al.*, 1999). Es destacable que, aunque en las parcelas de viñedo no se siguió un sistema de Producción Integrada, los tratamientos fitosanitarios aplicados están dentro de lo permitido según la legislación de este sistema.

En la Figura 3 se muestra el total de fitoseidos obtenidos durante todo el tiempo de muestreo del manzano, que va desde el 25 de junio al 23 de octubre. En ella se aprecia que dentro de cada cultivo también hubo una diferencia de extracción según la variedad. En las variedades más pilosas, Godello en el caso del viñedo y Reineta en el caso del manzano, han sido donde se han obtenido mayores poblaciones tal y como se puede observar en las Figuras 2 y 3 respectivamente. En el estudio realizado por PÉREZ-OTERO & MANSILLA en Galicia (2000), al igual que

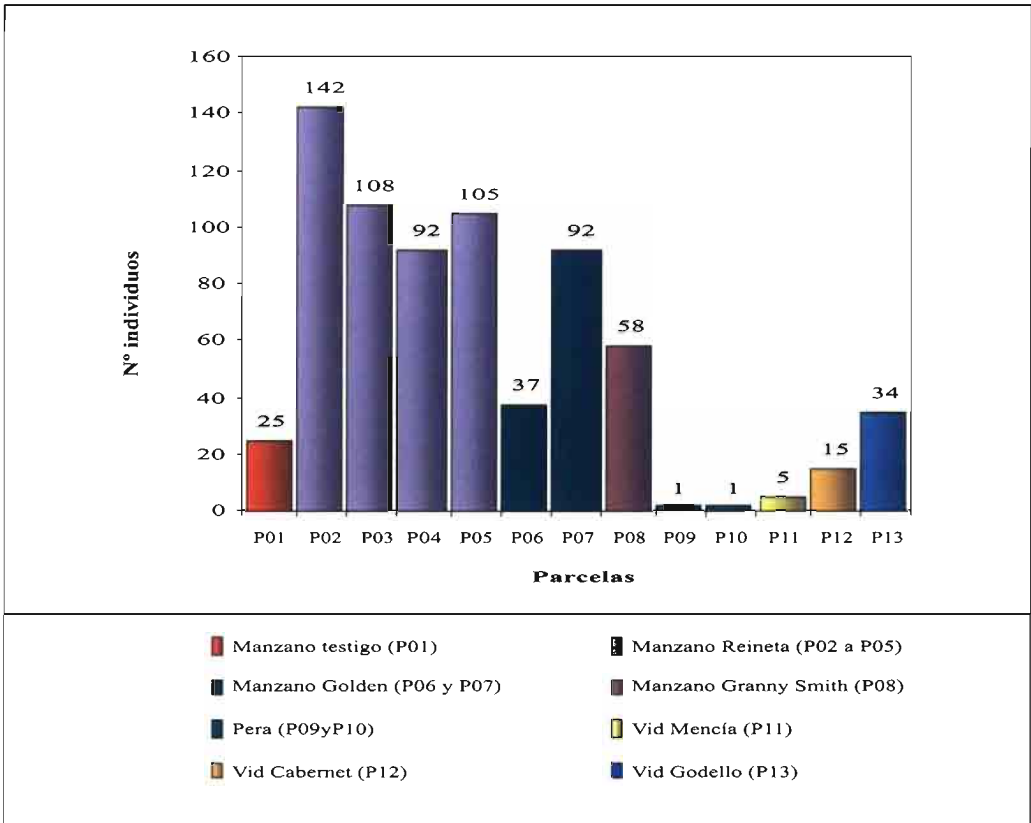


Figura 2. Fitoseidos totales extraídos por parcela en las fechas de muestreo comunes a los tres cultivos.

en éste del Bierzo, se extrajeron pocos fitoseidos de la variedad Mencía que es glabra. La pilosidad está citada como un factor potencialmente influyente sobre las comunidades de fitoseidos, ya que influye al actuar como medio de protección de estos organismos (BAILLOD *et al.*, 1989). Esto explicaría que las poblaciones extraídas en las parcelas de peral, cuyas hojas son glabras, hayan sido tan escasas. Estos resultados, de baja extracción en el peral respecto a otros cultivos, coinciden con otros estudios, como el desarrollado sobre manzano, peral y melocotonero de La Rioja (PÉREZ-MORENO, 1998).

En la Figura 3 es interesante ver cómo, en la parcela donde no se aplicó el tratamiento con Abamectina (P02), la población de fitoseidos fue algo superior al 35 % respecto a la

parcela de iguales características donde se hizo el tratamiento (P03). Sin embargo, el número de tetraníquidos extraídos en la parcela sin el tratamiento fue un 83,4 % superior al contabilizado en la zona con el tratamiento. Esto puede ser indicativo de que, tanto el momento elegido para el tratamiento como la materia activa empleada en el mismo pudieron ser acertados, al no perjudicar muy gravemente la población de ácaros fitoseidos, pareciendo afectar sin embargo a la de los tetraníquidos.

Es destacable el caso de la parcela que actuó como testigo (P01) ya que en ella se extrajo la menor población de fitoseidos. No obstante, es en esta parcela testigo en la que se registró la mayor biodiversidad en ácaros, lo que hace suponer que el ecosistema en



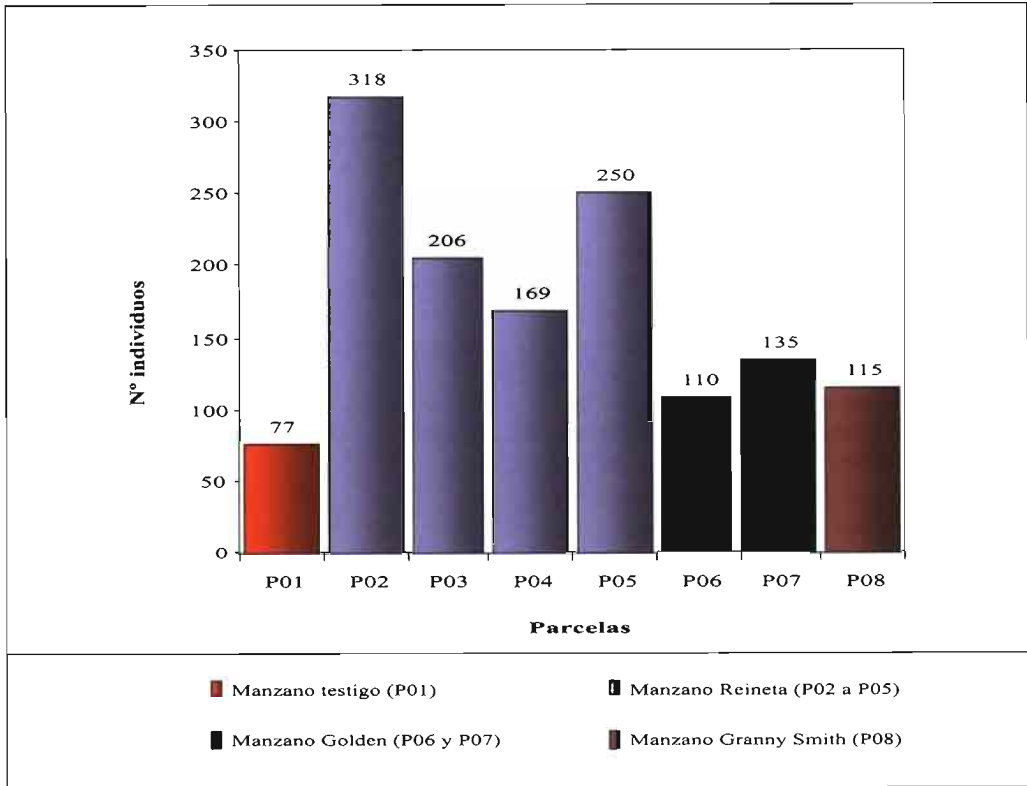


Figura 3. Fitoseidos totales extraídos en todos los muestreos de las parcelas de manzano.

esta parcela era más complejo que en las parcelas con intervención humana. El hecho de que la población de fitoseidos en las parcelas comerciales fuera importante refuerza la idea de que los tratamientos que se están aplicando dentro de la Producción Integrada respetan estos artrópodos, considerados como fauna auxiliar beneficiosa en la producción de frutales.

A continuación se analiza más en profundidad las especies de fitoseidos extraídos en cada cultivo:

#### Extracción en el manzano

En la Figura 4 se representan los individuos extraídos en todos los muestreos en las parcelas de manzano, y se aprecian las diferencias citadas anteriormente. En este cultivo, dentro de la familia de los fitoseidos,

destacó marcadamente la especie *A. andersoni* frente al resto representando el 62,7 % de los fitoseidos; en segundo lugar en abundancia estuvo la especie *N. californicus* con un 32,9 %, y por último *T. phialatus* con un 4,4 %.

*A. andersoni* (Figuras 5 y 6), que fue la especie dominante y más frecuente en todas las parcelas estudiadas en el Bierzo, excepto en P02 y P07 (Figura 4), fue también la especie más abundante en Lérida (COSTA-COMELLES *et al.*, 1990; COSTA-COMELLES *et al.*, 1992), y en Asturias fue la segunda especie en abundancia (MIÑARRO *et al.*, 2002).

Esta especie se distribuye en España en áreas restringidas del tercio norte de la Península, siendo escaso o inexistente en el resto. Es un ácaro polífago, y actualmente se

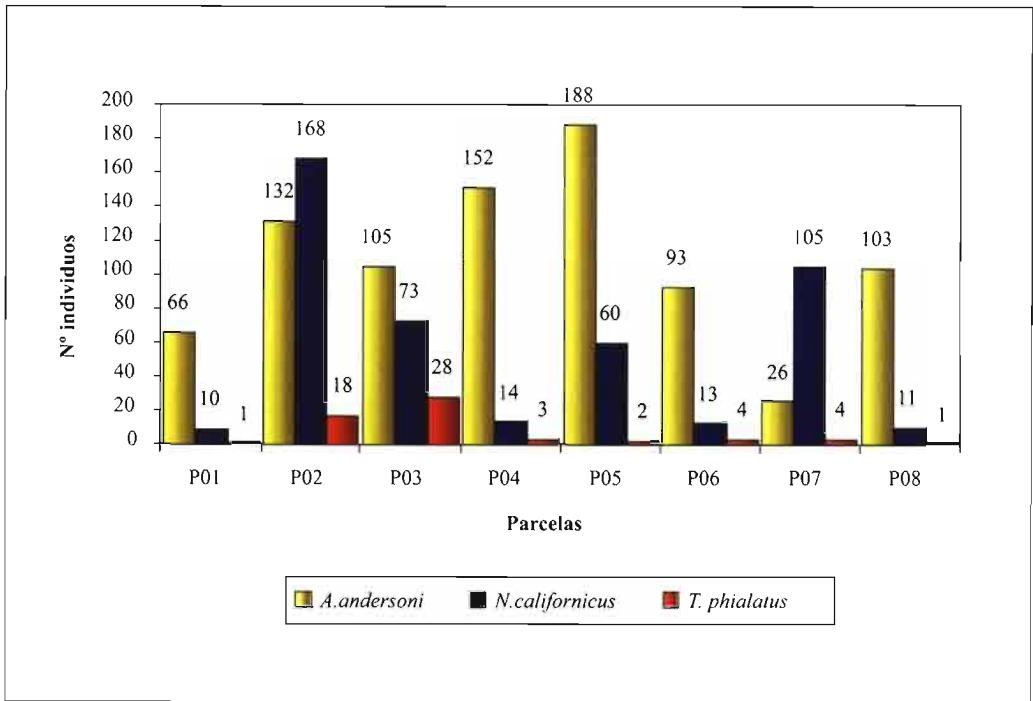


Figura 4. Fitoseidos totales según especies extraídos en todos los muestreos de las parcelas de manzano.

le considera fundamental en la lucha integrada de *P. ulmi* en la zona frutícola leridana (GARCÍA-MARÍ *et al.*, 1994).

*N. californicus* (Figura 7) ocupó un segundo puesto en importancia en este estudio y fue dominante en las parcelas P02 y P07 (Figura 4). Fue la especie principal en los frutales de Navarra (Iraola *et al.*, 1999), La Rioja (PÉREZ-MORENO, 1998), en manzanos comerciales de Girona (VILAJELIU & VILARNAU, 1992), y la segunda especie de fitoseido en importancia en Lérida (COSTA-COMELLES *et al.*, 1990). Esta especie es parcialmente monófoga y tiene preferencia por los géneros *Tetranychus*, *Eotetranychus* y *Oligonychus* (GARCÍA-MARÍ *et al.*, 1994).

*T. phialatus* (Figura 8) fue el fitoseido menos abundante en los muestreos de manzano de este trabajo, aunque en otros estudios, como el realizado en el nordeste de Portugal (ESPINHA *et al.*, 1998), esta especie

se considera predominante, tras las especies *T. pyri* y *T. rhenanoides*.

En este cultivo no se extrajo ningún *K. aberrans*, que fue la especie más destacada en el estudio realizado en el nordeste de Portugal (ESPINHA *et al.*, 1998) y en Asturias (MIÑARRO *et al.*, 2002).

En la Figura 9 se representa la dinámica poblacional de los fitoseidos en la parcela P02, que muestra el comportamiento general registrado en las parcelas comerciales de manzano. Se ha observado que el orden de aparición y los máximos de extracción de las diferentes especies de esta familia, en la mayoría de las parcelas comerciales, se produjo de forma escalonada.

Desde primeros de julio se empezaron a recoger *A. andersoni* y su máximo se registró en agosto. En este mes apareció *N. californicus* y su máximo fue entre septiembre y octubre. Por último *T. phialatus* apareció entre septiembre y octubre presentando su



Figura 5. Vista general  
*A. andersoni* 40x.

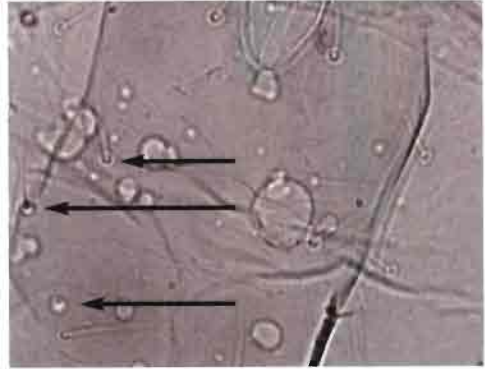


Figura 6. Detalle quetas placa ventrianal  
*A. andersoni* 400x.

máximo en la segunda quincena de octubre.

En el estudio de fitoseidos sobre manzano de Asturias (MIÑARRO *et al.*, 2002), también se encontró *A. andersoni* en julio y su abundancia disminuyó según avanzó el periodo vegetativo en favor de otras especies de fitoseidos. No obstante la presencia de *N. californicus* se limitó, a diferencia del presente trabajo, a los muestreos otoñales.

Según GARCÍA-MARÍ *et al.* (1994), en Lérida la dinámica de *A. andersoni* le sitúa sobre las hojas desde mayo, algo antes que lo registrado en este estudio a octubre. El máximo de esta especie en ambos estudios coincide y se dio en los meses de julio y agosto,

sin embargo *N. californicus* presentó sus elevadas poblaciones en Lérida en junio y julio, antes de lo registrado en los muestreos de este estudio.

#### Extracción en el viñedo

En la Figura 10 se representan los fitoseidos según especies extraídos en las parcelas de vid. En este caso la especie de fitoseido más abundante fue *T. phialatus* que representa el 82,1 % e, inversamente a lo que ocurría en el caso del manzano, la menos extraída fue *A. andersoni* con un 5,4 %.

En otros estudios realizados sobre viñedo, como el de PÉREZ-MORENO (1998) en La

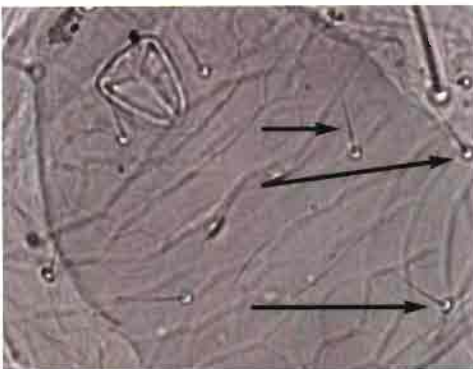


Figura 7. Detalle quetas de placa ventrianal de  
*N. californicus* 400x.

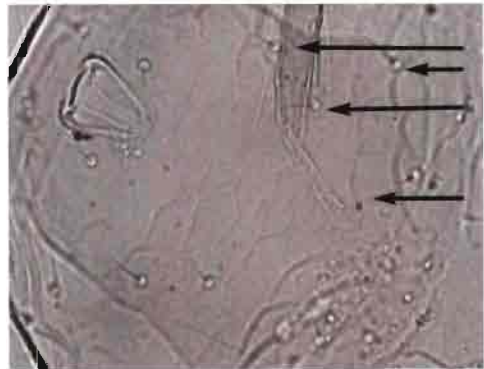


Figura 8. Detalle quetas de placa ventrianal de  
*T. phialatus* 400x.

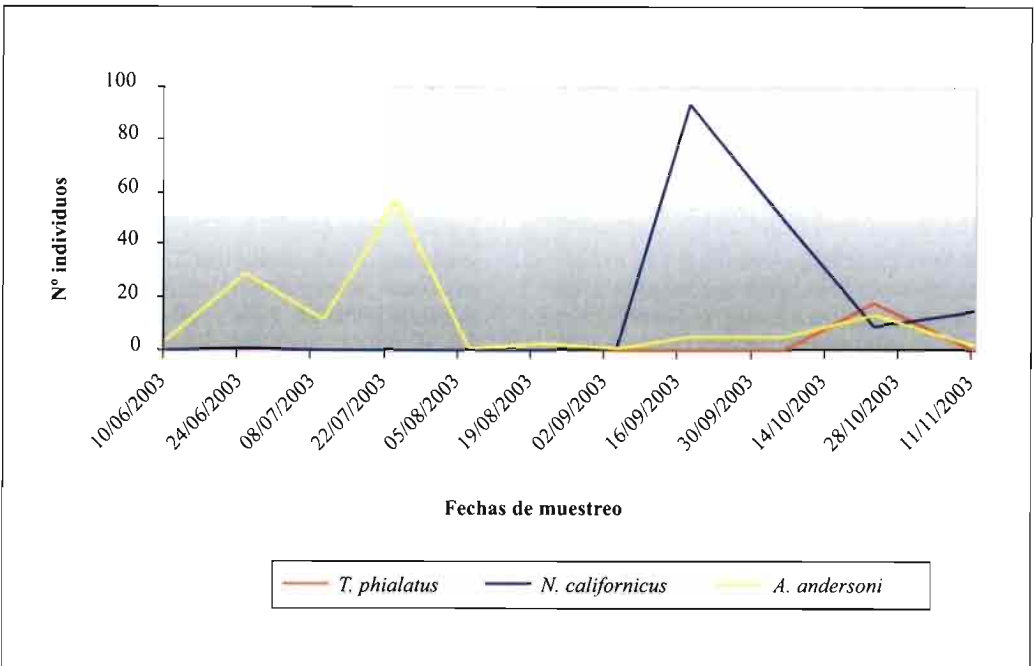


Figura 9. Dinámica poblacional de las especies de fitoseido en la Parcela P02.

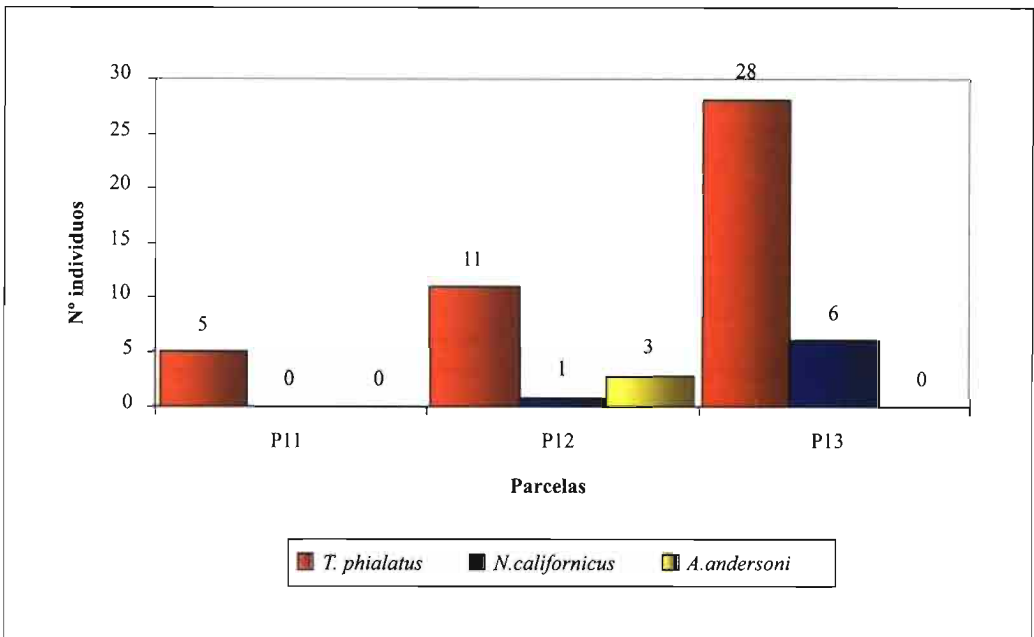


Figura 10. Fitoseidos totales según especies extraídos en todos los muestreos de las parcelas de vid.

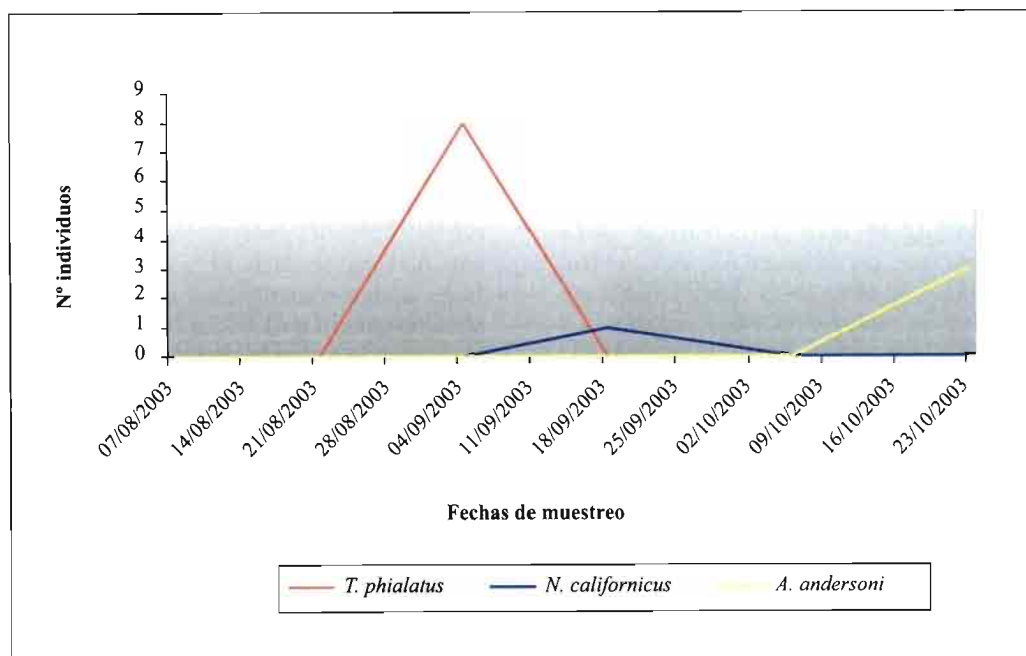


Figura 11. Dinámica poblacional de las especies de fitoseido en la Parcela P12.

Rioja, también el género más abundante era *Typhlodromus*, pero en esa ocasión fue la especie *T. pyri*, aunque también se extrajo *T. phialatus*.

*T. phialatus* se alimenta de tetraníquidos, pequeños insectos y diversos tipos de polen. Esta especie de fitoseido también se ha observado en el interior de agallas producidas por eriófidos, por lo que también podría alimentarse de ellos. Su importancia agrícola aún no se ha establecido, pero podría ser muy importante en el viñedo, dado que es el fitoseido predominante de este cultivo (GARCÍA-MARÍ *et al.*, 1994).

Destaca el hecho de que no se hayan extraído ejemplares de *K. aberrans*, que ha sido una especie muy común en este cultivo en otros estudios, como el realizado en Galicia (PÉREZ-OTERO & MANSILLA, 2000) o en las DD.OO. Cigales y Rueda (BARREDA, 2003).

En la Figura 11 se representa la dinámica poblacional registrada en la parcela P12, que muestra el comportamiento general de las

parcelas de viñedo. Se aprecia que también se dio un escalonamiento en la aparición y máximos de las especies de fitoseido, aunque en este caso el orden fue inverso a lo registrado en el manzano. A primeros de septiembre apareció *T. phialatus*, en septiembre-octubre se encontró *N. californicus* y a últimos de octubre se presentó, si se encontraba en la parcela, *A. andersoni*.

#### Extracción en el peral

En la Figura 12 se representan los individuos extraídos en cada parcela de peral separándolos por especies. En el caso de este cultivo se extrajo escasa población, como ya se ha comentado, no resaltando ninguna especie de fitoseido.

Es destacable que en una parcela de peral fue donde apareció el único individuo de *K. aberrans*, especie que no se ha encontrado ni en manzano ni en vid.

En el estudio realizado en La Rioja por PÉREZ-MORENO (1998), el género más abun-

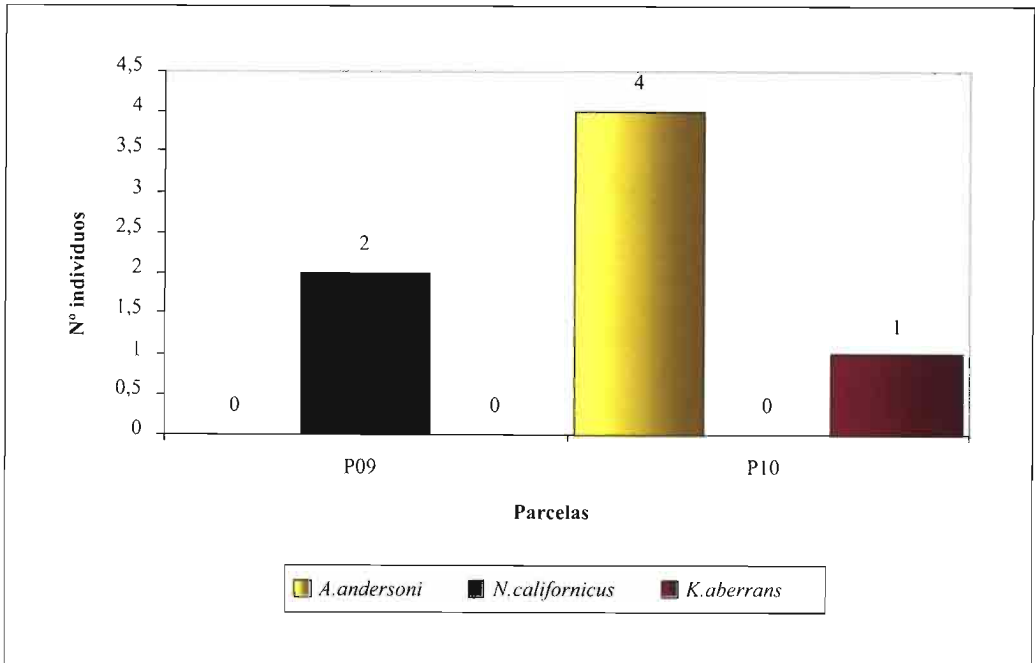


Figura 12. Fitoseidos totales según especies extraídos en todos los muestreos de las parcelas de peral.

dante fue *Typhlodromus*, pero en esta ocasión se trató de la especie *T. pyri*.

## CONCLUSIONES

Analizando individualmente cada parcela y en las fechas de muestreo comunes, se observa que las parcelas con mayor población extraída de ácaros fitoseidos fueron las de manzano, situándose a continuación las de vid y por último las de peral.

La población de los ácaros está directamente influida por características de la hoja, como la pilosidad. Dentro de cada cultivo, la diferente pilosidad de las variedades repercute directamente sobre las poblaciones de ácaros extraídas; las mayores poblaciones de ácaros se extrajeron de las variedades más pilosas de manzano y vid (Reineta y Godello), respectivamente. Las hojas glabras del peral fueron probablemente la

causa del bajo número de ácaros extraídos en este cultivo.

Las especies de fitoseidos extraídas en las parcelas de manzano, de mayor a menor abundancia fueron: *Amblyseius andersoni*, *Neoseiulus californicus* y *Typhlodromus phialatus*.

Las especies de fitoseidos extraídas en las parcelas de vid, de mayor a menor abundancia fueron: *Typhlodromus phialatus*, *Neoseiulus californicus* y *Amblyseius andersoni*.

Las especies de fitoseidos de las parcelas de peral fueron: *Amblyseius andersoni*, *Neoseiulus californicus* y *Kampimodromus aberrans*, aunque dado el bajo número de extracciones es poco significativo.

Para los fitoseidos, el orden de aparición y los máximos de población de las especies fue escalonado y fue muy diferente lo registrado en manzano a lo de vid. En el peral no se han podido establecer conclusiones debido a la baja población extraída.

## ABSTRACT

DE LA IGLESIA L., Y. SANTIAGO, C. M. MORENO, A. PÉREZ, H. PELÁEZ, N. DE PRADO, S. CEPEDA, F. FERRAGUT. 2007. Phytoseiid mites (Acari: Phytoseiidae) associated to fruit trees, apple and pear trees, and vineyard from El Bierzo, León (north-west of Spain). *Bol. San. Veg. Plagas*, **33**: 3-14.

The aim of this paper was to study the phytoseiid mites living in the apple tree, pear tree and vineyard in El Bierzo area (León) in the north-west of "Castilla y León".

13 plots were established with a total of 1443 phytoseiid extracted. The apple tree was the crop with the major number of phytoseiid. Vineyard and pear apple presented lower phytoseiid amounts, the last one having few individuals.

Varieties like apple Reineta and vine Godello, that have more leaves pilose, presented more phytoseiid as well.

Identified phytoseiid species were *Amblyseius andersoni* (Chant), *Neoseiulus californicus* (McGregor) and *Typhlodromus phialatus* (Athias-Henriot). Their presence and number changed depending on vegetative cycle and variety. The only one *Kampimodromus aberrans* Oudemans was found in pear tree.

**Key words:** *Amblyseius andersoni*, *Neoseiulus californicus*, *Typhlodromus phialatus*, *Kampimodromus aberrans*, apple tree, pear apple, vine.

## REFERENCIAS

- BAILLOD, M.; ANTONINI, P.; GUIGNARD, E. & JERMINI, M. 1989. Vers une généralisation de la lutte biologique contre les acariens phytophages en vergers de pommiers. *Revue Suisse Vitic. Arboric. Hortic.*, **21**(5):279-284.
- BARREDA, D. 2003. Estudio de la presencia de ácaros en las Denominaciones de origen Cigales y Rueda. Proyecto fin de carrera Escuela Técnica Superior de Ingenierías Agrarias de la Universidad de Valladolid. 221 pp.
- BOVEY, R. 1989. La defensa de las plantas cultivadas. Barcelona. Ediciones Omega. 897 pp.
- COSTA-COMELLES, J.; FERRAGUT, F.; GARCÍA MARÍ, F.; LABORDA, R. & MARZAL, C. 1986. Abundancia y dinámica poblacional de las especies de ácaros que viven en los manzanos de Lérida. *Agrícola Vergel*, **5**:176-191.
- COSTA-COMELLES, J.; SANTAMARÍA, A.; GARCÍA-MARÍ, F.; LABORDA, R. & SOTO, A. 1990. Aplicación del control integrado del ácaro rojo *Panonychus ulmi* (Koch) en parcelas comerciales de manzano. *Bol. San. Veg. Plagas*, **16**:317-331.
- COSTA-COMELLES, D.; BOSCH, D.; BOTARGUES, A.; CABISCOL, P.; MORENO, A.; PORTILLO, J.; RIS, N.; SANTALINAS M. J. & AVILLA, J. 1992. Resultados de la aplicación en parcelas comerciales de un programa de control integrado de plagas de manzano en Lleida. *Bol. San. Veg. Plagas*, **18**:745-754.
- ESPINHA, I. G.; FERRAGUT, F.; PEREIRA, J. A. & TORRES L. M. 1998. Ácaros fitoseídos (Acari: Phytoseiidae) del cultivo de manzano en el nordeste de Portugal. *Bol. San. Veg. Plagas*, **24**: 383-290.
- GARCÍA-MARÍ, F.; FERRAGUT PEREZ, F. & COSTA COMELLES, J. 1994. Curso de Acarología Agrícola. Unidad docente de Entomología Agrícola. Departamento de Producción Vegetal. E.T.S. de Ingenieros Agrónomos. Universidad Politécnica. Valencia. 282 pp.
- IRAOLA, V. M.; MORAZA, M. L. & BIURRUR, R. 1999. Ácaros tetraníquidos (Acari: *Tetranychidae* Berlese) y fitoseídos (Acari: *Phytoseiidae* Berlese) en hojas y cobertura vegetal de perales de Navarra. *Bol. San. Veg.*, **25**: 49-58.
- MIÑARRO, M.; DAPENA, E. & FERRAGUT, F. 2002. Ácaros fitoseídos (Acari: Phytoseiidae) en plantaciones de manzano de Asturias. *Bol. San. Veg. Plagas*, **28**: 287-297.
- PELÁEZ, H.; MORENO, C. M.; MARTÍN, M. C.; SANTIAGO, Y. y BARREDA, D. 2003. Ácaros fitoseídos (Acari: Phytoseiidae) presentes en viñedos de la Meseta Norte. III Congreso Nacional de Entomología Aplicada. IX Jornadas Científicas de la Sociedad Española de Entomología Aplicada. Ávila, 20-24 de octubre de 2003.
- PELÁEZ, H.; MORENO, C. M.; MARTÍN, M. C.; BARRIDA, D.; SANTIAGO, Y.; DE LA IGLESIA, L. 2004. Ácaros en el cultivo de la vid de la D.O. Rueda. *Rev. Oficial del Consejo Regulador de la D.O. Rueda*, **5**: 8-14.
- PÉREZ-MORENO, I. 1998. Ácaros depredadores de la familia Phytoseiidae en los frutales de La Rioja. *Bol. San. Veg. Plagas*, **24**: 167-174.
- PÉREZ-OTERO, R. & MANSILLA VAZQUEZ, P. 2000. Ácaros útiles asociados a los viñedos de la Comunidad de Galicia. *Vida Rural*, **112**: 50-52.
- VILAJELIU, M. & VILARNAU, A. 1992. Viabilidad de las difusiones estivales de los ácaros útiles de la familia Phytoseiidae para el control de la araña roja (*Panonychus ulmi* Koch) en las plantaciones comerciales de manzanos en Girona. *Bol. San. Veg. Plagas*, **18**: 123-132.

(Recepción: 10 febrero 2006)

(Aceptación: 16 enero 2007)





## Efeito de inseticidas químicos e produtos vegetais sobre os parasitóides *Trichogramma pretiosum* e *Trichogramma exiguum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae)

R. T. THULER, S. A. DE BORTOLI, C. L. T. P. VIANA, R. M. GOULART, D. PRATISSOLI

O trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos de dois inseticidas químicos e dois produtos vegetais sobre algumas características biológicas de *T. pretiosum* e *T. exiguum*. Os inseticidas foram: lufenuron, na dosagem de 5 ml/100L de água, e deltametrina, na dosagem de 32 ml/100L de água, e os produtos vegetais: óleo de nim, na concentração de 0,35%, e extrato pirolenhoso, na concentração de 8%, além de água destilada como testemunha. O efeito desses produtos sobre os parasitóides foi obtido através da determinação da seletividade, avaliando-se a ação direta e indireta dos produtos sobre os insetos, utilizando-se uma metodologia adaptada da IOBC/WPRS, levando-se em consideração o contato, exposição e aeração do ambiente. Através dos resultados obtidos foi possível concluir que: a linhagem de *T. pretiosum* é menos prejudicada pelos tratamentos, no entanto, sua eficácia de parasitismo foi menor que a de *T. exiguum*. O óleo de nim e o lufenuron são menos prejudiciais aos parasitóides quando aplicados nos ovos antes do parasitismo, no entanto, sua toxicidade aumenta quando em contato com os ovos, após o parasitismo. O inseticida a base de deltametrina é mais prejudicial para os parasitóides. A adaptação da metodologia da IOBC/WPRS, para análise dos efeitos dos produtos nos parasitóides, mostrou-se eficaz para esse tipo de determinação.

R. T. THULER. Dept. de Fitossanidade, FCAV-UNESP, 14884-900, Jaboticabal-SP.  
r.thuler@pop.com.br.

S. A. DE BORTOLI. Dept. de Fitossanidade, FCAV-UNESP, 14884-900, Jaboticabal-SP.  
bortoli@fcav.unesp.br.

C. L. T. P. VIANA. Dept. de Fitossanidade, FCAV-UNESP, 14884-900, Jaboticabal-SP.  
caciat@bol.com.br.

R. M. GOULART. Dept. de Fitossanidade, FCAV-UNESP, 14884-900, Jaboticabal-SP.  
rm\_goulart@yahoo.com.

D. PRATISSOLI. CCA-UFES, Cx. Postal: 16, 29500-000, Alegre-ES. dirceu@cca.ufes.br.

**Palavras-chave:** Seletividade inseticida, lufenuron, deltametrina, óleo de nim, extrato pirolenhoso.

### INTRODUÇÃO

A família *Trichogrammatidae* reúne as principais espécies de parasitóides de ovos utilizadas em programas de controle biológico no mundo. Segundo HASSAN (1997) e LENTEREN (2000), todos os anos são realizadas liberações de espécies de *Trichogramma* em cerca de 16 milhões de hectares de cultu-

ras anuais e perenes. SMITH (1996) relatou a utilização em 32 milhões de hectares. Os *Trichogrammatídeos* são intensamente estudados em diversas regiões do mundo, sendo que HASSAN *et al.* (1988) enumeraram 28 espécies desses parasitóides, relacionadas a 28 culturas.

Nos últimos 20 anos, no Brasil a área do controle biológico se desenvolveu muito,

motivado principalmente pelo grande número de informações geradas por trabalhos com diferentes espécies de *Trichogramma*. Devido às informações geradas, atualmente são produzidas por ano, entre cinco e dez bilhões de vespas que são liberadas em cerca de 60.000 ha de milho e entre 1.000 e 1.200 ha de tomate e crucíferas (repolho), com perspectiva de aumento nos valores relativos à área onde são empregados os parasitóides (PARRA & ZUCCHI, 2004).

Considerando-se que o controle químico ainda tem sido a prática mais empregada para o controle de diversas pragas, nas mais diversas culturas, e que a utilização desses produtos em muitas ocasiões ainda se faz realmente necessária, alguns métodos têm sido empregados para selecionar produtos menos tóxicos, principalmente no que se refere a inimigos naturais (existentes no local ou introduzidos por liberações).

As determinações de seletividade de inseticidas aos diversos agentes de controle biológico têm sido freqüentemente empregadas seguindo-se os padrões da IOBC/WPRS (1988, 1992). O principal intuito é selecionar produtos fitossanitários que possam ser utilizados em associação com o controle biológico, permitindo a otimização do controle de lepidópteros-praga (CAMPBELL *et al.*, 1991; WETZEL & DICKLER, 1994), e a redução no número de aplicações de inseticidas (ROCHA & CARVALHO, 2004).

Na literatura mundial são encontrados vários trabalhos de seletividade de inseticidas químicos a *Trichogramma*. No Brasil, principalmente na cultura do tomateiro com a espécie *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) (MOURA *et al.*, 2004 e 2005; CARVALHO *et al.*, 2001; 2002 e 2003) e em outros países, em diferentes culturas: com *T. nr. brassicae* parasitando *Helicoverpa* spp. na Austrália (HEWA-KAPUGE *et al.*, 2003) e *T. exiguum* Pinto & Platner (Hymenoptera: Trichogrammatidae) parasitando *Helicoverpa zea* (Boddie) (Lepidoptera: Noctuidae), na Carolina do Norte - EUA (SUH *et al.*, 2000).

Apesar da diversidade de trabalhos encontrados sobre a seletividade de inseticidas químicos a diversas espécies de *Trichogramma*, pouco se sabe sobre a seletividade dos inseticidas naturais como o nim (formulado ou na forma de extrato), que vem sendo extensivamente utilizados no controle de pragas, principalmente em campos olerícolas, no Brasil. Testes com formulados de nim e *T. minutum* indicaram total compatibilidade entre os mesmos (LYONS *et al.*, 2003). Entretanto, no Brasil, avaliações do efeito de extratos de meliáceas sobre *T. pretiosum* mostraram que o parasitóide é sensível ao extrato aquoso de nim (10%), mas o mesmo não acontece com os extratos aquoso e clorofórmico da espécie vegetal *Trichilia pallida* (GONÇALVES-GERVÁSIO & VENDRAMIM, 2004).

Devido ao pequeno número de informações nesse aspecto e a necessidade de se conhecer um pouco mais sobre os diversos efeitos advindos da utilização de produtos, juntamente com a utilização do parasitóide de ovos *Trichogramma*, foram avaliados os efeitos de dois inseticidas químicos em comparação com dois produtos naturais, sobre algumas características biológicas de *T. pretiosum* e *T. exiguum*.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Biologia e Criação de Insetos (LBCI), da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista (FCAV-UNESP), Jaboticabal-SP, sob temperatura de  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ , umidade relativa de  $70 \pm 10\%$  e fotofase de 14 horas. As espécies do parasitóide de ovos *T. pretiosum*, linhagem Tp-8, e *T. exiguum*, linhagem Te-1, utilizadas na experimentação, são parte da coleção de *Trichogramma* do Laboratório de Entomologia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo (LE-CCA/UFES), e a manutenção da criação dos parasitóides no LBCI seguiu os padrões daquele laboratório.

Foram utilizados, como tratamentos, os inseticidas químicos Match 50CE (lufenu-

ron), na dosagem de 5 ml/100L de água, e Decis 25CE (deltametrina), na dosagem de 32 ml/100L de água, e os produtos vegetais Organic Neem (óleo de nim), na concentração de 0,35%, e Biopiról (extrato pirolenhoso), na concentração de 8%, além de água destilada como testemunha. Essas concentrações foram definidas em testes anteriores, utilizando-se aquelas que causam 100% de mortalidade para *Plutella xylostella*, inseto alvo das pesquisas no LBCI.

O efeito dos referidos produtos sobre *T. pretiosum* e *T. exiguum* foi obtido através da determinação da seletividade, avaliando-se a ação direta e indireta dos produtos sobre os insetos.

Utilizou-se a metodologia proposta por THULER (2006), baseada no modelo da

IOBC/WPRS, utilizando-se os preceitos: contato, exposição e circulação contínua de ar no ambiente. Nesta metodologia, para a maior precisão do teste, as fêmeas são individualizadas em tubos de Duran, acoplados à mini-câmaras de exaustão (Figura 1 A, B, C e D).

Para análise da seletividade aos parasitóides (ação direta) foram cortadas tiras de cartolina da cor azul celeste (0,4 x 2,0 cm) e em uma área de 0,2 cm<sup>2</sup> dessas tiras, foram colados com goma arábica (35%), aproximadamente 100 ovos do hospedeiro *Anagasta kuehniella* (Figura 2A e B). Vinte cartelas foram imersas em cada solução dos produtos (Figura 2C), por 5 segundos, e, após secagem em capela de exaustão, foram expostas à oviposição por uma fêmea do parasitóide

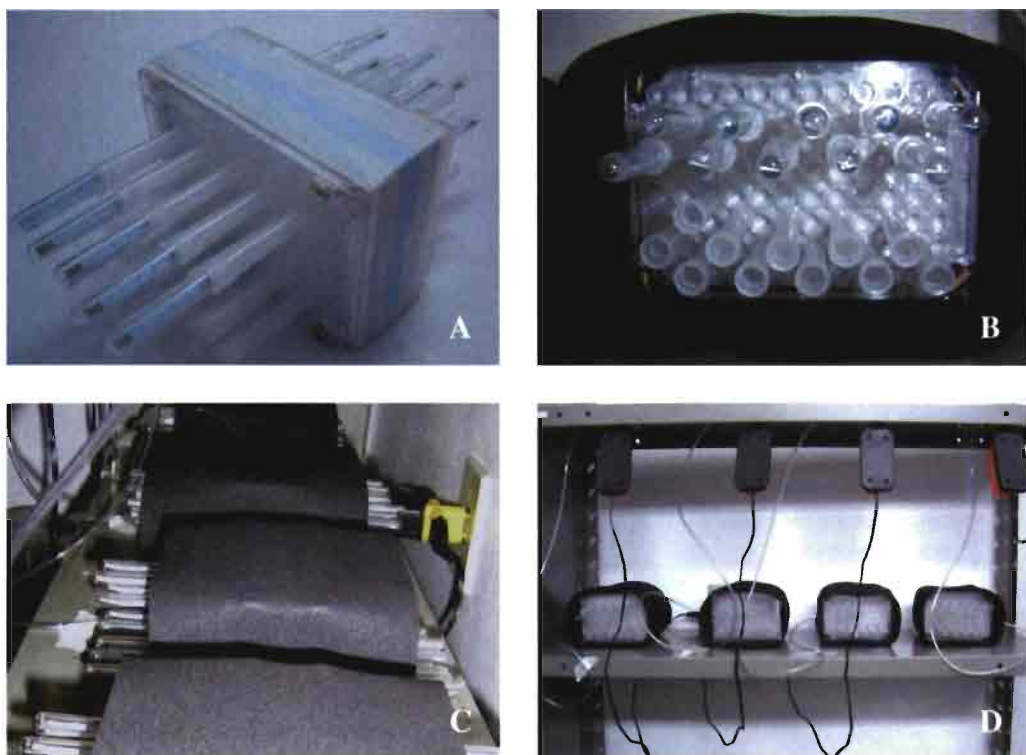


Figura 1. A) Visão interna da mini-câmara de exaustão; B) Ponteiras acopladas às células da placa ELISA®, e tubos de Duran acoplados às ponteiras; C) Visão lateral do conjunto de mini-câmaras (borracha de EVA preta); D) Aeração - visão das mini-câmaras (abaixo) acopladas aos compressores de ar (acima) por pequenas mangueiras de borracha.

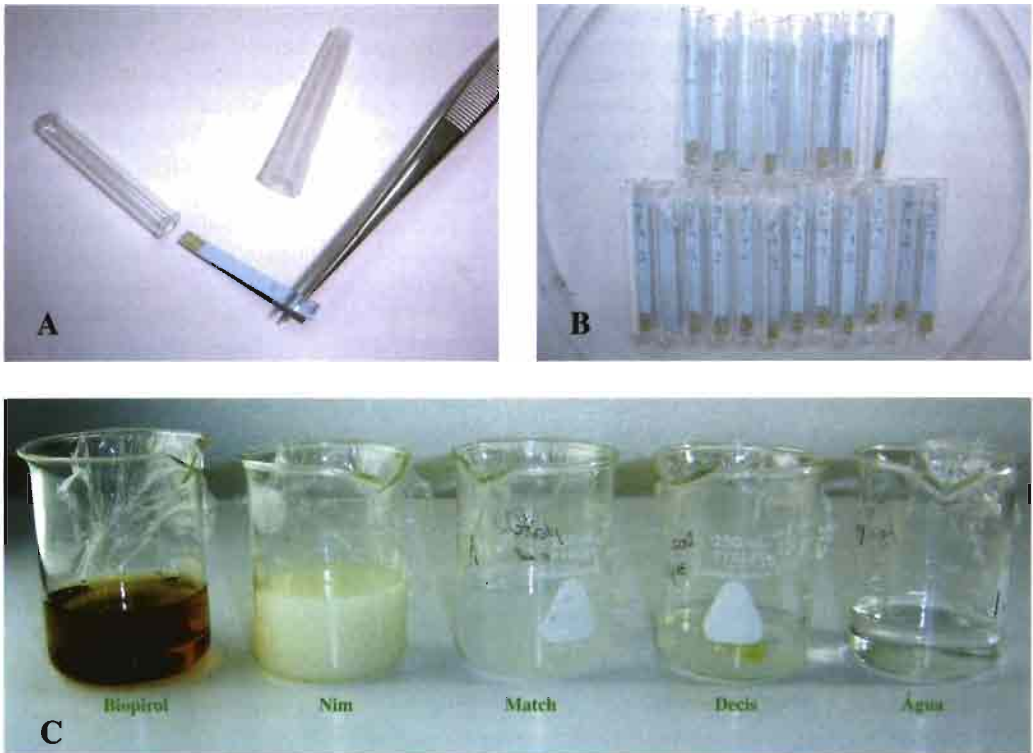


Figura 2. A) Cartela com ovos de *Anagasta kuehniella* colados, sendo inserida no tubo de Duran; B) Cartelas e fêmeas isoladas nos tubos, de um dos tratamentos; C) Soluções dos produtos.

durante 24 h, sendo este processo realizado para as espécies *T. pretiosum* e *T. exiguum*, na geração F1. Nos referidos tratamentos, nas primeiras 24 h após a emergência dos adultos, tiras de cartolina com ovos do hospedeiro, idênticas às citadas anteriormente, foram oferecidas aos descendentes, por 24 h, para avaliação da geração F2.

Nos testes de seletividade aos parasitóides (ação indireta), tiras de cartolina com ovos do hospedeiro, idênticas às citadas acima (porém sem contaminação pelos inseticidas) foram expostas ao parasitismo por fêmeas de *T. pretiosum* e *T. exiguum*, individualizadas em tubos de Duran que foram fechados com filme plástico, mantendo-se assim por 24 h. Posteriormente, as fêmeas foram eliminadas e as tiras de cartolina retiradas dos tubos foram imersas em soluções dos inseticidas,

como citado anteriormente. As tiras de cartolina contaminadas com os inseticidas foram colocadas em condição ambiente para secagem e depois inseridas novamente nos tubos de Duran, que foram acoplados nas mini-câmaras de exaustão e mantidos, por 24 h, com circulação de ar contínua. Nos referidos tratamentos, nas primeiras 24 h após a emergência dos adultos, tiras de cartolina com ovos do hospedeiro, idênticas às citadas anteriormente, foram expostas ao parasitismo pelos descendentes, por 24 h, para avaliação da geração F2. Em ambos os testes foi utilizada uma mini-câmara de exaustão por tratamento, para evitar a interferência entre produtos, como preconizado por THULER (2006).

Para a seletividade, tanto na ação direta como indireta, avaliou-se o número de ovos

parasitados, a porcentagem de parasitismo e a longevidade (dias) das gerações F1 e F2 das espécies citadas. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (teste F, nas probabilidades indicadas) e confrontados pelo teste de Tukey (p = 0,05).

**RESULTADOS E DISCUSSÃO**

A ação direta e indireta de inseticidas químicos e produtos vegetais foram avaliadas para *T. exiguum* e *T. pretiosum*, nas gerações F1 e F2. Quanto à ação direta o número de ovos parasitados por *T. exiguum* foi afetado negativamente, principalmente pela deltametrina, reduzindo-o 18,35 vezes em relação à testemunha, seguido pelo extrato pirolenhoso (3,37 vezes). O óleo de nim e o lufenuron não influenciaram o número de ovos parasitados (Tabela 1).

Deltametrina afetou também a emergência de *T. exiguum*; apenas 41,2% das formas imaturas atingiram a fase adulta, enquanto para a longevidade, o lufenuron foi o único a provocar uma redução, para 3,6 dias (Tabela 1).

*T. pretiosum*, apesar de apresentar menor número médio de ovos parasitados, mostrou-se mais “resistente” aos produtos, que *T. exiguum*. Apenas deltametrina influenciou negativamente o número médio de ovos parasitados por *T. pretiosum*, que foi 18,67 vezes menor que na testemunha. Adicionalmente nesse tratamento não foi possível avaliar a longevidade, devido ao pequeno número de descendentes (Tabela 2).

Para a porcentagem de emergência de *T. pretiosum*, novamente o tratamento mais prejudicial foi deltametrina, seguido por lufenuron e extrato pirolenhoso, respectivamente (Tabela 3).

Tabela 1. Seletividade (ação direta) de inseticidas químicos e produtos vegetais, medida pelo número de ovos parasitados, % de emergência e longevidade (±IC), da geração F1 de *Trichogramma exiguum*, em ovos de *Anagasta kuehniella* tratados por imersão.

Tratamentos	Nº de ovos parasitados/fêmea	Emergência (%)	Longevidade (dias)
Testemunha	31,2 ± 3,56 a	96,7 ± 2,13 a	5,0 ± 0,65 a
deltametrina	1,7 ± 1,13 d	41,2 ± 20,83 b	-
leo de nim	20,9 ± 1,83 a	85,6 ± 3,10 a	4,8 ± 0,64 a
lufenuron	20,9 ± 2,97 a	84,4 ± 3,44 a	3,6 ± 0,44 b
extrato pirolenhoso	9,2 ± 1,86 c	97,8 ± 2,21 a	-
C.V. (%)	29,81	27,10	21,97
d.m.s. (5%)	4,8842	19,35483	1,0885

\*Médias seguidas pela mesma letra na coluna, não diferem entre si, Tukey (P = 0,05).

Tabela 2. Seletividade (ação direta) de inseticidas químicos e produtos vegetais, medida pelo número de ovos parasitados, porcentagem de emergência e longevidade (±IC), da geração F1 de *Trichogramma pretiosum*, em ovos de *Anagasta kuehniella* tratados por imersão.

Tratamentos	Nº de ovos parasitados/fêmea	Emergência (%)	Longevidade (dias)
Testemunha	16,8 ± 1,63 a	85,2 ± 9,91 ab	2,5 ± 0,44 a
deltametrina	0,9 ± 0,53 b	43,7 ± 21,88 c	-
óleo de nim	16,3 ± 1,27 a	92,1 ± 3,20 a	2,0 ± 0,72 a
lufenuron	17,3 ± 2,09 a	65,4 ± 7,50 bc	1,9 ± 0,74 a
extrato pirolenhoso	17,9 ± 1,93 a	85,9 ± 8,8 ab	1,7 ± 0,30 a
C.V. (%)	26,04	36,77	46,19
d.m.s. (5%)	3,1806	24,1111	1,1270

\*Médias seguidas pela mesma letra na coluna, não diferem entre si, Tukey (P = 0,05).

Os dados da geração  $F_1$  confirmam o observado por outros autores, para as diferentes características biológicas de *T. exiguum* e *T. pretiosum*, apesar do pequeno número de informações, encontrados para a primeira espécie.

Para *T. exiguum*, o inseticida à base de lambda cyhalothrin reduziu a porcentagem de emergência de 99% (testemunha) para 1,4 (SUH *et al.*, 2000); enquanto para *T. pretiosum*, a deltametrina reduziu tanto a porcentagem de emergência como a longevidade (CARVALHO *et al.*, 2001 e 2003).

Dos poucos dados na literatura, relativos ao efeito de produtos vegetais sobre *Trichogramma*, GONÇALVES-GERVÁSIO & VENDRAMIM (2004) observaram a interferência negativa do extrato aquoso de nim (10%), sobre todas as fases de desenvolvimento de *T. pretiosum*, além de sugerirem a existência de

ação repelente neste extrato, o que não foi observado nessa pesquisa, com a formulação comercial de óleo de nim (Organic Neem®). Esses resultados condizem com os observados por LYONS *et al.* (2003) que, avaliando o efeito de duas formulações comerciais de óleo de nim, também não encontraram efeito sobre a emergência e razão sexual de *T. minutum*.

Não foi possível medir a ação da deltametrina e do extrato pirolenhoso na segunda geração de *T. exiguum*, devido à ausência de indivíduos aptos a realização dos testes. No entanto, as características avaliadas não mostraram diferença significativa para a geração  $F_2$ , oriunda dos tratamentos com o óleo de nim e lufenuron. Esses produtos se mostraram seletivos a esta espécie na geração  $F_1$ .

Para *T. pretiosum* também não foi obtida a geração  $F_2$  do tratamento com deltametrina,

Tabela 3. Número de ovos parasitados por fêmea, porcentagem de emergência e longevidade, ( $\pm$ IC), da segunda geração ( $F_2$ ) de *Trichogramma pretiosum*, em ovos de *Anagasta kuehniella* provenientes do teste de seletividade (ação direta).

Tratamentos	Nº de ovos parasitados/fêmea	Emergência (%)	Longevidade (dias)
Testemunha	-	100,0 $\pm$ 0,00 a	1,6 $\pm$ 0,43 b
deltametrina	-	-	-
óleo de nim	3,9 $\pm$ 0,35 ab	100,0 $\pm$ 0,00 a	3,3 $\pm$ 1,06 ab
lufenuron	4,5 $\pm$ 0,88 a	99,6 $\pm$ 0,55 ab	2,3 $\pm$ 0,51 ab
extrato pirolenhoso	3,1 $\pm$ 0,45 b	84,6 $\pm$ 16,0 b	4,0 $\pm$ 1,31 a
C.V. (%)	31,13	19,01	52,10
d.m.s. (5%)	11,3174	15,1876	1,7575

\*Médias seguidas pela mesma letra na coluna, não diferem entre si, Tukey (P = 0.05).

Tabela 4. Seletividade (ação indireta) de inseticidas químicos e produtos vegetais para *Trichogramma exiguum*, medida pelo número de ovos parasitados, porcentagem de emergência e longevidade, ( $\pm$ IC), da geração maternal ( $F_1$ ), parasitando ovos de *Anagasta kuehniella*.

Tratamentos	Nº de ovos parasitados/fêmea	Emergência (%)	Longevidade (dias)
Testemunha	27,5 $\pm$ 2,31 a	99,8 $\pm$ 0,32 a	3,4 $\pm$ 0,78 b
deltametrina	27,5 $\pm$ 2,47 a	52,5 $\pm$ 8,05 c	2,0 $\pm$ 0,00 c
óleo de nim	9,6 $\pm$ 2,24 b	86,3 $\pm$ 4,5 b	5,2 $\pm$ 0,00 a
lufenuron	26,9 $\pm$ 1,95 a	99,4 $\pm$ 0,80 a	1,0 $\pm$ 0,47 d
extrato pirolenhoso	29,0 $\pm$ 2,06 a	99,1 $\pm$ 1,02 a	2,0 $\pm$ 0,00 c
C.V. (%)	20,94	10,87	24,51
d.m.s. (5%)	4,4465	8,3655	0,8475

\*Médias seguidas pela mesma letra na coluna, não diferem entre si, Tukey (P = 0.05).

pois o número de descendentes não foi suficiente para a realização dos testes. No entanto, avaliando-se o número de ovos parasitados/fêmea na geração  $F_2$  oriunda do tratamento com extrato pirolenhoso, observou-se o menor valor ( $3,1 \pm 0,45$ ). O mesmo aconteceu para a porcentagem de emergência, que foi reduzida em relação à testemunha. Esses resultados demonstram o efeito negativo do extrato pirolenhoso para a espécie *T. pretiosum*, apesar desse efeito não ter sido observado na geração maternal ( $F_1$ ). A longevidade, no entanto, apresentou um aumento no tratamento com extrato pirolenhoso, que pode estar relacionado à tentativa de busca, pelo parasitóide, por um hospedeiro mais adequado, ou seja, sem contaminação, para continuação do ciclo deste parasitóide (Tabela 3).

Apesar desses resultados observados, é importante chamar a atenção que em relação à geração  $F_1$ , dos tratamentos de seletividade (ação direta), todos os valores para as características biológicas observadas foram bem reduzidos, podendo esse fator estar relacionado a pouca disponibilidade de ovos do hospedeiro para um número elevado de parasitóides emergidos da geração  $F_2$ . Isso se confirma pela observação na literatura de que efeitos de inseticidas químicos, de vários grupos, sobre a geração  $F_2$  de *T. pretiosum* não são comuns (CARVALHO *et al.*, 2001, 2002 e 2003; MOURA *et al.*, 2004 e 2005), não sendo, também, encontrados relatos da

ação de produtos vegetais sobre a descendência deste parasitóide.

Na avaliação da ação dos inseticidas químicos e produtos vegetais em ovos parasitados por *T. exiguum* (ação indireta), a partir do número de ovos parasitados na geração  $F_1$ , o tratamento com o óleo de nim foi o único prejudicial, reduzindo esse número para 9,6. Deltametrina e óleo de nim foram os tratamentos que mais afetaram a porcentagem de emergência de *T. exiguum*, no entanto, a longevidade foi aumentada somente pelo óleo de nim (Tabela 4). É importante analisar esses resultados em comparação com os observados na tabela 1, onde o óleo de nim mostrou-se seletivo ao parasitóide em questão. A não observância de seletividade na ação indireta indica que a utilização conjunta do óleo de nim com parasitóides pode ser feita, no entanto, a aplicação desse óleo deve ser realizada antes da liberação dos parasitóides e, após essa liberação, deve ser respeitado um período mínimo de dez dias para que o parasitóide possa completar seu ciclo, não ocasionando assim, a mortalidade dos mesmos, pela ação indireta do óleo de nim.

A ação indireta dos produtos para *T. pretiosum* foi menor que para *T. exiguum*, no entanto, a porcentagem de emergência, foi afetada pela deltametrina, lufenuron e óleo de nim. O número de ovos parasitados e a longevidade não foram influenciados pelos tratamentos (Tabela 5). Para a espécie *T. pre-*

Tabela 5. Seletividade (ação indireta) de *Trichogramma pretiosum* a inseticidas químicos e produtos vegetais, medida pelo número de ovos parasitados, porcentagem de emergência e longevidade, ( $\pm 1C$ ), da geração maternal ( $F_1$ ), parasitando ovos de *Anagasta kuehniella*.

Tratamentos	Nº de ovos parasitados/fêmea	Emergência (%)	Longevidade (dias)
Testemunha	16,4 $\pm$ 1,53 a	97,5 $\pm$ 20,5 a	2,5 $\pm$ 0,84 a
deltametrina	13,6 $\pm$ 2,1 a	76,9 $\pm$ 4,94 b	2,2 $\pm$ 0,64 a
óleo de nim	12,2 $\pm$ 2,55 a	85,3 $\pm$ 6,18 b	3,2 $\pm$ 0,65 a
lufenuron	16,3 $\pm$ 1,47 a	84,1 $\pm$ 6,1 b	2,0 $\pm$ 0,70 a
extrato pirolenhoso	14,9 $\pm$ 2,66 a	95,8 $\pm$ 2,45 a	2,4 $\pm$ 0,67 a
C.V. (%)	32,87	13,55	46,19
d.m.s. (5%)	4,2585	10,4891	1,4445

\*Médias seguidas pela mesma letra na coluna, não diferem entre si, Tukey (P = 0.05)

*tiosum*, mesmo sendo menores os efeitos do óleo de nim, a recomendação de utilização é a mesma citada no parágrafo anterior, para a espécie *T. exiguum*.

Os resultados de seletividade (ação indireta), tanto de *T. exiguum* como de *T. pretiosum*, com óleo de nim, confirmam o observado por GONÇALVES-GERVÁSIO & VENDRAMIM (2004) para *T. pretiosum* e divergem das observações de RAGURAN & SINGH (1999), que não verificaram efeito do óleo de nim para *T. chilonis*, mostrando que as espécies alvo desse estudo, são mais suscetíveis aos efeitos do óleo de nim.

Para *T. exiguum* observou-se uma redução no número de ovos parasitados por fêmea da geração F<sub>2</sub>, oriunda do tratamento de seletividade (ação indireta) do lufenuron, e não houve parasitismo no tratamento com óleo de nim. A longevidade foi afetada apenas

pelo tratamento com o lufenuron (Tabela 6). Novamente, com a observação desses resultados pode-se verificar a alta suscetibilidade da espécie *T. exiguum* ao óleo de nim, uma vez que parasitóides oriundo de ovos contaminados com o óleo geraram descendentes incapazes de parasitar ovos saudáveis do hospedeiro. Dessa forma, deve-se proceder com cautela na utilização dessa espécie em programas integrados de manejo de pragas.

Na geração F<sub>2</sub> de *T. pretiosum*, com descendentes dos tratamentos para verificação da seletividade (ação indireta), a porcentagem de emergência não sofreu alteração, no entanto, o número de ovos parasitados por fêmea foi menor para os descendentes dos tratamentos com lufenuron e extrato pirolenhoso. A longevidade foi afetada em todos os tratamentos, sendo aumentada nos descendentes do tratamento com lufenuron, e redu-

Tabela 6. Número de ovos parasitados por fêmea, porcentagem de emergência, e longevidade ( $\pm$ IC), da segunda geração (F<sub>2</sub>) de *Trichogramma exiguum*, em ovos de *Anagasta kuehniella*, provenientes do teste de seletividade (ação indireta).

Tratamentos	Nº de ovos parasitados/fêmea	Emergência (%)	Longevidade (dias)
Testemunha	-	99,5 $\pm$ 0,43 a	2,5 $\pm$ 0,73 a
deltametrina	3,0 $\pm$ 0,69 a	100,0 $\pm$ 0,00 a	1,0 $\pm$ 0,00 b
óleo de nim	0,0 $\pm$ 0,00 c	-	-
lufenuron	2,1 $\pm$ 0,28 b	100,0 $\pm$ 0,00 a	2,4 $\pm$ 0,67 a
extrato pirolenhoso	2,3 $\pm$ 0,37 ab	99,4 $\pm$ 1,06 a	2,4 $\pm$ 0,89 a
C.V. (%)	57,96	1,31	51,62
d.m.s. (5%)	0,9094	1,0836	1,2905

\*Médias seguidas pela mesma letra na coluna, não diferem entre si, Tukey (P = 0,05).

Tabela 7. Número de ovos parasitados por fêmea, porcentagem de emergência e longevidade ( $\pm$ IC), da segunda geração (F<sub>2</sub>) de *Trichogramma pretiosum* em ovos de *Anagasta kuehniella*, provenientes do teste de seletividade (ação indireta).

Tratamentos	Nº de ovos parasitados/fêmea	Emergência (%)	Longevidade (dias)
Testemunha	-	99,8 $\pm$ 0,24 a	2,9 $\pm$ 0,62 ab
deltametrina	3,0 $\pm$ 0,85 ab	99,4 $\pm$ 0,72 a	2,1 $\pm$ 0,46 b
óleo de nim	3,5 $\pm$ 0,89 a	100,0 $\pm$ 0,00 a	2,2 $\pm$ 0,8 b
lufenuron	2,2 $\pm$ 0,53 b	99,6 $\pm$ 0,70 a	3,9 $\pm$ 0,49 a
extrato pirolenhoso	2,1 $\pm$ 0,33 b	100,0 $\pm$ 0,00 a	2,6 $\pm$ 0,98 ab
C.V. (%)	57,89	1,05	40,97
d.m.s. (5%)	1,3101	0,9218	1,4270

\*Médias seguidas pela mesma letra na coluna, não diferem entre si, Tukey (P = 0,05).



zida nos tratamentos com deltametrina e óleo de nim (Tabela 7). Essas observações demonstram que a espécie *T. pretiosum*, que vem sendo amplamente estudada e utilizada em várias situações de campo, no controle de diversas pragas, apresenta menor suscetibilidade a produtos químicos e vegetais.

Os resultados, positivo na ação direta e negativo na ação indireta do lufenuron, sobre os parasitóides, em alguns casos, podem estar relacionados ao seu modo de ação, já que o produto atua na cutícula, inibindo a formação de quitina nas formas jovens e não afetando, portanto, a fase adulta, como sugerido por CARVALHO *et al.*, (2003). O mesmo pode ser sugerido para os efeitos provocados pelo óleo de nim, pois esse produto apresenta efeitos similares aos inibidores de quitina.

O contato das fêmeas das duas espécies de *Trichogramma* com os diferentes produtos, não ocasionou mortalidade, num período de 24 h. Dessa forma, provavelmente, a maioria dos tratamentos no teste de seletividade (ação direta) foi repelente aos parasitóides, pois em geral, nos tratamentos em que o número de ovos parasitados foi afetado, não se observaram efeitos negativos sobre a porcentagem de emergência.

Apesar do exposto, quando testados os inseticidas, nos ovos, após o parasitismo pelas fêmeas, a maior parte deles foi prejudicial a alguma das características testadas.

No trabalho, não são apresentados os dados referentes ao número de ovos parasitados por fêmea, nas testemunhas nas tabelas das gerações  $F_2$ , porque, para a realização do teste com a testemunha da ação indireta dos produtos sobre a espécie *T. exiguum*, muitas repetições da geração  $F_1$  não continham o número

de exemplares suficientes para o teste, sendo utilizado para tanto uma fêmea por repetição, caracterizando uma desigualdade para a aplicação das comparações estatísticas. Dessa forma optou-se pela análise apenas entre os tratamentos, excluindo-se a testemunha, após verificar-se que tal procedimento não comprometeria a experimentação.

## CONCLUSÕES

A linhagem de *T. pretiosum* é menos prejudicada pelo uso de inseticidas ou produtos vegetais, no entanto, sua eficácia de parasitismo é menor que a de *T. exiguum*.

O óleo de nim e o lufenuron são menos prejudiciais aos parasitóides, quando aplicados nos ovos antes do parasitismo, no entanto, sua toxicidade aumenta quando em contato com os ovos, após o parasitismo.

O óleo de nim pode ser utilizado em programas de manejo integrado de pragas, juntamente com os parasitóides testados, desde que sua aplicação anteceda a liberação dos parasitóides e a repetição da aplicação seja realizada no mínimo dez dias após a liberação dos parasitóides, para que se complete seu ciclo.

O inseticida a base de deltametrina é o mais prejudicial para os parasitóides.

## AGRADECIMENTOS

À FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo), pela concessão da bolsa de estudos, reserva técnica e auxílio pesquisa para o desenvolvimento deste trabalho, integrante da tese de doutorado do primeiro autor.

## RESUMEN

THULER R. T., S. A. DE BORTOLI, C. L. T. P. VIANA, R. M. GOULART, D. PRATISSOLI. 2007. Efecto de insecticidas químicos y productos vegetales sobre los parasitoides *Trichogramma pretiosum* y *Trichogramma exiguum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Bol. San. Veg. Plagas*, 33: 15-25.

Este trabajo tuvo como objetivo evaluar los efectos de dos insecticidas químicos y de dos productos vegetales sobre algunas características biológicas de *T. pretiosum* y *T. exiguum*. Los insecticidas fueron lufenuron, en dosis de 5 ml/100 l de agua, y deltametrina,

en dosis de 32 ml/100 l de agua. Los productos vegetales fueron aceite de nim, a la concentración de 0.35%, y extracto piroleñoso a la concentración de 8%. Se utilizó como tratamiento testigo agua destilada. El efecto sobre los parasitoides fue obtenido por la determinación de la selectividad, evaluándose la acción directa e indirecta de los productos mediante una metodología adaptada de la IOBC/WPRS que toma en consideración el contacto, la exposición y la aireación del ambiente. Por los resultados obtenidos fue posible concluir que *T. pretiosum* fue menos perjudicada, pero su eficacia de parasitismo fue menor que la de *T. exiguum*. El aceite de nim y el lufenuron son menos perjudiciales para los parasitoides cuando se aplican sobre los huevos antes del parasitismo, mientras que su toxicidad aumenta cuando se aplican después de expuestos a los parasitoides. El insecticida a base de deltametrina es el más perjudicial para los parasitoides. La adaptación de la metodología de la IOBC/WPRS se mostró eficaz para la determinación de los efectos de los productos sobre los parasitoides.

**Palabras clave:** Selectividad insecticida, lufenuron, deltametrina, aceite de nim, extracto piroleñoso.

#### ABSTRACT

THULER R. T., S. A. DE BORTOLI, C. L. T. P. VIANA, R. M. GOULART, D. PRATISSOLI. 2007. Effect of chemical insecticides and vegetable products on the *Trichogramma pretiosum* and *Trichogramma exiguum* parasitoids (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Bol. San. Veg. Plagas*, **33**: 15-25.

The objective of this work was to evaluate the effect of two chemical insecticides and two vegetal products, on *T. pretiosum* and *T. exiguum* biological characteristics. The insecticides were: lufenuron (5 ml/100L water), and deltamethrin (32 ml/100L water), and the vegetal products were: neem oil (0.35%), and pyroligneous extract (8%), and check (distilled water) as witness. The effects of these products on parasitoids were obtained through the selectivity determination, evaluating the direct and indirect action, being used an adaptation of IOBC/WPRS methodology, considering the contact, exposition and aeration of the environment. By the results it was possible to conclude that: *T. pretiosum* strain is less susceptible to the treatments, however, its parasitism effectiveness was smaller than *T. exiguum*. The neem oil and lufenuron are less harmful to the parasitoids when applied in eggs before the parasitism, however, its toxicity increase when in contact with the eggs, after the parasitism. The insecticide deltamethrin is the most harmful for the parasitoids. The IOBC/WPRS methodology adaptation was effective to study the products effects on the parasitoids.

**Key words:** Insecticidal selectivity, lufenuron, deltamethrin, neem oil, pyroligneous extract.

#### REFERÊNCIAS

- CAMPBELL, C. D.; WALGENBACH, J. F.; KENNEDY, G. G. 1991. Effect of parasitoids on lepidopterous pests in insecticide-treated and untreated tomatoes in western North Carolina. *J. Econ. Entomol.*, **84**(6): 1662-1667.
- CARVALHO, G. A.; PARRA, J. R. P.; BAPTISTA, J. C. 2003. Efeito de produtos fitossanitários utilizados na cultura do tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill.) sobre *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 nas gerações f1 e f2 em ovos de *Anagasta kuehniella* (Zeller, 1879). *Cienc. Agrotec.*, **27**(2): 295-304.
- CARVALHO, G. A.; PARRA, J. R. P.; BAPTISTA, J. C. 2001. Seletividade de alguns produtos fitossanitários a duas linhagens de *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Cienc. Agrotec.*, **25**(3): 583-591.
- CARVALHO, G. A.; REIS, P. R.; MORAES, J. C.; FUINI, L. C.; ROCHA, L. C. D.; GOUSSAIN, M. M. 2002. Efeitos de alguns inseticidas utilizados na cultura do tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill.) a *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Cienc. Agrotec.*, **26**(6): 1160-1166.
- GONÇALVES-GERVÁSIO, R. C. R.; VENDRAMIM, J. D. 2004. Efeito de extratos de meliáceas sobre o parasitóide de ovos *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Neotrop. Entomol.*, **33**(5): 607-612.
- HASSAN, S. A. 1997. Métodos padronizados para testes de seletividade com ênfase em *Trichogramma*. In: PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A. (eds) *Trichogramma e o controle biológico aplicado*. Piracicaba: FEALQ, 207-233.

- HASSAN, S. A.; KOLHER, E.; ROST, W. M. 1988. Mass production and utilization of *Trichogramma*: 1. Control of the codling moth, *Cydia pomonella* and the summer fruit tortrix moth *Adoxophyes orana* (Lep.: Tortricidae). *Entomophaga*, **33**(4): 413-420.
- HEWA-KAPUGE, S.; MCDUGALL, S.; HOFFMANN, A. A. 2003. Effects of methoxyfenozide, indoxacarb, and other insecticides on the beneficial egg parasitoid *Trichogramma* nr. *brassicae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) under laboratory and field conditions. *J. Econ. Entomol.*, **96**(4): 1083-1090.
- INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR BIOLOGICAL CONTROL. WEST PALEARCTIC REGIONAL SECTION. IOBC/WPRS. 1988. Working Group "Pesticides and Beneficial Organisms", guidelines for testing the effects of pesticides on beneficial: short description of test methods. *IOBC/WPRS Bulletin*, **11**: 1-143.
- INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR BIOLOGICAL CONTROL. WEST PALEARCTIC REGIONAL SECTION. IOBC/WPRS. Working Group "Pesticides and Beneficial Organisms", guidelines for testing the effects of pesticides on beneficial: short description of test methods. *IOBC/WPRS Bulletin*, **11**: 1-186, 1992.
- LENTEREN, J. C. VAN. 2000. Success in biological control of arthropods by augmentation of natural enemies. In: Bellows Jr., T. S.; Wratten, S. (Ed.), *Biological control. Measures of success*. Dordrecht, Kluwer Academic Publishing, 77-103.
- LYONS, D. B.; HELSON, B. V.; BOURCHIER, R. S.; JONES, G. C.; MCFARLANE, J. W. 2003. Effects of azadirachtin-based insecticides on the egg parasitoid *Trichogramma minutum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Can. Entomol.*, **135**(5): 685-695.
- MOURA, A. P.; CARVALHO, G. A.; RIGITANO, R. L. O. 2005. Toxicidade de inseticidas utilizados na cultura do tomateiro a *Trichogramma pretiosum*. *Pesq. Agropec. Brasil.*, **40**(3): 203-210.
- MOURA, A. P.; CARVALHO, G. A.; RIGITANO, R. L. O. Efeito residual de novos inseticidas utilizados na cultura do tomateiro sobre *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Acta Sci. Agron.*, **26**(2): 231-237, 2004.
- PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A. 2004. *Trichogramma* no Brasil: viabilidade de uso após vinte anos de pesquisa. *Neotrop. Entomol.*, **33**(3): 271-282.
- RAGURAN, S.; SINGH, R. P. 1999. Biological effects of neem (*Azadirachta indica*) seed on an egg parasitoid, *Trichogramma chilonis*. *J. Econ. Entomol.*, **92**(6): 1274-1280.
- ROCHA, L. C. D.; CARVALHO, G. A. 2004. Adaptação da metodologia padrão da IOBC para estudos de seletividade com *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em condições de laboratório. *Acta Sci. Agron.*, **26**(3): 315-320.
- SMITH, S. M. 1996. Biological control with *Trichogramma*: advances, successes and potential of their use. *Ann. Rev. of Entomol.*, **41**: 375-406.
- SUH, C. P. C.; ORR, D. B.; VAN DUYN, J. W. 2000. Effect of insecticides on *Trichogramma exiguum* (Trichogrammatidae: Hymenoptera) preimaginal development and adult survival. *J. Econ. Entomol.*, **93**(3): 577-583.
- THULER, R. T. 2006. *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae): táticas para o manejo integrado em brássicas. 79p. Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - UNESP, Jaboticabal.
- WETZEL, C.; DICKLER, E. 1994. Side effects of sulphur and a natural pyrethroid on *Trichogramma dendrolimi* Matsumura (Hym., Trichogrammatidae) in apple orchards. In: VOGT, H. Side-effects of pesticides on beneficial organisms: comparison of laboratory, semi-field and field results. *IOBC/WPRS Bulletin*, **17**(10): 123-132.

(Recepción: 23 mayo 2006)

(Aceptación: 5 diciembre 2006)



## Efeito sub-letal de extratos vegetais aquosos de *Azadirachta indica* A. Juss. e *Sapindus saponaria* L. sobre aspectos biológicos de *Ascia monuste orseis* (Latreille) (Lepidoptera: Pieridae) em couve

C. A. MANFRÉ MEDEIROS, A. L. BOIÇA JR, M. ROBLES ANGELINI

Avaliou-se o efeito de extratos aquosos de amêndoas de *Azadirachta indica* A. Juss e frutos de *Sapindus saponaria* L. nas concentrações da CL<sub>50</sub>, 0,0117% e 1,0342% (p/v), respectivamente, sobre a biologia de *Ascia monuste orseis* (Latreille) (Lepidoptera: Pieridae). Cada disco foi colocado em uma placa de Petri onde em contato com dez lagartas recém-emergidas. Lagartas alimentadas com extrato de *A. indica* prolongaram seu período de desenvolvimento em 2,1 dias, enquanto em *S. saponaria* foi de 1,1 dia em relação à testemunha. A mortalidade larval na testemunha foi de 11% e dos extratos de *A. indica* e *S. saponaria* de 41% e 46%, respectivamente. Esses extratos promoveram prolongamento do período pupal em 0,6 dias. Houve redução de 107,5 mg no peso das pupas para lagartas que se alimentaram com folhas tratadas com *A. indica*. A longevidade dos adultos foi afetada pelos tratamentos, variando de 4,4 dias para *A. indica* até 5,3 dias na testemunha.

C. A. MANFRÉ MEDEIROS, A. L. BOIÇA JR, M. ROBLES ANGELINI. FCAV/UNESP-Jaboticabal – Departamento de Fitossanidade. Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n. CEP:14884-900, Jaboticabal, SP, Brasil. e-mail:cesaramedeiros@ig.com.br; aboicajr@fcav.unesp.br; marinaangelini@fcav.unesp.br

**Palavras-chave:** *S. saponaria*, curuquerê-da-couve, toxicidade, nim, *Brassica oleracea* var. *acephala*.

### INTRODUÇÃO

A couve, *Brassica oleracea* var. *acephala*, destaca-se entre as plantas olerícolas de grande importância na nutrição humana, sendo rica principalmente em cálcio, ferro, vitamina A, niacina e ácido ascórbico (FRANCO, 1960).

Dentre os fatores que podem influenciar na redução da produção das plantas encontram-se os insetos-praga, em especial o curuquerê-da-couve, *Ascia monuste orseis* (Latreille, 1819) (Lepidoptera: Pieridae). Este inseto é considerado uma das pragas-chave da couve, dada a ocorrência de frequentes surtos populacionais frequentes e,

sua voracidade, provocando intensa desfolha nas plantas (NOMURA & YAMASHITA, 1975; VENDRAMIM & MARTINS, 1982; DE BORTOLI *et al.*, 1983; Gallo *et al.*, 2002). Seu controle é realizado principalmente através da aplicação de inseticidas (SALGADO, 1983; GALLO *et al.*, 2002) os quais, quando utilizados de maneira inadequada, podem ocasionar sérios problemas ao homem e ao meio-ambiente (NEVES *et al.*, 1996).

De acordo com RODRÍGUEZ & VENDRAMIM (1997), a utilização de plantas que possuem atividade inseticida como método alternativo de controle de insetos deveu-se principalmente ao desenvolvimento de

resistência dos insetos aos inseticidas organo-sintéticos, à contaminação causada pelos mesmos, à presença de resíduos químicos tóxicos nos alimentos e à intoxicação dos operários aplicadores de inseticidas.

SANTOS *et al.* (1998) sugerem algumas formulações à base de extratos vegetais para o controle de pragas. Estas incluem *Artemisia absinthium* (losna) para o controle de pulgões e cochonilhas, *Allium cepa* (cebola) para controle de percevejos, *Piptadenia macrocarpa* (angico) para o controle de lagartas, *Sapindus saponaria* (sabão-de-soldado) para o controle do caruncho do feijão, *Ruta graveolens* (arruda) para o controle de pulgões, além de algumas ervas aromáticas como hortelã, orégano, manjericão, mangeronna, coentro, sálvia, alfavaca e outras por serem repelentes a alguns insetos quando em polvilhamento ou pulverizações.

O extrato de acetato de etila de *Trichilia pallida* a 0,001% foi estudado por ROEL & VENDRAMIM (1999) constatando que este afeta o desenvolvimento de *Spodoptera frugiperda*, alongando a fase larval e diminuindo o peso de lagartas e pupas.

Alguns extratos botânicos tem demonstrado eficiência contra o curuquerê do algodoeiro. Em estudos sobre a ação inseticida de extratos vegetais sobre lagartas de *A. monuste orseis* em aplicação tópica e no alimento, SILVA *et al.* (1995) verificaram que os extratos de *Pachyrrizus tuberosus* (éter etílico) e *Piper nigrum* (hexano) causaram 100% de mortalidade após 24 horas da aplicação tópica. Os extratos de *P. tuberosus* (clorofórmio), *P. nigrum* (clorofórmio e metanol), *Deelphinium ajacis* (clorofórmio e hexano) e *Lupinus albus* (clorofórmio) causaram mortalidade entre 60 e 93%. Nas aplicações sobre discos foliares de couve, os extratos mais ativos foram *P. nigrum* (metano, clorofórmio e hexano) com 100%, 96,7% e 83,3% e *P. tuberosus* (éter etílico e clorofórmio) com 70% e 40% de mortalidade, respectivamente.

Extratos aquosos de sementes de nim (*Azadirachta indica*) aplicados em discos foliares de mandioca nas concentrações de 1,0 e 0,75% (peso/volume) causaram morta-

lidade de 72,5 e 37,5%, respectivamente, em *Mononychellus tanajoa* (GONÇALVES *et al.*, 2001). TRINDADE *et al.* (2000) constataram 100% de mortalidade de lagartas da traça-do-tomateiro (*Tuta absoluta*) quando colocadas em contato com folíolos de plantas de tomate tratados com extrato metanólico da amêndoa da semente de nim, nas concentrações de 2000, 4000, 6000 e 8000 mg L<sup>-1</sup>.

Considerando as perdas causadas pelo curuquerê-da-couve, e todos os efeitos secundários ocasionados pelos inseticidas sintéticos, há necessidade de estudar métodos alternativos de controle que se ajustem ao manejo integrado de pragas (MIP), como a utilização de extratos vegetais.

Neste sentido, o objetivo deste trabalho foi avaliar a bioatividade de extratos aquosos de *Azadirachta indica* A. Juss. (nim) e *Sapindus saponaria* L. (sabão-de-soldado), sobre *A. monuste orseis*, em condições de laboratório.

## MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Resistência de Plantas a Insetos situados no Departamento de Fitossanidade da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV) da Universidade Estadual Paulista (UNESP), Campus de Jaboticabal-SP.

### Obtenção das plantas

As folhas de couve, *B. oleracea* var. *acephala* cultivar Georgia, utilizadas no experimento foram obtidas a partir de plantas cultivadas no campo. As sementes foram semeadas em casa de vegetação, em bandejas de isopor de 128 células contendo substrato Plantmax®. As plantas foram transplantadas para canteiro definitivo no campo após 35 dias da semeadura, recebendo tratamentos culturais padrão para a cultura, como adubações e capina. Irrigações por aspersão foram realizadas quando necessário.

### Obtenção dos Insetos

A criação das lagartas foi conduzida em laboratório à temperatura de 25 ± 2°C, umidade relativa de 60 ± 10% e fotofase de 12 horas,

iniciando-se a partir de ovos coletados em culturas de couve e repolho no campo experimental da FCAV – UNESP – Jaboticabal. Os ovos foram acondicionados em placas de Petri contendo papel filtro levemente umedecido. Lagartas recém-emergidas foram transferidas para gaiolas confeccionadas com tubos de PVC de 20 cm de diâmetro e 30 centímetros de altura. Esses tubos foram colocados sobre pratos de PVC e a extremidade superior foi vedada com tecido tipo “voil” preso com elástico para evitar a fuga de lagartas.

As lagartas foram alimentadas com folhas de couve as quais eram substituídas diariamente. Os adultos, após sua emergência, foram liberados em uma gaiola disposta ao ar livre (campo experimental). Esta gaiola possuía as seguintes dimensões: 4 m de comprimento, 2 m de largura e 2 m de altura, sendo forrada com tela anti-afídeo. No interior da gaiola uma solução a base de mel a 10% era oferecida para alimentação dos insetos e um vaso contendo uma planta de couve, para a oviposição. Os ovos foram recolhidos diariamente, recortando-se a parte da folha na qual estavam fixados e destinados à criação em laboratório.

#### Obtenção e preparo dos extratos

Os extratos aquosos utilizados no experimento foram obtidos a partir de amêndoas de plantas de *A. indica* e frutos de *S. saponaria*, pertencentes às famílias Meliaceae e Sapindaceae, respectivamente. Após serem coletadas, as amêndoas foram destinadas à secagem em estufa à temperatura de  $35 \pm 3^\circ\text{C}$ , até peso constante. O material seco foi triturado com auxílio de Moinho Marconi modelo MA6801, obtendo-se um pó uniforme, o qual foi utilizado no preparo de suspensões aquosas. Essas suspensões foram utilizadas posteriormente para obtenção dos extratos nas diferentes concentrações, que foram utilizados como tratamentos.

#### Realização dos bioensaios

##### a) Toxicidade dos extratos vegetais

Para a avaliação do efeito dos extratos vegetais aquosos sobre a biologia de *A.*

*monuste orseis* foram preparadas suspensões com água destilada nas concentrações da  $CL_{50}$  estimadas anteriormente, de 0,0117% e 1,0342% (peso/volume) para *A. indica* e *S. saponaria*, respectivamente. As suspensões foram deixadas em repouso por 24 horas, com o propósito de extrair os compostos hidrossolúveis, sendo posteriormente filtradas utilizando-se tecido tipo “voil”.

Em cada extrato foram imersos discos de folhas de couve de 8 cm de diâmetro, durante um minuto, sendo posteriormente colocados sobre papel toalha ao ar livre, por 30 minutos, para perda do excesso de umidade superficial. Na testemunha utilizou-se apenas água destilada.

Os discos de folhas de couve foram introduzidos em Placas de Petri (9 cm de diâmetro) contendo papel filtro levemente umedecido. Sobre cada disco, foram colocadas dez lagartas recém-emergidas (entre 0 e 12 horas de idade), provenientes dos ovos coletados na gaiola de criação. As placas foram vedadas com fita adesiva para evitar a fuga de lagartas.

A mortalidade das lagartas foi avaliada a cada dois dias, sendo que no quarto dia após o início do experimento, as lagartas foram transferidas para gaiolas constituídas por tubos de PVC, semelhantes às descritas anteriormente para a criação, e alimentadas com folhas de couve sem tratamento, as quais eram trocadas a cada dois dias. Os pecíolos destas folhas foram colocados dentro de um vidro com água com a finalidade de dar sustentação às mesmas e mantê-las túrgidas.

As lagartas foram transferidas de uma folha para outra com auxílio de um pincel, até que se tornassem pupas. À medida que as lagartas se transformavam em pupas, estas foram individualizadas em copinhos de plástico de 100 mL, onde permaneciam até a emergência dos adultos. Os adultos recém-emergidos foram colocados em gaiolas semelhantes às utilizadas na criação das lagartas e mantidos sem alimentação para avaliação da longevidade.

As variáveis biológicas avaliadas foram: viabilidade e duração da fase larval; viabilidade e duração da fase pupal; peso de pupa

com 24 horas de idade, longevidade e deformações dos adultos.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado com três tratamentos (dois extratos vegetais + testemunha) e dez repetições. Os resultados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey ( $\alpha = 0,05$ ).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

As concentrações dos extratos vegetais aquosos utilizados afetaram aspectos biológicos da *A. monuste orseis*. Os efeitos negativos dos extratos foram observados em praticamente todos as variáveis avaliadas, causando danos desde a fase larval até adultos.

Lagartas alimentadas com folhas imersas no extrato de *A. indica* apresentaram prolongamento do período de desenvolvimento de 2,1 dias, significativamente maior que o observado no tratamento testemunha, no qual os discos de folhas de couve foram tratados apenas com água destilada. As lagartas alimentadas com o extrato de *S. saponaria* apresentaram valores intermediários, com prolongamento de 1,1 dia (Tabela 1).

Este prolongamento da fase larval também foi observado por RODRÍGUEZ & VENDRAMIM (1997) em lagartas de *S. frugiperda*, quando submetidas a extratos aquosos de *Cedrela odorata* (caules), *Trichilia clausenii* (caules), *Swietenia macrophylla* (folhas), *Toona ciliata* (folhas) e *Melia azedarach* (frutos). Os autores citam que o prolongamento da fase larval está relacionado, geral-

mente, com a menor ingestão de alimento devido à presença de substâncias deterrentes ou por ocorrer desequilíbrio nutricional. Assim, a campo, o crescimento lento das lagartas pode resultar em menor consumo de alimento, ocasionando menor dano nas plantas, além de deixar as lagartas expostas aos inimigos naturais por um maior período.

TORRES *et al.* (2001) verificaram que a fase larval de *Plutella xylostella* também apresentou prolongamento de 3,5 e 1,7 dias quando alimentadas com folhas de couve tratadas com extratos aquosos de *M. azedarach* e *Cissampelos aff. glaberrima*, respectivamente. BRUNHEROTTO & VENDRAMIM (2001) constataram que extratos aquosos a 0,1% de folhas, ramos, frutos verdes e frutos maduros de *M. azedarach* prolongaram a fase larval de *T. absoluta*.

As mortalidades larvais ficaram entre 40 e 50% para os extratos utilizados, como foi esperado, pois os testes foram feitos baseados nas concentrações de CL<sub>50</sub> para cada extrato. A mortalidade na testemunha foi de 11% e nos tratamentos contendo extratos de *A. indica* e *S. saponaria* de 41% e 46%, respectivamente (Tabela 1). Um ponto importante a ser destacado é que as concentrações dos extratos utilizadas para obter as mortalidades foram concentrações relativamente baixas, demonstrando o elevado potencial destes extratos para o controle de *A. monuste orseis*. Dessa forma, uma pequena quantidade do produto seria suficiente para o controle da praga, podendo ser um método econômico e fácil no manejo dos insetos.

Tabela 1. Médias ( $\pm$  EP<sup>1</sup>) da duração e mortalidade da fase larval de *A. monuste orseis* criadas em folhas de couve submetidas a aplicação de extratos vegetais aquosos. Temperatura 25  $\pm$  2 °C; Umidade relativa: 60  $\pm$  10%; fotofase: 12 horas.

Tratamentos	Duração (dias) <sup>2</sup>	Mortalidade (%) <sup>2,3</sup>
Testemunha	13,7 $\pm$ 0,10 b	11 $\pm$ 2,21 b
<i>A. indica</i>	15,8 $\pm$ 0,50 a	41 $\pm$ 3,86 a
<i>S. saponaria</i>	14,8 $\pm$ 0,29 ab	46 $\pm$ 6,81 a
F (tratamento)	8,79 **	16,84 **

<sup>1</sup> EP = Erro Padrão

<sup>2</sup> Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

<sup>3</sup> Para a análise os dados foram transformados em arco-seno  $\sqrt{P/100}$ .



Em relação ao período pupal, houve diferença significativa entre os tratamentos. Os dois extratos testados apresentaram um prolongamento de 0,6 dia em relação à testemunha, a qual teve duração média de 6,8 dias (Tabela 2). RODRÍGUEZ & VENDRAMIM (1997) também encontraram um prolongamento da fase pupal em 0,6 dia para extratos aquosos de folhas de *Guarea macrophylla* e *S. macrophylla* e de 0,5 dia para sementes de *C. odorata*, em relação à *S. frugiperda*.

BRUNHEROTTO & VENDRAMIM (2001) também verificaram que pupas de *T. absoluta*, provenientes de lagartas alimentadas com folhas de tomateiro tratadas com extrato de folhas de *M. azedarach* apresentaram prolongamento de 1,3 dias em relação à testemunha.

Quanto ao peso das pupas, apenas no tratamento onde as lagartas se alimentaram com discos de folhas tratadas com *A. indica* houve diferença significativa em relação à testemunha. As pupas oriundas do tratamento com *A. indica* apresentaram redução média no peso de 107,5 mg, quando comparadas à testemunha, com peso médio de 402,8 mg (Tabela 2). O tratamento com extrato de *S. saponaria* não diferiu da testemunha. THOMAZINI *et al.* (2000) verificaram que pupas de *T. absoluta* também apresentaram redução do peso quando as lagartas foram alimentadas com folhas de tomate tratadas com extratos aquosos de folhas de *T. pallida*.

Essa redução de peso também foi constatada por RODRÍGUEZ & VENDRAMIM (1997) em pupas de *S. frugiperda*, comentando que esse menor peso das pupas indica menor consumo de alimento ou menor eficiência de conversão do alimento ingerido, possivelmente devido à presença de deterrentes ou ausência de fagoestimulantes. Dessa maneira, pupas com menor peso darão origem a adultos menores e mais fracos, com menor capacidade de competição para as atividades vitais da espécie.

O extrato de *A. indica* causou a mortalidade de 8,9% das pupas, porém não diferiu dos outros tratamentos (Tabela 2). Além destas pupas mortas, também constatou-se neste tratamento a presença de dois adultos defeituosos, sem a capacidade de realizarem as funções vitais da espécie.

A longevidade dos adultos também foi afetada pelos extratos aquosos, havendo diferença significativa entre os tratamentos, variando de 4,4 dias para *A. indica* até 5,3 dias na testemunha, apresentando uma redução no tempo de vida dos adultos em 0,9 dia no tratamento onde as lagartas se alimentaram com *A. indica*. O tratamento com *S. saponaria* apresentou valores intermediários (Tabela 3).

Essa redução do tempo de vida dos adultos é importante porque poderá reduzir o número de ovos colocados e, conseqüentemente haver uma redução do número de indivíduos nas gerações seguintes, contribuindo para a redução e controle da população da praga.

Tabela 2. Médias ( $\pm$  EP)<sup>1</sup> da duração, peso com 24 horas de idade e mortalidade de pupas de *A. monuste orseis* criadas em folhas de couve submetidas a aplicação de extratos vegetais aquosos. Temperatura 25  $\pm$  2 °C; Umidade relativa: 60  $\pm$  10%; fotofase: 12 horas.

Tratamentos	Duração (dias) <sup>2</sup>	Peso <sup>2</sup> (mg)	Mortalidade <sup>2, 3</sup> (%)
Testemunha	6,8 $\pm$ 0,08 b	402,8 $\pm$ 5,65 a	0,0 a
<i>A. indica</i>	7,4 $\pm$ 0,11 a	295,3 $\pm$ 13,72 b	8,9 $\pm$ 5,03 a
<i>S. saponaria</i>	7,4 $\pm$ 0,19 a	384,9 $\pm$ 7,08 a	0,0 a
F (tratamento)	7,04 * *	33,11 * *	3,44 *

<sup>1</sup> EP = Erro Padrão

<sup>2</sup> Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

<sup>3</sup> Para a análise os dados foram transformados em arco-seno  $\sqrt{P/100}$ .

Tabela 3. Longevidade média ( $\pm$  EP<sup>1</sup>) de adultos de *A. monuste orseis* oriundos de lagartas criadas em folhas de couve submetidas a aplicação de extratos vegetais aquosos. Temperatura  $25 \pm 2$  °C; Umidade relativa:  $60 \pm 10\%$ ; fotofase: 12 horas.

Tratamentos	Longevidade (dias) <sup>2</sup>
Testemunha	5,3 $\pm$ 0,08 a
<i>A. indica</i>	4,4 $\pm$ 0,18 b
<i>S. saponaria</i>	4,8 $\pm$ 0,22 ab
F (tratamento)	5,27 *

<sup>1</sup> EP = Erro Padrão

<sup>2</sup> Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Comparando-se os fatores avaliados neste experimento pode-se constatar que houve uma correlação entre eles, ou seja, no tratamento onde o período da fase larval foi maior, observou-se também um período da fase pupal maior e inversamente, uma redução no peso das pupas e redução no período da fase adulta.

Os resultados obtidos no experimento demonstram que os extratos aquosos testados são promissores no controle de *A. monuste orseis*. No entanto, alguns autores têm mostrado que a eficácia dos extratos pode variar com o solvente utilizado na extração das substâncias bioativas. Esse fato foi constatado por SILVA *et al.* (1995) que, estudando a ação inseticida de extratos vegetais sobre lagartas de *A. monuste orseis* aplicados sobre discos de folhas de couve, verificaram esta diferença nos extratos de *P. nigrum* (metano, clorofórmio e hexano) com 100%, 96,7% e 83,3% e *P. tuberosus* (éter etílico, clorofórmio e éter petróleo) com 70%, 40% e 0% de mortalidade, respectivamente. ROEL *et al.* (2000) concluíram que a maior atividade tóxica dos extratos de *T. pallida* (folhas e ramos) foi obtida com a extração por acetona, seguindo-se o metanol, o acetato de etila e o hexano, em relação à lagarta-do-cartucho *S. frugiperda*.

Analisando as duas plantas testadas neste experimento, pode-se verificar que *A. indica* apresenta melhores resultados que *S. saponaria*, causando por exemplo, mortalidade de pupas e adultos defeituosos, além da concentração utilizada no experimento ser relativamente menor.

O extrato de *S. saponaria*, aparentemente, apresenta um efeito mais rápido sobre a fase larval do curuquerê-da-couve, ou seja, um efeito imediato e não cumulativo, provocando maior mortalidade logo nos dois primeiros dias após a ingestão do extrato pelas lagartas. O extrato de *A. indica* apresenta um efeito mais prolongado e cumulativo, demorando mais para causar a morte das lagartas e afetando também as fases subsequentes à fase larval.

Os resultados obtidos neste trabalho, como aumento dos períodos larval e pupal e redução do peso de pupas e da longevidade dos adultos de *A. monuste orseis*, demonstram que as plantas estudadas afetam negativamente a biologia e possuem grande potencial para o controle dessa praga. Porém, estudos complementares, principalmente em condições de campo, devem ser realizados, além de outros métodos de extração dos princípios ativos existentes nessas plantas.

#### RESUMEN

C. A. MANFRÉ MEDEIROS, A. L. BOIÇA JR, M. ROBLES ANGELINI. 2007. Efectos sub-letales de extractos vegetales acuosos de nim (*Azadirachta indica* A. Juss.) y jabón de soldado (*Sapindus saponaria* L.) sobre los aspectos biológicos de *Ascia monuste orseis* (Latreille) (Lepidoptera: Pieridae) en col. *Bol. San. Veg. Plagas*, **33**: 27-34.

Fueron evaluados los efectos de extractos acuosos de almendras de *Azadirachta indica* A. Juss y frutos de *Sapindus saponaria* L. en las concentraciones de  $CL_{50}$ , 0.0117% y 1.0342% (p/v), respectivamente, sobre la biología de *Ascia monuste orseis* (Latreille) (Lepidoptera: Pieridae). Cada disco fue colocado en una placa de Petri en contacto con diez lagartas recién emergidas. Las lagartas alimentadas con extrato de *A. indica* prolongaron su período de desarrollo en 2,1 días, de otro lado, en *S. saponaria* aumentó 1,1 días en relación al grupo control. La mortalidad en la fase larval en el grupo control fue de 11%, y en los tratamientos con extractos de *A. indica* y *S. saponaria* fue de 41% y 46%, respectivamente. Estos extractos promovieron la prolongación del período pupal en 0,6 días. Hubo una reducción de 107,5 mg en el peso de las pupas para lagartas que se alimentaron con hojas tratadas con *A. indica*. La longevidad de los adultos se vio afectada por los tratamientos, variando de 4,4 días para *A. indica* hasta 5,3 días en el grupo control.

**Palabras clave:** *S. saponaria*, gusano de la col, toxicidad, nim, *Brassica oleracea* var. *acephala*.

#### ABSTRACT

MANFRÉ MEDEIROS C. A., A. L. BOIÇA JR, M. ROBLES ANGELINI. 2007. Sub-lethal effect of aqueous vegetals extracts of *Azadirachta indica* A. Juss. and *Sapindus saponaria* L. against the biology of *Ascia monuste orseis* at kale. *Bol. San. Veg. Plagas*, 33: 27-34.

The effects of aqueous extracts of *Azadirachta indica* almonds and of *Sapindus saponaria* fruits were evaluated in concentrations of  $CL_{50}$ , 0.0117% and 1.0342% (w/v), respectively, at the biology of *Ascia monuste orseis* on disks of kale leaves. The caterpillars fed with extract of *A. indica* extended development period of 2.1 days compared with the control, with *S. saponaria* showed intermediate values, with extended development of 1.1 day. The larvae mortality for the control was 11% and for the extracts of *A. indica* and *S. saponaria* were 41% and 46%, respectively. The pupal period, the two extracts showed an increase of 0.6 days. Relatively to the pupae weight, there was a decrease of 107.5 mg when the caterpillars fed with leaves treated with *A. indica*, in relation with the control. The longevity was also affected by the extracts, varying from 4.4 days for *A. indica* to 5.3 days in the control.

**Key words:** Insecta, kale leafworm, insecticidal plant, neem, *Brassica oleracea* var. *acephala*.

#### REFERÊNCIAS

- BRUNHEROTTO, R.; VENDRAMIM, J. D. 2001. Bioatividade de extratos aquosos de *Melia azedarach* L. sobre o desenvolvimento de *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) em tomateiro. *Neotropical Entomology*, 30 (3):455-459.
- DE BORTOLI, S. A.; BANZATO, D. A.; FORNER, A. C. 1983. Aspectos biológicos comparados de *Ascia monuste orseis* (Latreille, 1819) (Lepidoptera: Pieridae) em três cultivares de couve (*Brassica oleracea* L. var. *acephala*). *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, 12 (2): 283-294.
- FRANCO, G. 1960. Tabela de composição química de alimentos. 3. ed. Rio de Janeiro. Serviço de Alimentação da Previdência Social, 194 p.
- GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, R. P. L.; BATISTA, G. C.; BERTI FILHO, E.; PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A.; ALVES, S. B.; VENDRAMIM, J. D.; MARCHINI, L. C.; LOPES, J. R. S.; OMOTO, C. 2002. *Entomologia agrícola*. Piracicaba: FEALQ, 920 p.
- GONÇALVES, M. N. C.; OLIVEIRA, J. V.; BARRO, R.; LIMA, M. P. L. 2001. Extratos aquosos de plantas e o comportamento do ácaro verde da mandioca. *Scientia Agrícola*, 58 (3): 475-479.
- NEVES, L. L. M.; PICAÑÇO, M.; BASTOS, C. S.; SARAIVA L. S.; ARAÚJO, J. M. 1996. Resistência de sete clones de couve ao curuquerê (*Ascia monuste orseis*). *Horticultura Brasileira*, 14 (1): 55-58.
- NOMURA, H.; YAMASHITA, I. 1975. Desenvolvimento do curuquerê-da-couve, *Ascia monuste orseis* (Linnaeus, 1764) (Lepidoptera, Pieridae), em laboratório. *Revista Brasileira de Biologia*, 35 (4): 799-803.
- RODRÍGUEZ H. C.; VENDRAMIM, J. D. 1997. Avaliação da bioatividade de extratos aquosos de Meliaceae sobre *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith). *Revista de Agricultura*, 72 (3): 305-318.
- ROEL, A. R.; VENDRAMIM, J. D. 1999. Desenvolvimento de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) em genótipos de milho tratados com extrato acetato de etila de

- Trichilia pallida* (Swartz). *Scientia Agrícola*, **56** (2): 581-586.
- ROEL, A. R.; VENDRAMIM, J.D.; FRIGHETTO, R. T. S.; FRIGHETTO, N. 2000. Atividade tóxica de extratos orgânicos de *Trichilia pallida* Swartz (Meliaceae) sobre *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith). *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, **29** (4): 799-808.
- SALGADO, L. O. 1983. Pragas das brássicas, características e métodos de controle. *Informe Agropecuário*, **9** (98): 43-47.
- SANTOS, J. H. R.; GADELHA, J. W. R.; CARVALHO, M. L.; PIMENTEL, J. V. F.; JÚLIO, P. V. M. R. 1998. *Controle alternativo de pragas e doenças*. Fortaleza: UFC, 216p.
- SILVA, A. C.; SALGADO, L. O.; RIGITANO, R. L. O.; FRIGUETO, R. T. S. 1995. Efeito inseticida de extratos vegetais sobre lagartas de *Ascia monuste orseis* (Latreille, 1819) (Lepidoptera: Pieridae), em laboratório. *Ciência e Prática*, **19** (4): 420-424.
- THOMAZINI, A. P. DE B. W.; VENDRAMIM, J. D.; LOPES, M. T. DO R. 2000. Extratos aquosos de *Trichilia pallida* e a traça-do-tomateiro. *Scientia Agrícola*, **57** (1):13-17.
- TORRES, A. L.; BARROS, R.; OLIVEIRA, J. V. 2001. Efeito de extratos aquosos de plantas no desenvolvimento de *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera). *Neotropical Entomology*, **30** (1): 151-156.
- TRINDADE, R. C. P.; MARQUES, I. M. R.; XAVIER, H. S.; OLIVEIRA, J. V. 2000. Extrato metanólico da amêndoa da semente de nim e a mortalidade de ovos e lagartas da traça-do-tomateiro. *Scientia Agrícola*, **57** (3): 407- 413.
- VENDRAMIM, J. D.; MARTINS, J. C. 1982. Aspectos biológicos de *Ascia monuste orseis* (Latreille, 1819) (Lepidoptera: Pieridae) em couve (*Brassica oleracea* L. var. *acephala*). *Poliagro*, **4**(1-2): 57-65.

(Recepción: 15 junio 2006)

(Aceptación: 21 noviembre 2006)

## Aspectos biológicos de *Ceraeochrysa paraguayaria* (Navás, 1920) (Neuroptera: Chrysopidae), em condições de laboratório

S. A. DE BORTOLI, A. T. MURATA

Com o objetivo de estudar aspectos biológicos de *Ceraeochrysa paraguayaria* (Navás, 1920) (Neuroptera: Chrysopidae) foram realizados testes de consumo utilizando-se ovos de *Diatraea saccharalis* (Fabr., 1794) (Lepidoptera: Pyralidae), *Sitotroga cerealella* (Olivier, 1819) (Lepidoptera: Gelechiidae) e *Anagasta kuehniella* (Zeller, 1879) (Lepidoptera: Pyralidae). O trabalho foi conduzido no Laboratório de Biologia e Criação de Insetos da FCAV-UNESP, Jaboticabal, SP, sob condições controladas:  $25 \pm 2$  °C, 70  $\pm$  10% UR e 14 horas de fotofase. Nos testes com larvas foram obtidos os seguintes resultados: período larval de 11,40; 10,40 e 10, 50 dias e viabilidade larval de 93,33%, 100,00% e 96,60%; e consumo de 705,80 ovos, 972,10 ovos e 934,24 ovos para larvas alimentadas com os ovos de *D. saccharalis*, *S. cerealella* e *A. kuehniella*, respectivamente. A duração e a viabilidade pupal foram 11,90; 13,13 e 12,63 dias, e 90,0%, 90,0% e 86,67% para pupas provenientes de larvas criadas com ovos de *A. kuehniella*, *S. cerealella* e *D. saccharalis*, respectivamente. Pelos resultados obtidos pode-se concluir que *C. paraguayaria* demonstrou bom potencial para ser utilizada em programas de criação massal.

S. A. DE BORTOLI, Departamento de Fitossanidade, FCAV-UNESP, Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n, 14884-900, Jaboticabal, SP, Brasil. E-mail: bortoli@fcav.unesp.br

A. T. MURATA, Ex-aluno do Curso de Pós-Graduação em Entomologia, FFCLRP-USP, Avenida Bandeirantes, 3900, 14040-901, Ribeirão Preto, SP, Brasil.

**Palavras chave:** Insecta, biologia, criação massal, crisopídeo, controle biológico.

### INTRODUÇÃO

São vários os gêneros de crisopídeos existentes na Ordem Neuroptera, Família Chrysopidae, e dentre eles encontra-se *Ceraeochrysa* Adams, 1982 que contém várias espécies com excelentes características para se tornarem predadores-chave em diversos agroecossistemas (PESSOA *et al.*, 2004a). A espécie *Ceraeochrysa paraguayaria* (Navás, 1920), segundo FREITAS & PENNY (2001), é encontrada em pomares de citros e de goiaba, apresentando elevado potencial para controle de pragas associadas a esses cultivos.

Apesar do potencial apresentado pelos crisopídeos na redução das populações de

vários insetos-praga e do grande número de trabalhos realizados nos últimos anos, existem diversas lacunas a serem preenchidas onde ainda são realizadas poucas pesquisas, merecendo maior atenção por parte dos pesquisadores. Assim, existindo aproximadamente 1.200 espécies de crisopídeos descritas, das quais, a grande maioria não possui a sua biologia adequadamente conhecida, se fazem necessárias novas pesquisas a respeito deste tópico (BROOKS & BARNARD, 1990; SILVA, 1991; GIRITANA NETO *et al.*, 2001; PESSOA *et al.*, 2004a), como a que se desenvolveu nesse trabalho.

Os crisopídeos são predadores polívoros de interesse econômico (TAUBER, 1974;

ADAMS & PENNY, 1985), considerados importantes agentes de controle biológico devido a sua voracidade e plasticidade ecológica, sendo que várias espécies são citadas em diferentes agroecossistemas associados a diversas espécies de artrópodes-praga (PESSOA *et al.*, 2004b). FREITAS & FERNANDES (1996) citam que as culturas de algodão e citros são aquelas que apresentam maior interação com o referido grupo e, dentre os neurópteros, é o grupo mais benéfico (ADAMS & PENNY, 1985). Segundo RIDGWAY & MURPHY (1984), esses insetos aparecem em diversas explorações agrícolas, sendo eficientes tanto para o controle biológico natural, como em liberações inundativas. Os crisopídeos ainda não são bem conhecidos, mesmo possuindo grande importância econômica para os programas de controle biológico (NIJIMA & MATSUKA, 1990).

Tomando por base estes fatos, o presente trabalho teve por objetivo estudar aspectos biológicos da espécie *Ceraeochrysa paraguaria* (Navás, 1920) (Neuroptera: Chrysopidae), com a qual foram realizados testes de consumo com ovos de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Pyralidae), *Sitotroga cerealella* (Oliver, 1819) (Lepidoptera: Gelechiidae) e *Anagasta kuehniella* (Zeller, 1879) (Lepidoptera: Pyralidae), a fim de se obter dados sobre a potencialidade deste predador para futura viabilização de sua criação massal e liberação em campo.

## MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi conduzido sob condições controladas de temperatura ( $25 \pm 2^\circ\text{C}$ ), umidade relativa ( $75 \pm 10\%$ ) e fotoperíodo (14L:10E), em câmara e sala climatizada, nas dependências do Laboratório de Biologia e Criação de Insetos, Departamento de Fitossanidade, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP, Jaboticabal, SP.

Adultos de crisopídeos foram coletados em vários agroecossistemas existentes na área experimental da FCAV-UNESP, Jaboticabal, SP, sendo identificados como *Ceraeochrysa paraguaria* (Navás, 1920) (Neuro-

ptera: Chrysopidae), separados e utilizados para a criação de manutenção da espécie no laboratório.

Os adultos foram mantidos em gaiolas feitas de tubo de PVC (20 cm de altura X 10 cm de diâmetro) e alimentados com dieta à base de mel e levedura na proporção de 1:1, sendo substituída a cada dois dias. Na base da gaiola foi colocada uma placa de Petri de aproximadamente 10 cm de diâmetro, sendo a parte superior fechada com tecido "voil", preso com elástico. As gaiolas foram revestidas internamente com folhas de papel sulfite, que serviam para a coleta dos ovos que eram vistoriados e retirados a cada três dias. Os ovos foram separados em caixas de criação (tipo marmitex), sendo acondicionados 30 ovos por recipiente contendo também papel cortado em tiras, para proteção contra o canibalismo, e ovos de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Pyralidae), *Sitotroga cerealella* (Oliver, 1819) (Lepidoptera: Gelechiidae) e *Anagasta kuehniella* (Zeller, 1879) (Lepidoptera: Pyralidae), obtendo-se assim três criações de manutenção. As pupas obtidas nos recipientes eram transferidas para tubos de ensaio de fundo chato (8,5 cm de comprimento x 2,5 cm de diâmetro), fechados com filme de polietileno, assim mantidos até a emergência dos adultos. Estes foram sexados e colocados nas gaiolas de criação na densidade de cinco casais por gaiola, para a obtenção de ovos que foram utilizados no experimento (geração F<sub>2</sub>).

As larvas foram alimentadas desde a eclosão até o seu completo desenvolvimento com ovos das três espécies de lepidópteros, que foram oferecidos em círculos de papel, com 0,5 cm de diâmetro, contendo ovos de *S. cerealella* e *A. kuehniella* colados com goma arábica (1:1) e de *D. saccharalis* retirados das próprias posturas em papel sulfite. Os discos contendo os ovos foram trocados a cada dois dias para larvas de 1º ínstar e diariamente para larvas de 2º e 3º ínstars.

Duzentos e quarenta ovos, oitenta por tratamento, oriundos de adultos cujas larvas foram alimentadas em cada um dos substratos

tos, foram separados e utilizados para se determinar o período de incubação e a viabilidade. Noventa larvas, trinta para cada tratamento, foram individualizadas em tubos de ensaio de fundo chato (8,0 cm x 2,5 cm) e observadas diariamente, obtendo-se: consumo de ovos em cada ínstar, duração e viabilidade de cada ínstar e período larval. Com as pupas obtidas a partir das 90 larvas foram determinados o período e a viabilidade pupal em cada substrato.

Vinte casais por tratamento foram individualizados em gaiolas de postura e com eles determinados os períodos de pré-oviposição, oviposição e pós-oviposição; longevidade de adultos e capacidade de postura.

Os resultados obtidos foram transformados em  $(x + 0,5)$  e submetidos à análise de variância, sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

**RESULTADOS E DISCUSSÃO**

**Fase de ovo.** Os períodos médios de incubação nos diferentes regimes alimentares podem ser visualizados na Tabela 1, onde se observa uma variação de 5,05 a 5,38 dias, sem, contudo, apresentar diferença estatística entre os tratamentos, evidenciando a não interferência dos três tipos de ovos utilizados na alimentação das larvas no parâmetro avaliado. Saliente-se também que os resultados obtidos encontram-se no intervalo de

variação obtido por BARNES (1975), RIBEIRO (1988), MORAES (1989) e DE BORTOLI *et al.* (2005), trabalhando com outras espécies de crisopídeos, e superiores ao encontrado por PESSOA *et al.* (2004a) com a mesma espécie.

A Tabela 1 também mostra os resultados da viabilidade dos ovos oriundos de fêmeas alimentadas com os três ovos de lepidópteros, sendo 83,0% para *D. saccharalis*, 90,0% para *S. cerealella* e 87,0% para *A. kuehniella*, valores estes valores inferiores aos obtidos por PESSOA *et al.* (2004a) para a espécie alimentada com ovos de *S. cerealella* e nas temperaturas de 20°C (97,9%) e 25°C (96,0%).

**Fase larval.** As larvas de *C. paraguaria* demonstraram boa aceitação para as dietas oferecidas, conseguindo predá-las sem maiores problemas. No entanto, como elas não puderam recobrir seus corpos com restos de ovos, uma vez que os ovos fornecidos eram colados ao papel, as larvas mostraram-se muito agitadas, tentando descolar os ovos, muito provavelmente para tal finalidade. Esse comportamento deve ser levado em consideração nas criações de laboratório, no sentido de se propiciar condições para o inseto utilizar-se da camuflagem, diminuindo, assim, o estresse dos animais.

Os resultados médios relacionados ao consumo médio de ovos em cada ínstar e no período larval estão descritos na Tabela 2. Analisando-se os dados da referida tabela

Tabela 1. Período de incubação (dias) e viabilidade de ovos (%) produzidos por fêmeas de *Ceraeochrysa paraguaria* cujas larvas foram alimentadas com ovos de *Diatraea saccharalis*, *Sitotroga cerealella* e *Anagasta kuehniella*.

Alimento larval (ovos)	n	Período de incubação (dias)*	Viabilidade (%)
<i>Diatraea saccharalis</i>	80	5,38 a	83,00
<i>Sitotroga cerealella</i>	80	5,15 a	90,00
<i>Anagasta kuehniella</i>	80	5,05 a	87,00
dms (5%)	-	0,84	-
CV(%)	-	10,63	-

n = número de ovos avaliados

\* = dados não transformados

Médias seguidas de mesma letra não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

Tabela 2. Consumo médio dos ínstarres larvais de *Ceraeochrysa paraguayaria* alimentada com ovos de *Diatraea saccharalis*, *Sitotroga cerealella* e *Anagasta kuehniella*.

Alimento larval (ovos)	n	Consumo médio (n° de ovos)*			
		1° ínstar	2° ínstar	3° ínstar	Período larval
<i>Diatraea saccharalis</i>	30	33,27 a	83,33 a	589,20 b	705,80 b
<i>Sitotroga cerealella</i>	30	29,97 a	156,60 b	785,53 a	972,10 a
<i>Anagasta kuehniella</i>	30	29,97 a	184,60 c	719,67 a	934,24 a
dms (5%)	-	3,84	21,24	66,56	31,80
CV (%)	-	4,14	9,34	8,72	10,58

n = número de insetos avaliados

\* = dados não transformados

Médias seguidas pela mesma letra, nas colunas, não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

Tabela 3. Duração média de cada ínstar (dias) e do período larval (dias) de *Ceraeochrysa paraguayaria* alimentada com ovos de *Diatraea saccharalis*, *Sitotroga cerealella* e *Anagasta kuehniella*.

Alimento larval (ovos)	n	Duração média (dias)*			
		1° ínstar	2° ínstar	3° ínstar	Período larval
<i>Diatraea saccharalis</i>	30	3,90 a	3,20 a	4,30 a	11,40 b
<i>Sitotroga cerealella</i>	30	3,30 b	3,10 a	4,00 a	10,40 a
<i>Anagasta kuehniella</i>	30	3,30 b	3,10 a	4,10 a	10,50 a
dms (5%)	-	0,16	0,12	1,56	0,23
CV (%)	-	6,45	5,33	8,72	5,41

n = número de insetos avaliados

\* = dados não transformados

Médias seguidas pela mesma letra, nas colunas, não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

nota-se que não houve diferença para o primeiro ínstar larval, diferentemente do que ocorreu nos outros dois e no período larval todo. Larvas de segundo ínstar consumiram significativamente mais ovos de *A. kuehniella* (184,60), sendo 156,60 e 83,33, respectivamente para *S. cerealella* e *D. saccharalis*. No terceiro ínstar, *A. kuehniella* e *D. saccharalis* consumiram número semelhante de presa (719,65 e 785,53, respectivamente) e diferente de *D. saccharalis* (589,20), o mesmo acontecendo quando se considera o período larval como um todo, sendo 705,80; 972,10 e 934,24, respectivamente para *D. saccharalis*, *S. cerealella* e *A. kuehniella*. Deve-se também registrar que cerca de 80% de todo o consumo larval é realizado por larvas de terceiro ínstar, e que menos de 5% fica para aquelas de primeiro.

Os resultados obtidos neste trabalho para o consumo de ovos de *D. saccharalis*, *S.*

*cerealella* e *A. kuehniella* por larvas de *C. paraguayaria* foram semelhantes aos encontrados por DE BORTOLI *et al.* (2006) para *C. externa*, com os mesmos alimentos, e muito superior ao citado por MARTIN *et al.* (1978) para *C. carnea* com dieta artificial encapsulada.

Segundo os dados da Tabela 3, dos três ínstarres, apenas o primeiro apresenta duração significativamente maior entre os alimentos utilizados, sendo os mais curtos (3,30 dias) para *S. cerealella* e *A. kuehniella*, e o mais longo, 3,90 dias, para *D. saccharalis*, fato este que levou o período larval ter a mesma tendência, ou seja, 11,40; 10,40 e 10,50 dias, respectivamente para ovos de *D. saccharalis*, *S. cerealella* e *A. kuehniella*. KUBO (1993), estudando o desenvolvimento larval de *C. cubana* alimentada com *D. saccharalis*, obteve para o período larval 14,5 dias. SANTA-CECÍLIA *et al.* (1997), também



Tabela 4. Viabilidade média (%) dos ínstar e do período larval de *Ceraeochrysa paraguayaria* alimentada com ovos de *Diatraea saccharalis*, *Sitotroga cerealella* e *Anagasta kuehniella*.

Alimento larval (ovos)	n	Viabilidade média (%)*			Período larval
		1º ínstar	2º ínstar	3º ínstar	
<i>Diatraea saccharalis</i>	30	100,00	96,60	93,33	93,33
<i>Sitotroga cerealella</i>	30	100,00	100,00	100,00	100,00
<i>Anagasta kuehniella</i>	30	100,00	100,00	96,66	96,60

n = número de insetos avaliados

com larvas de *C. cubana*, porém alimentadas com *A. kuehniella* e *A. kuehniella* + *Toxoptera* sp., obtiveram ciclo mais curto, sendo 12,7 dias e 11,5 dias, respectivamente. Já, CARVALHO *et al.* (1997), para larvas de *C. externa*, tendo como presa ovos de *Alabama argillacea*, encontraram ciclo de 11,0 dias, enquanto que DE BORTOLI *et al.* (2006), para a mesma espécie, citam períodos larvais de 9,51; 9,37 e 9,02, respectivamente quando as larvas foram alimentadas com ovos de *D. saccharalis*, *S. cerealella* e *A. kuehniella*. Todos esses resultados mostram que diferentes substratos alimentares agem diferentemente sobre as larvas das diferentes espécies de crisopídeos quando criadas em condições de laboratório.

A viabilidade larval (Tabela 4) mostrou variação de 93,35% a 100,00%, sendo 93,33%, 96,66% e 100,00%, respectivamente para ovos de *D. saccharalis*, *S. cerealella* e *A. kuehniella*. Tal resultado pode ser considerado muito bom para os três substratos alimentares, uma vez que DE BORTOLI *et al.* (2006) não encontraram valor superior a

83,3% para *C. externa*; BIAGIONI & FREITAS (2001) citam 82,0% e 43,3% para *Chrysoperla defreitasi*, com ovos de *D. saccharalis* e *S. cerealella*, respectivamente; e PESSOA *et al.* (2004a), com ovos de *A. kuehniella* como presa para *C. paraguayaria*, obtiveram 99,9% e 98,9%, a 25 °C e 20 °C, respectivamente.

**Fase pupal.** Pupas originadas de larvas alimentadas com ovos de *A. kuehniella* tiveram desenvolvimento mais rápido (11,90 dias) em relação àquelas alimentadas com ovos de *D. saccharalis* (12,63 dias) e de *S. cerealella* (13,13 dias) (Tabela 5). Para *C. defreitasi*, BIAGIONI & FREITAS (2001) observaram que a fase pupal foi de 11,90 dias e 9,30 dias, respectivamente quando as larvas foram alimentadas com ovos de *D. saccharalis* e *S. cerealella*; para *C. paraguayaria* alimentadas com ovos de *S. cerealella*, PESSOA *et al.* (2004a) encontraram valores de 22,80 dias e 11,0 dias para o período pupal, respectivamente à 20°C e 25°C; enquanto que para *C. externa*, DE BORTOLI *et al.* (2006) obtiveram períodos pupais de 11,16 dias,

Tabela 5. Duração (dias) e viabilidade (%) pupal média de *Ceraeochrysa paraguayaria* alimentada com ovos de *Diatraea saccharalis*, *Sitotroga cerealella* e *Anagasta kuehniella*.

Alimento larval (ovos)	N	Período pupal (dias)*	Viabilidade (%)
<i>Diatraea saccharalis</i>	27	12,63 b	86,67
<i>Sitotroga cerealella</i>	30	13,13 a	90,00
<i>Anagasta kuehniella</i>	29	11,90 c	90,00
dms (5%)	-	0,26	-
CV(%)	-	12,52	-

n = número de indivíduos avaliados

\* = dados não transformados

Médias seguidas pela mesma letra não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

Tabela 6. Período de pré-oviposição, de oviposição e de pós-oviposição, em dias, de *Ceraeochrysa paraguayaria*, cujas larvas foram alimentadas com ovos de *Diatraea saccharalis*, *Sitotroga cerealella* e *Anagasta kuehniella*.

Alimento larval (ovos)	n	Duração do período (dias)*		
		Pré-oviposição	Oviposição	Pós-oviposição
<i>Diatraea saccharalis</i>	20	6,20 a	44,85 a	3,70 a
<i>Sitotroga cerealella</i>	20	6,20 a	45,60 a	5,25 a
<i>Anagasta kuehniella</i>	20	5,20 b	48,10 a	3,80 a
dms(5%)	-	0,36	9,74	1,55
CV (%)	-	6,39	19,32	35,53

n = número de casais avaliados

\* = dados não transformados

Médias seguidas pela mesma letra, nas colunas, não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

Tabela 7. Capacidade de oviposição, diária e total, de *Ceraeochrysa paraguayaria*, cujas larvas foram alimentadas com ovos de *Diatraea saccharalis*, *Sitotroga cerealella* e *Anagasta kuehniella*.

Alimento larval (ovos)	n	Ovos/fêmea/dia*	Ovos/fêmea (total)*
<i>Diatraea saccharalis</i>	20	5,99 a	86,67 a
<i>Sitotroga cerealella</i>	20	6,23 a	90,00 a
<i>Anagasta kuehniella</i>	20	6,38 a	90,00 a
dms (5%) -	0,48	4,35	
CV(%) -	14,80	16,57	

n = número de casais avaliados

\* = dados não transformados

Médias seguidas pela mesma letra, nas colunas, não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

11,27 dias e 11,30 dias, respectivamente para larvas alimentadas com ovos de *A. kuehniella*, *D. saccharalis* e *S. cerealella*. Esses resultados sugerem que o alimento ingerido na fase larval influencia o período pupal, e que as várias espécies de crisopídeos apresentam diferentes períodos pupais, particularmente quando expostos às condições bióticas e abióticas diversas. A Tabela 5 ainda mostra que a viabilidade pupal foi de 86,67% para larvas alimentadas com ovos de *D. saccharalis* e 90,00% para ovos de *S. cerealella* e de *A. kuehniella*, sendo esses valores inferiores aos obtidos por BIAGIONI & FREITAS (2001) para *C. defreitasi*, cujas larvas foram alimentadas com ovos de *D. saccharalis* (98,50%) e de *S. cerealella* (92,50%).

**Fase adulta.** A Tabela 6 mostra que apenas o período de pré-oviposição foi significativamente alterado pela alimentação das larvas, sendo 6,20 dias para ovos de *D. saccharalis* e *S. cerealella* e 5,20 dias para os ovos de *A. kuehniella*. Quanto à capacidade de oviposição (Tabela 7), os três substratos alimentares das larvas (ovos de *D. saccharalis*, de *S. cerealella* e de *A. kuehniella*) produziram fêmeas que mostraram a mesma capacidade de oviposição, medida em ovos/fêmea e ovos/fêmea/dia.

Analisando-se conjuntamente todos os parâmetros avaliados pode-se concluir que os substratos utilizados para a criação das larvas de *C. paraguayaria* se equivalem, sendo os ovos de *D. saccharalis* ligeiramente inferiores aos de *S. cerealella* e *A. kuehniella*.

## RESUMEN

DE BORTOLI S. A., MURATA, A. T. 2007. Aspectos biológicos de *Ceraeochrysa paraguaria* (Navás, 1920) (Neuroptera: Chrysopidae) en condiciones del laboratorio. *Bol. San. Veg. Plagas*, **33**: 35-42.

Con el objetivo de estudiar los aspectos biológicos de *Ceraeochrysa paraguaria* (Navás, 1920) (Neuroptera: Chrysopidae), fueron realizadas pruebas de consumo utilizando huevos de *Diatraea saccharalis* (Fabr., 1794) (Lepidoptera: Pyralidae), *Sitotroga cerealella* (Olivier, 1819) (Lepidoptera: Gelechiidae) e *Anagasta kuehniella* (Zeller, 1879) (Lepidoptera: Pyralidae). El estudio fue desarrollado en el Laboratorio de Biología y Cría de Insectos de la Facultad de Ciencias Agrarias y Veterinarias de la Universidade Estadual Paulista (UNESP), Sede Jaboticabal, SP – Brasil. Los ensayos fueron realizados bajo condiciones controladas:  $25 \pm 2$  °C,  $70 \pm 10\%$  de humedad relativa y 14 horas de fotofase. En las pruebas con las larvas fueron obtenidos los siguientes resultados: período larval 11,4; 10,4 y 10,5 días, viabilidad larval de 93,33%, 100,0% y 96,60%, y consumo de 705,80, 972,10 y 934,24 huevos para larvas alimentadas con huevos de *D. saccharalis*, *S. cerealella* y *A. kuehniella*, respectivamente. La duración de la viabilidad pupal fue de 11,90; 13,13 y 12,63 días, con 90,00%, 90,00% y 86,67% para las pupas provenientes de larvas criadas con huevos de *A. kuehniella*, *S. cerealella* y *D. saccharalis*, respectivamente. Con los resultados obtenidos se puede concluir que *C. paraguaria* demostró tener un buen potencial para ser utilizada en programas de cría.

**Palabras clave:** Insecta, biología, cría, crisopídeo, control biológico.

## ABSTRACT

DE BORTOLI S. A., MURATA, A. T. 2007. Biological aspects of *Ceraeochrysa paraguaria* (Navás, 1920) (Neuroptera: Chrysopidae) under laboratory conditions. *Bol. San. Veg. Plagas*, **33**: 35-42.

This work was carried out to verify the consumption of three lepidopterous eggs, *Diatraea saccharalis* (Fabr., 1794) (Lepidoptera: Pyralidae), *Sitotroga cerealella* (Olivier, 1819) (Lepidoptera: Gelechiidae) and *Anagasta kuehniella* (Zeller, 1879) (Lepidoptera: Pyralidae) by *Ceraeochrysa paraguaria* (Navás, 1920) (Lepidoptera: Chrysopidae) and its effects on *C. paraguaria* development. The laboratory conditions were kept at  $25 \pm 2$  °C,  $70 \pm 10\%$  RH and 14 hours of photophase. Larvae tests showed the following results: larval period was 11.4, 10.4 and 10.5 days and larvae viability 93.33%, 100.00% and 96.60% to larvae feeding on *D. saccharalis*, *S. cerealella* and *A. kuehniella* eggs, being the egg consumption 705.80, 972.10 and 934.24, respectively. The pupal period and pupae viability were 11.90, 13.13 and 12.63 days, and 90.00%, 90.00% and 86.67%, respectively for *A. kuehniella*, *S. cerealella* and *D. saccharalis*. *C. paraguaria* have had excellent development and viability under different food conditions, showing a great viability for mass rearing programs.

**Key words:** Insecta, biology, mass rearing, crisopid, biological control.

## REFERÊNCIAS

- ADAMS, P. A.; PENNY, N. D., 1985. Neuroptera of the amazon basin: part II a. Introduction and Chrysopini. *Acta Amazonica*, **15**: 413-479.
- BARNES, B. N., 1975. The life history of *Chrysopa zastrovi*; Esb. – Pet. (Neuroptera: Chrysopidae). *J. Entomol. Soc. South Afr.*, **38**(1): 47-53.
- BIAGIONI, A.; FREITAS, S. DE, 2001. Efeito de diferentes dietas sobre o desenvolvimento pós-embrionário de *Chrysoperla defreitasi* Brooks (Neuroptera: Chrysopidae). *Neotropical Entomology*, **30**(2): 333-336.
- BROOKS, S. J.; BARNARD, P. C., 1990. The green lacewing of the world: a generic review (Neuroptera, Chrysopidae). *Bull. Br. Mus. Nat. Hist. Entomol.*, **59**: 117-286.
- CARVALHO, C. F.; SOUZA, B.; SANTOS, T. M., 1997. Predation capacity and reproduction potential of *Chrysopa externa* (Hagen, 1861) (Neuroptera: Chrysopidae) fed on *Alabama argillacea* (Hübner) eggs. *Acta Zoo Feniica*, **209**: 83-86.
- DE BORTOLI, S. A.; CAETANO, A. C.; MURATA, A. T.; OLIVEIRA, J. E. DE M., 2006. Desenvolvimento e capaci-

- dade predatória de *Chrysoperla externa* (Hagen) (Neuroptera: Chrysopidae) em diferentes presas. *Revista de Biologia e Ciências da Terra*, **6**(1): 145-152.
- DE BORTOLI, S. A.; MURATA, A. T.; NARCISO, R. S.; BRITO, C. H. DE., 2005. Aspectos nutricionais de *Ceraeochrysa cincta* Schneider, 1851 (Neuroptera, Chrysopidae) em diferentes presas. *Revista de Agricultura*, **80**(1): 1-11.
- FREITAS, S. DE; FERNANDES, O. A., 1986. Crisopídeos em agroecossistemas. In: Simpósio de controle biológico, 5, 1996, Foz do Iguaçu, Conferências e Palestras. Foz do Iguaçu: Sociedade Entomológica do Brasil, p.283.
- FREITAS, S. DE; PENNY, N. D., 2001. The green lacewings (Neuroptera: Chrysopidae) of Brazilian agro-ecosystems. *Proc. Calif. Acad. Sci.*, **52**(19): 245-395.
- GITIRANA NETO, J.; CARVALHO, C. F.; SOUZA, B.; SANTA-CECÍLIA, L. V. C., 2001. Flutuação populacional de espécies de *Ceraeochrysa* Adams, 1982 (Neuroptera: Chrysopidae) em citros, na região de Lavras – MG. *Ciênc. Agrotec.*, **24**(3): 550-559.
- KUBO, R. K., 1993. Efeitos de diferentes presas no desenvolvimento de *Chrysoperla externa* (Hagen, 1861) e *Ceraeochrysa cubana* (Hagen, 1861) (Neuroptera: Chrysopidae). 1993. 97f. Dissertação (Mestrado em Entomologia Agrícola) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Unesp, Jaboticabal, SP.
- MARTIN, P. B.; RIDGWAY, L. L.; SCHUETZE, C. E., 1978. Physical and biological evaluation of an encapsulated diet for rearing *Chrysopa carnea*. *Fla. Entomol.*, **61**(3): 145-152.
- MORAES, J. C., 1989. Aspectos biológicos e seletividade de alguns acaricidas à *Ceraeochrysa cubana* (Hagen) (Neuroptera: Chrysopidae) em laboratório. 1989. 86f. Dissertação (Mestrado em Fitossanidade), Ufla, Lavras, MG.
- NIJIMA, K.; MATSUKA, M., 1990. Artificial diets for mass production of chrysopids (Neuroptera). FFTC Book Series, v. 40, p.190-198.
- PESSOA, L. G. A.; FREITAS, S. DE; GARDIM, S.; RODRIGUES, K. C., 2004b. Potencial reprodutivo de adultos de *Chrysoperla raimundoi* Freitas & Penny (Neuroptera: Chrysopidae) em função da alimentação larval. *Arq. Inst. Biol.*, **71**(4): 519-521.
- PESSOA, L. G. A.; LEITE, M. V.; FREITAS, S. DE; GARBIN, G. C., 2004a. Efeito da variação da temperatura sobre o desenvolvimento embrionário e pós-embrionário de *Ceraeochrysa paraguayaria* (Navás) (Neuroptera: Chrysopidae). *Arq. Inst. Biol.*, **71**(4): 473-476.
- RIBEIRO, L. J., 1988. Biologia de *Chrysoperla externa* (Hagen, 1861) (Neuroptera: Chrysopidae) alimentada com diferentes dietas. 1988. 131f. Dissertação (Mestrado em Fitossanidade), Ufla, Lavras, MG.
- RIDGWAY, R. L.; MURPHY, W. L., 1984. Biological control in the field. In: CANARD, M.; SEMÉRIA, Y.; NEW, T. R. (Eds.). *Biology of Chrysopidae*. The Hague: W. Junk, p. 220-228.
- SANTA-CECÍLIA, L. V. C.; SOUZA, B.; CARVALHO, C. F., 1997. Influência de diferentes dietas em fases imaturas de *Ceraeochrysa cubana* (Hagen) (Neuroptera: Chrysopidae). *An. Soc. Entomol. Brasil*, **26**: 309-314.
- SILVA, R. L. X., 1991. Aspectos biológicos e determinação das exigências térmicas de *Ceraeochrysa cubana* (Hagen, 1861) (Neuroptera: Chrysopidae) em laboratório. 1991. 160f. Dissertação (Mestrado em Fitossanidade) – Ufla, Lavras, MG.
- TAUBER, C. A., 1974. Systematics of north american chrysopidae larvae: *Chrysopa carnea* group (Neuroptera). *Can. Entomol.*, **106**: 1133-1153.

(Recepción: 18 julio 2006)

(Aceptación: 22 noviembre 2006)

## Nota

# Influencia da radiação gama sobre adultos de *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae)

V. ARTHUR, G. A. GROppo

Adultos de *T. absoluta* foram irradiados, e a dose de 200 Gy foi a que menos danos causou sobre a longevidade dos adultos, e as doses esterilizantes para insetos, irradiados e cruzados com adultos normais (Fi x Mn) e (Mi x Fn) foram de 150 e 200 Gy.

V. ARTHUR, G. A. GROppo: Laboratório de Irradiação de Alimentos e Radioentomologia do Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Av. Centenário, 303, CP. 96, CEP- 13400-970, Piracicaba-SP. E-mail: arthur@cena.usp.br

**Palavras Chave:** Efeitos, irradiação, traça do tomate.

A *T. absoluta* alimenta-se do parênquima foliar com o conseqüente aparecimento de minas e, broqueando de ponteiros e frutos. NAKANO & PAULO (1983) em tomate não tratado o prejuízo chegou a 88,9%. O tratamento químico, apresenta problemas de resíduos nos frutos e resistência dos insetos. Um método alternativo é o emprego das radiações ionizantes, iniciado por HUNTER em 1912. GROppo & ARTHUR (1997) e ARTHUR *et al.* (2003) desinfestaram tomate com ovos da traça com 70 Gy e esterilizaram adultos com 200 Gy. Objetivo foi irradiar adultos de *T. absoluta*, visando liberações de insetos estéreis em programas de controle integrado na cultura de tomate. Para irradiação utilizou-se uma fonte de  $^{60}\text{Co}$ , doses de: 0 (test.), 50 a 300 Gy, taxa

de dose de 1.1 kGy/hora. Cada tratamento constou de 5 repetições sendo 1 macho irradiado e 1 fêmea normal (Mi x Fn) e (Fi x Mn), total 5 adultos de *T. absoluta* por tratamento. O experimento foi conduzido a  $25\pm 2^\circ\text{C}$  e  $70\pm 5\%$ , avaliou-se a mortalidade e emergência dos insetos. A radiação não induziu diferença estatística significativa entre os tratamentos, na dose de 200 Gy os insetos apresentaram maior longevidade média 8,3 dias, e a testemunha 7,1, estando de acordo com ARTHUR (1985) Os resultados são importantes para aplicação da Técnica do Inseto Estéril, no controle dessa praga, porque a dose esterilizante para fêmeas e machos foram de 150 Gy e 200 Gy, de acordo com ARTHUR *et al.* (2003).

## RESUMEN

ARTHUR V., GROPPPO G. A. 2007. Influencia de la radiación gamma sobre adultos *Tuta absoluta* (Meyrick)(Lep.: Gelechiidae). *Bol. San. Veg. Plagas*, **33**: 43-44.

Adultos de *T. absoluta* era irradiados y la dosis de 200 Gy causou menos daños en la longevidad de los insectos y las dosis de la esterilización de los insectos irradiados y cruzados con los insectos non-irradiados (Fi x Mn) y (Mi x Fn) era 150 Gy y 200 Gy.

**Palabras clave:** Efectos, irradiación, gusano del tomate.

## ABSTRACT

ARTHUR V., GROPPPO G. A. 2007. Influence of gamma radiation on adults of *Tuta absoluta* (Meyrick)(Lep.: Gelechiidae).*Bol. San. Veg. Plagas*, **33**: 43-44.

Adults of *T. absoluta* were irradiated and the dose of 200 Gy caused less damage in the longevity of adults insects and sterilizing doses to both sexes, irradiated insect and crossed with non-irradiated insects (Fi x Mn) and (Mi x Fn) were respectively 150 Gy and 200 Gy.

**Key words:** Effects, irradiation, tomato worm.

## REFERÊNCIAS

- ARTHUR, V., 1985. Efeitos esterilizantes e letais das radiações gama nas diferentes fases do ciclo evolutivo de *Sitotroga cerealella* (Olivier) em arroz e milho. Piracicaba, 77p.[Tese (Doutorado)-ESALQ/USP].
- ARTHUR, V.; GROPPPO, G. A.; TESSARIOLI NETO, J., 2003. Determinação da dose esterilizante de radiação gama do Cobalto-60 para adultos da traça minadora do tomateiro. *Rev. de Agricult.*, **78**: 373-379.
- GROPPPO, G. A.; ARTHUR, V., 1997. Determinação da dose letal de radiação gama do Cobalto-60 para ovos de *Tuta absoluta* (Lep., Gelechiidae). *Ecosist.*, **22**: 122-123.
- HUNTER, W. D. 1912. Results of experiments to determine the effects of roentgen ray upon insects. *J. Econ. Entomol.*, **5**: 118.
- NAKANO, O; PAULO, A. D. 1983. Traças do tomateiro. *Agroq.*, **20**: 8-12.

(Recepción: 20 septiembre 2006)  
(Aceptación: 11 enero 2007)

## Primera cita del ácaro *Calacarus flagelliset*a Fletchmann, De Moraes y Barbosa, 2001, sobre el cultivo de la papaya “Maradol Roja” en Cuba

N. GONZÁLEZ GARCÍA, A. RODRÍGUEZ MANZANO, P. E. DE LA TORRE SANTANA, N. LASTRES GONZÁLEZ, X. GARCÍA MEDEROS, N. RAMOS GÓMEZ

En una plantación ecológica de la variedad de papaya “Maradol Roja”, durante el período 2005-2006, se realizó una evaluación de síntomas desconocidos. Las hojas de las plantas muy afectadas presentaron clorosis y se tornaron ásperas al tacto, mientras que en las hojas jóvenes ocurrieron deformaciones caracterizadas por encaracolamiento hacia arriba y rizaduras que le daban aspecto a las mismas de mano con dedos en forma de garra y en la etapa final síntomas de necrosis. Se determinó que el 83.9% de las plantas presentaban estos daños. Se realizaron colectas del ácaro en el campo y se procedió a realizar la cría en el laboratorio, sobre posturas jóvenes. Se caracterizaron los daños, los cuales fueron similares a los de las plantas en campo, pero en las posturas causó defoliación. Se cita por primera vez para Cuba el ataque del ácaro *C. flagelliset*a y se describen sus daños sobre el cultivo de la papaya. Este ácaro se considera una plaga fuerte en este cultivo.

N. GONZÁLEZ GARCÍA, A. RODRÍGUEZ MANZANO, N. LASTRES GONZÁLEZ, X. GARCÍA MEDEROS, N. RAMOS GÓMEZ. Grupo de Protección de Plantas. Instituto de Investigaciones Fundamentales en Agricultura Tropical (INIFAT). Calle 2 esq. 1 Santiago de las Vegas, Ciudad de la Habana, Cuba. E-mail: nancyg@inifat.co.cu

P. E. DE LA TORRE SANTANA. Laboratorio Central de Cuarentena de Plantas. DGSV. MINAGRI, Calle Ayuntamiento 231 entre Lombillo y Paseo, Plaza, Ciudad Habana, Cuba.

**Palabras clave:** *Calacarus* sp., clorosis, deformaciones, encaracolamiento, eriódidos.

### INTRODUCCIÓN

De las especies de ácaros del género *Calacarus* Keifer, 1940, han sido citadas sobre el cultivo de *Carica papaya* L., las siguientes: *Calacarus brionesae* Keifer, 1963, *C. citrifolii* Keifer, 1955) y *C. flagelliset*a (FLETCHMANN *et al.*, 2001).

La especie *C. brionesae* solo ha sido registrada sobre el cultivo de la papaya, causando enrollamiento de las hojas y manchas blancas alrededor de estos enrollamientos; sin embargo en el caso de *C. citrifolii* se han reportado

afectaciones en 28 especies pertenecientes a 21 familias de plantas (FLETCHMANN *et al.*, 2001), causando bronceado en las hojas de papaya (MEYER y CRAMER, 1999). En el caso de *C. flagelliset*a ha sido descrito más recientemente en Brasil por FLETCHMANN *et al.* (2001) los cuales determinaron un severo encaracolamiento hacia arriba de las hojas, seguido por necrosis y muerte de las mismas cuando las poblaciones alcanzan altas densidades (FLETCHMANN *et al.*, 2001).

En Cuba, durante el año 1987, se había advertido la presencia de *C. brionesae* como

una plaga menor de *Carica papaya*. Este ácaro fue colectado en la provincia de Guantánamo en los municipios de Salvador y Caimanera por SUÁREZ (2004); (DE LA TORRE y MARTÍNEZ, 2004).

En el cultivo de la papaya variedad 'Maradol', se identificó como *C. citrifolii*, un ácaro que apareció al final de su ciclo de producción en las áreas del INIFAT, durante marzo 2003, donde se presentó gran abundancia en las hojas, ocasionando clorosis ligera y las más jóvenes se deformaron adquiriendo una apariencia conocida como "dedos en forma de garra". Anteriormente, un ácaro similar que se identificó como *C. citrifolii* se había encontrado causando daños sobre ají cachucha *Capsicum chinense* Jack (GONZÁLEZ *et al.*, 2005). En octubre del año 2005 en una plantación ecológica de papaya se presentó un ataque intenso de un ácaro del género *Calacarus*, pero los síntomas se podían confundir con los de enfermedades víricas transmitidas por áfidos u otras causadas por fitoplasmas transmitidas por el salta-hojas *Empoasca papayae* ó por los daños mecánicos de este salta-hojas al succionar los jugos e inyectar su saliva (IVANCHEVA *et al.*, 1967), por lo que el objetivo de este trabajo fue realizar una revisión taxonómica de la especie de ácaro que afectaba el cultivo de la papaya, así como caracterizar los daños del mismo, en condiciones de laboratorio.

## MATERIAL Y MÉTODOS

En una plantación de papaya ecológica variedad "Maradol Roja" en áreas del INIFAT, durante los años 2005-2006, se realizaron evaluaciones en todas las plantas para determinar el porcentaje de plantas infestadas por ácaros del género *Calacarus*, con el empleo de una lupa con aumento de 10X.

Posteriormente, se realizó un muestreo al azar, de un grupo de 10 plantas dañadas, caracterizadas principalmente por la deformación de sus hojas más jóvenes y de otras 10 sin la presencia de estos síntomas. En cada planta se seleccionó una hoja joven de color verde claro y una más vieja e inmedia-

ta a esta joven, y se introdujeron de forma independiente en bolsas de polietileno negro para ser llevadas al laboratorio. Se procedió a contar el número total de ácaros en el envés de la hoja, en tres campos del lóbulo o dedo situado próximo al pecíolo, mediante el microscopio estereoscópico con aumento de 32X.

En enero de 2006 se comenzó la cría del ácaro en el laboratorio sobre plantas de dos meses de edad, en una jaula forrada de malla antiáfidos con cuadrículas de 0.25x0.25 mm y las puertas de plexiglás con iluminación de luz fluorescente, la infestación del ácaro se realizó con porciones de hojas infestadas unidas a las plantas por alfileres. Las observaciones de la infestación y de los síntomas presentes se realizaron en las hojas cada 7 días. Se contaron todos los ácaros por el envés de las hojas en el microscopio estereoscópico, estas se numeraron considerando el orden ascendente de las mismas de 1 al 12. El promedio de ácaros por hoja en cada evaluación se sometió a un ANOVA y se realizó una comparación de medias por la dócima de Duncan para  $p=5\%$ .

Se realizó una comparación de los daños del ácaro a través de los síntomas presentes tanto en condiciones de campo y de laboratorio, con el apoyo de fotos digitales. Además, se determinó la clasificación taxonómica de la especie de ácaro presente en este cultivo a través de las mediciones en micrómetros de los ejemplares de campo montados en preparaciones fijas y comparándolas con las descritas por FLECHTMANN *et al.* (2001).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A partir de las evaluaciones realizadas, se determinó que en la plantación el 83,9% de plantas se encontraban con presencia de ácaros. Los principales síntomas producidos fueron: un severo encaracolamiento de las hojas hacia arriba, fundamentalmente en la mitad superior de la copa de las plantas (Fig. 1), las hojas más jóvenes se engrosaron y los dedos tomaron aspecto de "garras", la mayoría de





Figura 1. Encaracolamiento de las hojas hacia arriba en el campo.

las hojas viejas próximas a estas mostraron una consistencia endurecida y clorosis.

Las hojas viejas de las plantas con síntomas de daño tenían un número de ácaros significativamente mayor que las de las plantas sin síntomas, mientras que entre las hojas jóvenes de las plantas con y sin síntomas de daño no hubo diferencias significativas y el número de ácaros fue bajo (Cuadro 1). Esto sugiere que los daños sobre las hojas jóvenes pueden deberse más a un efecto tóxico provocado por el ácaro y no por el ataque directo de este sobre las hojas.

Lo anterior fue descrito para la especie *C. citrifolli* en el cultivo de los cítricos, donde los síntomas primarios aparecen sobre el tejido de crecimiento activo debido a las



Figura 2. Amarillamiento de las hojas inferiores.

toxinas que inyecta este ácaro, las cuales penetran a través de las hojas (JEPSSON *et al.*, 1975). No descartamos que en el campo influyeran otros factores en el recrudescimiento de los daños del ácaro como puede ser la presencia abundante del salta-hojas *Empoasca papayae*, o condiciones edafoclimáticas muy favorables al desarrollo del mismo. Sin embargo, FOURNIER *et al.* (2003) encontraron que *Calacarus* infesta el cultivo de la papaya en Hawai a lo largo de todo el año pero el enrollamiento de la hoja es mayormente observado al final del verano, cuando ocurre el pico de densidad de población, estos ácaros atacan de la mitad de la copa hacia abajo y la población de estos eríofidos puede estar por encima de los 10.000 adultos por hoja.

En la cría del ácaro en el laboratorio, este comienza invadiendo las hojas más viejas (1 y 2) que se tornan cloróticas y caen (Cuadro 2, Fig. 2), debido a que estos migran hacia todas las hojas que le siguen en orden ascendente por lo cual las hojas (1y2) casi no tie-

Cuadro 1. Promedio de ácaros/hoja en plantas sanas y dañadas en el campo.

	Hojas viejas *	Hojas jóvenes *
Plantas con síntomas	91,5 a	3,75 a
Plantas sin síntomas	1,6 b	0,4 a
CV	55,9	52,9

\*Las cifras con la misma letra en una columna no son diferentes ( $P < 0,05$ )



Figura 3. a y b) Lóbulos de la hoja en forma de garra, c) presencia de necrosis.

Cuadro 2. Número promedio de ácaros por el envés de las hojas numeradas en orden ascendente en el laboratorio.

No. de hoja	Ácaros/hoja*
4	116.66 a
3	66.66 ab
5	30 bc
6	24 bc
8	23.33 bc
7	21.33 bc
9	14.66 bc
10	4.66 bc
2	3 bc
11	2.33 bc
12	2 c
1	1 c
CV	46.8 %

a y b) Lóbulos de la hoja en forma de garra, c) presencia de necrosis.

\* Las cifras con la mismas letras en la columna no son diferentes ( $P < 0.05$ )

Cuadro 3. Porcentaje de defoliación en las posturas.

Fecha	% de defoliación
8-2-06	0
14-2-06	42
8-3-06	75
20-3-06	100

nen ácaros y la población mayor se encuentra sobre las hojas (3, 4 y 5), las cuales se vuelven cloróticas, sin brillo y los lóbulos se encorvolan hacia arriba y adquieren forma de "garras" (Fig. 3). Los lóbulos al final de estos síntomas presentaron necrosis debido al daño directo del ácaro y a un efecto secundario de la infección por *Fusarium* que al parecer es transmitida por el mismo. Los ácaros pueden ser un factor importante en el rango de diseminación de las enfermedades fungosas, JEPSON *et al.*, (1965).

Los síntomas siguientes fueron que las hojas inferiores muy atacadas caen y continúan incrementándose las poblaciones de ácaros en las superiores y las hojas jóvenes meristemáticas (enumeradas en este análisis como 11 y 12) adquieren una forma engrosada y abarquillada hacia arriba, en la zona superior del tallo se produce tejido corchoso (Fig. 4).

Se observó en plantas totalmente defoliadas, necrosis del meristemo terminal, y deformación del patrón normal de algunas hojas (Fig. 5), lo cual sugiere fitotoxicidad, ya sea por una acción directa de los ácaros sobre la hoja o por las toxinas acumuladas que se mueven hacia el meristemo.

En el Cuadro 3 se observa que la defoliación comenzó un mes después de la infestación



Figura 4. Parte superior de la planta abarquillada.



Figura 5. Deformación de la forma de la hoja.

ción y fue aumentando hasta ser de un 100% a los dos meses aproximadamente, en el campo no se produjo esta defoliación sobre plantas en fase de producción. Este ácaro por los daños que ocasiona se puede considerar una plaga fuerte en el cultivo de la papaya en Cuba.

El ácaro es robusto en comparación con otras especies de esta familia, presenta color gris oscuro a púrpura, con cinco líneas blancas de apariencia cerosa situadas longitudinalmente sobre la región dorsal del cuerpo. El primer estadio ninfal inicialmente carece



Figura 6. Vista dorsal de *C. flagelliseta*.



Figura 7. Vista lateral de *C. flagelliseta*.

de estas líneas y su aspecto es carmelita claro brillante, los huevos son transparentes y redondeados.

En los estudios taxonómicos realizados, se determinó que la especie de eriódido encontrada se trataba de *C. flagelliset* y no de *C. citrifolli* como se indicaba con anterioridad, ni tampoco de *C. brionesae*, las cuales atacan el cultivo de la papaya y son muy parecidas entre sí, por lo que se estimó conveniente señalar las principales diferencias taxonómicas entre especies.

Clave simplificada según las diferencias entre especies descritas por FLECHTMANN *et al.*, (2001):

Tubérculos del escudo predorsal ausentes. Longitud del idiosoma de 220-246 micras, setas ventrales más largas, seta genital (56-65), seta ventral I (d) (77-89), seta ventral II (e) (54-63) y III (f) (37-48). Empodio 6-rayado. (Fig. 6y7) .....*C. flagelliset*

Tubérculos del escudo predorsal ausentes. Longitud del idiosoma de 185-200 micras, seta genital (18), seta ventral I (d) (45), seta ventral II (e) (40) y III (f) (25). Empodio 5-rayado .....*C. citrifolli*.

Tubérculos del escudo predorsal presentes. Longitud del idiosoma de 175-185 micras, seta genital (18), seta ventral I (d) (75), seta ventral II (e) (33) y III (f) (29). Empodio 4-rayado. ....*C. brionesae*.

En la figuras 6 y 7 se muestra una vista dorsal y lateral de *C. flagelliset*.

## CONCLUSIONES

Se cita por primera vez para Cuba la presencia del ácaro *C. flagelliset* sobre el cultivo de la papaya.

Los principales síntomas descritos son que las hojas presentan deformaciones caracterizadas por encaracolamiento hacia arriba y rizaduras en sus lóbulos, que les da aspecto a las mismas de mano con dedos en forma de garra, clorosis, nervaduras engrosadas y en la etapa final necrosis.

Las hojas jóvenes de posturas infestadas presentaron deformación del patrón normal de desarrollo de las mismas.

La necrosis provocada en las hojas superiores se debió al daño directo del ácaro y a la infección por *Fusarium* como un posible efecto secundario del ataque del mismo.

## ABSTRACT

GONZÁLEZ GARCÍA N., A. RODRÍGUEZ MANZANO, P. E. DE LA TORRE SANTANA, N. LASTRES GONZÁLEZ, X. GARCÍA MEDEROS, N. RAMOS GÓMEZ. 2007. First mentions of *Calacarus flagelliset* Fletchmann, De Moraes and Barbosa, 2001, on "Maradol Roja" papaya cultivation in Cuba. *Bol. San. Veg. Plagas*, 33: 45-51.

During the period 2005-2006, in an ecological plantation of the "Maradol Roja" papaya variety, was carried out an evaluation of unknown symptoms. The very affected plants leaves presented chlorosis and rough to the tact, while the young leaves reached with deformations characterized such as upward rolling and curling that seems to be like a hand with fingers in claw form which finally show necrosis symptoms. It was determined that 83.9% of the plants presented these damages. The mites were collected in the field and rearing at laboratory conditions on young seedlings. Damages achieved under laboratory conditions were similar those detected in the field but seedlings defoliation was noted. The attack of *C. flagelliset* and their damages in papaya crops are described for the first time in Cuba. This mite could be considered a strong plague in this crop.

**Key words:** *Calacarus* sp., chlorosis, deformations, eriophoyids, rolling.

## REFERENCIAS

- DE LA TORRE P. E.; MARTÍNEZ H. 2004. Lista de los ácaros eriofioideos (Acari: Prostigmata: Eriophyoidea) de Cuba. *Revista Ibérica de Aracnología* 9 Sección: Artículos y Notas: 123–126.
- DE LA TORRE SANTANA P. E., 2005. Diagnóstico de colecciones acarológicas de Ciudad de la Habana registradas por la Sanidad Vegetal. *Fitosanidad*, 9 (1): 3-8.
- FLECHTMANN, C. H. W.; MORAES, G. J. DE & BARBOSA FLÁVIA R., 2001. A new species of *Calacarus* Keifer (Acari: Eriophyidae) on papaya in northeastern Brazil *Zootaxa*, 5: 1-5.
- FOURNIER V., ROSENHEIM, J. A., BRODEUR J., O LANEY L., MARSHALL W. J., 2003. Herbivorous mites as ecological engineers, indirect effects on arthropods inhabiting papaya foliage. *Oecologia*, 135: 442-450.
- GONZÁLEZ NANCY, DE LA TORRE, P. E., LUZ D. LIÑEIRO, YOLANDA MARTINEZ., 2005. *Capsicum chinense*, nuevo hospedante para *Calacarus citrifolii* K. *Rev. Protección Veg.*, 20 2: 137-138.
- IVANCHEVA GABROVSKA TODORA; VALDIVIESO, A. S.; BÉCQUER AYDÉE; SÁENZ B., 1967. Las enfermedades virosas de la Fruta Bomba (*Carica papaya*, L.) en Cuba. *Revista de Agricultura*, Año 1 (2): 1-21.
- JEPPSON, L. R.; KEIFER H. H. & BAKER, E. W., 1965. *Mites Injurious to the Economic Plants*. University of California Press, Berkeley, Los Angeles. 614 pp.
- MEYER, M. K. P. S. & CRAEMER, C., 1999. Mites (Arachnida: Acari) as crop pests in Southern Africa: an overview. *African Plant Protection*, 5 (1): 37-51.
- SUAREZ, A., 2004. Catálogo de ácaros de la provincia Guantánamo. *Fitosanidad*, 8 (1): 23-31.

(Recepción: 21 septiembre 2006)

(Aceptación: 15 diciembre 2006)



## Sobre los parasitoides asociados a las fases de larva y pupa de la procesionaria del pino en cuatro bosques mediterráneos (España)

E. LÓPEZ-SEBASTIÁN, H.-P. TSCHORSNIG, J. PUJADE-VILLAR, M. GUARA, J. SELFA

El complejo de parasitoides asociado a las fases de larva y pupa de la procesionaria del pino fue estudiado en cuatro bosques mediterráneos ubicados en la zona noroeste de la provincia de Valencia (España). De todas las especies, *Phryxe caudata* (Tachinidae) fue la más abundante, seguida de *Villa* sp. (Tachinidae), *Coelichneumon rudis* (Ichneumonidae), *Erigorgus femorator* (Ichneumonidae), *Hemipenthes* sp. (Bombyliidae), *Exhyalanthrax afer* (Bombyliidae) y *Exorista segregata* (Tachinidae). La actividad de las especies de taquinidos fue importante, tanto en los nidos de orugas hacia la segunda mitad del verano, como sobre las procesiones de enterramiento hacia la primera mitad del mes de Marzo. *Erigorgus femorator* centró sus ataques en los nidos de invierno con orugas de quinto estado. El resto de las especies mostraron una máxima actividad en primavera y verano sobre enterramientos de orugas. La tasa de parasitoidismo global procedente del ataque a la fase de larva osciló entre el 0.06 % y el 37.2 %, mientras que el de pupa varió entre el 0.09 % y el 5.8 %.

E. LÓPEZ-SEBASTIÁN, J. SELFA. Universitat de València, Facultat de Ciències Biològiques, Departament de Zoologia, Laboratori d'Entomologia. Dr. Moliner 50, E-46100 Burjassot (València). E-mail: jesus.selfa@uv.es.

H.-P. TSCHORSNIG. Staatliches Museum für Naturkunde, Rosenstein 1, D-70191 Stuttgart, Deutschland. E-mail: tschorsnig.smns@naturkundemuseum-bw.de.

J. PUJADE-VILLAR. Universitat de Barcelona, Facultat de Biologia, Departament de Biologia Animal. Diagonal 645, E-08028 Barcelona. E-mail: jpujade@ub.edu.

M. GUARA. Universitat de València, Facultat de Ciències Biològiques, Departament de Botànica. Dr. Moliner 50, E-46100 Burjassot (València). E-mail: miguel.guara@uv.es.

**Palabras clave:** Parasitoidismo, lepidóptero forestal plaga, Valencia, *Thaumetopoea pityocampa*.

### INTRODUCCIÓN

El complejo de parasitoides asociado a las fases de larva y pupa de la procesionaria del pino *Thaumetopoea pityocampa* (Denis et Schiffermüller, 1775), resulta ser en general poco conocido a causa de la dificultad que entraña su estudio en condiciones de campo. La amplia área de distribución de ésta insigne plaga forestal a lo largo de la cuenca mediterránea podría presuponer, a priori, que el

número de sus parasitoides asociados tanto primarios como secundarios (hiperparasitoides) resultase ser muy importante. Aunque existen ya algunos trabajos precedentes que nos informan acerca de su composición específica en algunos países, tales como Grecia (SCHMIDT *et al.*, 1990), Israel (HALPERIN, 1990), Italia (TRIGGIANI *et al.*, 1993; TARASCO & TRIGGIANI, 1994; TARASCO, 1995), Portugal (CABRAL, 1979) y España (DÉMOLIN, 1970; MONTOYA & HERNÁNDEZ, 1992; VARGAS-

OSUNA *et al.*, 1994; LÓPEZ-SEBASTIÁN, 2002) (ver listado general en Cuadro 1), una investigación a mayor escala, que abarcara a ser posible la totalidad de las áreas implicadas, proporcionaría una visión general óptima del parasitoidismo, especialmente cuando éste se estudia ligado a las fluctuaciones de la plaga (MERLE, 1969).

Con el presente manuscrito se pretende, por una parte complementar el seguimiento del ciclo de vida de la procesionaria del pino realizado previamente en los mismos cuatro bosques mediterráneos (SELFA *et al.*, 2005), y por otra contribuir al incremento del conocimiento sobre el complejo general de parasitoides asociado a las fases de larva y pupa de ésta importante plaga forestal.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Esta investigación se desarrolló entre el verano de 1999 y el verano de 2001 en cuatro pinares situados en el noroeste de la provincia de Valencia (España) (Figura 1), y cuyas características son las siguientes:

**Área 1.** Nombre: Loma Valluenga. Localización: 5 km SE de La Puebla de San Miguel. Coordenadas UTM: 30TXK5931. Extensión: 565 ha. Altitud: 1300-1500 m. Características: Masa natural y uniforme de 25-30 años de edad, principalmente compuesta por *Pinus nigra* Arnold subsp. *salzmanii* (Dunal) Franco asociada a otras especies espontáneas como *Amelanchier ovalis* Medik., *Juniperus communis* L., *J. sabina*

Cuadro 1. Listado de parasitoides asociados a las fases de larva y pupa de la procesionaria del pino.

Especie	Familia/Orden
<i>Compsilura concinnata</i> (Meigen, 1824)	
<i>Exorista larvarum</i> (Linnaeus, 1758)	
<i>Exorista segregata</i> (Rondani, 1859)	Tachinidae/Diptera
<i>Phorocera grandis</i> (Rondani, 1859)	
<i>Phryxe caudata</i> (Rondani, 1859)	
<i>Meteorus versicolor</i> (Wesmael, 1835)	Braconidae/Hymenoptera
<i>Apanteles</i> sp.	
<i>Erigorgus femorator</i> Aubert, 1960	Ichneumonidae/Hymenoptera
<i>Coelichneumon rudis</i> (Fonscolombe, 1847)	
<i>Conomorium eremita</i> (Förster, 1841)	
<i>Conomorium pityocampae</i> Graham, 1992	Pteromalidae/Hymenoptera
<i>Psychophagus omnivorus</i> (Walker, 1835)	
<i>Villa brunnea</i> Becker, 1916	Bombyliidae/Diptera
<i>Hemipenthes morio</i> (Linnaeus, 1758)	
<i>Hemipenthes velutina</i> (Meigen, 1820)	Bombyliidae/Diptera
<i>Exhyalanthrax afer</i> (Fabricius, 1794) (= <i>fimbriata</i> Meigen)	
<i>Muscina prolapsa</i> (Harris, 1780) (= <i>pabulorum</i> Fallén)	Muscidae/Diptera
<i>Angiometopa falleni</i> Pape, 1986 (= <i>ruralis</i> Fallén)	
<i>Sarcophaga</i> sp.	Sarcophagidae/Diptera
<i>Pteromalus chrysos</i> Walker, 1836	Pteromalidae/Hymenoptera
<i>Trichopria</i> sp.	Diapriidae/Hymenoptera
<i>Gelis liparae</i> (Giraud, 1863)	
<i>Gelis carbonarius</i> (de Stefani, 1884).	Ichneumonidae/Hymenoptera
<i>Brachymeria secundaria</i> (Ruschka, 1922)	Chalcididae/Hymenoptera
<i>Dybrachis cavus</i> (Walker, 1835)	Pteromalidae/Hymenoptera



L., *J. thurifera* L., *Prunus mahaleb* L. y *Quercus ilex* L.

**Área 2.** Nombre: Los Ances. Localización: 1 km NO de El Collado. Coordenadas UTM: 30SXX6527. Extensión: 215 ha. Altitud: 1200-1400 m. Características: Masa natural y uniforme de 20-25 años de edad, principalmente compuesta por *Pinus nigra* subsp. *salzmannii* y *P. nigra* subsp. *nigra* (con repoblados de *P. sylvestris* L. en la cima y con núcleos de *P. halepensis* Mill. en las zonas más bajas) asociada a otras especies espontáneas como *Amelanchier ovalis*, *Juniperus communis*, *J. oxycedrus* L., *J. phoenicea* L., *J. thurifera*, *Quercus coccifera* L. y *Q. ilex*.

**Área 3.** Nombre: La Jarilla. Localización: 1 km N de La Yesa. Coordenadas UTM: 30SXX7418. Extensión: 65 ha. Altitud: 1100 m. Características: Masa artificial y uniforme de 20-25 años de edad, principalmente compuesta por *Pinus nigra* subsp. *salzmannii* con algunos núcleos de *P. sylvestris* y una vegetación espontánea idéntica a la de Los Ances.

**Área 4.** Nombre: Las Umbrías. Localización: 3.5 km SE de La Yesa. Coordenadas UTM: 30SXX7716. Extensión: 90 ha. Altitud: 1100-1200 m. Características: Masa artificial uniforme de 20-25 años de edad, principalmente compuesta por *Pinus nigra* subsp. *salzmannii* con importantes núcleos de repoblación de *P. sylvestris* y la misma vegetación espontánea que en Los Ances y La Jarilla.

El seguimiento de los parasitoides asociados a la fase de larva se llevó a cabo, de acuerdo con la incidencia de la plaga y la accesibilidad a las muestras, a partir 10-30 nidos de invierno recolectados a alturas comprendidas entre 1.5 y 2.5 m. Las densidades acerca de la población de orugas (densidades de nidos de invierno) o niveles de infestación de la plaga fueron obtenidos, tanto por observación directa basada en la distribución y la densidad de los nidos (GERI, 1983; MONTOYA & HERNÁNDEZ, 1992), como por el método de transectos o número de nidos por unidad de área (ANDERSON & POS-

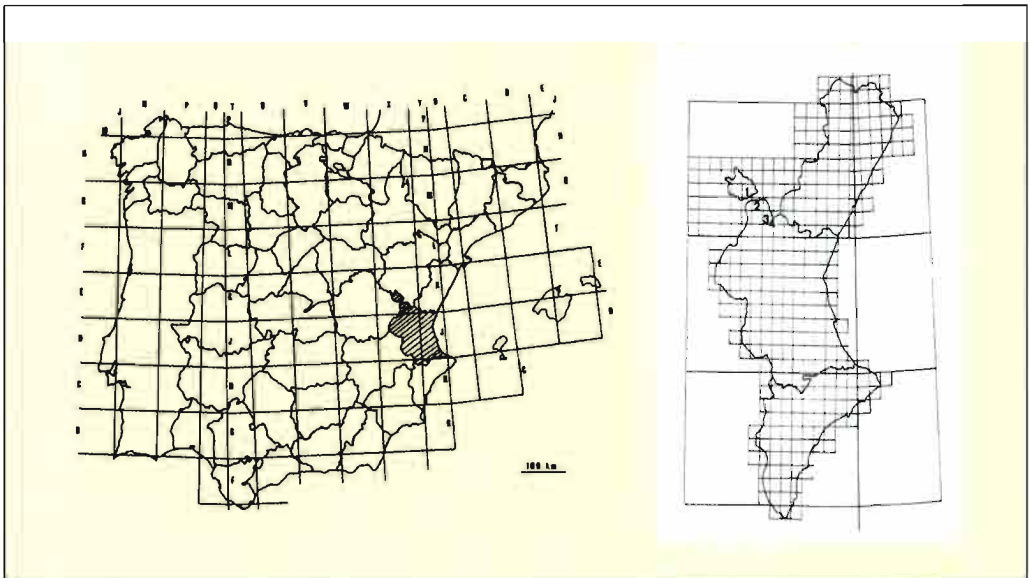


Figura 1. Áreas de estudio. El mapa de la izquierda representa a la Península Ibérica e indica la situación de la provincia de Valencia. El mapa de la derecha representa a la Comunidad Valenciana y muestra la ubicación de las 4 áreas en la provincia de Valencia. 1: Loma Valluenga, 2: Los Ances, 3: La Jarilla, 4: Las Umbrías.

Cuadro 2. Niveles de infestación de la procesionaria del pino.

Áreas	Área 1		Área 2		Área 3		Área 4	
	1999-2000	2000-2001	1999-2000	2000-2001	1999-2000	2000-2001	1999-2000	2000-2001
Nivel de infestación	2	1	3-4	0	3	0	3-4	3-4
Nidos/hectárea	25-56	3-33	223-344	0	132-322	0	141-449	60-460
Media de nidos	39.7	13.0	263.7	0	219.2	0	236.7	202.5

PAHALA, 1970). Para el estudio de las orugas en el laboratorio, los nidos fueron sumergidos en agua para evitar los erucismos, y sus estructuras de seda se destruyeron en una solución al 1 % de hidróxido sódico (de acuerdo con BUXTON, 1990). Para procurar la aireación de las muestras y evitar la proliferación de hongos oportunistas, las orugas fueron preservadas en viales de plástico estéril tapados con algodón. La aparición de los parasitoides se registró diariamente.

Los parasitoides asociados a la fase de pupa fueron estudiados, a partir del muestreo directo de capullos en los enterramientos naturales, y a través de muestreos indirectos basados en la colocación de embudos y círculos de cartón en la base de los árboles para forzar los enterramientos de las colonias de orugas y la consiguiente pupación localizada (BUXTON, 1990). Los capullos se conservaron

en el laboratorio sobre un fondo de cartón estriado en el interior de recipientes de plástico hermético. Con el fin de mantener los niveles de humedad óptimos (CARTER & HARGREAVES, 1987), los capullos fueron periódicamente pulverizados con agua. Todas las emergencias se registraron diariamente.

## RESULTADOS

En el Cuadro 2, se muestran las densidades de nidos de invierno o niveles de infestación de la procesionaria del pino encontrados en las cuatro áreas de estudio. La variación de los niveles osciló entre 0 (infestación nula o no significativa debido a colonias muy dispersas) y 5 (defoliación muy fuerte en toda la masa forestal).

Los Cuadros 3 y 4 muestran, respectivamente, las emergencias y las tasas de parasi-

Cuadro 3. Emergencias del complejo de parasitoides que atacaron durante la fase de larva de la procesionaria del pino.

Especies	Fecha de emergencia	Fase plaga de emergencia	Número de individuos
<i>Phryxe caudata</i>	24-VI-00	Pupa	1
	21-VII-00	Pupa	1
	15-VIII-00	Pupa	1
	10-IX-00	Pupa	6
	8-X-00	Pupa	12
	20-X-00	Pupa	16
	22-XI-00	Pupa	5
	25-I-01	L4	5
<i>Exorista segregata</i>	12-II-01	L5	20
	2-VII-00	Pupa	1
<i>Erigorgus femorator</i>	19-II-01	Pupa	2
	28-II-01	Pupa	2

Cuadro 4. Tasas de parasitoidismo del complejo de parasitoides que atacaron durante la fase de larva de la procesionaria del pino.

Áreas	Período	Tasas de parasitoidismo (%)			
		Número de nidos	<i>Phryxe caudata</i>	<i>Exorista segregata</i>	<i>Erigorgus femorator</i>
Área 1	1999-2000	10	12.2	-	-
	2000-2001	10	8.3	-	-
Área 2	1999-2000	30	25.5	-	0.3
	2000-2001	-	-	-	-
Área 3	1999-2000	-	-	-	-
	2000-2001	-	-	-	-
Área 4	1999-2000	30	37.2	0.06	1.0
	2000-2001	30	4.0	-	-

toidismo del complejo de parasitoides que atacaron durante la fase de larva de la plaga. *Phryxe caudata* fue la especie más importante, aunque no apareció en el área 3, y sus imagos emergieron en dos generaciones, la primera en Enero-Febrero a partir de los estados plaga L4 y L5 recolectados en la periferia de los nidos de invierno, y la segunda a partir de las pupas plaga desde Junio hasta Noviembre. Los imagos de *Exorista segregata* aparecieron a partir de pupas plaga en el área 4 durante la primera mitad de Julio. *Erigorgus femorator* se encontró en las áreas 2 y 4, emergiendo de pupas plaga durante el mes de Febrero. La tasa de parasitoidismo global osciló entre el 0.06 % y el 37.2 %.

En el Cuadro 5 se muestran las características de los enterramientos de la procesiona-

ria del pino. Para el estudio del parasitoidismo en fase de pupa, el número de enterramientos observado dependió directamente del nivel de infestación de la plaga. De esta forma, se estudiaron 78 colonias en dicho proceso, con un total de 865 pupas recolectadas.

Los Cuadros 6 y 7 muestran, respectivamente, las emergencias y las tasas de parasitoidismo del complejo de parasitoides que atacaron durante la fase de pupa de la procesionaria del pino. *Coelichneumon rudis*, *Hemipenthes* sp. and *Exhyalanthrax afer* emergieron en Mayo, y *Villa* sp. emergió en Junio-Julio. Si observamos las tasas de ataque, *Villa* sp. fue la especie más importante del complejo, y el parasitoidismo global osciló entre el 0.09 % y el 5.8 %.

Cuadro 5. Características de los enterramientos de la procesionaria del pino.

Áreas	Año	Número de orugas		Número de colonias	Número de pupas	Diapausa/ Muerte (%)	Pupas con micosis (%)	Pupas parasitadas (%)
		Promedio	Rango					
Área 1	2000	142	57-196	12	220	32.0	18.7	12.2
	2001	130	28-220	6	156	21.0	32.0	8.3
Área 2	2000	56	5-78	10	80	22.3	10.2	25.5
	2001	-	-	-	-	-	-	-
Área 3	2000	24	12-37	2	-	-	-	-
	2001	-	-	-	-	-	-	-
Área 4	2000	115	38-125	23	204	10.5	4.7	38.3
	2001	102	32-180	25	205	23.4	20.5	11.9

Cuadro 6. Emergencias del complejo de parasitoides que atacaron durante la fase de pupa de la procesionaria del pino.

Especies	Fecha de emergencia	Fase plaga de emergencia	Número de individuos
<i>Coelichneumon rudis</i>	6-V-01	Pupa	4
	20-V-01	Pupa	1
<i>Villa sp.</i>	17-VI-01	Pupa	2
	8-VII-01	Pupa	5
	29-VII-01	Pupa	2
<i>Hemipenthes sp.</i>	6-V-01	Pupa	3
<i>Exhyalanthrax afer</i>	12-V-01	Pupa	1

Cuadro 7. Tasas de parasitoidismo del complejo de parasitoides que atacaron durante la fase de pupa de la procesionaria del pino.

Áreas	Período	Tasas de parasitoidismo (%)			
		Número de pupas	<i>Coelichneumon rudis</i>	<i>Villa sp.</i>	<i>Hemipenthes sp. &amp; Exhyalanthrax afer</i>
Área 1	1999-2000	220	-	-	-
	2000-2001	156	-	-	-
Área 2	1999-2000	80	-	-	-
	2000-2001	-	-	-	-
Área 3	1999-2000	-	-	-	-
	2000-2001	-	-	-	-
Área 4	1999-2000	204	-	-	-
	2000-2001	205	2.0	5.8	0.09

## DISCUSIÓN

Debido a los tratamientos químicos llevados a cabo por la Conselleria de Territori i Habitatge (Generalitat Valenciana com. pers.), los resultados obtenidos en las áreas fueron diferentes. En general, las tasas de parasitoidismo variaron considerablemente de un año para otro.

La predominancia de *Phryxe caudata* también ha sido citada en varios estudios previos (BILIOTTI, 1958; DÉMOLIN, 1970; CABRAL, 1979; GERI, 1983; TRIGGIANI *et al.*, 1993). Las variaciones en las tasas de parasitoidismo podrían ser debidas, tanto a la acción de diversos himenópteros hiperparasitoides de las familias Chalcididae y Pteromalidae (BILIOTTI, 1956), como a la de hongos entomopatógenos (DÉMOLIN, 1987; HALPERIN, 1990; LÓPEZ-SEBASTIÁN, 2002). Asi-

mismo, de acuerdo con BILIOTTI (1956), MERLE (1969) y BUXTON (1990), sus larvas se desarrollaron en el interior de las pupas y quedaron en diapausa hasta el año siguiente. De esta forma, se podría distinguir un primer período de estrategia idiobionte y un segundo de koinobionte.

*Exorista segregata* emergió cuando las colonias de orugas aún no se encontraban en el bosque; esta aparición prematura podría indicar la estrategia polífaga de esta especie. Como MERLE (1969) y HALPERIN (1990) ya apuntaron previamente, las larvas de la procesionaria del pino podrían ser utilizadas como hospedadores invernales por ésta y otras especies; de todas formas, este comportamiento podría ser una adaptación a la hora de explotar sus hospedadores potenciales como recurso cuando abundan y las larvas son fácilmente accesibles, como en el

caso de la época de las procesiones de enterramiento o cuando las colonias de orugas se encuentran en L1-L2.

*Erigorgus femorator* también mostró una tasa de parasitoidismo baja, al igual que en DÉMOLIN (1970). De acuerdo con MERLE (1969) y DAJOZ (1998), los imagos aparecieron después de 9-10 meses de diapausa, volando en la proximidad de los nidos de invierno durante los días soleados, y atacando las larvas del hospedador en estado L5 al penetrar con su ovipositor las estructuras de seda del nido; las larvas se desarrollaron dentro de las pupas y quedaron en diapausa hasta el año siguiente.

Finalmente, de acuerdo con MERLE (1969), DÉMOLIN (1970) y LÓPEZ-SEBASTIÁN (2002), *Coelichneumon rudis* atacó los enterramientos a principios de la primavera, concretamente hacia el mes de Abril-Mayo en el área 4; los individuos que emergieron en primavera atacaron de nuevo los enterramientos pudiendo dar hasta dos generaciones (TARASCO, 1995); y los individuos de la última generación, hacia el mes de Junio, quedaron en diapausa en el interior de las pupas hasta la primavera siguiente. Por su parte, *Hemipenthes* sp. y *Exhyalanthrax afer* podrían comportarse como hiperparasitoides. Por último, *Villa* sp. apareció con abundancia

hacia principios de la primavera buscando enterramientos, sus huevos serían puestos en lugares propicios para albergar enterramientos de orugas de procesionaria del pino, y sus larvas móviles atacarían las pupas activamente.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Dra. A. Sánchez-Terrón (Museo Nacional de Ciencias Naturales-CSIC, Madrid) por la identificación de los Bombyliidae (Diptera). Muchas gracias también a E. Pérez, Técnico de la Conselleria de Territori i Habitatge (Generalitat Valenciana), por sus consejos y apoyo logístico; a M. J. Juan, Ingeniera Técnico Agrícola, por su ayuda en los muestreos y en la preparación del manuscrito; a J. C. López y M. Casals, monitores ambientalistas, por su ayuda en las tareas de campo; y a M. Quiles y J. A. Martínez, Agentes Forestales de La Yesa y Alpuente, respectivamente, por sus consejos y conocimientos sobre el terreno.

Este estudio fue subvencionado por la Conselleria de Cultura, Educació i Ciència, de la Generalitat Valenciana (España), con cargo al Proyecto de I+D para Equipos Emergentes de referencia GV99-129-1-03.

## ABSTRACT

LÓPEZ-SEBASTIÁN, E., H.-P. TSCHORSNIG, J. PUJADE-VILLAR, M. GUARA, J. SELFA. 2007. On the parasitoids associated to the larval and pupal phases of the pine processionary moth at four Mediterranean forests (Spain). *Bol. San Veg. Plagas*, 33: 53-60.

The parasitoid complex associated to the larval and pupal phases of the pine processionary moth was studied at four Mediterranean forests located in the northwest part of the Valencia province (Spain). *Phryxe caudata* (Tachinidae) was the most abundant, followed by *Villa* sp. (Tachinidae), *Coelichneumon rudis* (Ichneumonidae), *Erigorgus femorator* (Ichneumonidae), *Hemipenthes* sp. (Bombyliidae), *Exhyalanthrax afer* (Bombyliidae) and *Exorista segregata* (Tachinidae). The activity of the tachinid species was important, so much in the nests of caterpillars toward the second half of the summer, like on the burial processions toward the first half of March. *Erigorgus femorator* concentrated its attacks in the winter nests with caterpillars of L5 instar. The rest of the species showed a maximum activity in spring and summer on burials of caterpillars. The rate of global parasitoidism coming from the attack to the larval phase oscillated between 0.06% and 37.2%, while in that of pupal phase it varied between 0.09% and 5.8%.

**Key words:** Parasitoidism, pest forest lepidopterous, Valencia, *Thaumetopea pityocampa*.

## REFERENCIAS

- ANDERSON, D. R. & POSPAHALA, R. S., 1970. Corrections of bias in belt transect studies of immobile objects. *J. Wildlife Manage.*, **34** (1): 141–146.
- BILIOTTI, E., 1956. Biologie de *Phryxe caudata* Rondani (Diptère Larvaevoridae), parasite de la processionnaire du pin (*Thaumetopoea pityocampa* Schiff.). *Rev. Pathol. vég. Entomol. Agric. Fr.*, **25**: 50–65.
- BILIOTTI, E., 1958. Les parasites et prédateurs de *Thaumetopoea pityocampa* Schiff. (Lepidoptera). *Entomophaga*, **3**: 23–24.
- BUXTON, R. D., 1990. The influence of host tree species on timing of pupation of *Thaumetopoea pityocampa* Schiff. (Lep., Thaumetopoeidae) and its exposure to parasitism by *Phryxe caudata* Rond. (Dipt., Larvaevoridae). *J. Appl. Entomol.*, **109**: 302–310.
- CABRAL, M. T., 1979. Contribuição para o conhecimento da tabela de vida da processionária do pinheiro (*Thaumetopoea pityocampa* Schiff.). *An. Inst. Sup. Agron.*, **38**: 181–195.
- CARTER, D. J. & HARGREAVES, B., 1987. *Guía de campo de las orugas de las mariposas y polillas de España y de Europa*. Ed. Omega S.A., Barcelona.
- DAJOZ, R., 1998. *Les insectes et la forêt. Rôle et diversité des insectes dans le milieu forestier*. Lavoisier: Technique & Documentation, New York.
- DÉMOLIN, G., 1970. Programa ecológico internacional sobre la "procesionaria del pino" *Thaumetopoea pityocampa* Schiff. Mora de Rubielos 1970. *Bol. Serv. Plag. For.*, **13** (26): 111–117.
- DÉMOLIN, G., 1987. La processionnaire du pin, *Thaumetopoea pityocampa* Schiff., au Mont Ventoux. *Étud. vauclus.*, **3**: 157–173.
- GERI, C., 1983. Répartition et évolution des populations de la processionnaire du pin, *Thaumetopoea pityocampa* Schiff., (Lep., Thaumetopoeidae) dans les montagnes corses. I. Régimes d'apparition de l'insecte et dynamique des populations. *Acta Oecol. / Oecol. Appl.*, **4** (3): 247–268.
- HALPERIN, J., 1990. Natural enemies of *Thaumetopoea* spp. (Lep., Thaumetopoeidae) in Israel. *J. Appl. Entomol.*, **109**: 425–437.
- LÓPEZ-SEBASTIÁN, E., 2002. *Estudio de la procesionaria del pino en el noroeste de Valencia: ciclo biológico y complejo parasitario asociado*. Trabajo de Investigación del Diploma de Estudios Avanzados, Facultat de Ciències Biològiques, Universitat de València.
- MERLE, P. DU, 1969. El complejo parasitario hipógeo de *Thaumetopoea pityocampa* Schiff. *Bol. Serv. Plag. For.*, **12**: 29–34.
- MONTOYA, R. & HERNÁNDEZ, R., 1992. La procesionaria del pino. In: ROMANYK, N. & CADAHÍA, D. (Coord), *Plagas de insectos en las masas forestales españolas*, 59–73; Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, ICONA, Colección Técnica, Madrid.
- SELFA, J., LÓPEZ-SEBASTIÁN, E., GUARA, M., PUJADE-VILLAR, J. & VILATA, J., 2005. Some aspects of the life cycle of the moth species *Thaumetopoea pityocampa* at four mediterranean forests (Lepidoptera: Notodontidae). *Entomol. Gener.*, **28** (2): 121–138.
- SCHMIDT, G. H., BREUER, M., DEVKOTA, B. & BELLIN, S., 1990. Life cycle and natural enemies of *Thaumetopoea pityocampa* (Den. & Schiff.) in Greece. *Proc. Thaumetopoea Symp.*, 36–40.
- TARASCO, E., 1995. Morfología larvale e biología di *Coelichneumon rudis* (Boyer de Fonscolombe) (Hymenoptera: Ichneumonidae) endoparasitoide delle crisalidi della *Thaumetopoea pityocampa* (Denis et Schiffermüller) (Lepidoptera: Thaumetopoeidae). *Entomologica*, **29**: 5–51.
- TARASCO, E. & TRIGGIANI, O., 1994. Antagonisti biologici delle eoupe e delle crisalidi della *Thaumetopoea pityocampa* (Den. et Schiffermüller) (Lepidoptera: Thaumetopoeidae). *Atti XVII Congr. Nazle. Ital. Entomol.*, 785–786.
- TRIGGIANI, O., LILLO, E. DE & ADDANTE, R., 1993. La processionaria del pino, *Thaumetopoea pityocampa* (Den. et Schiff.) (Lepidoptera: Thaumetopoeidae), e i suoi nemici naturali in Puglia. *Entomologica*, **27**: 139–167.
- VARGAS-OSUNA, E., MUÑOZ-LEDESMA, J., ALDEBIS, H. K. & SANTIAGO-ÁLVAREZ, C., 1994. Patógenos y parásitos para el control de la procesionaria del pino, *Thaumetopoea pityocampa* (D. y Schiff.) (Lep.: Notodontidae). *Bol. San.Veg. Plagas*, **20**: 511–515.

(Recepción: 28 septiembre 2006)

(Aceptación: 8 febrero 2007)

## Distribución de larvas neonatas de mosca sierra del frambueso a través del eje vertical de la planta, como indicador de ovipostura

E. TREJO, G. MAREGGIANI, C. REZZANO, E. MARTÍNEZ, P. CARRIZO

El frambueso europeo (*Rubus idaeus*) es una producción importante en los valles patagónicos. En los últimos años se evidenció la presencia de un himenóptero que causa defoliación, la mosca sierra o avispa del frambueso, *Priophorus brullei*, especie de la que existe muy poca información en Argentina. En este trabajo se analizó la proporción de oviposturas a través del eje vertical de la planta de frambueso, tomando como indicador de oviposición el número de larvas neonatas presentes en cuatro estratos de la planta (0 a 20 cm; 20,1 a 40 cm; 40,1 a 60 cm y 60,1 a 80 cm de altura). Los resultados indican que los dos estratos basales contendrían 70% de las oviposiciones. Estos datos serían de utilidad para el diagnóstico temprano de la plaga y su manejo.

E. TREJO, C. REZZANO, Sede FAUBA El Bolsón, Río Negro, Argentina. email: mareggia@agro.uba.ar.

G. MAREGGIANI, P. CARRIZO. Cát.Zoología Agrícola FAUBA, Avda. San Martín 4453 (1417) Bs.As., Argentina.

E. MARTÍNEZ. Ministerio de Economía Río Negro/INTA.

**Palabras clave:** *Rubus idaeus*, preferencias de oviposición, *Priophorus brullei*.

### INTRODUCCIÓN

El frambueso rojo europeo (*Rubus idaeus* Linn.) es un cultivo ampliamente difundido en los valles cordilleranos patagónicos. Uno de los cultivares más frecuentes en esta zona es Tulameen, variedad con una sola floración anual, buen tamaño y homogeneidad de fruto, adecuada calidad organoléptica y excelentes aptitudes para su comercialización en fresco y congelado (RIADIGÓS *et al.*, 1992).

Aunque este cultivar posee en general buena sanidad, en los últimos años se ha registrado la defoliación por parte de un nuevo artrópodo, la mosca sierra o avispa del frambueso, *Priophorus brullei* (Hymenoptera, Tenthredinidae) (LUCIA *et al.*, 2005).

Este himenóptero, ya detectado en Europa y Australia (Naumann *et al.*, 2002), ovipone en los pecíolos y transcurre el estado larval en la parte aérea, ubicándose en el envés de los folíolos (ELLIS *et al.*, 1991). Las larvas son verde claro brillante durante los primeros estadios y no son detectadas fácilmente en el cultivo (Figura 1), empujando en la superficie del suelo protegidas por un capullo translúcido (TREJO *et al.*, 2006).

El desconocimiento acerca de su comportamiento en los cultivos de los valles cordilleranos patagónicos generó la necesidad de encarar su estudio, a fin de contribuir en las estrategias de manejo del cultivo. El presente ensayo se diseñó como un primer acercamiento al tema, con el objetivo de valorar la distribución de larvas neonatas como indica-



Figura 1. Daños y estado juvenil de mosca sierra del frambueso.

dor de ovipostura, a través del eje vertical de la planta de *R. idaeus* CV. Tulameen.

## MATERIALES Y MÉTODOS

a) **Material vegetal:** Se utilizaron ejemplares de *R. idaeus* CV. Tulameen de 80 cm de altura, cultivadas en forma orgánica en la localidad de El Bolsón, Argentina, en proximidades del paralelo 42 y al este de la cordillera de los Andes. En los primeros días de enero de 2005 (verano del hemisferio sur), luego de verificar la presencia de hembras adultas de *P. brullei* en campo, fueron seleccionadas 3 plantas al azar, las cuales fueron transplantadas a macetas de 10 litros de capacidad. Cada una de ellas configuró una unidad experimental, que fue aislada del ambiente mediante una bolsa de gasa. El sustrato, consistente en tierra negra enriquecida con estiércol de vaca compostado, se mantuvo a capacidad de campo durante todo el ensayo.

b) **Bioensayo:** Las macetas se ubicaron en un ambiente semicontrolado, permaneciendo durante 48 horas sin someterlas a disturbios antes de iniciar las observaciones. Cada uni-

dad experimental se dividió virtualmente en estratos (0,20 m cada uno) según el eje vertical de la planta, numerados de 1 a 4 desde la base hacia el ápice. Se realizaron cuatro observaciones (la primera el 9/1/2005) a intervalos de dos días, a través de los cuales se estimó que se completó la emergencia de larvas a partir de las posturas originales de campo.

c) **Análisis estadístico:** se llevó a cabo por fecha, para el total de larvas presentes por estrato en todas las plantas, mediante el estadístico *G* (3gl,  $\alpha=0,05$ ) (ZAR, 1999); la hipótesis bajo prueba fue la igualdad entre estratos para la proporción de larvas presentes.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La distribución de larvas neonatas de *P. brullei* se presenta en la Figura 2, donde el número de larvas por estrato se encuentra expresado como porcentaje del número total emergido para cada fecha de observación.

Los recuentos se interrumpieron cuando la cantidad de larvas neonatas, la cual fue incrementándose con el transcurso de los muestreos, se estabilizó en un valor máximo que se consideró coincidente con la finalización de la emergencia.

En la primera fecha de recuento, cerca del 80% de las emergencias se localizaron en los dos estratos basales (E1 y E2), mientras que no se registraron individuos en el estrato apical (E4). Esto último redujo los grados de libertad disponibles para la prueba estadística para esta fecha y determinó como consecuencia un resultado no significativo para el efecto "estrato" sobre la ubicación de las oviposiciones ( $p=0,18$ ), a pesar de la tendencia que se observa para esta fecha en la Figura 2.

A partir de la segunda fecha de recuento se observó la presencia de larvas en todos los estratos. En la distribución relativa de los individuos emergidos, más del 70% provinieron de oviposiciones concentradas en los dos estratos basales (E1 y E2) mientras que



las larvas restantes se originaron en los dos estratos apicales (E3 y E4). Este efecto significativo para el “estrato” ( $p=0,019$ ) se mantuvo en la tercera y cuarta fecha de recuento (con valores de  $p=0,009$  y  $p=0,019$  respectivamente).

Estos resultados sugieren que, si bien todo el desarrollo vertical del follaje representa un sitio de oviposición atractivo para la mosca sierra del frambueso, existiría una preferencia relativa por los dos estratos inferiores. Este comportamiento de selección de la hembra al momento de ovipositar podría estar condicionado por mecanismos evolutivos basados en la ventaja adaptativa que significa ubicar la progenie en áreas con menor exposición a condiciones ambientales adversas. Entre ellas, una de las más perjudiciales es la mayor exposición a la radiación solar en los estratos superiores, la que podría causar la deshi-

dratación de las larvas recién nacidas y reducir sus posibilidades de supervivencia (PEDIGO, 2002; PRICE, 1997).

La elección del sitio de oviposición por parte de los insectos herbívoros es uno de los factores determinantes de la densidad larval y de los daños subsecuentes (SCHONHOVEN *et al.*, 1998). En consecuencia, el conocimiento de la distribución larval - como indicador de ovipostura- contribuiría desde dos ángulos diferentes y complementarios al manejo de la mosca sierra. Por un lado, aportaría una herramienta de diagnóstico temprano, apropiada para la selección oportuna de medidas de manejo. Por otra parte, permitiría disminuir el esfuerzo de muestreo y sus costos asociados, ya que mejoraría su eficacia al enfocar el recuento en los estratos inferiores (E1 y E2) que concentrarían la mayor proporción relativa de la población.

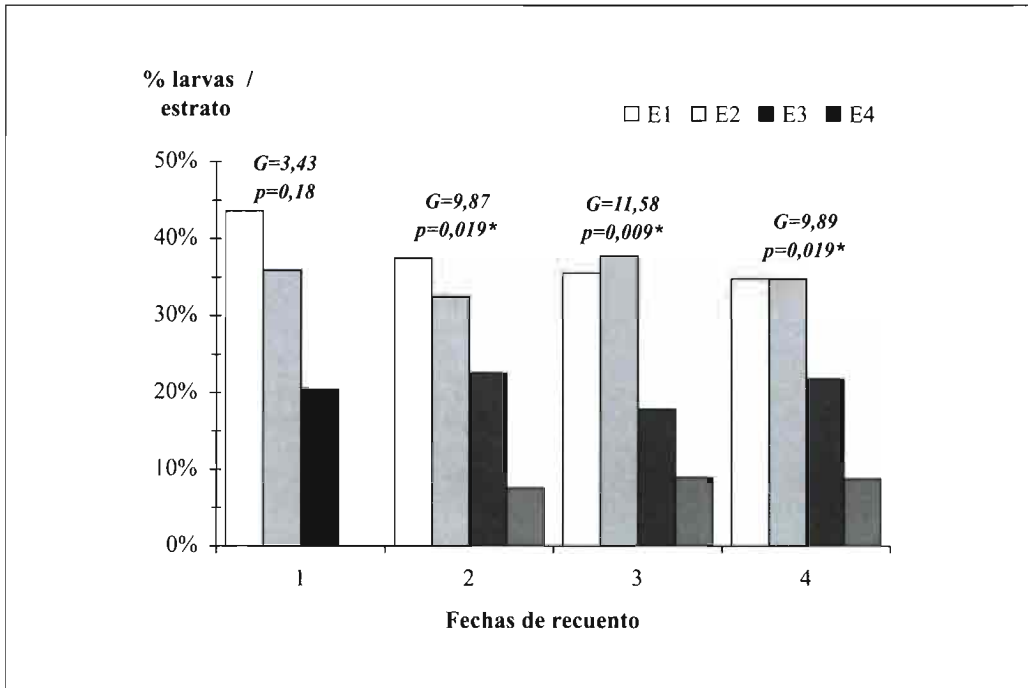


Figura 2. Distribución proporcional de larvas en los estratos respecto del total. G: valor del estadístico; p=probabilidad para la prueba; \* prueba significativa para 3gl.

## CONCLUSIONES

La determinación de la presencia y abundancia de oviposuras de mosca sierra del frambueso podría estimarse indirectamente considerando el número de larvas neonatas presentes en la mitad basal de la planta.

## AGRADECIMIENTOS

Al Proyecto PICT 14331 por el apoyo económico y al Ing. Paul Adrion, Chacra Arroyo Claro (El Bolsón, Río Negro), de donde procedió el material utilizado en el ensayo. Al Ing. Lucia y al Dr. Abrahamovich (Museo Univ.Nac.La Plata), por la determinación de la especie.

## ABSTRACT

TREJO E., G. MAREGGIANI, C. REZZANO, E. MARTÍNEZ, P. CARRIZO. 2007. Distribution of neonate larvae in the vertical axis of the plant, as an indicator of raspberry sawfly oviposition. *Bol. San. Veg. Plagas*, **33**: 61-64.

The european raspberry (*Rubus idaeus*) is an important crop in the patagonian valleys. During the last years, the presence of an hymenopteran, which causes defoliation, the small raspberry sawfly *Priophorus brullei*, was observed. Little information is available about this species in Argentine. In the present investigation, the proportion of ovipositions in the vertical axis of raspberry plant was analyzed. The number of neonatae larvae recorded in four vertical strata of the plant (0-20 cm; 20,1-40 cm; 40,1-60 cm and 60,1-80 cm height) was considered as an accurate indicator. The results show that the two lower strata should contain 70% of the ovipositions. These data would be useful to make an early forecast and planned management of the pest.

**Key words:** *Rubus idaeus*, oviposition preferences, *Priophorus brullei*

## REFERENCIAS

- ELLIS M., R. H. CONVERSE, R. N WILLIAMS and B. WILLIAMSON. 1991. Compendium of raspberry and blackberry diseases and insects. APS Press. p. 69-74.
- LUCIA, M., A. ABRAHAMOVICH y M. ROCCA. 2005. Primeras observaciones en Argentina de una avispa Tenthredinidae (Hymenoptera, Symphyta) asociada a cultivos de frambueso (*Rubus idaeus* L.). Resúm. VI Congreso Argentino de Entomología p. 248.
- NAUMANN, I. D., M. A. WILLIAMS and S. SCHMIDT. 2002. Synopsis of the Tenthredinidae (Hymenoptera) in Australia, including two newly recorded, introduced sawfly species associated with willows (*Salix* spp.). *Australian Journal of Entomology*, **41**: 1-6.
- PEDIGO, L. P. 2002. Insect ecology (Chapter 5) p. 175-210. In "Entomology and pest management". Pearson Education. Delhi. 742 pp.
- PRICE, P. 1997. Behavioural ecology (Chapter 15) p. 375-410. In "Insect ecology". John Wiley & Sons. USA. 874 pp.
- RIADIGÓS, E., E. MARTÍNEZ y A. DE MICHELIS. 1992. Manual para la producción de frambuesa, fundamentos de un sistema eficiente. A. E. Reg. El Bolsón, E. E. A. Bariloche. 1: 5
- SCHOONHOVEN, L. M.; JERMY, T.; VAN LOON, J. J. A. 1998. Insect-Plant Biology. From physiology to evolution. London. 377 pp.
- TREJO, E., G. MAREGGIANI, C. REZZANO y E. MARTINEZ. 2006. La avispa del frambueso en Argentina. *Info-berry*, **16**: 41-42.
- ZAR, J. H. 1999. Biostatistical analysis. 4th ed. Prentice-Hall, Inc. Simon and Schuster/AVIacomCo. New Jersey. USA. 663pp.

(Recepción: 18 octubre 2006)

(Aceptación: 23 noviembre 2006)

## Comunicación

### Parasitismo natural de huevos de crisópidos por el parasitoide *Telenomus acrobates* Giard (Hymenoptera: Scelionidae)

S. PASCUAL-RUIZ, M. J. VERDÚ, J. A. JACAS, A. URBANEJA

Se cita por primera vez en los cítricos españoles, parasitismo natural en huevos de crisópidos por el endoparasitoide *Telenomus acrobates* Giard, 1859 (Hymenoptera: Scelionidae). De 348 huevos de crisópidos recogidos en campos de cítricos de la provincia de Valencia, el 20 % de las puestas aisladas y el 50% de las puestas en grupo estaban parasitadas. Aunque se desconoce el impacto de este parasitoide sobre las poblaciones naturales de crisopas, se considera importante proseguir en el estudio de la biología de esta especie para esclarecer su papel.

S. PASCUAL-RUIZ, J. A. JACAS. Unidad Asociada de Entomología IVIA-UJI. Universitat Jaume I; Campus del Riu Sec; E-12071-Castelló de la Plana.

M. J. VERDÚ. Centro Protección Vegetal y Biotecnología. Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias; Ctra. Moncada-Náquera km. 4,5; E-46113-Moncada (Valencia).

A. URBANEJA. Unidad Asociada de Entomología IVIA-UJI. Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias; Ctra. Moncada-Náquera km. 4,5; E-46113-Moncada (Valencia).

**Palabras clave:** Chrysopidae, cítricos, MIP.

## INTRODUCCIÓN

Los crisópidos constituyen una de las familias de enemigos naturales más importantes en programas de Manejo Integrado de Plagas (HAGEN *et al.*, 1999). En Europa, esta familia está representada por 13 géneros y 63 especies (DÍAZ-ARANDA y MONSERRAT, 1995), de los que los géneros *Chrysopa*, *Chrysoperla* y *Mallada* han sido citadas en cítricos españoles (ALVIS, 2003). Éstos pueden actuar como depredadores en este agro-sistema, especialmente de pulgones (LLORENS, 1990; GARRIDO y VENTURA, 1993; ALVIS, 2003). A su vez, los crisópidos poseen enemigos naturales que atacan a sus estadios de desarrollo. Se han descrito distintas especies de los géneros *Telenomus* (Scelioni-

dae) sobre huevos (JOHNSON y BIN, 1982), *Catolaccus* (Pteromalidae) y *Baryscapus* (Eulophidae) sobre larvas (KARUT *et al.*, 2003) y *Tetrastichus* (Eulophidae) e *Isodromus* (Encyrtidae) sobre pupas (KRISHNAMORTHY y MANI, 1989). Sin embargo, hasta el momento, no hemos encontrado ninguna cita de parasitoides de huevos de crisópidos en nuestro país, ni en cítricos, ni en otros sistemas agrícolas.

Durante el otoño de 2006, en el transcurso de distintos muestreos de campo en huertos de cítricos de la provincia de Valencia, se recogieron muestras de puesta de crisópido de distinto color, unas de tonos blanquecino claro (Fig. 1a) y otras violáceo oscuro (Fig. 1b). Una vez transportadas al laboratorio, se comprobó que aquéllas más claras daban ori-



Figura 1. Huevo de *Chrysoperla carnea*. a) sano b) parasitado por *Telenomus acrobates*.

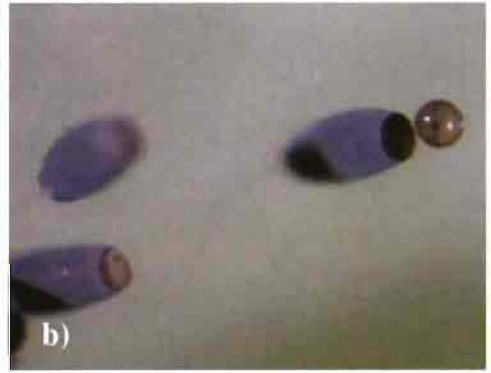


Figura 2. Huevo de *Chrysoperla carnea*. a) eclosionado b) operculado por *Telenomus acrobates*.

gen a larvas de crisópidos, por lo que los huevos eclosionados tomaban el característico aspecto de corión vacío (Fig. 2a), mientras que de aquéllos más oscuros emergieron unos pequeños himenópteros que presentaban el característico opérculo que producen los parasitoides al roer el corión durante su emergencia (Fig. 2b). En total se recogieron 348 huevos puestos en colonias de pulgones, diez de ellos depositados de forma aislada (presumiblemente de *Chrysoperla carnea* Stephens o de *Mallada prasinus* Burmeister) y el resto agrupados (de la misma *M. prasinus* o de *Chrysopa septempunctata* Wesmael). Dichos huevos se transportaron al laboratorio y se dejaron desarrollar en un incubador climático

a 25°C y un fotoperíodo de 16:8 h (L:O) hasta la eclosión de las larvas o la emergencia de los endoparasitoides. Los resultados se muestran en el Cuadro 1. El 49,1% de los huevos resultó estar parasitado por *Telenomus acrobates* Giard (Hymenoptera: Scelionidae) (Fig. 3) y tan sólo el 23,3 % eclosionó de forma normal. El porcentaje de huevos restante (27,6 %) no eclosionó, sin que se pudiera determinar las razones de esta mortalidad.

*Telenomus acrobates* es una especie de distribución paleártica, no específica, entre cuyos huéspedes se encuentran, al menos, 8 especies pertenecientes a los géneros *Chrysopa* y *Chrysoperla* (JOHNSON y BIN, 1982; ZHAO, 1986). Ésta es la primera cita del géne-

Cuadro 1. Parasitismo de *Telenomus acrobates* en puestas de crisópido recogidas en huertos de cítricos de la provincia de Valencia.

Tipo de puesta	n	Número			Porcentaje		
		Larvas de crisópido (1)	Huevos sin eclosionar (2)	Adultos <i>T. acrobates</i> (3)	(1)	(2)	(3)
Aislada	10	6	2	2	60,0	20,0	20,0
En grupo	338	75	94	169	22,2	27,8	50,0
TOTAL	348	81	96	171	23,3	27,6	49,1

Figura 3. Adulto de *Telenomus acrobates*.

ro *Telenomus* en los cítricos españoles como parasitoide de huevos de crisópidos, aunque con frecuencia se suelen encontrar ejemplares de avispa escliónidas en muestreos realizados en este cultivo. Sin embargo, su papel es desconocido. El género *Telenomus* se ha citado en otros cultivos en distintos países mediterráneos (ver revisión de JOHNSON y BIN, 1982). En Siria, ADNAN-BABI *et al.* (2002) detectaron la presencia de *T. acrobates* en huevos de *C. carnea* en algodón, con porcentajes de parasitismo que fluctuaron entre el 11

y el 65 %. Otra especie del mismo género, *Telenomus* sp. nr. *suvae*, ha sido citada en Israel (GERLING y BAR, 1985) y en Turquía (KARUT *et al.*, 2003), también en algodón sobre *C. carnea*, con niveles de parasitismo muy variables, desde menos del 1% hasta el 55,6%. En nuestro país, ignoramos si los niveles de parasitismo encontrados se mantienen a lo largo del año, y si afectan a las distintas especies de crisópido de igual manera. Si los niveles de parasitismo llegaran a afectar de forma significativa el crecimiento de las poblaciones de crisópidos clave, los programas de Manejo Integrado de Plagas de los que forman parte importante podrían verse seriamente afectados. Por ello, los resultados presentados en este trabajo muestran la necesidad de profundizar en el estudio de la biología de este endoparasitoide. Conocer su rango de huéspedes y cuantificar su antagonismo a lo largo del tiempo y en distintos sistemas agrícolas, nos dará las claves para determinar la importancia de este endoparasitoide.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a Miguel Sastre y Belén Belliure (IVIA) su colaboración en la recogida de muestras.

## ABSTRACT

PASCUAL-RUIZ S., M. J. VERDÚ, J. A. JACAS, A. URBANEJA. 2007. Natural parasitism of chrysopid eggs by the parasitoid *Telenomus acrobates* Giard (Hymenoptera: Scelionidae). *Bol. San. Veg. Plagas*, 33: 65-68.

This is the first report of *Telenomus acrobates* Giard (Hym.: Scelionidae) as an endoparasitoid of chrysopid eggs in citrus in Spain. The percentage of egg parasitism found on 348

eggs collected along the provincia of Valencia ranged from 20 % on single eggs to 50 % on egg batches. Although the actual impact of *T. acrobates* on natural populations of chrysopids remains unknown, further research is needed to ascertain the role of this species.

**Key words:** Chrysopidae, citrus, IPM

#### REFERENCIAS

- ADNAN-BABI, M. AL-NABHAN y B. PINTUREAU. 2002. A study on the effect of *Trichogramma principium* releases on cotton bollworms and the chrysopid predator *Chrysoperla carnea* in Syrian cotton fields. *Arab J. Plant. Protect.*, **20**: 59-61.
- ALVIS, L. 2003. Identificación y abundancia de artrópodos depredadores en los cultivos de cítricos Valencianos. Tesis doctoral. Dep. Ecosistemas Agroforestales. ETSIA. Universidad Politécnica de Valencia. 189pp.
- DÍAZ-ARANDA, L. M. y V. J. MONSERRAT. 1995. Aphidophagous predator diagnosis: key to genera of European chrysopid larvae (Neur.: Chrysopidae). *Entomophaga*, **40**: 169-181.
- GARRIDO, A. y J. VENTURA. 1993. Plagas de los cítricos. Bases para el manejo integrado. Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentación. MAPA. Madrid, España. 183 pp.
- GERLING, D. y D. BAR. 1985. Parasitism of *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae) in cotton fields of Israel. *Entomophaga*, **30**: 409-414.
- HAGEN, K. S., MILLS, N. J., GORDH, G. y MCMURTRY, J. A.. 1999. Terrestrial Arthropod Predators of Insects and Mite Pests. *En*: Bellows, T.S. and T.W. Fisher (Eds.) *Handbook of Biological Control. Principles and Applications of Biological Control*. Academic Press. San Diego, USA. 1046pp.
- JOHNSON, F. N. y BIN, F. 1982. Species of *Telenomus* (Hymenoptera: Scelionidae), parasitoids of stalked eggs of *Neuropetra* (Chrysopidae & Berothidae). *REDIA*, **LXV**: 189-206.
- KARUT, K., KAZAK, C., ARSLAN, A. y SEKEROGU, E. 2003. Natural Parasitism of *Chrysoperla carnea* by Hymenopterus Parasitoids in Cotton-Growing Areas of Çukurova, Turkey. *Phytoparasitica*, **31**: 90-93.
- KRISHNAMOORTHY, A. y MANI, M. 1989. Records of green lacewings preying on mealybugs in India. *Current Science*, **58** (3): 155-156.
- LLORENS, J. M. 1990. Homoptera II. Pulgones de los cítricos y su control biológico. Pisa Ediciones. Alicante, España. 170pp.
- ZHAO, J. Z. 1986. Biology of *Telenomus acrobates*. *Natural enemies of insects*, **8**: 146-149.

(Recepción: 10 noviembre 2006)

(Aceptación: 22 enero 2007)

## Detección de *Brachmia convolvuli* (Lepidoptera: Gelechiidae) en Lanzarote (Islas Canarias)

L.M. TORRES-VILA, P. DEL ESTAL PADILLO

El geléchido *Brachmia convolvuli* Walsingham se cita por primera vez en Lanzarote alimentándose sobre una enredadera ornamental de *Ipomoea*

L.M. TORRES-VILA. Servicio de Sanidad Vegetal. Consejería de Agricultura y Medio Ambiente. Avda. de Portugal s/n, 06800 Mérida, Badajoz. E-mail: ltorresv@aym.junta-ex.es

P. DEL ESTAL PADILLO. Unidad de Protección de Cultivos, E.T.S. de Ingenieros Agrónomos, C/ Ciudad Universitaria s/n, 28040 Madrid. E-mail: pedro.delestal@upm.es

**Palabras Clave:** primera cita, *Ipomoea*, batata.

### INTRODUCCIÓN

Según los datos de que disponemos sobre la lepidóptero-fauna de Canarias, el geléchido *Brachmia convolvuli* Walsingham sólo estaba citado en las islas en La Palma, La Gomera, Tenerife y Gran Canaria (BÁEZ 1998, BÁEZ y MARTÍN 2001). El 27 de agosto de 2005 se observaron en Playa Blanca (en el extremo meridional de la isla de Lanzarote), importantes daños ocasionados por las orugas de un microlepidóptero en las hojas de una extensa enredadera ornamental de campanillas (*Ipomoea* sp.).

Se recogieron para su examen 25 orugas y tras su cría, los 21 adultos emergidos resul-

taron pertenecer a la especie *B. convolvuli*, lo que supone la primera cita de este geléchido para Lanzarote. En la Figura 1 se muestran sobre la planta hospedadora en que se detectaron, la oruga (que exhibe un elevado polimorfismo) en posiciones dorsal y ventral, la crisálida (en dos fases sucesivas de desarrollo) en posiciones ventral y lateral, y el adulto en posiciones lateral y dorsal (nótese el gran desarrollo de los palpos).

Dada la relevancia ocasional como plaga de *B. convolvuli* en cultivos de batata, *Ipomoea batatas* (L.) Lam., el hallazgo se ha notificado al Servicio de Sanidad Vegetal del Gobierno de Canarias.

### ABSTRACT

TORRES-VILA L.M., P. DEL ESTAL PADILLO. 2007. Detection of *Brachmia convolvuli* (Lepidoptera: Gelechiidae) in Lanzarote (Canary Islands, Spain). *Bol. San. Veg. Plagas*, 33: 69-70.

The gelechiid *Brachmia convolvuli* Walsingham is recorded for first time from Lanzarote (Canary Islands, Spain) feeding on an ornamental climbing *Ipomoea*

**Key Words:** first record, *Ipomoea*, sweetpotato.

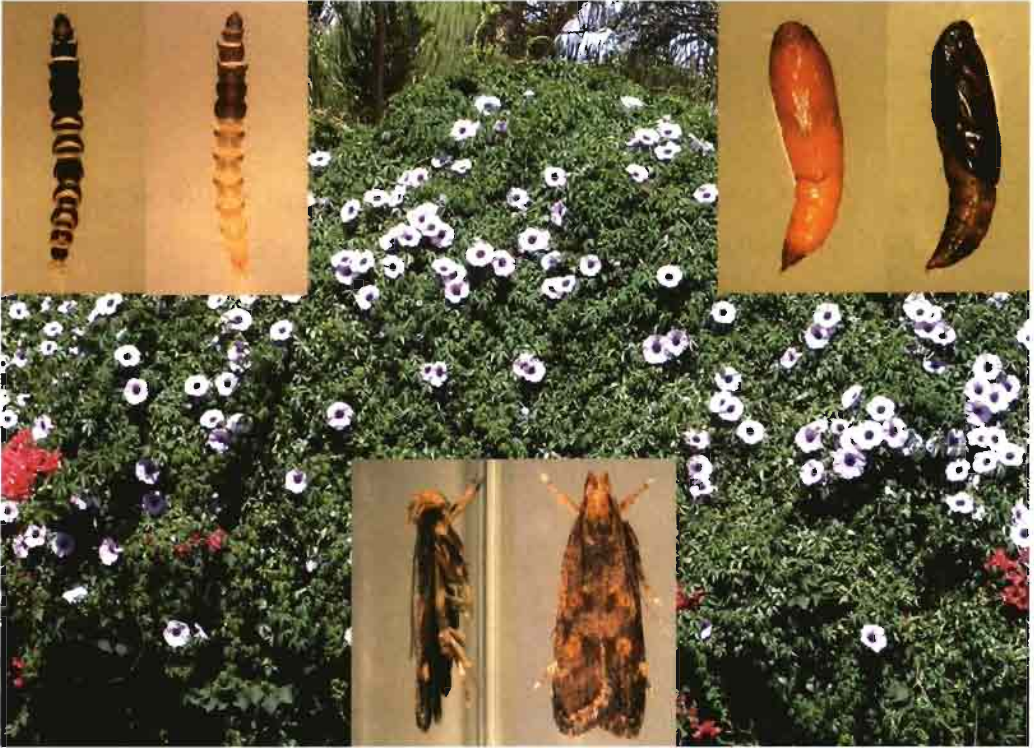


Figura 1. Estados de *Brachmia convolvuli* (ver texto) sobre su planta nutricia, una enredadera ornamental de *Ipomoea* en Playa Blanca, Lanzarote (Fotografías L.M. Torres-Vila).

#### REFERENCIAS

- BÁEZ M., 1998. *Mariposas de Canarias*. Rueda, Madrid. 216 pp.
- BÁEZ M., MARTÍN E., 2001. Lepidoptera. En: Izquierdo I., Martín J.L., Zurita N. y Arechavaleta M. (eds.), *Lista de especies silvestres de Canarias (hongos, plantas y animales terrestres)*. Consejería de Políti-

ca Territorial y Medio Ambiente, La Laguna, Santa Cruz de Tenerife. pp. 236-249.

(Recepción: 10 noviembre 2006)  
(Aceptación: 15 enero 2007)



## Biología de *Phoracantha recurva* Newman y *Phoracantha semipunctata* Fabricius (Coleoptera: Cerambycidae) en laboratorio sobre dieta natural: *Eucalyptus* ssp. *globulus*

M. BIANCHI, A. SÁNCHEZ

Los cerambícidos, *Phoracantha recurva* Newman y *Phoracantha semipunctata* Fabricius son dos de las principales plagas introducidas de los eucaliptos en Uruguay. El objetivo del presente trabajo fue establecer diferencias entre ambas especies en relación a características biológicas en condiciones de laboratorio. Los adultos utilizados para formar la colonia inicial, provinieron de árboles naturalmente atacados. Al eclosionar los huevos, las larvas neonatas fueron inoculadas en trozas de *Eucalyptus globulus* ssp. *globulus* previamente parafinadas y mantenidas a  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ ,  $75 \pm 10\%$  H.R. y 12:12 h (L:O). Luego de la emergencia, las parejas fueron colocadas individualmente en recipientes de vidrio y alimentadas con agua y miel. Las posturas fueron extraídas diariamente. Las condiciones para la oviposición e incubación fueron  $26 \pm 1^\circ\text{C}$ ,  $75 \pm 10\%$  HR y 12:12 h (L:O). El período de incubación de los huevos presentó diferencias significativas entre especies correspondiendo a  $5.3 \pm 1.85$  y  $6 \pm 2.11$  días para *P. recurva* y *P. semipunctata* respectivamente. El período larva adulto presentó diferencias significativas sólo entre las hembras de ambas especies, teniendo una duración de  $287.5 \pm 89.6$  y  $321.1 \pm 101.6$  días para hembras de *P. recurva* y *P. semipunctata* respectivamente, los valores correspondientes para los machos fueron  $298.7 \pm 97.7$  y  $308.4 \pm 94.1$  días. La longevidad de los adultos fue significativamente diferente entre especies y sexo. La fecundidad de *P. recurva* fue de  $162.9 \pm 90.6$  huevos por hembra y la de *P. semipunctata* de  $141.2 \pm 89.1$ . El porcentaje de huevos fértiles fue de 77% para ambas especies. El peso de las hembras presentó una correlación significativa con el número de huevos por hembra.

M., BIANCHI, A. SÁNCHEZ. Protección Forestal, Facultad de Agronomía, Avda. Garzón 780, Montevideo 12900, Uruguay, E-mail: phoracantha @ yahoo. com

**Palabras clave:** Coleoptera, Cerambycidae, *Phoracantha*, desarrollo, longevidad, fecundidad.

### INTRODUCCIÓN

Los cerambícidos *Phoracantha recurva* Newman y *Phoracantha semipunctata* Fabricius son originarios de Australia y fueron introducidos accidentalmente en Uruguay. *P. semipunctata* fue detectada en nuestro país en 1932 (Fernández, citado por ZAJCICW & RUFFINELLI, 1962) y *P. recurva* más recientemente en 1998 (BIANCHI *et al.*, 1999). Estas plagas específicas del género

*Eucalyptus*, se encuentran actualmente distribuidas en todo el país (MONEÉ *et al.*, 2002) y han adquirido especial interés a partir de la última década, donde se han registrado 500000 hectáreas plantadas con especies de *Eucalyptus*, principalmente *Eucalyptus grandis* W. Hill ex Maiden y *Eucalyptus globulus* Labillardière ssp. *globulus* Kirk. El incremento del área plantada con estas especies se debe principalmente a su adaptación a nuestras condiciones medioambientales;

excelentes crecimientos; buena calidad de sus maderas para uso industrial y a su demanda en el mercado internacional (MINISTERIO DE AGRICULTURA GANADERIA Y PESCA, Ley Forestal N° 15939, 1990 y Censo Agropecuario, 2000).

En los países en que una o ambas especies de *Phoracantha* han sido establecidas han causado serios daños en las plantaciones de *Eucalyptus sp.* Estos insectos provocan la muerte de los árboles en pie, especialmente aquellos que han estado sometidos a condiciones de estrés: sequía, alta densidad en los rodales, prácticas silviculturales inadecuadas, así como también pueden oviponer y desarrollarse en madera recientemente apeada. Asimismo, el ataque de estos cerambícidos producen un daño tecnológico depreciando la madera para aserrío (DE SANTIS, 1945, BYTINSKI y NEWMARK, 1952, CHARARAS, 1969, DRINKWATER, 1975, WINSTANLEY, 1985, GONZALEZ TIRADO, 1986, SCRIVEN *et al.*, 1986 y PAINE *et al.*, 1995).

En general, las hembras ponen los huevos en heridas, resquebrajaduras o debajo de la corteza despreñada. De los huevos emergen las larvas que realizan galerías en la región subcortical, circundando el tronco. Las larvas al completar el desarrollo, penetran en la madera, hacen una cámara en la parte terminal de la galería y pupan. El adulto después de un período de reposo más o menos prolongado y habiendo adquirido los colores que le son característicos, pasa por la galería larval, perfora la corteza y llega al exterior dejando un orificio de contorno elíptico (DE SANTIS, 1945, BYTINSKI y NEWMARK, 1952, CHARARAS, 1969, WINSTANLEY, 1985, WANG, 1995).

Dado que, *P. recurva* y *P. semipunctata* son especies afines, el objetivo de este trabajo fue establecer diferencias entre ambas especies en relación a características biológicas en condiciones de laboratorio.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Los adultos de *P. recurva* y *P. semipunctata* utilizados para conformar la colonia ini-

cial en el laboratorio, provinieron de árboles atacados en el campo de distintos sitios del país (Departamentos de Lavalleja, Rivera, Tacuarembó, Paysandú y Río Negro). Los árboles fueron cortados y las trozas se colocaron en jaulas entomológicas (0.50 x 0.4 m de base y 1 m de altura) en condiciones ambientales naturales.

Los insectos una vez que emergieron se colocaron en recipientes de vidrio con tapa cribada de aluminio (25 x 19 cm de base y 12 cm de altura), en número de 21 manteniendo una relación macho/hembra de 2:1 en cámara de cría a  $26 \pm 1$  °C,  $75 \pm 10$  % H.R. y un fotoperíodo de 12:12 h (L:O).

Los adultos de la colonia inicial y los adultos utilizados para los ensayos de fecundidad y sobrevivencia fueron alimentados con una solución de agua y miel al 10% la cual fue renovada diariamente.

Las posturas se retiraron diariamente y se acondicionaron en cajas de Petri con algodón húmedo a  $26 \pm 1$  °C,  $75 \pm 10$  % H.R. y un fotoperíodo de 12:12 h (L:O). Para mantener la humedad relativa se utilizaron recipientes de vidrio cerrados, con una solución saturada de cloruro de sodio (WINSTON y BATES, 1960). Al eclosionar los huevos las larvas neonatas fueron inoculadas en rolos de *E.globulus ssp. globulus* de 0.85 m de largo, parafinadas en sus extremos luego de 24 horas de cortadas. Sobre la corteza de cada troza se realizaron hendiduras en forma de "V" de pocos milímetros de profundidad, donde se introdujeron las larvas neonatas, cada incisión se cubrió con un trozo de papel (HANKS, 1993). La densidad promedio inicial fue de 60 larvas por m<sup>2</sup> de corteza. Estas trozas fueron colocadas en jaulas y ubicadas en una cámara de cría a  $25 \pm 2$  °C,  $75 \pm 10$  % H.R. y un fotoperíodo de 12:12 h (L:O).

Las jaulas fueron inspeccionadas diariamente y los insectos de ambas especies fueron sexados medidos y pesados. Para permitir la cópula se colocaron en parejas, manteniendo una relación macho/hembra de 1:1 en tubos de vidrio (8 x 6.5 x 17 cm) a los cuales se le colocó una malla de tul en la parte superior y en la inferior una base de vidrio

Cuadro 1. Ancho (mm) y largo (mm) de huevos de *Phoracantha recurva* y *Phoracantha semipunctata*.

	Huevos		
	n	Ancho (mm)	Largo (mm)
<i>P. recurva</i>	100	2.59 ± 0.26 a	0.63 ± 0.07A
<i>P. semipunctata</i>	100	2.52 ± 0.18 b	0.75 ± 0.07B

Las medias ± DS seguidas de diferentes letras en minúscula o mayúscula dentro de las columnas son estadísticamente diferentes ( $P < 0.008$  prueba  $t$  y  $t$  corregida).

cubierta con papel. Los mismos se ubicaron dentro de una cámara de cría a  $26 \pm 1$  °C, aproximadamente  $75 \pm 10$  % H.R. y un fotoperíodo de 12:12 h (L:O).

El sustrato para la oviposición consistió en un trozo de papel blanco plegado. Las posturas fueron extraídas diariamente, se contaron el número de huevos eclosionados. El período de incubación consistió en el número de días que transcurrieron desde la remoción de la postura hasta que se observaron las larvas del primer instar.

Por otra parte, se fijaron y midieron cincuenta larvas neonatas de cada especie

Los adultos al morir fueron disecados para determinar número de ovocitos remanentes. La fecundidad potencial fue calculada como, la fecundidad real más los ovocitos remanentes en los ovarios al momento de la muerte. Se utilizó una regresión lineal para dilucidar las relaciones entre fecundidad potencial y peso del adulto.

Los análisis estadísticos fueron realizados mediante los procedimientos PRO GLM y PRO CORR del SAS (SAS Institute, 2000). Para las variables largo y ancho de huevo y ancho de cápsula cefálica y largo de cuerpo de larvas neonatas, la comparación de medias fue a través de la Prueba  $t$  y  $t$  corregida y MDS (mínima diferencia significativa) respectivamente.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

*Phoracantha recurva* y *Phoracantha semipunctata* son especies afines y en el laboratorio presentaron un comportamiento similar.

**Huevos.** Las hembras de *P. recurva* y *P. semipunctata* colocaron los huevos preferentemente sobre papel blanco, en forma agru-

pada y dispuestos en abanicos o en espigas contiguas. Los mismos son de aspecto similar, fusiformes de color amarillo pálido a blanquecino y midieron  $2.59 \pm 0.26$  mm por  $0.63 \pm 0.07$  mm y  $2.52 \pm 0.18$  por  $0.75 \pm 0.07$  mm respectivamente. Los huevos de ambas especies fueron discriminados por las características ancho y largo ( $P < 0.008$ , prueba  $t$  y  $t$  corregida). Sin embargo, el ancho fue la variable que mejor diferenció a ambas especies (Cuadro 1).

Para ambas especies, a partir de las 36 horas desde que fueron puestos los huevos se pueden observar las mandíbulas de las larvas a través del corion.

El período de incubación fue de  $5.3 \pm 1.85$  y  $6 \pm 2.11$  días para *P. recurva* y *P. semipunctata* respectivamente. Este parámetro presentó diferencias significativas ( $P < 0.0001$ ).

El valor medio de dicho período para *P. semipunctata* fue de 6 días, el cual coincide con los obtenidos por Chararas *et al.* (1977) de 6 a 7 días para un rango de temperatura de 26-28°C. Sin embargo, para HANKS *et al.* (1993) este período tuvo una duración de aproximadamente 5 días a una temperatura de 20°C y 40% H.R.

**Larvas.** Las larvas neonatas a las pocas horas de su emergencia, se trasladaban y se ubicaban debajo del papel y/o del trozo de algodón húmedo. Las larvas del primer estadio de ambas especies presentaron diferencias significativas (DMS,  $P < 0.03$ ) en el ancho de la cápsula cefálica (ACC) y en largo del cuerpo. (Cuadro 2).

**Período larva-adulto.** Dado que los estadios inmaduros se desarrollan dentro de la

Cuadro 2. Ancho de la cápsula cefálica (ACC)(mm) y largo del cuerpo (mm) de las larvas neonatas de *Phoracantha recurva* y *Phoracantha semipunctata*.

	Larvas neonatas		
	n	ACC (mm)	Largo (mm)
<i>P. recurva</i>	50	0.606 ± 0.0380 a	1.99 ± 0.2259 A
<i>P. semipunctata</i>	50	0.627 ± 0.0265 b	2.59 ± 0.2569 B

Las medias ± DS seguidas de diferentes letras en minúscula o mayúscula dentro de las columnas son estadísticamente diferentes (MDS,  $P < 0.03$ ).

troza, sólo fue posible determinar la duración del período larva-adulto (Cuadro 3); encontrándose diferencias significativas entre las hembras de las dos especies ( $P < 0.001$ ).

La duración media del período desde que la larva neonata es inoculada en la troza hasta la emergencia del imago, es mayor en *P. semipunctata* para ambos sexos. También fue mayor el número mínimo de días para comenzar a emerger los adultos. Las hembras y machos de *P. semipunctata* emergieron a los 141 y 154 días respectivamente, mientras que, los valores correspondientes para hembras y machos de *P. recurva* fueron de 112 y 114 días. En el caso de *P. semipunctata*. Estos resultados difieren de los obtenidos por HANKS *et al.* (1995) quienes mencionan un promedio de  $71.8 \pm 5.0$  días ( $n = 8$ ) para esta especie, criada sobre *Eucalyptus tereticornis* a  $30 \pm 5^\circ\text{C}$ , aproximadamente, 40 % H.R. y fotoperíodo en condiciones naturales.

La amplia variación que presentaron ambas especies de cerambícidos en la duración del período larva – adulto podría deberse a la época de corta de los árboles para la cría de las larvas. Dicho período, fue mayor a 400 días cuando las larvas se inocularon en

trozas de árboles apeados a principios del otoño y primavera precedidos de un período de sequía.

**Adultos.** La mayoría de los individuos que emergieron de las trozas fueron normales no presentando coloración anómala o deformación en élitos o apéndices.

El peso y largo de los imagos de ambas especies se presentan en el Cuadro 4.

Los adultos permanecían la mayor parte de las horas de luz en los recipientes de cría, ocultos en los refugios de papel, no obstante, por momentos se observó que algunos individuos copulaban o se alimentaban.

En cuanto a la duración de la etapa adulta, se encontraron diferencias significativas ( $Pr < 0.0001$ ) entre hembras de *P. recurva* y de *P. semipunctata* (Cuadro 5). La longevidad media de los imagos de *P. semipunctata* fue menor a la de *P. recurva* y a su vez inferior a la obtenida por HANKS *et al.* (1993) la cual fue de aproximadamente de 90 días.

Los adultos de ambas especies copularon inmediatamente después de la emergencia. Las hembras pusieron huevos sólo si habían copulado y se apareaban y oviponían en forma continua.

Cuadro 3. Período larva adulto (días) de *Phoracantha recurva* y *Phoracantha semipunctata* criadas sobre trozas de *Eucalyptus ssp. globulus* a  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ ,  $75 \pm 10$  % HR y fotoperíodo de 12:12 h (L:O).

	Período larva-adulto (días)			
	n	Hembras	n	Machos
<i>P. recurva</i>	144	287.5 ± 89.6 a	107	298.7 ± 97.7 A
<i>P. semipunctata</i>	70	321.1 ± 101.6 b	51	308.4 ± 94.1 A

Las medias ± DS seguidas de diferentes letras en minúscula o mayúscula dentro de las columnas son estadísticamente diferentes ( $P < 0.0001$ ).

Cuadro 4. Peso (g) y largo (mm) de adultos de *Phoracantha recurva* y *Phoracantha semipunctata*, de dieta natural discriminados por sexos ( $25 \pm 2^\circ \text{C}$ ,  $75 \pm 10\%$  H.R. y fotoperíodo de 12:12 h (L : O)).

	<i>P. recurva</i>		<i>P. semipunctata</i>	
	peso (g)	largo (mm)	peso (g)	largo (mm)
<b>hembra</b>	$0.2218 \pm 0.0917$	$20.43 \pm 2.63$	$0.3339 \pm 0.1068$	$23.16 \pm 2.82$
<b>macho</b>	$0.2228 \pm 0.1098$	$19.60 \pm 3.44$	$0.3057 \pm 0.0991$	$21.95 \pm 2.99$
	n hembra = 100; n macho = 149		n hembra = 100; n macho = 83	

Cuadro 5. Longevidad media (días) de adultos de *Phoracantha recurva* y *Phoracantha semipunctata*, de dieta natural discriminada por sexos ( $26 \pm 1^\circ \text{C}$ ,  $75 \pm 10\%$  H.R. y fotoperíodo de 12:12 h (L : O)).

		n	Longevidad (días)
<i>P. recurva</i>	<b>hembra</b>	139	$95.6 \pm 32.8$ a
<i>P. semipunctata</i>	<b>hembra</b>	96	$75.9 \pm 25.6$ b
Las medias $\pm$ DS seguidas de diferentes letras son estadísticamente diferentes ( $P < 0.001$ )			
<i>P. recurva</i>	<b>macho</b>	128	$92.0 \pm 33.0$ A
<i>P. semipunctata</i>	<b>macho</b>	80	$78.0 \pm 34.0$ B
Las medias $\pm$ DS seguidas de diferentes letras son estadísticamente diferentes ( $P < 0.0001$ )			

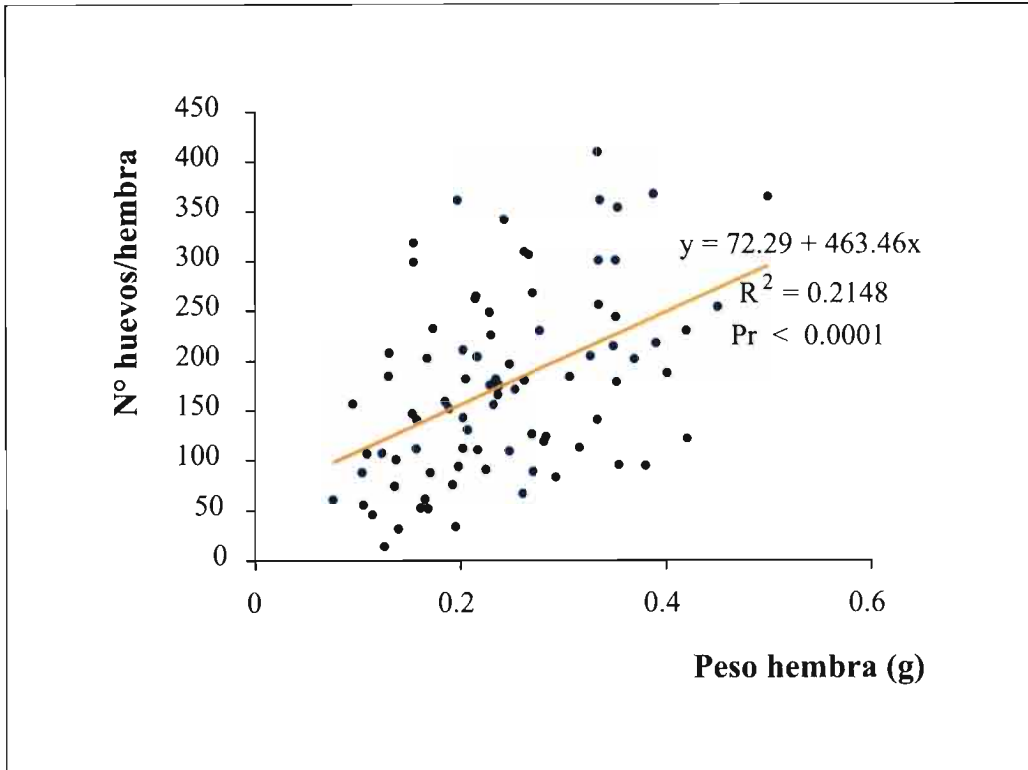


Figura 1. Relación entre la fecundidad potencial y el peso (g) de las hembras adultas de *phoracantha recurva* ( $26 \pm 1^\circ \text{C}$ ,  $75 \pm 10\%$  HR y fotoperíodo de 12:12h (L : O)).

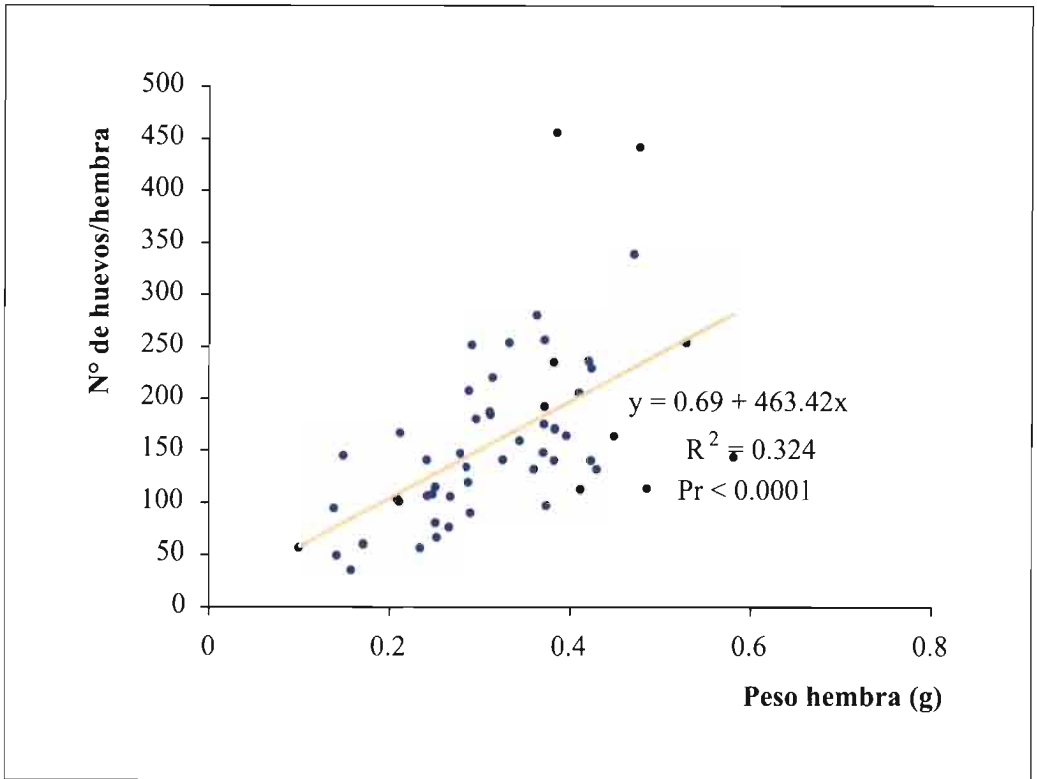


Figura 2- Relación entre fecundidad potencial y el peso (g) de las hembras adultas de *Phoracantha semipunctata* ( $26 \pm 1^\circ \text{C}$ ,  $75 \pm 10\%$  HR y fotoperíodo de 12:12 h (L : O)).

El número de huevos puestos por hembra varió desde 6 a 401 para *P. recurva* y desde 15 a 448 en el caso de *P. semipunctata*, siendo los valores promedio  $162.9 (n = 140) \pm 90.6$  y  $141.3 (n = 141) \pm 89.1$  respectivamente. No se constataron diferencias significativas entre especies ( $Pr < 0.0001$ ). Estos resultados fueron similares a los valores promedio obtenidos por HANKS *et al.* (1993, 1995) para *P. semipunctata*.

El porcentaje de huevos eclosionados fue de 77% para ambas especies.

La fecundidad potencial y el peso de las hembras adultas de *P. recurva* y *P. semipunctata* mostraron una correlación positiva ( $Pr < 0.0001$ ) (Figuras 1 y 2).

#### AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Ing. Agr. Rafael Escudero por su colaboración en la tarea de campo y al Ing. Agr. Dr. Jorge Franco por la realización del análisis estadístico y asesoramiento en la interpretación de los resultados.

## ABSTRACT

BIANCHI M., A. SÁNCHEZ. 2007. Biology of *Phoracantha recurva* Newman AND *Phoracantha semipunctata* Fabricius (Coleoptera: Cerambycidae) reared on *Eucalyptus* ssp. *Globulus* under conditions laboratory. *Bol. San. Veg. Plagas*, **33**: 71-78.

*Phoracantha recurva* Newman and *Phoracantha semipunctata* Fabricius beetles are two of the most important introduced pest of Eucalyptus plantations in Uruguay. The objective of this work was to find differences between both species related with biological features under laboratory conditions. For the establishment of the initial colony, adults insects were obtained from naturally infested trees. *Eucalyptus globulus* ssp. *globulus* logs, whose ends were waxed by dipping them in hot paraffin wax, were inoculated with neonate larvae after eggs hatching. These logs were kept under  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ ,  $75 \pm 10\%$  H.R. and 12:12 (L:D) h. After adults emergence, males and females were paired, fed with water and honey and kept in glass containers. Egg layings were daily extracted. Laboratory conditions to promote oviposition and incubations of eggs were  $26 \pm 1^\circ\text{C}$ ,  $75 \pm 10\%$  H.R. and 12:12 (L:D) h. *P. recurva* and *P. semipunctata* mean incubation periods were  $287.5 \pm 89.6$  and  $321.1 \pm 101.6$  days. Correspondent values for males were  $298.7 \pm 97.7$  and  $308.4 \pm 94.1$  days. Adults life spans showed statistical differences between species and sexes. Average number of eggs laid by *P. recurva* was  $162.9 \pm 90.6$  eggs/female, and correspondent value for *P. semipunctata* was  $141.2 \pm 89.1$ . Hatching percentage of eggs was for both species 77 %. Adult females weight was positively related to number of eggs laid by female.

**Key words:** Coleoptera, Cerambycidae, *Phoracantha*, biology.

## REFERENCIAS

- BIANCHI, M. y SÁNCHEZ, A., 1999. *Phoracantha recurva* Newman y *Phoracantha semipunctata* (Fabricius)". In: Guía de insectos y ácaros de importancia agrícola y forestal en el Uruguay. C. Bentancourt, I. Scatoni. Montevideo: FA. PREDEG.GTZ: p. 69.
- BYTINSKI-SALZ, H. y NEUMARK, S., 1952. The Eucalyptus Borer (*Phoracantha semipunctata* F.) in Israel. *Trans. IX Int. Congr. Ent.*, 1: 696-699.
- CHARARAS, C., 1969. Biologie et ecologie de *Phoracantha semipunctata* F. (Coleoptere, Cerambycidae xylophage) ravageur des *Eucalyptus* en Tunisie et methodes de protection des peuplements. *Ann. INRA de Tunisie*, **2** (3), 37 pp.
- CHARARAS, C., 1969. Etude biologique de *Phoracantha semipunctata* F. (Coléoptère Cerambycidae xilophage) spécifique des *Eucalyptus* en Tunisie et recherches sur la vitalité et l'adaptation de essences. *Comptes Rendus des Scénces de l'Académie d'Agriculture de France*, **55** (1): 47-57.
- CHARARAS, C. y SADDA, K., 1977. Biologie, nutrition et activité enzymatique comparées chez les larves de *Phoracantha semipunctata* F. (Coléoptere cerambycidae irradiées au Cobalt 60 et non irradiées. *Archives de l'Institut Pasteur de Tunis*, **50** (1/2):1- 27.
- DE SANTIS, L., 1945. El taladro de los eucaliptos (*Phoracantha semipunctata* Fabr.). *Ingeniería Agronómica*, n.3: 126-140.
- DRINKWATER, T. W., 1975. The present status of *Eucalyptus* borers *Phoracantha* spp. in South Africa. In Proceedings of the First Congress of the Entomological Society of Southern Africa 1975. Entomological Society of Southern Africa, Pretoria, South Africa:119-129.
- GONZALEZ, T. L., 1986. *Phoracantha semipunctata* Fabr.: Daños ocasionados en la Provincia de Huelva durante 1983 y 1984. Valoración económica. *Bol. San. Veg. Plagas*, **12** (1): 147:162.
- HANKS, L. M., STEVEN, J., JOCELYN, G., PAINE, T. D., 1993. *Phoracantha semipunctata* (Coleoptera: Cerambycidae) a serious pest of *Eucalyptus* in California: biology and laboratory- rearing procedures. *Annals of the Entomological Society of America*, **86** (1): 96-102.
- HANKS, L. M.; MILLAR, J. G.; PAINE, T. D. 1995. Biological constraints on host-range expansion by the wood-boring beetle *Phoracantha semipunctata* (Coleoptera: Cerambycidae). *Annals of the Entomological Society of America*, **88** (2): 183-188.
- MINISTERIO DE AGRICULTURA GANADERIA Y PESCA. 2000. Censo Agropecuario General. Resultados definitivos. MGAP- DIEA. Montevideo, Uruguay. 1 v.: 44 pp.
- MONNÉ, M.; BIANCHI, M.; SÁNCHEZ, A.; ESCUDERO R., 2002. Cerambycidos (Coleoptera) que atacan *Eucalyptus globulus* y *Eucalyptus grandis* en Uruguay. *Agrociencia*, **6**(1): 63-68.
- PAINE, T. D.; MILLAR, J. D.; HANKS, L. M. 1995. Integrated program protects trees from *Eucalyptus* longhorned borer. *California Agriculture*, **49** (1) 34-37.
- SAS Institute INC, 2000. SAS/STAT ® Versión 8.2 Cary, N.C., U.S.A.
- SCRIVEN, G. T.; REEVES, E. L. & LUCK, R. F., 1986. Beetle from Australia threatens *Eucalyptus*. *California Agriculture*. July-August 1986, **40**: 4-6.
- URUGUAY. MINISTERIO DE AGRICULTURA GANADERIA Y PESCA. DIRECCIÓN FORESTAL. 1990. Ley Forestal N° 15.939. Montevideo.

- WANG, Q., 1995. A taxonomic revision of the Australian genus *Phoracantha* Newman (Coleoptera: Cerambycidae). *Invertebrate Taxonomy*, **9** (5): 865-958.
- WINSTANLEY, J. K., 1985. The *Eucalyptus* borers *Phoracantha semipunctata* (F) and *P. recurva* N. (Coleoptera: Cerambycidae). Pest and Diseases of South African Forests and Timber, South African Department of Environment Affairs Pamphlet 273, 5pp.
- WINSTON, P. W. y BATES D. H., 1960. Saturated solutions for the control of humidity in biological research. *Ecology*, **41**: 232 - 237.
- ZAJCZAK, D. y RUFFINELLI, A., 1962. Fauna de los cerambycidos del Uruguay. *Universidad de la República Facultad de Agronomía, Montevideo*. Bol. **60**: 32-33.

(Recepción: 14 noviembre 2006)

(Aceptación: 20 diciembre 2006)



## Contribución al conocimiento de la Ortopterocenosís de la Península Ibérica

M. COCA-ABIA, C. QUERO LÓPEZ, J. M. SOPEÑA MAÑAS, E. MARTÍN BERNAL, A. GUERRERO

Este trabajo es el primero de una serie de estudios encaminados a ampliar el conocimiento de la ortopterocenosís de las regiones españolas en las que tradicionalmente hay problemas con la plaga de langosta. En esta primera parte se ha abordado un estudio morfológico de las especies implicadas, su diagnóstico y distribución. Inicialmente se ha estudiado la Comunidad Autónoma de Aragón, donde se pretende establecer un centro de referencia a nivel nacional para difundir y aplicar los conocimientos adquiridos a otras Comunidades del territorio nacional. En consecuencia, los muestreos llevados a cabo en este área concluyeron que, además de *Dociostaurus maroccanus* (Thunberg, 1815), en Zaragoza han sido recolectados *Calliptamus wattenwylianus* (Pantel, 1896) *Dociostaurus jagoi* Soltani, 1978, *D. jagoi occidentalis* Soltani, 1978 y en Teruel *Stauroderus scalaris* (Fischer de Waldheim, 1846). Además, y por primera vez se estudian por microscopía electrónica las piezas bucales, antenas y genitalia masculina de dos especies del género *Calliptamus*.

M. COCA-ABIA. Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria. Departamento de Ciencia y Universidad (DGA). Unidad de Sanidad Vegetal. Carretera de Montañana a Peñaflo, 930. 50059 Zaragoza. mcoca@aragon.es.

C. QUERO LÓPEZ, A. GUERRERO. Instituto de Investigaciones Químicas y Ambientales (CSIC). Departamento de Química Orgánica Biológica. Unidad de Ecología Química. Jordi Girona, 18-26. 08034 Barcelona. cqlqob@iiqab.csic.es/agpqob@iiqab.csic.es.

J. M. SOPEÑA MAÑAS. Centro de Protección Vegetal. Departamento de Agricultura (DGA). Carretera de Montañana a Peñaflo, 930. 50059 Zaragoza. jmsopenna@aragon.es.

E. MARTÍN BERNAL. Dirección General del Medio Natural. Departamento de Medioambiente (DGA). Pº María Agustín, 36, puerta 8, entreplanta. 50071 Zaragoza. emartin@aragon.es.

**Palabras clave:** Ortopterocenosís, langosta, *Calliptamus*, *Dociostaurus*, *Stauroderus*.

### INTRODUCCIÓN

Se consideran langostas aquellas especies de ortópteros que presentan polimorfismo de fase y tendencia a la gregarización (UVAROV, 1928; SYMMONS & CRESSMAN, 2001). Las especies de langosta más importantes en España son *Dociostaurus maroccanus* (Thunberg, 1815), comúnmente llamada langosta mediterránea o marroquí, y *Calliptamus italicus* (Linnaeus, 1758) o langosta italiana. Estas dos especies han aparecido en

muchas Comunidades Autónomas con una densidad suficiente como para considerarse plagas (DEL CAÑIZO, 1939). Aunque la primera ha sido dominante dentro de la ortopterocenosís de la región aragonesa, se está observando en los últimos años un aumento de la proporción de individuos de *Calliptamus* Serville (1831) respecto a *Dociostaurus* Fieber (1853), hecho que ya fue advertido por algunos entomólogos en otras regiones españolas. Además, se ha puesto en duda que *C. italicus* sea la única especie del género que se

considera plaga en territorios peninsulares (DEL CAÑIZO, 1939; LLORENTE, 1982).

Tal como pronosticaron estos autores, en los últimos años hemos podido constatar en Aragón la proliferación de otros ortópteros, éste es el caso de algunas especies no gregarias de *Calliptamus* que están causando daños importantes en la agricultura de algunas comarcas, como Calatayud y Cariñena. Además se observa una gran densidad de individuos del género *Stauroderus* Bolívar (1898) en pastizales de la alta montaña turolese, así como otras especies de *Doclostaurus* además del preponderante *D. maroccanus* en áreas incultas de Épila (Zaragoza).

Debido a la magnitud del problema en Aragón, en esta Comunidad Autónoma se pretende establecer un centro de referencia a nivel nacional, desde donde se difundirán a todo el territorio nacional los resultados de las investigaciones llevadas a cabo en el marco del proyecto INIA titulado "Biología y etología de acrididos plaga *Doclostaurus* Fieber (1853) y *Calliptamus* Serville (1831) y estudios prospectivos de control integrado mediante feromonas" (RTA2006-00110-C02-01).

Este trabajo es el primero de una serie dentro del proyecto arriba mencionado, que pretende estudiar los ortópteros plaga, aportar nuevos datos sobre la ortopterocenosis de la región aragonesa y contribuir al conocimiento de la morfología y la distribución de algunas especies proliferantes en Aragón y en otras Comunidades Autónomas.

## MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio morfológico externo y de la genitalia masculina se hizo mediante observación directa de los ejemplares bajo estereomicroscopio. Las piezas bucales fueron extraídas y limpiadas con KOH al 5%. Estas piezas junto con las antenas y la genitalia masculina fueron estudiadas también a través de un microscopio electrónico de barrido (SEM) del Museo Nacional de Ciencias Naturales de Madrid (CSIC).

Los especímenes estudiados proceden del campo. A continuación se especifica la espe-

cie, localidad, UTM (referidas al datum European 1950) y fecha de recolección. Debido a la gran cantidad de individuos en la época de recolección no se especifica el número de ejemplares recolectados.

*Calliptamus wattenwylanus* (Pantel, 1896). Zaragoza: Alhama de Aragón UTM: 0590401/4577771 (14/06/06). Caspe-Chiprana UTM: 0755691/4570852 (23/06/05, 11/05/06, 22/05/06, 01/06/06, 07/06/06). Cervera de la Cañada UTM: 600854/4587293/772 (10/05/05, 24/05/05, 01/70/05). Épila UTM: 650038/4600923/438 y 648723/45991193/462 (17/06/05, 19/05/06). Torralba de Ribota UTM: 610678/4585091/643 y 610516/4586673/668 (10/05/05). Zuera (UTM: 0736196/4570648) (21/06/06, 07/07/06, 12/07/06, 14/07/06, 17/07/06, 20/07/06, 25/07/06).

*Calliptamus italicus*: Cuenca (05/07/05).

*Doclostaurus jagoi* Soltani, 1978. Zaragoza: Épila UTM: 650038/4600923/438 y 648723/45991193/462 (16/06/05, 04/07/05).

*D. jagoi occidentalis* Soltani, 1978. Zaragoza: Épila UTM: 650038/4600923/438 y 648723/45991193/462 (16/06/05, 04/07/05).

*Doclostaurus maroccanus*. Zaragoza: Alhama de Aragón UTM: 0590401/4577771 (27-29/06/06). Caspe-Chiprana UTM: 0755691/4570852 (11/05/06). Cervera de la Cañada UTM: 600854/4587293/772 (24/05/05). Épila UTM: 650038/4600923/438 y 648723/45991193/462 (17/06/05, 04/07/05, 07/07/05). Torralba de Ribota UTM: 610678/4585091/643 y 610516/4586673/668 (10/05/05). Torrijo de la Cañada (Villalengua) UTM: 30T589345/4587478/978 (24-29/05/06).

*S. scalaris* (Fischer de Waldheim 1846). Teruel: Puebla de Valverde (Javalambre) UTM: 30T668647/4438924/1850 (30/06/06).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### EL GÉNERO *CALLIPTAMUS*

*Calliptamus* (Fig. 1) es un género incluido en la superfamilia Acridoidea, familia



Figura 1. Habitus de *Calliptamus wattenwylanus*.

Catantopidae y subfamilia Callipataminae (CLEMENTE *et al.*, 1987). Ampliamente distribuido por la Región Paleártica, se extiende por gran parte de la Europa circummediterránea, Europa Central y del Este, penetrando hasta la parte más oriental de Rusia, Cercano Oriente y Norte de África. Además, se conocen especies distribuidas por las Islas Canarias, Madeira y la Región Oriental (KLAUS-GERHARD, 2004). De las trece especies que constituyen el género (JAGO, 1963), cuatro se distribuyen por la Península Ibérica (*C. barbarus* (Costa, 1836), *C. italicus*, *C. siciliae* (Ramme, 1927) y *C. wattenwylanus* (CLEMENTE *et al.*, 1987; LLORENTE, 1982).

*Calliptamus* es un género con especies robustas y con dimorfismo sexual acentuado sobre todo en el tamaño, las hembras son más grandes que los machos y éstos, en el extremo distal del abdomen, presentan dos cercos (Fig. 2) que utilizan para sostener a la hembra mientras se mantienen en cópula. Este género también se caracteriza por su variabilidad cromática apareciendo dentro de la misma especie coloraciones desde parda a verde e incluso moteada. Por otro lado, la variedad *marginellus* se caracteriza por presentar el dorso con dos rayas amarillentas, y curiosamente, según algunos autores (LLORENTE, 1982) esta coloración aparece en tres especies ibéricas distintas, *C. barbarus*, *C. italicus*, y *C. wattenwylanus*.

La antena de *Calliptamus* (Fig. 3) de tipo filiforme presenta sensilas tricoides y basicónicas. Ambas tienen función olfativa y son similares a las de algunos saltamontes (CHEN *et al.*, 2003) y otros ortópteros como *Locusta migratoria* (Linnaeus, 1758) (YAMAMOTO-KIHARA *et al.*, 2004). Según CHEN *et al.*, (2003) parece haber una relación directa entre el tipo de receptores antenales y el nicho trófico de algunos saltamontes de Mongolia. La tendencia general es que las especies de ortópteros que se alimentan de hierba presenten más sensilas antenales, en particular coleocónicas, que otros grupos tróficos de ortópteros. En *Calliptamus* se han podido observar sensilas coleocónicas en el labio superior (Fig. 4B), lo que podría indicar la función olfativa o del gusto de esta pieza en relación con la selección del recurso trófico.

El aparato bucal es de tipo masticador, constituido por el mentum o labio inferior, labro o labio superior, dos mandíbulas y dos mandíbulas (Fig. 4). En el labro aparecen sensilas que podrían ser coleocónicas (Fig. 4B) como las existentes en antenas de algunos ortópteros (CHEN *et al.*, 2003). Estas mismas sensilas coleocónicas aparecen a lo largo de la hipofaringe.

El pene (Fig. 5) es la estructura más utilizada para la identificación taxonómica de

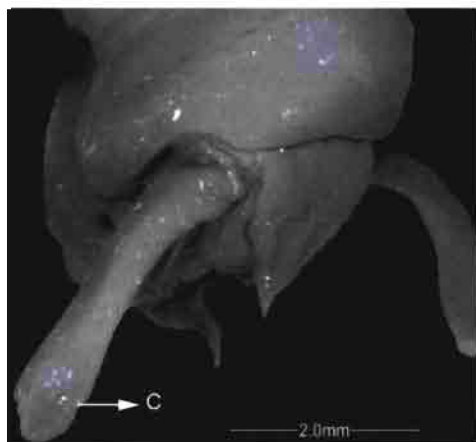


Figura 2. Cercos de un macho de *Calliptamus italicus*.

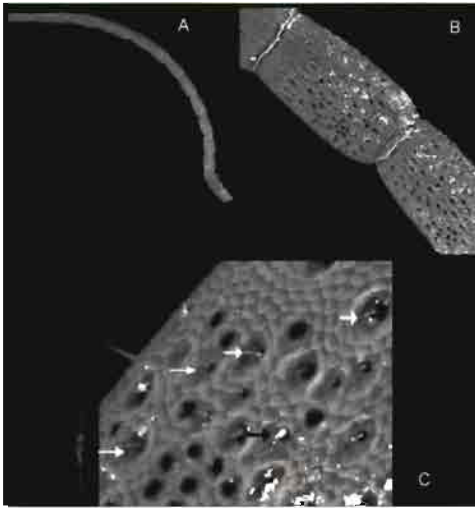


Figura 3. Antena de *Calliptamus wattenwylianus*. Vista general (A). Detalle de dos artejos (B). Detalle de un artejo (C), flechas blancas señalan sensilas tricoides, flecha negra señala sensila basicónica.

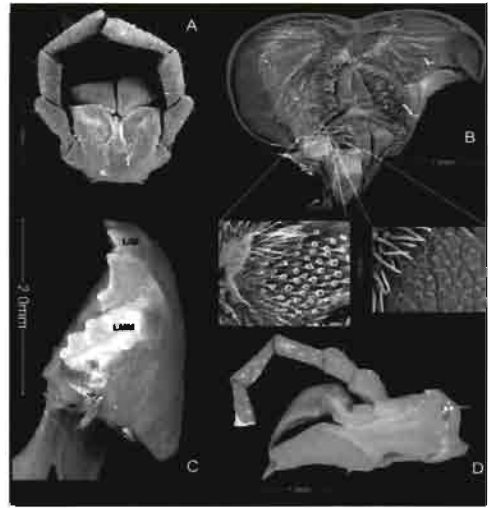


Figura 4. Aparato bucal de *Calliptamus wattenwylianus*. Mentum (A). Labro y detalle de sensilas coleocónicas (B). Mandíbula con el lóbulo incisivo mandibular (LIM) y el lóbulo molar mandibular (LMM) (C). Maxila (D).

machos de las especies de *Calliptamus*. En concreto la forma de las valvas del pene divide a las especies ibéricas en dos grupos: con las valvas afiladas como en *C. wattenwylianus* (Figs. 5A,B) y *C. italicus* (Fig. 5C) y con las valvas romas y fuertemente esclerosadas (*C. barbarus* y *C. siciliae*) (LLORENTE, 1982). Otros rasgos morfológicos externos utilizados en la diagnosis son la longitud de los élitros, la coloración de las alas y la coloración y engrosamiento de los fémures posteriores (LLORENTE, 1982). Sin embargo, excepto para los rasgos encontrados en el pene, que sólo permiten la identificación de los machos, los caracteres cromáticos presentan una cierta variabilidad y otros, como los métricos (ensanchamiento de los fémures posteriores y longitud y ensanchamiento de los élitros) son difícilmente cuantificables y hasta el momento sin una metodología adecuada. Estos hechos podrían haber provocado confusión en la diagnosis de las especies de *Calliptamus*, sobre todo en las hembras, provocando identificaciones equívocas y con ello citas erróneas sobre su distribución. De

hecho, durante años y por un diagnóstico erróneo, ejemplares de *C. barbarus* fueron identificados como *C. italicus* considerándose esta última especie ampliamente distribuida por la Península Ibérica (ver LLORENTE, 1982). Fue JAGO (1963) quien rectificó el error diagnóstico concluyendo que *C. italicus* no se encontraba al sur de los Pirineos; sin embargo, trabajos posteriores han confirmado la presencia de *C. italicus* en la Península Ibérica (PRESA, 1976; LLORENTE, 1982).

En la región aragonesa, concretamente en la provincia de Zaragoza (véase Material y Métodos) hemos capturado ejemplares de *C. wattenwylianus*, los cuales se caracterizan por presentar las valvas del pene afiladas y proyectadas cefálicamente (Figs. 5A,B), el palio del pene corto y puntiagudo y los ápices de las tegminas claramente estrechados a partir del segundo tercio apical y que nunca superan las rodillas de las patas posteriores. Así, se confirma además la sospecha de que *C. italicus* no es la única especie plaga del género en la Península Ibérica (DEL CAÑIZO, 1939; LLORENTE, 1982).

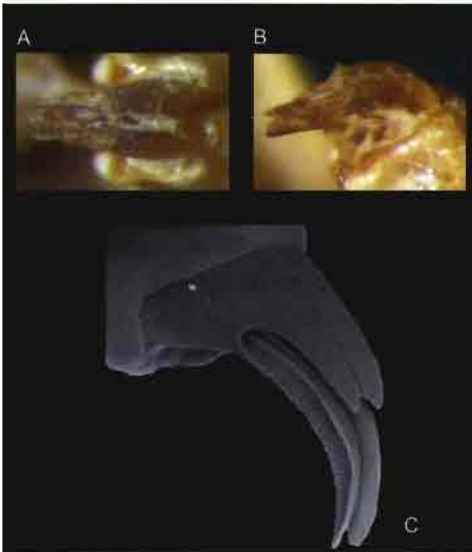


Figura 5. Pene en vista dorsal (A) y lateral (B) de *Calliptamus wattenwylianus* y de *Calliptamus italicus* (C).

EL GÉNERO *DOCIOSTAURUS*

*Dociostaurus* (Fig. 6) es un género incluido en la superfamilia Acridoidea, familia Acrididae y subfamilia Gomphocerinae (CLEMENTE *et al.*, 1987), ampliamente distribuido por la Región Paleártica. Como el género *Calliptamus* se extiende por gran parte de la Europa circummediterránea, Central y del Este, penetrando hasta el centro, este y sur de Rusia, Cercano Oriente y Norte de África. Además, se conocen especies distribuidas por Madeira y las Islas Canarias (KLAUS-GERHARD, 2004).

De las diecinueve especies (Soltani, 1978) que constituyen el género *Dociostaurus*, *D. maroccanus*, *D. genei* (Ocskay, 1832), *D. jagoi*, *D. brevicollis* (Eversmann, 1848) y *D. crassiusculus* (Pantel, 1886) están distribuidas por la Península Ibérica. Estas especies no tienen dimorfismo sexual aparente: ambos sexos presentan el mismo tamaño aproximado y no muestran variabilidad cromática. Las únicas variaciones de color que experimentan se deben a los cambios de fase en las especies gregarias.

Nuestros muestreos en diferentes zonas de Aragón han constatado que, además de la especie predominante *D. maroccanus*, también se ha detectado la presencia de *D. jagoi* (Fig. 7) y la subespecie *D. jagoi occidentalis* (Fig. 8) en la provincia de Zaragoza (véase Material y Métodos). Las diferencias morfológicas entre *D. maroccanus* y *D. jagoi* son significativas y permiten su identificación inequívoca. Así, *D. jagoi* y *D. jagoi occidentalis* son más gráciles, de coloración más clara y más pequeñas que *D. maroccanus*. Los ápices de los élitros o tegminas no sobrepasan las rodillas de las patas posteriores y las tibias posteriores son amarillentas. *D. maroccanus* (Fig. 6), en cambio, es una especie de mayor tamaño, más oscura y las tegminas sobrepasan las rodillas de las patas posteriores cuyas tibias son rojizas.

EL GÉNERO *STAURODERUS*

Como *Dociostaurus*, *Stauroderus* (Fig. 9) es un género incluido en la superfamilia Acridoidea, familia Acrididae y subfamilia Gomphocerinae (CLEMENTE *et al.*, 1987). Distribuido por la Región Paleártica, se



Figura 6. *Dociostaurus maroccanus*. Hembra haciendo la puesta y dos machos intentando la cópula.



Figura 7. Habitus de *Dociostaurus jagoi*.



Figura 8. Habitus de *Dociostaurus jagoi occidentalis*.

extiende también por la cuenca septentrional del Mediterráneo, Europa Central y del Este, penetrando hasta el centro, este y sur de Rusia y Cercano Oriente (KLAUS-GERHARD, 2004). Es un género constituido por una única especie, *Stauroderus scalaris*, que hemos encontrado en pastizales alpinos de Puebla de Valverde (Javalambre) (Teruel) a 1850 m de altitud. La especie (Fig. 9) presenta dimorfismo sexual sólo en la venación alar, variabilidad cromática desde parda a verde y ambos sexos tienen prácticamente el mismo tamaño.

## CONCLUSIONES

Nuestros muestreos han revelado que, además de *D. maroccanus*, se encuentran en Aragón las especies *C. wattenwylanus*, *S. scalaris*, *D. jagoi* y la subespecie *D. jagoi occidentalis*. El estudio morfológico de la antena y boca de un ejemplar de *Calliptamus wattenwylanus* revela la existencia de sensilas tricoides, basicónicas y coleocónicas. La presencia de sensilas coleocónicas en el labro podría indicar función olfativa o del gusto de esta pieza bucal y su relación con el tipo de recurso trófico.



Figura 9. Habitus de *Stauroderus scalaris*.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Dra. Vicenta Llorente del Moral (Museo Nacional de Ciencias Naturales de Madrid) su ayuda en la identificación y estudio de los ejemplares recolectados para este trabajo. Igualmente a Adán Martínez Garbayo el asesoramiento y asistencia en el campo y a Susana Giménez Legarre, Eduardo García Muñoz e Isaac Tena López su ayuda en el campo y en el laboratorio.

Este trabajo ha sido financiado por el Proyecto INIA "Biología y etología de acrididos plaga *Docioctaurus* Fieber (1853) y *Calliptamus* Serville (1831) y estudios prospectivos de control integrado mediante feromonas" (RTA2006-00110-C02-01).

## ABSTRACT

COCA-ABIA M., C. QUERO LÓPEZ, J. M. SOPENA MAÑAS, E. MARTÍN BERNAL, A. GUERRERO. 2007. Contribution to the knowledge of the Orthopterocenosis of the Iberian Peninsula. *Bol. San. Veg. Plagas*, 33: 79-86.

This work is the first of a series of studies directed to expand the knowledge of the orthopterocenosis to those Spanish regions that traditionally present problems concerning locust pests. This paper deals with a morphological study of the species involved in pests, their diagnosis and distribution. Initially, we have studied the Autonomous Region of Aragón where a reference centre at national level is going to be established in order to spread and apply the acquired knowledge to other Spanish Regions. Consequently, the samplings carried out in this region concluded that, in addition to *Docioctaurus maroccanus* (Thunberg, 1815), other specimens have been identified in Zaragoza province such as *Calliptamus wattenwylianus* (Pantel, 1896), *Docioctaurus jagoi* Soltani, 1978, *D. jagoi occidentalis* Soltani, 1978 and in Teruel province, *Stauroderus scalaris* (Fischer de Waldheim, 1846). In addition, and for the first time, the mouth parts, antennae and male genitalia of two species of *Calliptamus* genus have been studied by Scanning Electron Microscopy.

**Key words:** Orthopterocenosis, locust, *Calliptamus*, *Docioctaurus*, *Stauroderus*.

## REFERENCIAS

- CHEN, H. H., ZHAO, Y. X., KANG, L. 2003. Antennal sensilla of grasshoppers (Orthoptera: Acrididae) in relation to food preferences and habits. *J. Biosci.*, **28**: 743-752.
- CLEMENTE, M. E., GARCÍA, M. D., PRESA, J. J. 1987. Clave de los géneros de saltamontes ibéricos (Orthoptera; Caelifera). Universidad de Murcia, 63 pp.
- DEL CAÑIZO, J. 1939. Las plagas de langosta en España. *Bol. Pat. Veg. Ent. Agríc.*, **8**: 27-48.
- JAGO, N. D. 1963. A revision of the genus *Calliptamus* Serville (Orthoptera: Acrididae). *Bull. Brit. Mus. Nat. Hist. Ent.*, **13**: 287-350
- KLAUS-GERHARD, H. 2004. Fauna Europaea: Acrididae. Fauna Europaea Versión 1.1, <http://www.faunaeur.org>
- LLORENTE, V. 1982. La subfamilia *Calliptaminae* en España (Orthoptera, Catantopidae). *Eos*, **58**: 171-192.
- PRESA, J. J. 1976. *Calliptamus italicus* (Linneo) en la Península Ibérica. *Acrida*, **5**: 257-260.
- SYMMONS, P. M., CRESSMAN, K. 2001. *Desert Locust Guidelines. 1. Biology and behaviour*. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Roma, Segunda Edición 2001.
- UVAROV, B. P. 1928. *Locusts and grasshoppers: A handbook for their study and control*. London: Imperial Bureau of Entomology 352 pp.
- YAMAMOTO-KIHARA, M., HATA, T., BREUER, M., TANAKA, S. 2004. Effect of [His<sup>1</sup>]-corazonin on the number of antennal sensilla in *Locusta migratoria*. *Physiol. Ent.*, **29**: 73-77.

(Recepción: 23 noviembre 2006)

(Aceptación: 28 diciembre 2006)



## *Fusicladium eriobotryae*: hongo causante del moteado del níspero en el Mediterráneo español

P. SÁNCHEZ TORRES, R. HINAREJOS, J. J. TUSET

Se ha aislado el patógeno fúngico responsable del moteado en níspero del Mediterráneo español y ha sido identificado como *Fusicladium eriobotryae* de acuerdo a sus caracteres morfológicos y genéticos. Los síntomas del moteado del níspero en la región Mediterránea se muestran de forma severa en ambos lados de las hojas y en el fruto, apareciendo en forma de manchas verdes o parduzcas. La lesión es normalmente circular y su tamaño aumenta a medida que avanza la enfermedad volviéndose olivácea y aterciopelada debido a la presencia de esporas. Los síntomas del moteado se han reproducido utilizando un sistema de infección *in vivo*. Así mismo, se ha llevado a cabo la infección de plantas de nísperos con los aislados *F. eriobotryae* (NSH y NCH) y con especies muy relacionadas tales como *Venturia inaequalis*, *Venturia pirina*, *Spilocaea pomi*, *Spilocaea eriobotryae*, *Fusicladium carpophilum* estudiando los síntomas producidos. Además se ha realizado la caracterización molecular comparando el rDNA de todos los aislados con el fin de establecer su grado de homología y su relación filogenética.

P. SÁNCHEZ TORRES, R. HINAREJOS, J. J. TUSET. Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA). Departamento de Protección Vegetal y Biotecnología. Laboratorio de Micología. Ctra. Moncada-Náquera km 4,5 46113 Moncada, Valencia.  
E-mail: palomas@ivia.es

**Palabras clave:** *Spilocaea*, *Venturia*, patogénesis, ITS, rDNA

### INTRODUCCIÓN

El níspero (*Eriobotrya japonica* Lindl.) se cultiva en las áreas templadas y su producción ha ido creciendo de forma constante debido a la reconversión varietal y a la incorporación de nuevas técnicas de cultivo. Las variedades más difundidas en España son Tanaka y Algerie. La primera es de maduración tardía que está más expuesta al golpe de sol y presenta frutos de buen calibre y extraordinario sabor. El cultivar Algerie constituye el 95% de la producción del sur de toda la península por su mayor precocidad. Últimamente se están cultivando dos nuevas variedades, Magdall y Golden Nugget, sobre todo en Andalucía.

Entre las enfermedades que atacan al níspero cabe destacar el "moteado o roña". Esta

enfermedad es especialmente importante en la parte occidental de la cuenca mediterránea, donde produce numerosos daños (en algunos casos más de un 50% de la cosecha). Tiene mayor incidencia inmediatamente después de las primeras lluvias otoñales y ataca a los frutos en desarrollo. Los síntomas aparecen a lo largo del todo desarrollo en flores y frutos, si bien el más importante es el daño que parece en las hojas y en los frutos. Los daños de los frutos en algunos casos pueden ser tan severos que producen la pérdida de la cosecha (CABALLERO y FERNÁNDEZ, 2002).

Aunque el moteado o roña es una enfermedad bien conocida, hoy en día existe una enorme controversia en la identificación del patógeno fúngico responsable de esta enfermedad puesto que muchos autores la atribuyen

yen al género *Spilocaea* y otros al género *Fusicladium*. Ambos géneros corresponden a anamorfos de *Venturia* Sacc., género bien conocido puesto que *Venturia inaequalis* y *Venturia pirina* son los causantes del moteado en manzano y peral, respectivamente. *Venturia* se caracteriza por ser un género muy amplio ya que incluye numerosos patógenos de plantas. Este hongo produce sus ascosporas en la primavera en cuerpos fructíferos denominados pseudotecios, creados durante el invierno en las hojas caídas en el suelo y conidios sobre los tejidos verdes atacados durante toda la temporada vegetativa.

La mayoría de los análisis filogenéticos se basan en las repeticiones del DNA ribosómico (rDNA) debido a sus regiones conservadas. Dentro del género *Venturia* se han descrito 52 especies que incluyen los anamorfos *Fusicladium*, *Spilocaea* y *Cladosporium* (SIVANESEN, 1977). Muchos de ellos son patógenos de frutales o de plantas ornamentales y el níspero es especialmente sensible a esta enfermedad. Recientemente la caracterización del rDNA se ha empleado para establecer las relaciones filogenéticas dentro del género *Venturia*, responsable del moteado en numerosos frutales (SCHNABEL *et al.*, 1999). Por otro lado cabe destacar los estudios realizados a nivel taxonómico dentro del género *Fusicladium* (SCHUBERT *et al.*, 2003). Sin embargo, la distinción entre los diferentes anamorfos del género *Venturia* sigue siendo controvertida especialmente el género *Fusicladium* y *Spilocaea*. Las principales características que hasta ahora diferenciaban estos géneros se basan en el modo de proliferación y así, se engloba dentro del género *Fusicladium* aquellos con proliferación de tipo simpodial y dentro de *Spilocaea* aquellos con proliferación de tipo percurrente. (SCHUBERT *et al.*, 2003, SCHUBERT y BRAUN, 2005). Sin embargo, no existen estudios comparativos claros a nivel molecular que nos permitan discriminar estos dos anamorfos.

El objetivo de este trabajo ha sido la identificación y caracterización del patógeno fúngico responsable del moteado del níspero

en el ambiente mediterráneo con el fin de describir sus caracteres morfológicos y su proceso de infección. Asimismo, se describe la caracterización molecular del mismo comparándolo con especies relacionadas (*Venturia* y sus anamorfos) para establecer sus posibles relaciones filogenéticas.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### Material Vegetal

El material empleado para los diferentes aislamientos consistió en hojas y en frutos de Tanaka y Algerie afectados por moteado y procedentes de diferentes plantaciones de la Comunidad Valenciana.

Los primeros estudios de infectividad se realizaron en plantas de níspero cv Tanaka y cv Algerie. Para los estudios posteriores de patogenicidad y virulencia, se llevó a cabo la inoculación en plantas de níspero cv "Peluche". Dicha variedad se caracteriza por ser plantas de pequeño tamaño con hojas jóvenes de fácil desarrollo en el invernadero lo cual facilita los ensayos.

### Hongos empleados

Algunas de las cepas fúngicas empleadas fueron adquiridas a través de la Colección de Cultivo Tipo CBS: *Fusicladium carpophilum* (CBS 497.62) (Fc), *Spilocaea pomi* (CBS 180.47) (Sp) *Venturia inaequalis* (CBS 595.70) (Vi) and *Venturia pirina* (CBS 331.65) (Vp). Una cepa aislada a partir de níspero y amablemente cedida por el Dr Le Cam: *Spilocaea eriobotryae* (Se). El resto de los aislados corresponden a dos variedades de níspero cultivado en el Mediterráneo, Tanaka (NSH) (Serra-Valencia) y Algerie (NCH) (Comarca de Callosa d'en Sarriá-Alicante). El aislamiento de los hongos presentes en hojas y frutos de níspero con síntomas de moteado se realizó mediante pases sucesivos, primero en agua, y posteriormente en medio PDA suplementado con estreptomycinina 100 µg/ml para prevenir las contaminaciones de origen bacteriano, hasta la obtención de micelios monospóricos. Todas las cepas se

Cuadro 1. Secuencias de los distintos cebadores empleados en este estudio.

Nombre del Cebador	Secuencia
ITS1	(5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3'
ITS4	5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3'
18S-Rev	5'-AGGGTTCGATTCCGGAGAG-3'
18S-For	5'-GTGTTGAGTCAAATTAAGCCG-3'
28Y	5'-ATTTGCCTTAGTAACGGCGAG-3'
28Z	5'-CCTTGGTCCGTGTTTCAAGAC-3'
VCF1	5'-ATGGGTTAGCCTTCGGGCGC-3'
VCF2	5'-CTTGTAATATAGGTTTCGG-3'

mantuvieron en agar patata (PDA) (Difco Laboratories, Detroit) suplementado con estreptomycin a 8° C.

El estudio de los caracteres morfológicos de dichos cultivos puros se realizó mediante técnicas taxonómicas clásicas y su comparación con literatura especializada (BRIOSI y CAVARA, 1892; SCHUBERT *et al.*, 2003).

### Estudio de patogenicidad

En todas las experiencias de infección, se utilizaron suspensiones de esporas obtenidas a partir de placas de PDA previamente inoculadas con cada uno de los aislados y crecidas durante 45 días a 21°C hasta conseguir suficiente masa de micelio esporulado. El micelio se rascó de la placa de manera superficial para así obtener una suspensión de conidias en agua estéril y Tween al 0.5% con el fin de evitar que las esporas se agregaran entre si y facilitar su adherencia a la superficie de las hojas. Dicha suspensión se observó al microscopio y se cuantificó mediante un hematocitómetro. Se empleó una concentración de 10<sup>5</sup> esporas/ml que fueron distribuidas sobre la superficie de las hojas mediante spray. Las plantas seleccionadas para el proceso fueron aquellas que presentaban hojas jóvenes de unos 7 cm de longitud ya que son las que han resultado más susceptibles al proceso de infección.

Las plantas de níspero una vez inoculadas, se mantuvieron en un túnel del invernadero con 100 % de humedad durante una semana y posteriormente se mantuvieron en el invernadero a 21° C a humedad ambiental.

### Obtención de DNA genómico

Para la caracterización molecular se llevó a cabo el crecimiento de los aislados puros en placas de PDA durante 3 semanas a 21° C hasta obtener colonias de más de 1 cm de diámetro que permitiera disponer de suficiente micelio para una posterior extracción de DNA genómico. El DNA fue obtenido tal y como había sido descrito previamente por LE CAM *et al.* (2002) y el DNA se mantuvo en TE a -20° hasta su posterior utilización en reacciones de PCR.

### Amplificaciones por PCR

Se emplearon cebadores ITS1 e ITS4 para amplificar la región ITS. Los cebadores 18S-Rev y 18S-For se emplearon para amplificar la región 18S. Los cebadores 28Y and 28Z fueron empleados para amplificar la región 28S rRNA. Se diseñaron cebadores específicos VCF1 y VCF2 dentro de la región ITS del género *Venturia* y especies relacionadas para detectar específicamente *Venturia* y sus anamorfos en muestras mezcladas. (Véase Cuadro 1).

Las reacciones de PCR se llevaron a cabo en un volumen final de 100 µl conteniendo 1 µl (20 a 60 ng) de DNA molde; 1 µM cada cebador; 200 µM cada dNTP; 1.25 U de *Taq* DNA polimerasa (Invitrogen, MD); Los parámetros de la reacción fueron 94° C durante 5 min seguida por 30 ciclos de 94° C durante 30 s, 52° C 45 s, y 72° C durante 1 min. Los productos obtenidos fueron analizados por electroforesis en 1.5% agarosa en tampón TAE.

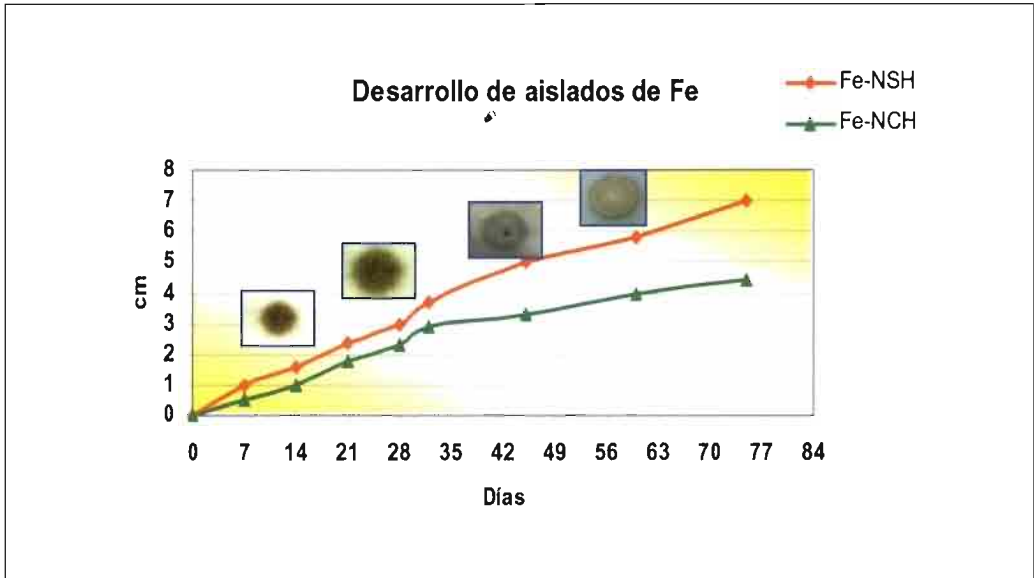


Figura 1. Diámetro de crecimiento de ambos aislados de *F. eriobotryae* (NSH y NCH) crecidos en medio sintético de PDA a 21°C.

### Secuenciación de DNA

Los productos de PCR se purificaron empleando el kit Ultra Clean™ PCR Clean-up (MoBio, Lan Inc., California) y se secuenciaron parcialmente empleando los cebadores ITS1, ITS4, 18S-Rev, VCF-2.

La secuenciación propiamente dicha se realizó mediante el método de PROBER *et al.*, (1987) en un secuenciador ABI 377 (Applied Biosystems, Madrid, Spain). Las secuencias de DNA se compararon con aquellas ya depositadas en la base de datos EMBL siguiendo en el algoritmo WU-BLAST (Washington University-Basic Local Alignment Search Tool (ALTSCHUL y GISH, 1996).

## RESULTADOS

### Aislamiento e identificación del patógeno fúngico

Entre los hongos encontrados cabe destacar la frecuente presencia de hongos pertenecientes al género *Cladosporium spp.* y *Alternaria spp.*, ambos parásitos facultativos con un comportamiento generalmente sapro-

fítico, que debido a su rápido crecimiento dificultaron el aislamiento de las colonias fúngicas de nuestro interés caracterizadas por una gran lentitud de crecimiento. Los aislados de interés fueron posteriormente incubados a 21° C durante 4 semanas para favorecer su esporulación.

“In vivo” este hongo se caracteriza por un lento desarrollo de su micelio debido a su carácter subcuticular de manera que cuando infecta sólo está presente en el tejido epidérmico y algunas células inferiores al mismo, donde el micelio del hongo encuentra el sustrato ideal. Bajo la cutícula, y a expensas de la epidermis, se producen las manchas en los estomas, que más tarde, si la humedad es apropiada, irrumpen al exterior y dan lugar a fructificaciones del hongo lo que hace que no exista mucho micelio aéreo. El micelio desarrollado en placa mostró el mismo desarrollo lento, tal y como se muestra en la Figura 1, donde sólo alcanza a cubrir la placa petri después de más de dos meses y medio de crecimiento. Las conidias son solitarias, rectas, de forma variable, que van de típica-

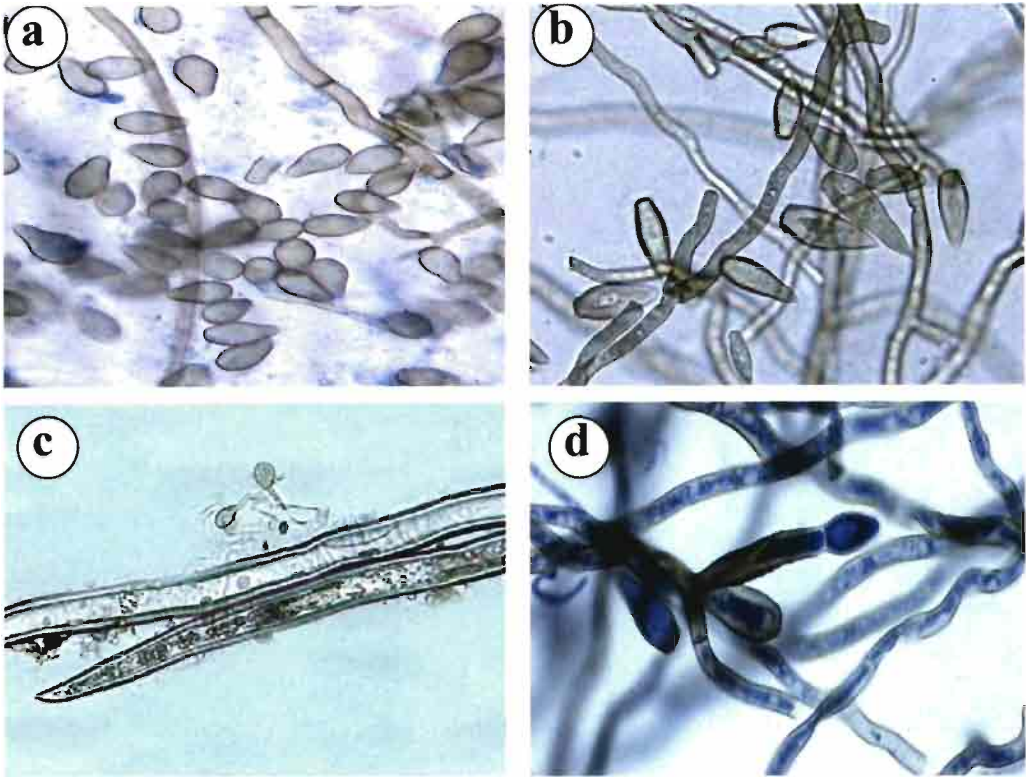


Figura 2. Conidias jóvenes de de *F. erobotryae* (Fe-NSH) crecido en PDA (a). Conidias adultas de *F. erobotryae* (Fe-NSH) crecido en PDA (b). Conidias de *F. erobotryae* germinando próximas al tricoma durante la infección en níspero (c). Micelio típicamente septado con conidiogénesis de tipo percurrente (d).

mente ovoides a obpiriformes, y pueden presentar en algunos casos un septo y cuyo tamaño oscila entre  $11,63 \pm 0,83 \times 6,18 \pm 0,58 \mu\text{m}$  en etapas jóvenes y  $16,30 \pm 2,52 \times 6,3 \pm 0,37 \mu\text{m}$  en etapas adultas (Figura 2-b). Además se caracterizan por presentar un estrechamiento en la punta y aspecto redondeado en la zona del ápice. Para su germinación requieren alto grado de humedad de ahí que normalmente la germinación de las conidias ocurra muy próxima a los tricomas donde existe alta concentración de humedad. (Figura 2-c).

La conidiogénesis observada de forma más frecuente corresponde a una de tipo percurrente (Figura 2-d) si bien también pudo observarse en algunos casos proliferación de tipo simpodial. El conidióforo presentó un

tamaño que osciló entre  $9,59 \pm 2,02 \times 4,57 \pm 0,68 \mu\text{m}$  (joven) y  $17,46 \pm 1,90 \times 4,42 \pm 0,52 \mu\text{m}$  (adulto) (Figura 3). La conidiogénesis percurrente en algunos casos fue muy manifiesta, apreciándose claramente las cicatrices de las conidias ya formadas y liberadas. (Figura 3-d).

### Patogénesis

#### Producción de daños

La inoculación de plantas de níspero cv Tanaka y cv Algerie realizada en un pequeño número de plantas confirmó la capacidad infectiva de nuestros aislados. Posteriormente se realizó la inoculación de plantas de níspero cv "Peluche" (Figura 4-a) que mostró la presencia de lesiones a los 21 días después de la inoculación (dpi) en forma de manchas

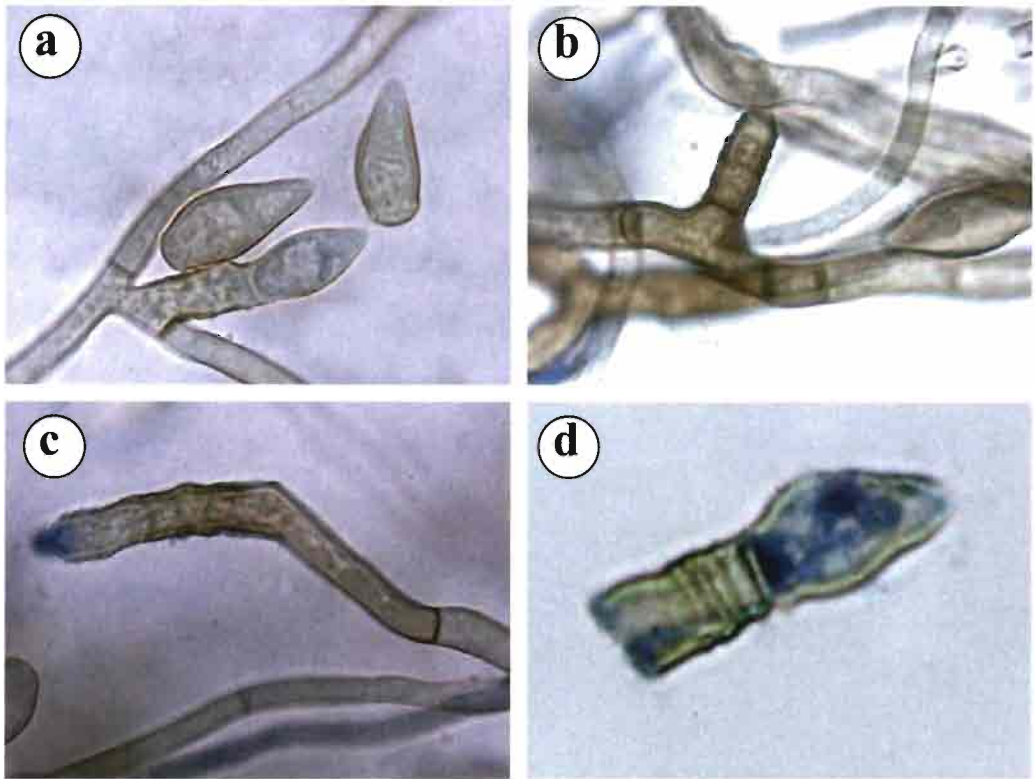


Figura 3. Distintos estadios de conidiogénesis de *F. erobotryae* típicamente percurrente con incremento del conidióforo (a, b y c). Cicatrices en conidióforo como resultado de conidiaciones previas (d).

cloróticas a lo largo de las hojas (Figura 4-b), y que se hicieron más manifiestas a los 45 dpi (Figura 4-c y 4-d) en forma de manchas cloróticas de color marrón oliváceo de aspecto aterciopelado y forma estrellada con muestras evidentes de presencia de esporas.

Este sistema ha permitido la confirmación de que los hongos aislados son responsables del moteado del níspero al reproducir los síntomas del mismo y desarrollando por tanto un sistema de infección *in vivo* eficaz.

#### Comparación de aislados

Siguiendo el proceso anteriormente descrito, se compararon los distintos aislados de *F. erobotryae* (NSH y NCH) con especies muy relacionadas como *V. inaequalis* (Vi), *V. pirina* (Vp), *S. pomi* (Sp), *S. erobotryae* (Se), *Fusicladium carpophilum* (Fc), estu-

diando tanto los síntomas como el proceso de infección.

Se llevaron a cabo tres experimentos independientes que permitieron constatar que *V. inaequalis* y *F. carpophilum* fueron incapaces de infectar níspero cv “Peluche” en las condiciones empleadas, mientras que *V. pirina*, *S. pomi* and *S. erobotryae* mostraron diferentes síntomas de moteado, aunque dichos síntomas difirieron de aquellos causados por los aislados identificados como *Fusicladium* y su incidencia fue claramente menor (Figura 5).

En términos de virulencia podemos destacar las grandes diferencias observadas entre los dos aislados de *Fusicladium* obtenidos en este trabajo. *F. erobotryae*-NSH mostró síntomas más severos que *F. erobotryae*-NCH,

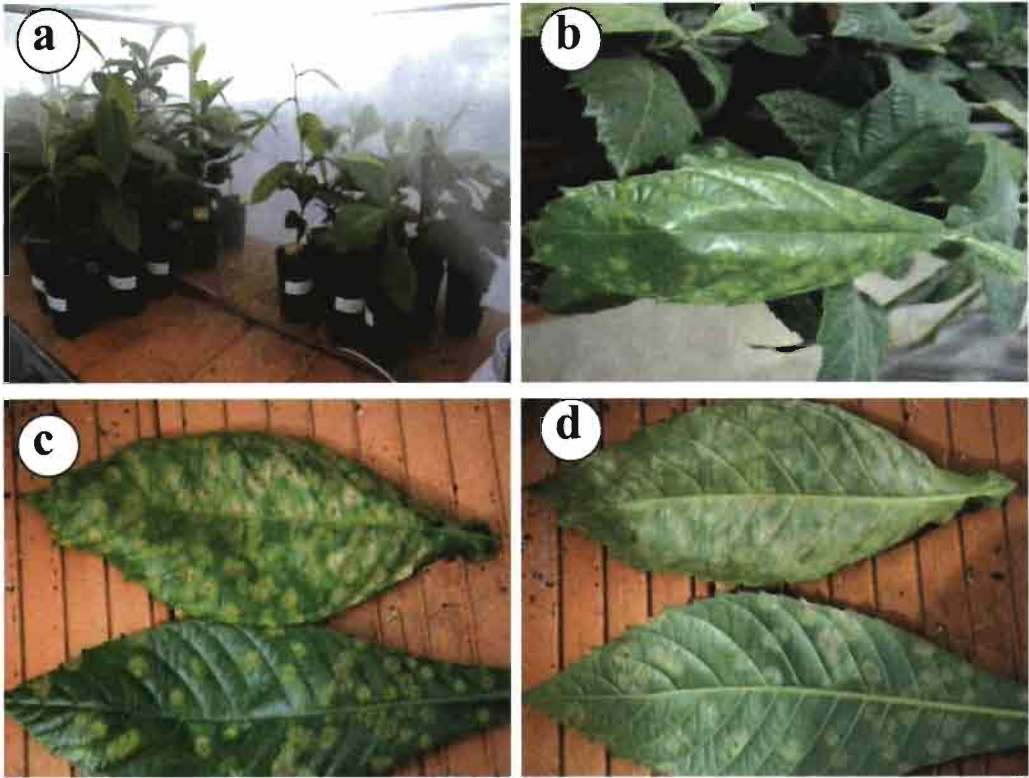


Figura 4. Plantas inoculadas con *F. eriobotryae* (NSH) que se mantuvieron en invernadero a 100% de humedad durante 1 semana (a). Primeras lesiones después de 21 dpi con aspecto de manchas cloróticas (b). Haz y envés de hojas después de 45 dpi como manchas cloróticas que aumentan a medida que progresa la enfermedad adquiriendo un aspecto oliváceo y aterciopelado debido a la producción de esporas asexuales y con forma estrellada (c y d).

ya que el número de hojas afectadas por planta así como la incidencia de las manchas en las hojas fue claramente superior. Este hecho fue también patente por la diferencia observada entre estos dos aislados de *Fusicladium* en la esporulación y así mientras Fe-NSH mostró esporas en ambas partes de la hoja (haz y envés), Fe-NCH sólo en el haz. (Figura 6).

#### Caracterización molecular de *F. eriobotryae*

Con el fin de elucidar las relaciones existentes entre nuestros aislados y *V. inaequalis* y otras especies relacionadas se ha llevado a cabo un análisis de la variación de secuencias dentro de la región ITS de especies representativas de estos dos grupos. La

caracterización molecular se ha realizado también comparando distintas regiones que incluyen D1/D2 así como la región del 18S entre todas las especies estudiadas con el fin de establecer su posible homología.

Empleamos distinta combinación de cebadores así como nuevos cebadores diseñados basándonos en la homología de secuencias presentes en la base de datos. La región ITS no mostró diferencias de tamaño en los fragmentos obtenidos por PCR entre todos los aislados cuando empleamos los cebadores ITS1 e ITS4. Empleando los cebadores específicos, VCF1 y VCF2 dentro de la región ITS, se observó que éramos capaces de obtener fragmentos para todas ellas excepto para *F. carophillum* y *V. pirina* que tan sólo pudieron

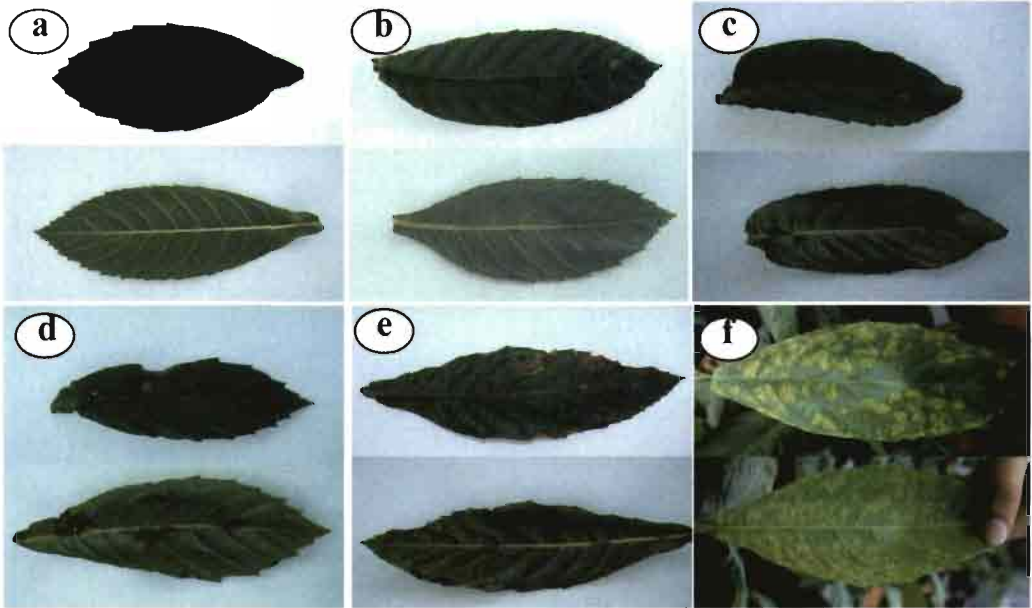


Figura 5. Síntomas en hojas de níspero después de la infección con (a): Fc (b): Vi (sin moteado) y (c) Sp, (d) Se (e) Vp y (f) Fe-NSH con diferentes síntomas de moteado.

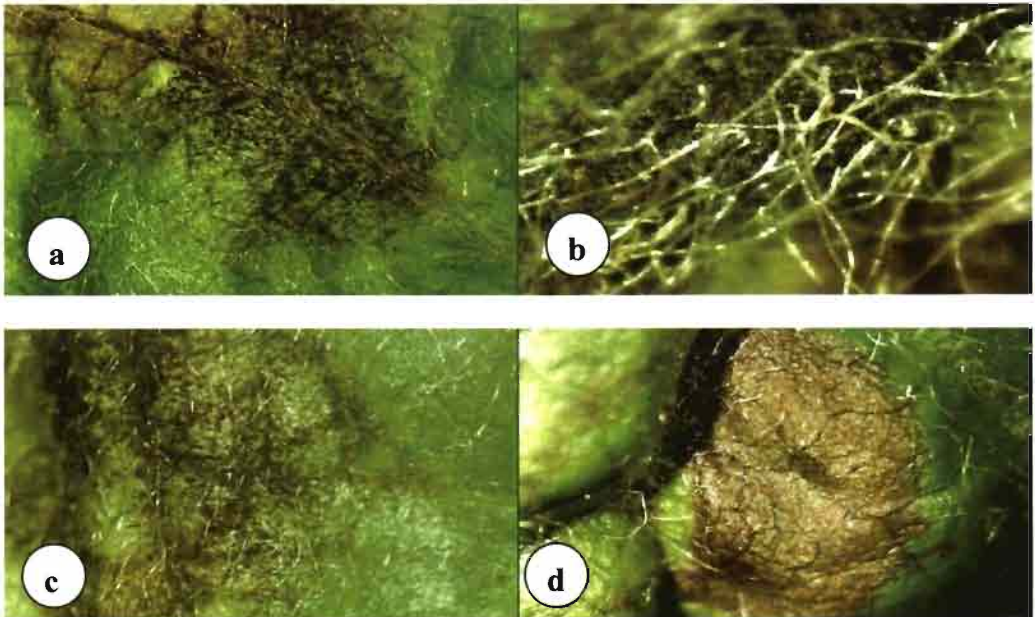


Figura 6. Esporulación observada en haz (a y c) o en el envés (b y d) en hojas de níspero cv "Peluche" infectado con *F. erobotryae* NSH (a y b) o NCH (c y d).



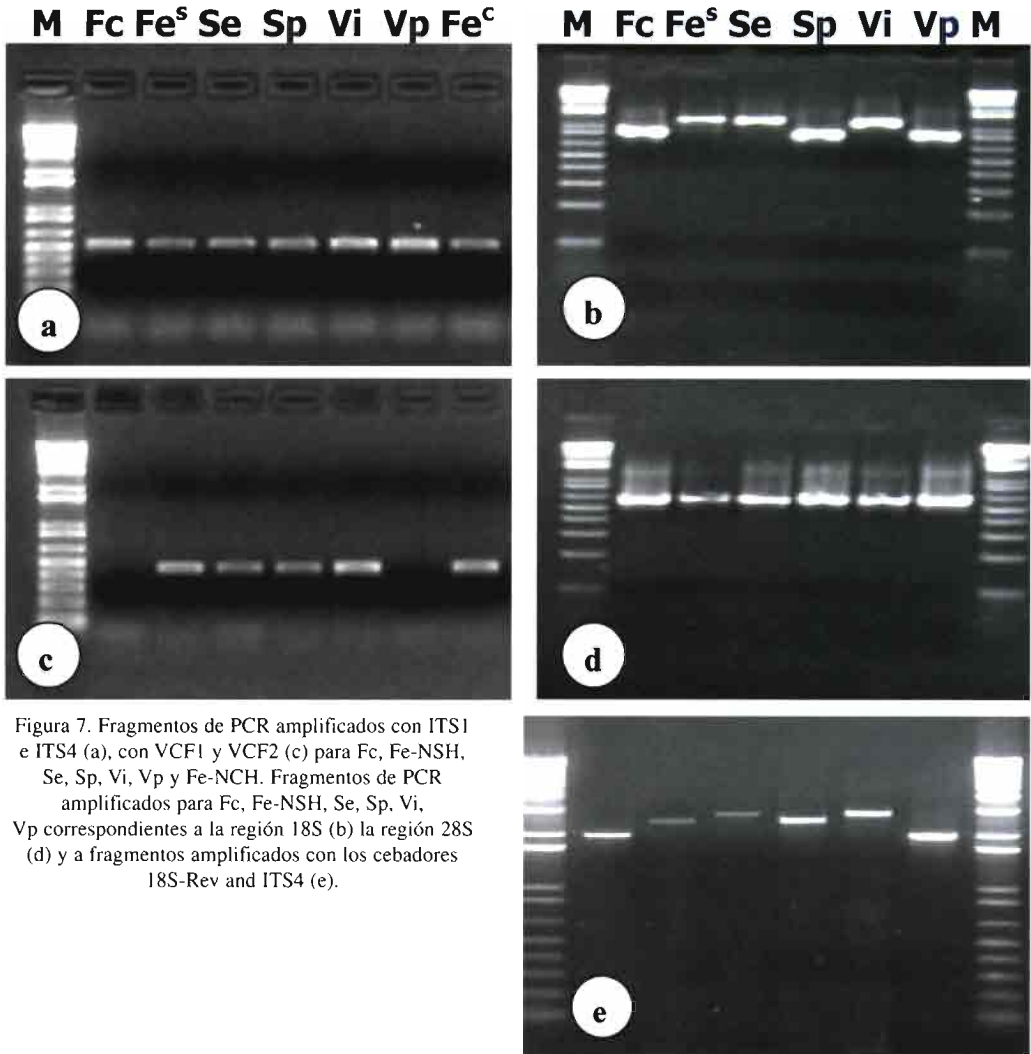


Figura 7. Fragmentos de PCR amplificados con ITS1 e ITS4 (a), con VCF1 y VCF2 (c) para Fc, Fe-NSH, Se, Sp, Vi, Vp y Fe-NCH. Fragmentos de PCR amplificados para Fc, Fe-NSH, Se, Sp, Vi, Vp correspondientes a la región 18S (b) la región 28S (d) y a fragmentos amplificados con los cebadores 18S-Rev and ITS4 (e).

ser amplificadas con los cebadores ITS1 e ITS4 (Figura.7). El análisis de las secuencias ITS de todos ellos revelaron diferente grado de homología. Sorprendentemente las secuencias obtenidas para Fe-S y Vi fueron idénticas pero diferentes de Se, Vp y Fc lo que apoya nuestra identificación morfológica previa en la identificación de nuestros aislados como *Fusicladium* y no *Spilocaea*.

El estudio de las región D1/D2 reveló un tamaño idéntico para todos los aislados

mientras que si se pudo observar diferencias muy evidentes para la región del 18S (Figura 7 b y d). Teniendo en cuenta esta particularidad, se obtuvo un fragmento específico que abarcaba desde la región 18S hasta el ITS utilizando los cebadores 18S-Rev en el extremo 5' y VCF2 o ITS4 en el extremo 3' que dio lugar a una banda específica para cada especie (Figura 7-e). La secuenciación de este fragmento completo permitirá un mejor conocimiento de las relaciones filoge-

néticas existentes entre todas las cepas estudiadas y en particular entre los distintos aislados con el fin de poder establecer las posibles diferencias entre ellas.

## DISCUSIÓN

Las investigaciones sobre el moteado del níspero son escasas y menos se sabe aún sobre las especies de *Fusicladium* spp. que infectan al níspero. Dicha enfermedad afecta en distintos estadios de desarrollo de la planta, pero la más perjudicial es la que afecta a los frutos ya que estos se deprecian y conllevan numerosas pérdidas. Esta situación es particularmente llamativa en el área del Mediterráneo lugar donde se cultiva el níspero en mayor extensión en el territorio español.

Uno de los aspectos de esta enfermedad que ha suscitado más interés entre los investigadores, ha sido la correcta identificación del patógeno responsable ya que todavía existe una gran controversia entre dos anamorfos del género *Venturia*, *Fusicladium* y *Spilocaea* (SCHNABEL *et al.*, 1999; BRAUN *et al.*, 2002; SCHUBERT *et al.*, 2003) Algunos autores identifican al responsable del moteado del níspero dentro del género *Spilocaea* (B. Le Cam, comunicación personal). Sin embargo, la forma más común empleada es la del género *Fusicladium*. Con este trabajo se da un primer paso para responder a esta cuestión, mediante la caracterización tanto morfológica como molecular de los aislados obtenidos de nísperos afectados por el moteado.

Este hongo se caracteriza por un lento desarrollo miceliar debido a su crecimiento subcuticular, de manera que cuando infecta, sólo está presente en el tejido epidérmico. Este hecho dificulta enormemente su aislamiento de forma pura, al competir con otros hongos que crecen de manera saprofita y a mucha mayor velocidad. Los conidios son características: solitarios, rectos, de forma variable, y desde de típicamente ovoides a obpiriformes. A la vista de estos caracteres, el patógeno fúngico responsable del motea-

do en el níspero fue identificado como *F. eriobotryae*. Su inclusión dentro del género *Fusicladium* y no en el género *Spilocaea* se realizó teniendo la hipótesis apoyada por algunos autores donde se promueve la existencia de un único género que engloba ambos anamorfos (tanto *Fusicladium* como *Spilocaea*) y que en este caso corresponde al género *Fusicladium* por antigüedad taxonómica (BRAUN *et al.*, 2002; BECK *et al.*, 2005).

Los síntomas de moteado encontrados en nísperos del área Mediterránea española fueron muy acusados tanto en las hojas como en el fruto, apareciendo en forma de manchas verdes o parduzcas. La lesión producida es normalmente circular y su tamaño aumenta a medida que avanza la enfermedad volviéndose olivácea y aterciopelada debido a la presencia de esporas. (SÁNCHEZ-TORRES *et al.*, enviado).

Los estudios de la patogenicidad llevados a cabo utilizando los aislados de *F. eriobotryae* como las especies relacionadas, pusieron de manifiesto a efectividad del sistema de infección *in vivo*. Los resultados obtenidos confirmaron la especificidad de huésped para *F. eriobotryae* (NSH y NCH), *V. inaequalis* y *F. carpophilum*, mientras que *V. pirina*, *S. pomi* que si fueron capaces de infectar al níspero, aunque sus síntomas fueron diferentes y mostraban mucha menor incidencia. La capacidad infectiva *S. eriobotryae* puede deberse a que se trate en realidad de otra cepa más de la especie *F. eriobotryae* si tenemos en cuenta la razón anteriormente expuesta de existencia de un sólo género. Estos resultados sugieren que algunas especies, *S. pomi* y *V. pirina* muestran mayor especificidad de huésped que otros, como es el caso de *V. inaequalis* y *F. carpophilum*. De cualquier forma, este proceso de infección sólo se ha observado "*in vivo*" en ensayos en invernadero y no de manera natural, ya que todos los aislados identificados en muestras con moteado de campo correspondieron a *F. eriobotryae*.

La importancia de la puesta a punto de un sistema *in vivo* de infección radica no sólo

en la confirmación de *F. eriobotryae* como responsable del moteado sino en que este sistema está siendo empleado para el estudio del proceso de infección junto con la identificación de variedades de níspero que sean tolerantes o resistentes al moteado, con la importancia económica que eso conlleva. El estudio del proceso de infección, gracias a dicho sistema, podría facilitar en un futuro el desarrollo de nuevos métodos de control más efectivos.

Por otra parte, y puesto que los caracteres morfológicos estudiados no resultaron consistentes para establecer diferencias entre los aislados obtenidos a partir de las distintas variedades de níspero se recurrió al empleo de técnicas moleculares, así como a ensayos de patogenicidad que permitieran establecer los distintos grados de virulencia. Dichas aproximaciones revelaron diferencias significativas entre los distintos aislados si bien dichas diferencias no se han podido correlacionar hasta el momento ni con el lugar de procedencia ni con la variedad de níspero de la que fue aislado. En estos momentos se está ampliando el número de aislados con el fin de comprobar la existencia de alguna posible correlación.

La caracterización molecular llevada a cabo comparando la región D1/D2, la región ITS y 18S entre todas las especies con el fin de establecer su relación filogenética ha permitido claramente diferenciar a *V. inaequalis* y *V. pirina* responsables de moteado de manzana y pera, respectivamente, de los aislados

de níspero. Si bien la región ITS no mostró diferencias entre Vi e Fe si lo hizo con Vp, confirmando los resultados obtenido previamente por LE CAM *et al.* (2001, 2002). Las diferencias observadas de tamaño de fragmento amplificado a nivel de la región 18S podrían ser coincidentes con la presencia de un intrón tal y como ya se describió previamente por SCHNABEL *et al.* (1999). Si bien este sería un rasgo más para diferenciar las distintas especies que se encuentran más alejadas filogenéticamente, nos permite además distinguir de forma clara *V. inaequalis* de *F. eriobotryae* gracias a las diferencias en secuencia encontradas. Hasta la fecha no se disponían de muchas secuencias en las bases de datos relacionadas con el moteado del níspero, por lo que este trabajo supone la primera información desde un punto de vista molecular, del patógeno fúngico responsable del moteado del níspero del área del Mediterráneo.

## AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado gracias a un proyecto del Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA). Queremos agradecer la contribución de la Dra. M Bades por sus útiles consejos, al Dr Le Cam por proporcionarnos el aislado de *S. eriobotryae*. A D. Navarro por suministrarnos gran parte del material de nísperos con síntomas de moteado. También queremos agradecer A. D. Gisbert por excelente ayuda técnica.

## ABSTRACT

SÁNCHEZ TORRES P., R. HINAREJOS, J. J. TUSET. 2007. *Fusicladium eriobotryae*: Fungal pathogen causing Spanish Mediterranean loquat scab. *Bol. San. Veg. Plagas*, 33: 87-98.

Fungal pathogen causing Spanish Mediterranean loquat scab has been isolated and has been identified as *Fusicladium eriobotryae* according to conidial state and genetic characterisation. Mediterranean loquat scab symptoms are generally most noticeable and serious on on both sides of leaves and fruit as green to olive-brown spots. The lesion is usually circular and as it increases in size it becomes olive-colored and velvety due to production of asexual spores. Scab symptoms have been reproduced by developing an *in vivo* infection system. Following this strategy it has been compared two isolates *F. eriobotryae* (NSH and NCH) to different isolates closely related such as *Venturia inaequalis*, *Venturia pirina*, *Spilocaea pomi*, *Spilocaea eriobotryae* and *Fusicladium carpophi-*

*lum*, studying symptoms and infection process. Molecular characterisation has also been done comparing rDNA regions from all strains dealing to establish their putative homology and phylogenetic relationship.

**Key words:** *Spilocaea*, *Venturia*, patogénesis, ITS, Rdna.

#### REFERENCIAS

- ALTSCHUL, S. F. and GISH, W. 1996. Local alignment statistics. *Meth. Enzymol.*, **266**, 460-480.
- BECK, A., RITSCHEL, A., SCHUBERT, K., BRAUN, U., TRIEBEL, D. 2005. Phylogenetic relationships of the anamorphic genus *Fusicladium* s. lat. as inferred by ITS nrDNA data. *Mycological Progress*, **4**(2): 111-116.
- BRAUN, U., RITSCHEL, A., SCHUBERT, K. 2002. Proposal to conserve the generic name *Fusicladium* against *Spilocaea* (Hyphomycetes). *Taxon*, **51**: 557.
- BRIOSI, G.; CAVARA, F., 1892. *I Funghi Parassiti delle Piante Coltivate od Utili* 7-8, no. **186**
- CABALLERO P., FERNÁNDEZ M<sup>a</sup> A. 2002. "Loquat, Production and Market". First International Symposium on Loquat. Moncada. Abril 2002. Actas, pag: 11-15
- LE CAM, B., DEVAUX, M., and PARISI, L. 2001. Specific polymerase chain reaction identification of *Venturia nashicola* using internally transcribed spacer region in the ribosomal DNA. *Phytopathology*, **91**: 900-904.
- LE CAM, B., PARISI, L., ARENE, L. 2002. Evidence of two formae speciales in *Venturia inaequalis*, responsible for apple and Pyracantha scab. *Phytopathology*, **92**: 314-320.
- PROBER, J. M., TRAINOR, G. L., DAM, R. J., HOBBS, F. W., ROBERTSON, C. W., AGURSKY, R. J., COCUZZA, A. J., JENSEN, M. A. and BAUMEISTER, K. 1987. A system for rapid DNA sequencing with fluorescent chainterminating dideoxynucleotides. *Science*, **238**: 336-341.
- SÁNCHEZ-TORRES, P. HINAREJOS, R., J. J. TUSET. 2006. Identification and characterisation of *Fusicladium eriobotryae*: fungal pathogen causing mediterranean loquat scab. *Acta Horticul.*, (submitted).
- SCHNABEL, G., SCHNABEL, E. L., and JONES, A. L. 1999. Characterization of ribosomal DNA from *Venturia inaequalis* and its phylogenetic relationship to rDNA from other tree-fruit *Venturia* species. *Phytopathology*, **89**: 100-108.
- SCHUBERT, K., BRAUN, U. 2005. Taxonomic revision of the genus *Cladosporium* s. Lat1. Sepcies reallocated to *Fusicladium*, *Parastenella*, *Passalora*, *Pseudocercospora* and *Stenella*. *Mycological Progress*, **4**(2): 101-109.
- SCHUBERT, K., RITSCHEL, A., BRAUN, U. 2003. A monograph of *Fusicladium* s.lat.(Hyphomycetes). *Schlechtendalia*, **9**: 1-132.
- SIVANESAN, A. 1977. The Taxonomy and Pathology of *Venturia* Species.J. Cramer, Vaduz, Liechtenstein.

(Recepción: 8 noviembre 2006)

(Aceptación: 4 diciembre 2006)

## Avances en el estudio del “torrao” o cribado del tomate

A. ALFARO-FERNÁNDEZ, M. C. CÓRDOBA-SELLÉS, M. C. CEBRIÁN MICÓ, I. FONT, M. JUÁREZ, V. MEDINA, A. LACASA, J. A. SÁNCHEZ-NAVARRO, V. PALLÁS, C. JORDÁ GUTIÉRREZ

El “torrao” es una enfermedad presente en nuestro país desde 2001, que sigue presentándose en cada campaña de tomate con mayor o menor incidencia según el año. Las plantas afectadas muestran necrosis en la parte basal de los folíolos que puede evolucionar a cribado, manchas longitudinales en los peciolos y manchas necróticas en fruto, que terminan por rajarlo. El presente trabajo es la continuación del publicado en el número 32 de esta revista titulado “Necrosis del tomate: “torrao” o cribado” y surge de los resultados obtenidos tras la reciente publicación de la identificación y caracterización del nuevo virus “*Tomato torrado virus*” (ToTV) como agente implicado en la enfermedad conocida como “torrao”. En este estudio se seleccionaron 94 muestras procedentes de prospecciones realizadas en invernaderos de Murcia durante los años 2003 a 2006. La aplicación RT-PCR e hibridación molecular para la detección de ToTV ha permitido detectar la presencia de esta nueva virosis en 87 de las muestras analizadas. En 83 de ellas, se encontró la presencia conjunta de este nuevo virus con el *Pepino mosaic virus* (PepMV), mayoritariamente con el aislado tipo Chileno 2 (Accesión number: DQ00095). Se plantean nuevos estudios para determinar la implicación de ambos virus, ToTV y PepMV, en el desarrollo del síndrome conocido como “torrao” del tomate.

A. ALFARO-FERNÁNDEZ, M. C. CÓRDOBA-SELLÉS, M. C. CEBRIÁN MICÓ, I. FONT, C. JORDÁ GUTIÉRREZ. Instituto Agroforestal Mediterráneo- Virología Vegetal. Universidad Politécnica de Valencia. Camino de Vera s/n. 46022 Valencia. mjordaj@eaf.upv.es  
M. JUÁREZ. Universidad Miguel Hernández. Orihuela, Alicante.  
V. MEDINA. Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agraria. Lleida.  
A. LACASA. Instituto Murciano de Investigación y Desarrollo Agrario y Alimentario. La Alberca, Murcia.  
J. A. SÁNCHEZ-NAVARRO, V. PALLÁS. Instituto de Biología Molecular y Celular de Plantas. Universidad Politécnica de Valencia-CSIC.

**Palabras clave:** *Tomato torrado virus*, *Pepino mosaic virus*, diagnóstico, virosis, RT-PCR, hibridación molecular.

### INTRODUCCIÓN

El trabajo que se presenta a continuación recoge los avances en el estudio de la enfermedad conocida como “torrao” desde la publicación en el anterior número de esta revista del artículo titulado “Necrosis del tomate: “torrao” o cribado”, tras la reciente de identificación y caracterización del *Tomato torrado virus* (ToTV) como agente implicado en el síndrome (VERBEEK *et al.*, 2007).

El “torrao” o cribado del tomate es una enfermedad presente en España desde el año 2001, habiendo sido detectada por primera vez en invernaderos de Murcia, y cuya dispersión geográfica y agresividad se ha ido incrementando hasta la actualidad. El nombre de la enfermedad, “torrao”, hace referencia al aspecto quemado que adquieren las plantas afectadas. Al principio, las plantas muestran un amarilleo en la base de los folíolos que posteriormente se necrosa



Figura 1: Síntomas de “torrao” observados en plantas afectadas.  
 a. Amarilleo y necrosis en la zona basal de los foliolos, que posteriormente evoluciona a cribado.  
 b. Manchas internerviales de color negro que avanzan desde la base a la parte apical del foliolo.

(Figura 1a) y perfora, produciendo el típico “cribado” en los foliolos; en otros casos, los foliolos presentan unas manchas necróticas internerviales que van avanzando desde la base hacia el ápice del foliolo, sin que llegue a producirse dicho “cribado” (Figura 1b). En los tallos y peciolo aparecen manchas longitudinales que pueden ser de color pardo, endurecidas a modo de “costuras” (Figura 2a), o manchas más oscuras no endurecidas a modo de “chorreras” (Figura 2b). Los frutos de las plantas afectadas presentan costu-

ras marrones o negras que, al engordar el fruto, terminan por rajarlo (Figura 3).

En trabajos anteriores se ha constatado la amplia extensión de la enfermedad en las principales zonas productoras de tomate de nuestro país, habiéndose recogido y analizado un amplio número de muestras de diversas procedencias a lo largo de los seis años de historia de esta enfermedad (ALFARO-FERNÁNDEZ *et al.*, 2006). Asimismo, las diversas prospecciones realizadas han permitido determinar la naturaleza estacional de la



Figura 2: Síntomas de “torrao” observados en tallos de plantas afectadas.  
 a. Manchas longitudinales endurecidas a modo de “costuras”.  
 b. Manchas longitudinales no endurecidas a modo de “chorreras”.



Figura 3. Fruto de planta afectada por "torrao" presentando las costuras típicas, que al evolucionar terminan rajándolo.

enfermedad, presentándose ésta en primavera y otoño con mayor agresividad a mitad de primavera y otoño, aunque esto puede variar en función de la campaña (JORDÁ *et al.*, 2003). Los muestreos realizados han determinado la aparición del "torrao" en infecciones mixtas con otros virus que afectan habitualmente al cultivo del tomate, como el *Tomato spotted wilt virus* (TSWV), el *Potato virus Y* (PVY) y el *Tomato chlorosis virus* (ToCV), que producen una intensificación de los síntomas causados por dicha enfermedad (ALFARO-FERNÁNDEZ *et al.*, 2006). Hay que destacar, que difícilmente se encuentran plantas afectadas por "torrao" no infectadas con *Pepino mosaic virus* (PepMV), virosis presente en nuestro país desde 2000 y ampliamente extendida en España (JORDÁ *et al.*, 2001).

Los primeros estudios para la determinación del agente causal indicaron la posible implicación del *Ilarvirus Parietaria mottle virus* (PMoV) (ARAMBURU y ARIÑO, 2003), afirmación descartada no sólo por la diferencia sintomatológica que este virus produce en tomate, sino también por no detectarlo en ninguna de las muestras recogidas en los muestreos realizados durante las distintas prospecciones. Sólo se ha detectado la presencia de esta virosis asociada a necrosis en tomate en Vizcaya, Tarragona y Valencia, aunque como se ha indicado anteriormente

la sintomatología es claramente distinta (ALFARO-FERNÁNDEZ *et al.*, 2006).

La reciente publicación en esta revista de los estudios realizados por nuestro grupo hasta el verano de 2006, demostraron la asociación persistente del PepMV, concretamente del aislado tipo Ch2 (GenBank, accession number: DQ000985), en las muestras procedentes de campo con sintomatología típica de "torrao" recogidas a lo largo de los distintos años de estudio (ALFARO-FERNÁNDEZ *et al.*, 2006). Por otro lado, una comunicación oral presentada en el XV Tomato Working Group Meeting celebrado en Bari en Septiembre de 2005, apuntó la implicación como agente causal de esta enfermedad de un nuevo virus denominado "*Tomato torrado virus*" (ToTV). Este virus formado por partículas esféricas de 28 nm de diámetro, es una entidad cercana a los miembros de las familias Comoviridae y Sequiviridae (VERBEEK *et al.*, 2005). Recientemente, el mismo grupo de autores holandés ha publicado estudios en relación con la etiología de la enfermedad denominada "torrao". En primer lugar, el registro de la patente internacional (nº WO 2006085749), publicada el 17 de agosto de 2006, donde se recoge gran cantidad de información sobre la nueva entidad viral determinada como agente causal del "torrao", denominada por los autores como "*Tomato torrado virus*" (ToTV). En dicha información se detalla, entre otras cosas la secuencia nucleotídica de un aislado de ToTV, así como parejas de cebadores para la detección de la entidad viral en plantas infectadas (VAN DER HEUVEL *et al.*, 2006). Este mismo grupo, publica en enero de 2007, la identificación y caracterización del ToTV como un nuevo virus que afecta al tomate, encuadrado taxonómicamente por los autores como un virus del grupo picorna-like. Este virus debería constituir un nuevo género, debido a las notables diferencias existentes con virus pertenecientes a los géneros Sequiviridae, Sandwavirus y Cheravirus, a pesar de encontrarse cierta relación entre ellos en los análisis filogenéticos de secuencias de nucleótidos y aminoácidos (VERBEEK *et al.*, 2007).

Debido a la reciente identificación y caracterización del nuevo virus, el presente trabajo recoge los avances en el estudio de la implicación del ToTV en el síndrome del "torrao" en muestras recogidas de campo a lo largo de los diversos años de estudio, así como su relación con los estudios realizados anteriormente sobre el aislado tipo Chileno 2 de PepMV, publicados en el número 32 de esta revista.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### Muestras seleccionadas

Como se indicó en el estudio previo, publicado recientemente, se han venido realizando muestreos en los invernaderos y campos afectados de las diferentes zonas productoras de tomate desde la aparición de la sintomatología asociada al "torrao", en el año 2001 (ALFARO-FERNÁNDEZ *et al.*, 2006). A la vista de la identificación y caracterización de la nueva entidad viral ToTV, se procedió a la selección de muestras recogidas en los distintos muestreos, pertenecientes a la colección del Laboratorio de Virología del Instituto Agroforestal Mediterráneo (U.P.V.) para la comprobación de la presencia de dicho virus. De todas las muestras recogidas en los distintos invernaderos de Murcia a lo largo de los años, se seleccionaron 94 muestras con síntomas típicos de "torrao": 4 muestras recogidas durante el año 2003, 1 muestra recogida en 2004, 24 muestras recogidas en 2005, 56 muestras recogidas en 2006 y 9 muestras recogidas en 2007.

### Análisis serológicos y moleculares previos

Las muestras seleccionadas para este estudio habían sido analizadas previamente a las distintas virosis que habitualmente afectan al tomate en nuestro país y, que en ocasiones, pueden producir síntomas de necrosis en esta especie.

Los análisis serológicos se realizaron por técnica DAS-ELISA utilizándose extractos de hojas y/o frutos de las plantas afectadas frente a los antisueros específicos para los virus: TSWV, *Tomato mosaic virus* (ToMV), PVY, *Tomato bushy stunt virus* (TBSV) (Loewe

Biochemica, Sauerlach, Germany) y PepMV (DSMZ Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen. Braunschweig, Germany). Se siguieron los protocolos indicados por las propias casas comerciales, utilizando como testigo negativo tejido de tomate sano y como testigo positivo extractos foliares de plantas infectadas con los diferentes virus analizados.

Se procedió a la extracción del RNA total de cada una de las muestras mediante el kit de extracción RNA *wiz* (Ambion catalog. n° 9736) para poder aplicar las distintas técnicas que permiten la detección de distintas virosis. Para comprobar los resultados obtenidos por serología, las muestras se analizaron mediante RT-PCR con los cebadores específicos de PepMV (PAGÁN *et al.*, 2006). Para confirmar o descartar la presencia de los diferentes Crinivirus que afectan a tomate se analizaron las muestras mediante RT-PCR con los cebadores específicos de *Tomato infectious chlorosis virus* (TICV) (VAIRA *et al.*, 2002) y ToCV (LOURO *et al.*, 2000). La presencia de cualquier virosis del género Potexvirus se determinó mediante el análisis de las muestras por RT-PCR en dos pasos empleando cebadores degennerados para este género (MARTÍNEZ-CULEBRAS *et al.*, 2002). Todos los productos amplificados fueron separados por electroforesis en gel de agarosa al 1,5% en TAE 1X y teñidos con bromuro de etidio. El tamaño del fragmento obtenido se estableció por comparación con un marcador de pesos moleculares conocidos GeneRuler<sup>TM</sup> 100 bp DNA Ladder Plus (Invitrogen Life Technologies. Barcelona, España). Algunas muestras se analizaron mediante hibridación molecular no radioactiva con digoxigenina con sonda específica de PMoV suministrada por el Dr. Pallás (GALIPIENSO *et al.*, 2005).

### Análisis moleculares realizados mediante nuevas técnicas de diagnóstico para PepMV y ToTV

#### Análisis realizados para la detección del PepMV

Como se indicó en la publicación anterior, los resultados obtenidos apuntaban la conti-



nua asociación del “torrao” con el PepMV. Este hecho unido a la sospecha de que las técnicas hasta el momento empleadas no eran capaces de detectar todos los aislados del PepMV en las muestras afectadas, llevaron al diseño de un nuevo método de detección que permitía la diferenciación de tres tipos de aislados de PepMV, que actualmente continúa en fase de publicación. Con este método, se analizaron las 94 muestras seleccionadas en este estudio para comprobar si eran positivas al PepMV, y en caso afirmativo determinar que tipo de aislado del virus estaba presente.

Análisis realizados para la detección del ToTV

De las 94 muestras seleccionadas en el presente trabajo, 68 se analizaron mediante RT-PCR con los cebadores específicos del RNA2 del ToTV (VAN DER HEUVEL *et al.*, 2006 y VERBEEK *et al.*, 2007) empleando el

enzima SuperScript Platinum Taq (Invitrogen Life Technologies, Barcelona, Spain). Los productos obtenidos fueron separados mediante electroforesis en gel de agarosa, y comparados con un marcador de pesos moleculares conocidos como se indica anteriormente. Uno de los productos amplificados fue purificado empleando el kit High Pure PCR Product Purification Kit (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany) y posteriormente secuenciado.

Para comprobar los resultados negativos obtenidos en la RT-PCR, así como para el análisis de nuevas muestras no testadas hasta el momento se empleó la técnica de hibridación molecular con una sonda de RNA específica del ToTV marcada con digoxigenina suministrada por el Dr. Sánchez-Navarro. La hibridación molecular mediante la técnica del dot-blot se realizó siguiendo el protocolo descrito en la bibliografía (SÁNCHEZ-NAVARRO *et al.*, 1999).

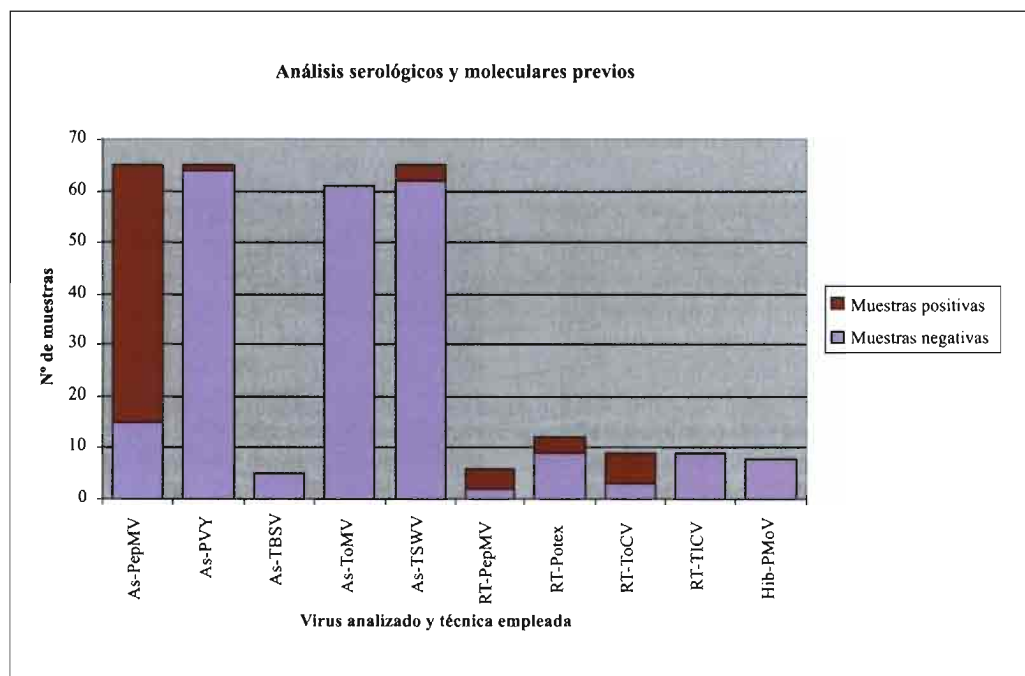


Figura 4: Número de positivos y negativos resultado de los análisis serológicos y moleculares previos de las muestras seleccionadas.

## RESULTADOS

### Resultados de los análisis serológicos y moleculares previos

Los resultados de los análisis serológicos y moleculares previos realizados a las 94 muestras seleccionadas para el estudio se detallan en la Figura 4. De todos los análisis serológicos realizados, el PepMV estaba presente en un 77% de las muestras analizadas. También se observa la presencia de otros virus en los invernaderos muestreados como es el caso del ToCV, el TSWV y en menor medida el PVY. De las muestras analizadas mediante RT-PCR con los cebadores degenerados del género Potexvirus, en 3 casos se amplificó una banda de tamaño

esperado 760 pb, que se purificó y se secuenció. La comparación de las secuencias obtenidas con las depositadas en el Gen Bank resultó en un 97-98% de homología con el aislado Ch2 de PepMV (Accession number: DQ000985).

### Análisis realizados mediante nuevas técnicas de diagnóstico

De las 94 muestras analizadas en el presente estudio, 83 muestras resultaron positivas a PepMV (lo que constituye el 88% de las muestras analizadas) al ser analizadas mediante la nueva técnica de diagnóstico. De estas muestras infectadas con PepMV, 50 presentaron infección con el aislado tipo Chileno 2 (53% de las muestras analizadas),

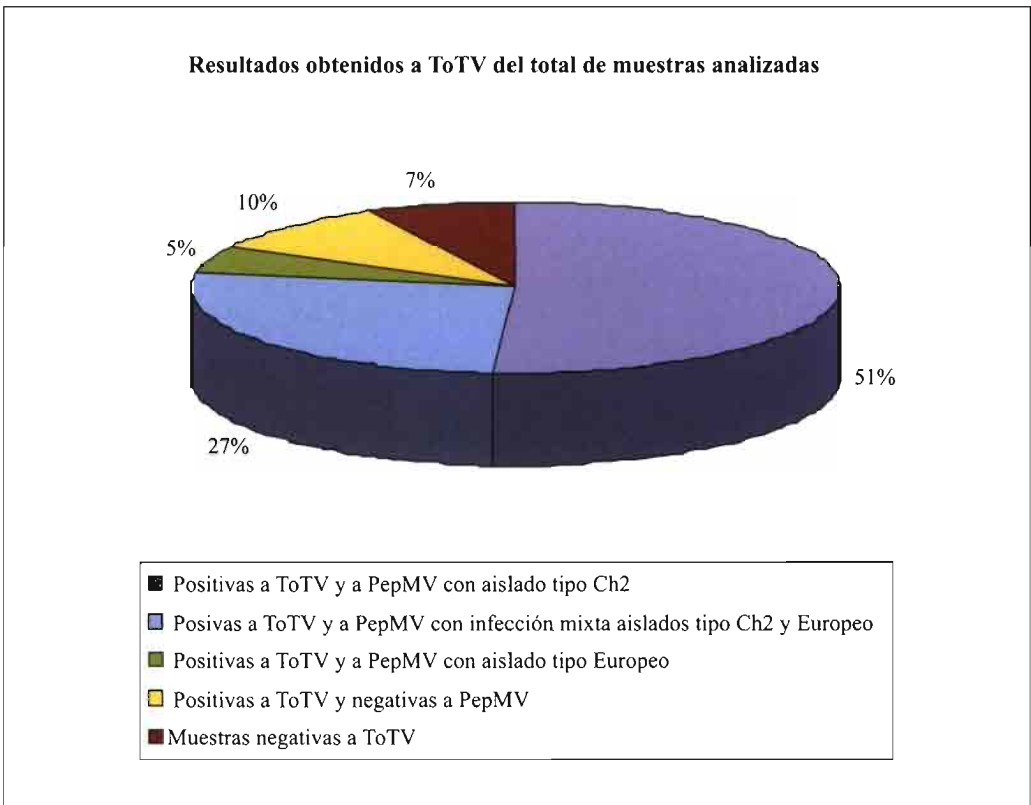


Figura 5: Representación gráfica de los resultados obtenidos en los análisis a ToTV de la totalidad de muestras analizadas (94 muestras).

Cuadro 1: Número de muestras positivas y negativas a los análisis a ToTV y a PepMV, distinguiendo en este último el tipo de aislado encontrado en las muestras afectadas.

	Muestras positivas a PepMV			Muestras negativas a PepMV	TOTAL
	Aislado tipo Ch2	Infección mixta aislados tipos Ch2 y Europeo	Aislado tipo Europeo		
Muestras positivas ToTV	48*	25	5	9	87
Muestras negativas a ToTV	2	2	1	2	7
Total Parcial	50	27	6	11	94
<b>TOTAL</b>		<b>83</b>			

\* Incluyendo las 3 muestras secuenciadas a partir de producto de PCR tras su análisis mediante RT-PCR con los cebadores generales de Potexvirus.

Cuadro 2: Número de muestras positivas y negativas analizadas mediante RT-PCR e hibridación molecular a ToTV.

	Nº muestras positivas	Nº muestras negativas	Nº Total de muestras analizadas
RT-PCR	47	21	68
Hibridación molecular	46	7	53

6 con el aislado tipo Europeo (6% de las muestras analizadas) y en 27 se había producido la infección mixta de ambos tipos de aislados (35 % de las muestras) (Cuadro 1), lo que implica que el 82% de las muestras presentaban infección con aislado tipo Chileno 2 de PepMV.

Los análisis realizados a ToTV por las dos técnicas moleculares empleadas, así como el número de positivos obtenido en cada caso se indican en el Cuadro 2. De las 68 muestras analizadas mediante RT-PCR, 47 resultaron positivas a ToTV. La secuencia obtenida, tras la purificación y secuenciación de una de ellas, se comparó con la secuencia publicada en el GenBank (Accesión number DQ 388880), presentando una homología del 100 %. Asimismo, 21 muestras de las 68 analizadas, resultaron negativas al análisis mediante RT-PCR. Estos negativos se comprobaron mediante hibridación molecular lo

que permitió la detección de nuevos positivos a ToTV. En resumen, tras todos los análisis realizados a este nuevo virus, únicamente en 7 muestras, de las 94 analizadas, no se detectó su presencia. El resto de muestras analizadas resultaron ser positivas (87 muestras de 94 analizadas), lo que constituye un 93% de las muestras (Cuadro 1).

Los resultados de los análisis realizados a ambos virus, ToTV y PepMV se detallan en el Cuadro 1. De todos los análisis realizados, únicamente 2 muestras resultaron negativas a ambos virus. En la Figura 5, se representa gráficamente los resultados obtenidos a ToTV de todas las muestras analizadas. Se puede observar la relación entre las muestras positivas a ToTV y los resultados de los análisis para la diferenciación de tipos de aislados de PepMV. Del gráfico se deduce una clara asociación entre la presencia de ToTV y PepMV en las plantas afectadas por el sín-

drome del “torrao”, ya que en 77 de las 94 muestras resultó positiva a ambas virosis (83% de las muestras). De éstas, se detecta la presencia del ToTV con el aislado tipo Chileno 2 de PepMV en un 78% de las muestras, encontrándose este tipo de aislado solo o en infección mixta con el tipo Europeo. Se han encontrado 9 muestras que, a pesar de ser positivas a ToTV, no se detecta la presencia de PepMV. Por el contrario, también se han detectado 6 muestras que presentando síntomas de “torrao”, no se ha identificado el ToTV aunque sí han sido positivas a PepMV. Es interesante indicar el caso de una muestra recogida en el año 2006, que presentaba diferencia de síntomas entre los dos brazos de la planta. Uno de los brazos mostraba el síntoma típico de mancha amarilla aislada, causado por una infección de PepMV (Figura 6a). En cambio, el otro brazo manifestaba, además de mancha aislada, necrosis en los folíolos que llegaban a cribar, costras en peciolo y frutos rajados (Figura 6b). Al analizar ambos brazos por separado, se observó que, así como el aislado tipo Chileno 2 de PepMV se encontraba presente en ambos brazos de la planta, el ToTV únicamente se detectaba en el brazo que mostraba síntomas de “torrao”. En cambio, en otro caso, una planta que no mostraba la sintomatología típica de “torrao” recogida de un invernadero

con una amplia distribución de la enfermedad, sí resultó positiva al ToTV. Los síntomas de dicha planta de tomate estaban asociados al PepMV, detectándose en ella además del ToTV el aislado tipo Ch2 de PepMV.

## DISCUSIÓN

La enfermedad conocida con el nombre de “torrao” lleva presente en nuestro país más de seis años (JORDÁ *et al.*, 2003), produciendo importantes pérdidas económicas en el cultivo del tomate. Han sido numerosos los intentos de determinar el agente causal de dicha enfermedad desde su primera aparición en Murcia en 2001. Debido a la gran proliferación de virosis que afectan a dicho cultivo y la gran variabilidad de síntomas que estos producen, llegado incluso a confundir o incrementar los síntomas típicos asociados a “torrao”, el diagnóstico de esta enfermedad es difícil. La reciente identificación y caracterización del nuevo virus ToTV ha dado un vuelco al estudio de la etiología de la citada enfermedad.

La aplicación de la RT-PCR con cebadores específicos de ToTV, recientemente publicados (VAN DER HEUVEL *et al.*, 2006; VERBEEK *et al.*, 2007) ha sido una herramienta eficaz, tanto para determinar la presencia de este nuevo virus en las muestras



Figura 6: Muestra recogida en 2006 en un invernadero de Murcia con diferencias sintomatológicas entre sus dos brazos. a. Brazo 1 de la planta donde se puede observar mancha amarilla aislada en los folíolos, síntoma asociado a infección por PepMV. b. Brazo 2 de la planta donde aparece necrosis en los folíolos con cribado y manchas longitudinales endurecidas en peciolo, síntomas típicos de “torrao”.

recogidas de campo, como para la síntesis de una sonda de RNA específica para el ToTV. Se ha demostrado en este trabajo la presencia de esta nueva entidad en 87 muestras de las 94 analizadas, lo que constituye aproximadamente el 93% de las muestras seleccionadas. Los problemas derivados de los análisis mediante RT-PCR fueron solventados con la obtención y aplicación de la hibridación molecular con sonda para detección de ToTV. Se debe recordar que las plantas afectadas con síntomas de "torrao" se encuentran muy necrosadas, por lo que el material extraído se encuentra muy oxidado lo que puede inhibir la reacción de RT-PCR. A esto se une, la extrema labilidad del RNA del ToTV, por lo que en estos momentos se está poniendo apunto un método de extracción para las muestras de "torrao" que permite la detección de virus que presentan problemas de rápida degradación. Los casos negativos del diagnóstico de ambos virus podrían ser debidos a esta causa.

Como se indicaba en el estudio anterior, el PepMV está presente en la mayoría de las muestras analizadas (ALFARO-FERNÁNDEZ *et al.*, 2006). En la selección de muestras realizada en este estudio se confirma dicha apreciación, encontrándose la presencia de ToTV y PepMV en 77 de las muestras ensayadas. Esta asociación también la confirman otros autores (VERBEEK *et al.*, 2007), aunque también indican que la reproducción de los síntomas de "torrao" que ellos describen (necrosis en tomate, aunque no describen "cribado" ni rajado de frutos) la produce una purificación del ToTV, tras separarlo del PepMV en plantas hospedantes diferenciales. En este trabajo la asociación del PepMV y el "torrao" es claramente manifiesta, encontrándose además que el tipo de aislado mayoritario es el Chileno 2 de PepMV (constituyendo aproximadamente el 94% de las muestras positivas a dicho virus). Queda pendiente determinar la implicación clara de cada uno de los virus citados en dicho "síndrome", así como si la reiterada conjunción del tipo de aislado del PepMV es relevante o únicamente es fruto de una mayor distribu-

ción del nuevo aislado Chileno 2, en detrimento del habitualmente encontrado anteriormente, aislado tipo Europeo (PAGÁN *et al.*, 2006). Se plantea si la presencia del PepMV y el ToTV de forma conjunta puede producir un claro efecto sinérgico en la manifestación de la afección.

De los resultados obtenidos se deduce que puede existir una diferencia en la distribución de ambos virus en las plantas afectadas, ya que dos brazos de la misma planta afectada presentando síntomas diferenciales, también manifestaban diferencias en el diagnóstico de PepMV y ToTV. Mientras que el PepMV se encontraba presente en ambos brazos de la planta, el ToTV únicamente se detectaba en el brazo con síntomas típicos. Los análisis a otras plantas que no manifestaban síntomas típicos de "torrao", si resultaban positivos a ToTV. Se pone de manifiesto, por tanto la necesidad de un estudio exhaustivo de la distribución en plantas afectadas de ambas virosis presentes.

Como se apuntó en publicaciones anteriores, se observa en campo una clara relación entre la incidencia de la enfermedad y la presencia de *Trialeurodes vaporariorum* Westwood (ALFARO-FERNÁNDEZ *et al.*, 2006). La transmisión por mosca blanca del ToTV ha sido indicada por otros autores (VERBEEK *et al.*, 2007). Se necesita un mayor estudio sobre la posible implicación de un insecto vector en la transmisión del virus. Asimismo, se ha indicado que la aparición, incidencia y agresividad de los síntomas de "torrao" se ven influenciadas por diversos factores como la variedad de tomate y las condiciones ambientales de humedad, temperatura e iluminación (ALFARO-FERNÁNDEZ *et al.*, 2006). Por tanto, queda pendiente la determinación de las condiciones concretas del desarrollo de la enfermedad y en que situación se producen las distintas manifestaciones asociadas al síndrome, comprobando el posible efecto sinérgico entre el ToTV y PepMV.

Reiteramos que este trabajo es una continuación del publicado en la revista Boletín Sanidad Vegetal Plagas nº 32 (4.1): 545-563

con el título “Necrosis del tomate: “torrao” o cribado”. Como se ha indicado al principio de este artículo, los datos publicados en el anterior trabajo, eran los estudios realizados hasta ese momento, estando en curso los resultados contenidos en este trabajo. Debemos incidir

en que el “torrao” es una enfermedad que sigue apareciendo en el cultivo del tomate en cada campaña produciendo importantes pérdidas, por lo que se sigue trabajando en el tema intentando aportar nuevos datos de epidemiología de dicha enfermedad.

#### ABSTRACT

ALFARO-FERNÁNDEZ A., M. C. CÓRDOBA-SELLÉS, M. C. CEBRIÁN MICÓ, I. FONT, M. JUÁREZ, V. MEDINA, A. LACASA, J. A. SÁNCHEZ-NAVARRO, V. PALLÁS, C. JORDÁ GUTIÉRREZ. 2007. Advances in the study of Tomato “Torrao” or “Cribado” syndrome. *Bol. San. Veg. Plagas*, **33**: 99-109.

Since 2001, “torrao disease” has occurred affecting tomato crops in Spain along each growing season with more or less incidence depending on the year. Affected plants show severe necrosis symptoms in the base of the leaflet that could fall down producing little holes on it. The stems show longitudinal stains and the fruits present necrotic lines that later made them crack. This study is the following part of the study published in nº 32 of this journal entitled: “Necrosis del tomate: “torrao” o cribado”. The study arises from the new results obtained afterwards the recent publication of the identification and characterization of the new virus “*Tomato torrado virus*” (ToTV), as an implicated agent in the syndrome known as “torrao”. Ninety-four samples were selected from different surveys carried out in Murcia greenhouses from 2003 to 2006. RT-PCR and molecular hybridation were performed and 87 of the tested samples resulted positive to ToTV. In 83 of the samples, ToTV was detected associated to the presence of *Pepino mosaic virus* (PepMV), isolate type Chilean 2 in majority. New studies are raised to set the implication of both viruses, ToTV and PepMV, in the development of the syndrome named “torrao” in tomato crops.

**Key words:** *Tomato torrado virus*, *Pepino mosaic virus*, diagnosis, virus, RT-PCR, molecular hybridation.

#### REFERENCIAS

- ALFARO-FERNÁNDEZ, A., CÓRDOBA-SELLÉS, M. C., CEBRIÁN-MICÓ, M. C., FONT, I., JUÁREZ, M., MEDINA, V., LACASA, A., SÁNCHEZ-NAVARRO, J. A., PALLÁS, V., JORDÁ-GUTIÉRREZ, C. 2006. Necrosis del tomate: “torrao” o cribado. *Bol. San. Veg. Plagas*, **32**: 545-562.
- ARAMBURU, J. y ARIÑO, J. 2003. La “necrosis apical del tomate”. Una nueva virosis causada por una raza del virus del moteado de la parietaria (PMoV). *Phytoma España*, **151**: 32-38.
- GALAPIENSO, L., HERRANZ, M. C., PALLAS, V. y ARAMBURU, J. 2005. Detection of a tomato strain of *Parietaria mottle virus* (PMoV-T) by molecular hybridization and RT-PCR in field samples from north-eastern Spain. *Plant Pathology*, **54**: 29-35.
- JORDÁ, C., LÁZARO-PÉREZ, A., MARTÍNEZ-CULEBRAS, P. y ABAD, P. 2001. First report of *Pepino mosaic virus* on tomato in Spain. *Plant Disease*, **85**: 1292.
- JORDÁ, C., MARTÍNEZ, M. C., CÓRDOBA, M. C., MARTÍNEZ, O., JUÁREZ, M. y FONT, I. 2003. El “cribado” o “torrao”, ¿una nueva enfermedad del cultivo del tomate? *Phytoma. España*, **152**: 130-136.
- LOURO, D., ACCOTTO, G. P. y VAIRA, A. M. 2000. Occurrence and diagnosis of *Tomato chlorosis virus* in Portugal. *European Journal of Plant Pathology*, **106**: 589-592.
- MARTÍNEZ-CULEBRAS, P. V., LÁZARO, A., ABAD-CAMPOS, P. y JORDÁ, C. 2002. A RT-PCR assay combined with RFLP analysis for detection and differentiation of isolates of *Pepino mosaic virus* (PepMV) from tomato. *European Journal of Plant Pathology*, **108**: 887-892.
- PAGÁN, I., CÓRDOBA-SELLÉS, M. C., MARTÍNEZ-PRIEGO, LL, FRAILE, A., MALPICA, J. M. JORDÁ, C. y GARCÍA-ARENAL, F. 2006. Genetic structure of the population of *Pepino mosaic virus* infecting tomato crops in Spain. *Phytopathology*, **96**: 274-279.
- SÁNCHEZ-NAVARRO, J. A., CAÑIZARES, M. C., CANO, E. A. y PALLÁS, V. 1999. Simultaneous detection of five carnation viruses by non-isotopic molecular hybridation. *Journal of Virological Methods*, **82**: 167-175.
- VAIRA, A. M., ACCOTTO, G. P., VECCHIATI, M. y BRAGALONI, M. 2002. *Tomato infectious chlorosis virus*

- causes leaf yellowing and reddening of tomato in Italy. *Phytoparasitica*, **30** (3): 290-294.
- VAN DER HEUVEL, J. F., MARIS, P. C., VERBEEK, M., DULLEMANS, A. M., y VAN DER VLUGT, R. A. 2006. Plant virus designated *Tomato torrado virus*. N° Patente WO2006085749.
- VERBEEK, M., DULLEMANS, A. M. y VAN DER VLUGT, R. A. A. 2005. *Tomato torrado virus*, a new virus infecting tomato. XV Tomato working group meeting. Bari, Italia. Comunicación oral.
- VERBEEK, M., DULLEMANS, A. M., VAN DER HEUVEL, J. F. J. M., MARIS, P. C. Y VAN DER VLUGT, R. A. A. 2007. Identification and characterization of *Tomato torrado virus* a new plant picorna-like virus from tomato. *Archives of Virology*, **152**: 881-990.

(Recepción: 16 febrero 2007)

(Aceptación: 9 marzo 2007)





## Fitotoxicidad del fosfonato en brinzales de encina (*Quercus ilex* L. subsp. *ballota* (Desf.) Samp.)

R. M<sup>a</sup> NAVARRO CERRILLO, I. JORGE, D. ARIZA, C. PORRAS, J. JORRIN

El fosfonato es un fertilizante foliar que ha sido utilizado con éxito en el control de *P. cinnamomi* en varias especies forestales. Aunque se considera que los fosfonatos tienen una bajo nivel de toxicidad, se han observado síntomas de daños en varias especies y utilizando distintos métodos de aplicación. En este trabajo se estudia la fitotoxicidad de los fosfonatos en brinzales de *Quercus ilex*. Se han ensayado dos concentraciones de fosfonato, 10, y 15 g l<sup>-1</sup>, y se han realizado medidas de la fluorescencia de la clorofila, la concentración de fosfonatos en hoja y raíz; y la concentración de fenoles en los mismos tejidos. Las plantas mostraron síntomas visuales de fitotoxicidad para una concentración de 15 g l<sup>-1</sup> de fosfonato, con necrosis apicales a los 12-13 días después del tratamiento. Sin embargo, los valores de la relación Fv/Fm y la eficiencia fotosintética (PHIE<sub>0</sub>) no presentaron diferencias significativas entre mediciones

La concentración de fosfonatos, tanto en raíz como en hojas, aumentó a medida que aumentaron las concentraciones de las aplicaciones foliares. El nivel de compuestos fenólicos fue siempre mayor en hojas que en raíz, observándose diferencias significativas en raíz a los 14 días para el tratamiento de 10 g l<sup>-1</sup> de fosfonato. Parece evidente por los resultados de este trabajo, que los sistemas de defensa asociados a compuestos fenólicos en brinzales de encina han sido activados después de los 7 días del tratamiento como respuesta al tratamiento con fosfonato.

R. M<sup>a</sup> NAVARRO CERRILLO, D. ARIZA. Departamento de Ingeniería Forestal-Universidad de Córdoba. Correo electrónico: irlnacer@uco.es; Apartado de Correos 3048 (14080 Córdoba-España). Teléfono: 34-957-218657; Fax: 34-957-218563

I. JORGE, J. JORRIN. Departamento de Bioquímica-Universidad de Córdoba.

C. PORRAS. CIFA Las Torres. Consejería de Innovación y Tecnología. Junta de Andalucía.

**Palabras clave:** *Phytophthora cinnamomi*, tratamientos, métodos de aplicación.

## INTRODUCCIÓN

El principal problema fitosanitario de las masas de *Quercus* en la península ibérica es la afección de la *seca* de encina y alcornoques, que daña gravemente a un gran número de dehesas y bosques desde comienzos de los años 80 (RUPÉREZ y MUÑOZ, 1980). La etiología de la *seca* parece tener un origen multicausal, es decir, que en las masas afectadas se da la confluencia de varios factores que parecen interactuar entre sí (SÁNCHEZ *et al.*, 2003). Sin embargo, en muchos casos el

diagnóstico de las zonas afectadas ha permitido identificar agentes causales únicos, siendo el caso más frecuente la presencia de *Phytophthora cinnamomi* Rands (SÁNCHEZ *et al.*, 2003). *P. cinnamomi* es un hongo Oomiceto de la familia *Phytophthoraceae* y está considerado uno de los parásitos de plantas leñosas más agresivo y destructivo del mundo (BRASIER *et al.*, 1993), cuya patogenicidad en encina y alcornoque se demostró en 1996 (TUSET *et al.*, 1996).

El control de la enfermedad se basa en impedir la infección y limitar la dispersión

mediante medidas culturales, biológicas y químicas (SMITH *et al.*, 1992). Entre las medidas culturales se propone la eliminación de los pies infectados, el acotamiento de zonas afectadas y sobre todo la desinfección de las herramientas para las labores al suelo. La lucha biológica consiste en el empleo de organismos antagonistas, habiéndose empleado *Trichoderma* spp y *Mycothecium verrucaria* (PÉREZ DE ALGABA *et al.*, 1990). Los procedimientos químicos son muy diversos: pulverización de la copa del árbol infectado con fungicidas y abonos foliares (GARCÍA y POZO, 1993); inyecciones de fosfonatos en el tronco del árbol enfermo (FERNÁNDEZ-ESCOBAR *et al.*, 1999), y la aplicación de fosfonatos a las plantas y el suelo (FAIRBANKS *et al.*, 2000; NAVARRO *et al.*, 2004; NAVARRO y TERÁN, 2006).

El fosfonato es un fertilizante foliar que ha sido utilizado con éxito en el control de *P. cinnamomi* en varias especies forestales (WILKINSON *et al.*, 2001; HARDY *et al.*, 2001; BARRETT *et al.*, 2003) y también en especies mediterráneas (NAVARRO *et al.*, 2004). El fosfonato es un derivado del ácido fosfórico, que contiene un grupo orgánico P-H (DUNHILL, 1990). Aunque se considera que los fosfonatos tienen un bajo nivel de toxicidad (GUEST y GRANT, 1991), se han observado síntomas de daños en un amplio número de especies utilizando distintos métodos de aplicación. La fitotoxicidad se manifiesta en necrosis en los márgenes de las hojas, abscisión de hojas, crecimientos anormales y clorosis (HARDY *et al.*, 2001). La menor concentración de fosfonatos en la cual se han observado daños en especies forestales ha sido de 5 g l<sup>-1</sup> (HARDY *et al.*, 2001) resultando evidentes a partir de 10 g l<sup>-1</sup> (ABERTON *et al.*, 1999). Por otro lado, en trabajos previos se ha observado que una concentración de fosfonato de 5 g l<sup>-1</sup> controla satisfactoriamente los daños de *P. cinnamomi*, evitando problemas de fitotoxicidad.

El mecanismo mediante el cual los fosfonatos protegen a las plantas huéspedes de la acción del hongo no se conoce suficientemente (HARDY *et al.*, 2001), se le relaciona

con procesos de activación de defensa frente a patógenos tales como la acumulación de compuestos fenólicos (CANDELA *et al.*, 1995). El fosfonato se trasloca a través tanto del floema como del xilema, alcanzando órganos sumidero de forma similar a la de los fotoasimilados (GUEST y GRANT, 1991), observándose principalmente mayores concentraciones en raíces y ramillos terminales. La producción de compuestos fenólicos es una respuesta general de las plantas a estreses bióticos y abióticos (NEMESTOTHY y GUEST, 1990). Estudios realizados por JACKSON *et al.* (2000) demostraron que a dosis fitotóxicas de fosfonato (15 g l<sup>-1</sup>) se inducía un oscurecimiento del extremo de la raíz, que estaba asociado a la acumulación de compuestos fenólicos solubles.

Un paso previo a la aplicación de fosfonatos en el control de *P. cinnamomi* en especies mediterráneas es evaluar las concentraciones adecuadas para evitar daños en las plantas. El objetivo de este trabajo es estudiar la fitotoxicidad de los fosfonatos en brinzales de *Quercus ilex*, así como la respuesta en la formación de compuestos fenólicos en las plantas tratadas.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### *Material vegetal*

El material vegetal utilizado en este trabajo fueron 36 brinzales de encina (*Quercus ilex* L. subsp. *ballota* (Desf.) Samp.) de procedencia Sierra Morena Occidental (Región 11 Extremadura), que fueron sembrados en alvéolos individuales con sustrato de turba: perlita (1:1; v/v). Después del cultivo, las plantas se aclimataron durante 15 días (1 al 14 de noviembre de 2005) en una cámara de cultivo en condiciones controladas (fotoperiodo 12 h, 21±1°C de temperatura, 60±5% de humedad relativa y 200 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> de irradiancia). Una vez finalizado el periodo de adaptación las plantas se colocaron en un cultivo hidropónico, consistente en un recipiente de plástico envuelto con papel de aluminio, que contenía 900 ml de solución nutritiva de Hoagland (HOAGLAND y

ARNON, 1959). La solución nutritiva se mantuvo aireada de forma continua mediante un sistema de aireación forzado por un pequeño compresor. Las plantas crecieron en cultivo hidropónico durante 2 semanas (17 al 31 de marzo) como periodo de adaptación al medio líquido, antes de comenzar el tratamiento con fosfonato.

#### *Diseño experimental*

El diseño experimental se realizó para verificar la fitotoxicidad foliar del fosfonato, por lo que se optó por un ensayo unifactorial, utilizando como factor la concentración de producto. El producto utilizado fue fosfonato potásico al 1 % (p/v), elaborado mezclando 2,8 g/100 ml de ácido fosforoso al 1% (p/v) y 2,8 g/100 ml de hidróxido potásico al 1% (p/v) equilibrado a un pH de 6,7. Las distintas concentraciones de fosfonato para realizar el ensayo de dosis-respuesta fueron de 0, 10, y 15 g l<sup>-1</sup>, y que ya habían sido empleadas en trabajos similares (FAIRBANKS *et al.*, 2000; JACKSON *et al.*, 2000; WILKINSON *et al.*, 2001). El número de plantas por tratamiento fue de 12. El día 1 abril de 2005 se procedió a los tratamientos mediante una pistola dosificadora que permite aplicar la solución sobre las hojas. Se hicieron dos repeticiones en las cuales se pulverizaba las hojas con el producto hasta gotear, se dejaba secar y se volvía a pulverizar. Los controles y mediciones de las plantas se realizaron a los 7 (8 de abril) y a los 14 días (15 de abril).

#### *Síntomas visuales*

Las plantas fueron evaluadas con el fin de determinar la aparición de síntomas visuales de fitotoxicidad siguiendo el criterio propuesto por PILBEAM *et al.* (2000), asignándose cuatro categorías: 0. Sin daños, 1. Daños limitados a hojas jóvenes, 2. Daños en hojas jóvenes y adultas con <50% de la planta afectada, y 3. Daños en hojas jóvenes y adultas con >50% de la planta afectada. Se procedió a la medición de síntomas visuales a los 7 (8 plantas), y a los 14 días (4 plantas) después de la aplicación del fosfonato.

#### *Medición de la fluorescencia.*

La fluorescencia de la clorofila se determinó utilizando un fluorímetro *Plant Efficiency Analyser* (PEA, Hansatech, Reino Unido). La fluorescencia basal ( $F_o$ ) se midió con una luz de 650  $\mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , y para obtener la emisión máxima de fluorescencia ( $F_m$ ), se aplicó un pulso saturante de 10.000  $\mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{s}^{-1}$  y un segundo de duración. Se usaron unas pinzas especiales, que forman parte del equipo del fluorímetro, para el periodo de adaptación a la oscuridad (30 minutos) que permite obtener el máximo grado de oxidación de la quinona A ( $Q_A$ ). Se determinó la relación entre la fluorescencia variable ( $F_v$ ) y la máxima ( $F_m$ ):  $F_v/F_m = (F_m - F_o)/F_m$ ; y el valor de eficiencia fotosintética según Strasser *et al.* 2000. La razón  $F_v/F_m$  es proporcional a la eficiencia fotoquímica máxima de las hojas, y es una de las variables más empleadas por numerosos autores en estudios de respuesta a estrés (STRASSER *et al.*, 2000). Las mediciones se realizaron al mediodía (12:00 hora solar) en cuatro plantas por tratamiento, en la misma hoja seleccionada en el tercio medio de cada planta.

#### *Análisis de fosfonato*

Los tejidos vegetales de cada muestra fueron lavados para quitar cualquier resto de fosfonatos depositados en hojas con un detergente libre de fosfatos (Ariel, 2,5 ml detergente por 1 litro de agua), aclarados dos veces en agua de grifo y una vez en agua desionizada. El material vegetal (raíz y hoja) se secó en estufa a 60 °C durante 5 días (50 mg de peso seco aproximadamente), se pulverizó con mortero y maja y se mezcló con 5 ml de agua mQ, dejándolo 24 h (JACKSON *et al.*, 2000). Finalmente, se filtró (filtros millipore de 0,45  $\mu\text{m}$ ), y se centrifugó para eliminar restos de tejido. El análisis de fosfonatos se hizo en el Laboratorio de Cromatografía Iónica de la Universidad Autónoma de Madrid mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), con detector de diodo array y espectrómetro de masas siguiendo el método descrito por ROOS *et al.* (1999)

### *Análisis de compuestos fenólicos*

Al igual que con el análisis de fosfonatos, a los 7 y 14 días de la aplicación, se analizó la concentración de compuestos fenólicos solubles en muestras de hoja y raíz de los plantones. La extracción de compuestos fenólicos del material vegetal se realizó siguiendo el método descrito por PRATS (2001). El contenido de fenoles totales se determinó espectrofotométricamente por el método de Folin, siguiendo el protocolo descrito por LÓPEZ-VALBUENA (1980).

### *Análisis de datos*

El análisis estadístico se inició con la comprobación de que los datos cumplen el requisito de normalidad y la homogeneidad de la varianza (homocedasticidad). La normalidad se comprobó mediante el test de Komologorov-Smirnov, y la homocedasticidad por el test de Levene. Una vez realizada la comprobación de los requisitos básicos de los datos,

se procedió a dos tipos de análisis. En primer lugar se analizaron los resultados para un mismo tratamiento comparando entre fechas mediante una T-student con un nivel de significación del 95%. En segundo lugar se realizó un análisis de la varianza (ANOVA) de una vía entre tratamientos para cada una de las fechas en que se tomaron medidas (26/04/05 y 04/04/05). Cuando el análisis de la varianza fue significativo se realizó un test de Tukey de comparación múltiple de las medias para un nivel de significación del 5% ( $P \leq 0,05$ ). Los resultados se presentan en los cuadros y en las figuras como media y error estándar de cada tratamiento.

## RESULTADOS

### *Síntomas visuales*

Las plantas mostraron síntomas visuales de fitotoxicidad en aquellos plantones a los que se les aplicó una concentración de 15 g



Figura 1. Síntomas de fitotoxicidad en hojas de encina en cultivo hidropónico 14 días después de la aplicación de un tratamiento de fosfonato con un concentración de 15 g l<sup>-1</sup>.

Cuadro 1. Valores de Fv/Fm y eficiencia fotosintética para cada tratamiento en las dos mediciones realizadas durante los días 29 de abril y 26 de julio. Media  $\pm$  error estándar.

Tratamiento Concentración de fosfonatos	Fv/Fm		PHIE <sub>0</sub> Eficiencia fotosintética	
	26/04/05	04/05/05	26/04/05	04/05/05
0 g l <sup>-1</sup>	0,77 (0,002)	0,75 (0,011)	0,40 (0,015)	0,38 (0,035)
10 g l <sup>-1</sup>	0,74 (0,017)	0,76 (0,008)	0,35 (0,032)	0,41 (0,029)
15 g l <sup>-1</sup>	0,76 (0,005)	0,77 (0,005)	0,42 (0,013)	0,44 (0,013)

l<sup>-1</sup> de fosfonato, sin observarse síntomas en el tratamiento de 10 g l<sup>-1</sup>. En el primer caso las hojas jóvenes mostraron una ligera decoloración 2-3 días después de la aplicación (categoría 1). Posteriormente, se observó necrosis parciales a los 12-13 días después del tratamiento, que afectan tanto a hojas jóvenes y adultas en un porcentaje <50% de la planta (categoría 2), con abscisión parcial de hojas (Figura 1).

#### Medición de la fluorescencia

Los valores de la relación Fv/Fm y la eficiencia fotosintética (PHIE<sub>0</sub>) no presentaron diferencias significativas entre mediciones (T-student para todos los tratamientos Sig>0,05) ni entre tratamientos para cada una de las fechas (ANOVA Sig>0,05) (Cuadro 1). Los valores de fluorescencia en todas las fechas y tratamientos son muy uniformes y próximos a 0,75, siendo algo más variables los valores la eficiencia fotosintética, pero sin un patrón claro.

#### Concentración de fosfonatos

La concentración de fosfonatos, tanto en raíz como en hojas, aumentó a mayor con-

centración de las aplicaciones foliares, aunque las diferencias observadas entre fechas de medición para un mismo tratamiento no fueron estadísticamente significativas (T-student Sig>0,05) (Cuadro 2). En hoja, los niveles fueron mayores a los 7 que a los 14 días, mientras que en raíces se observó la tendencia contraria, no detectándose fosfonatos en raíz a los 7 días tras la aplicación (Cuadro 2). A los 14 días no se observaron, tanto en raíz (F=0,292; P<0,75) como en hojas (F=0,417; P<0,67), diferencias significativas en el contenido de fosfonatos entre dosis de aplicación.

#### Concentración de fenoles

El nivel de compuestos fenólicos a lo largo del ensayo fue siempre mayor en hojas que en raíz. La concentración de compuestos fenólicos no mostraron diferencias significativas entre fechas de medición para un mismo tratamiento (T-student Sig>0,05).

La concentración de fenoles en hoja no mostró diferencias significativas ni en la primera (F=3,689; P<0,06), ni en la segunda medición (F=0,485; P<0,63), con variaciones muy pequeñas entre medidas (Fig. 2).

Cuadro 2. Concentración de fosfonatos en hoja y raíz de plantones de encina tras 7 y 14 días de tratamiento con fosfonato a distintas concentraciones (0, 10 y 15 g l<sup>-1</sup>). Media  $\pm$  error estándar.

Concentración de fosfonato en el tratamiento (g l <sup>-1</sup> )	Concentración de fosfonato 7 días (µg g <sup>-1</sup> )		Concentración de fosfonato 14 días (µg g <sup>-1</sup> )	
	Raíz	Hojas	Raíz	Hojas
0	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
10	n.d.	396,22 (46,48)	655,77 (193,16)	207,03 (36,03)
15	n.d.	565,61 (142,40)	683,03 (141,65)	295,88 (42,93)

n.d. no detectado.

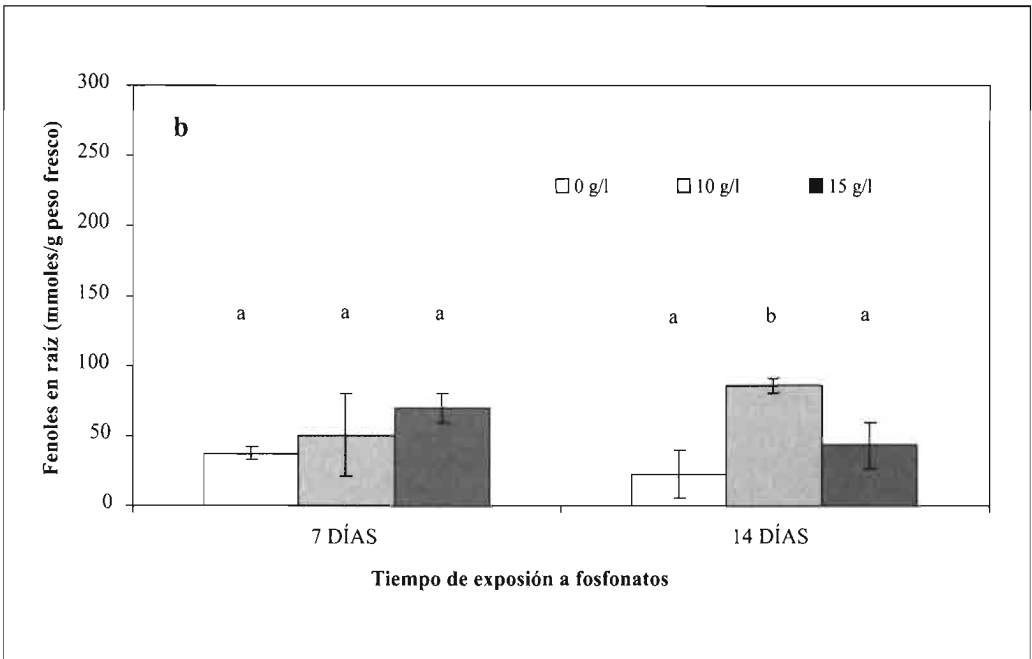
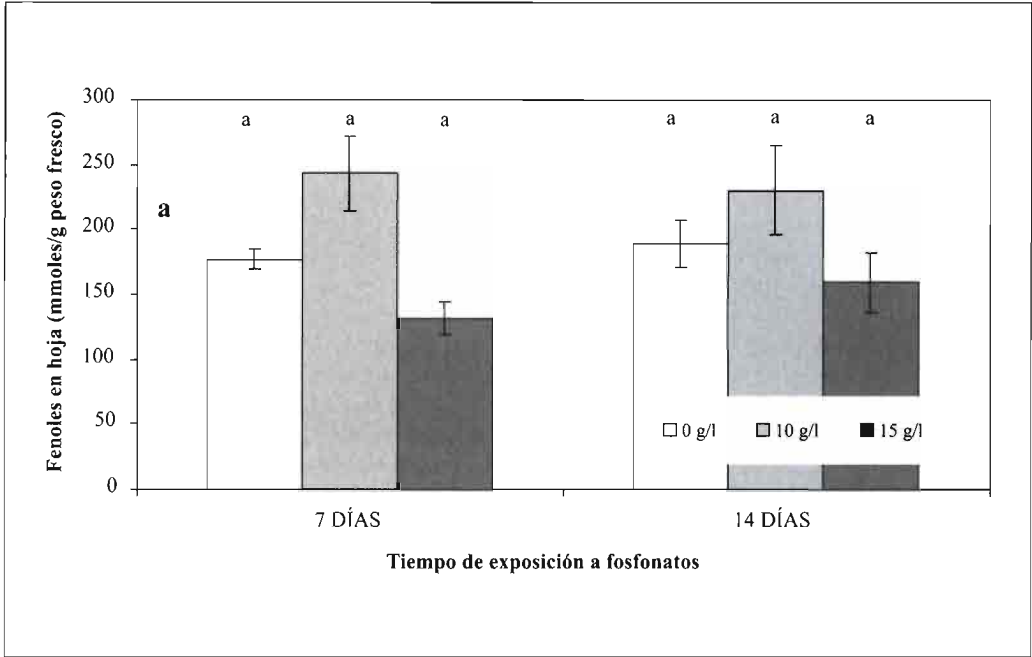


Figura 2. Concertación de compuestos fenólicos en (a) hoja y (b) raíz de plántones de encina tras 7 y 14 días de tratamiento con fosfonato a distintas concentraciones (0, 10 y 15 g l<sup>-1</sup>). Letras iguales indican pertenencia a un mismo subconjunto según el método para comparaciones múltiples de Tukey para un nivel de significación de 0,05.

Sin embargo, la concentración de fenoles en la raíz experimentó cambios más importantes entre las dos fechas de medición. A los 7 días, la concentración de fenoles en raíces en todos los tratamientos fueron similares (Fig. 2), obteniéndose el valor máximo para el tratamiento 15 g l<sup>-1</sup>, aunque las diferencias no fueron significativas ( $F=1,036$ ;  $P<0,39$ ). En la medida a los 14 días, se produjo una reducción de la concentración radical en el tratamiento de 0 g l<sup>-1</sup> y 15 g l<sup>-1</sup>, aumentando significativamente el valor para el tratamiento de 10 g l<sup>-1</sup> ( $F=13,488$ ;  $P<0,002$ ).

## DISCUSIÓN

El control de *P. cinnamomi* en condiciones naturales es complicado debido a su amplia gama de huéspedes, al largo período entre el establecimiento de la infección y la aparición de síntomas foliares y a la longevidad de sus estructuras de resistencia en el suelo. Los métodos de control químico presentan una serie de ventajas, como su rapidez de acción, persistencia, efectividad y bajo coste, que hacen que sean una opción interesante. Recientemente, el fertilizante fosfonato, ha demostrado su eficacia en el control de daños de *P. cinnamomi* en brinzales de especies mediterráneas europeas (NAVARRO *et al.*, 2004). El fosfonato es un fertilizante que actúa como un fungicida sistémico, el cual es traslocado en la planta a través del xilema y del floema con los foto asimilados en una relación fuente-sumidero (GUEST y GRANT, 1991).

En este trabajo se ha evaluado la fitotoxicidad asociada a la aplicación foliar de fosfonatos en encina, así como la traslocación del producto a la raíz. Los resultados indican la susceptibilidad de la encina a concentraciones superiores a 10 g l<sup>-1</sup>, apareciendo síntomas de fitotoxicidad en encina en concentraciones de 15 g l<sup>-1</sup>. En otras especies los síntomas de fitotoxicidad comienzan en concentraciones superiores a 5 g l<sup>-1</sup>, aunque en especies forestales los daños empiezan a observarse a concentraciones superiores a 10 g l<sup>-1</sup> en la mayor parte de las especies estu-

diadas (JACKSON *et al.*, 2000; HARDY *et al.*, 2001). Los daños observados se caracterizan principalmente por deformaciones en hojas terminales, y abscisión de hojas adultas, acompañada de una pérdida de crecimiento apical. La necrosis foliar puede ser el resultado de desequilibrios metabólicos, tales como la sobreproducción de compuestos tóxicos como los fenólicos y/o especies reactivas de oxígeno. Estos síntomas coinciden con los observados en especies australianas (JACKSON *et al.*, 2000; HARDY *et al.*, 2001).

La fluorescencia de la clorofila permite estudiar las limitaciones a la fotosíntesis de origen no estomático (STRASSER *et al.*, 2000). Los valores de la fluorescencia a los 7 y a los 14 días no presentaron diferencias significativas entre tratamientos, alcanzando valores muy parecidos a los obtenidos en otros ensayos para planta de encina no sometida a estrés (NAVARRO *et al.*, 2006). Esto indica que incluso en el tratamiento de 15 g l<sup>-1</sup>, donde aparecieron síntomas de fitotoxicidad, estos no suponen un aumento del estrés fotoquímico de la planta, lo cual también puede deberse a que las medidas se realizaron en la parte central de hojas situadas en la zona intermedia de la planta que no presentaban síntomas visuales de daños. El comportamiento del valor de la eficiencia fotosintética fue muy similar a de la relación Fv/Fm, no presentando diferencias entre tratamientos.

La concentración de fosfonatos encontradas en las hojas y en la raíz de encina aumentó con la concentración de los tratamientos con fosfonatos, y con el tiempo. Los valores finales fueron similares a los encontrados por TYNAN *et al.* (2001) y BARRETT *et al.* (2003), que encontraron valores próximos a 200 µg g<sup>-1</sup> para tratamientos con concentraciones de fosfonato de 5 g l<sup>-1</sup> y 10 g l<sup>-1</sup> de fosfonato, pero claramente inferiores a las encontradas para otras especies leñosas como *Bankia grandis* o *Eucalyptus marginata* que a las dos semanas del tratamiento presento concentraciones de fosfonato en hoja muy superiores a 1200 µg g para un tratamiento con 5 g l<sup>-1</sup> de fosfonato (JACKSON *et al.*, 2000; WILKINSON *et al.*, 2001). Es impor-

tante destacar el claro efecto de traslocación de fosfonatos a la raíz en un periodo relativamente corto, aumentando las concentraciones en los tratamientos con fosfonatos a las dos semanas, y disminuyendo las concentraciones foliares.

No se conocen los procesos mediante los cuales los fosfonatos inducen resistencia a *P.cinnamomi*. postulado que el fosfonato induce la síntesis de compuestos fenólicos tales como fitoalexinas y ligninas, quienes actuarían como barrera física (caso de las ligninas) o como compuestos antifúngicos (caso de las fitoalexinas) (NEMESTOTHY y GUEST, 1990; CANDELA *et al.*, 1995), como se había observado en el caso de *Eucalyptus* sp. (CAHILL *et al.*, 1993). Los resultados de este trabajo parecen indicar que los sistemas de defensa asociados a compuestos fenólicos han sido activados después de los 7 días del tratamiento, dadas las diferencias observadas entre el tratamiento a concentración de fosfonatos de 0 g l<sup>-1</sup> y 10 g l<sup>-1</sup>. En este trabajo se observó traslocación de fosfonato a la raíz en el tratamiento con mayor concentración, pero por el contrario la concentración de compuestos fenolitos al final del ensayo en la raíz fue la menor. La caída de concentración de compuestos fenólicos en el tratamiento de 15 g l<sup>-1</sup> de fosfonato, pudo deberse a la fitotoxicidad observada a dosis elevadas del fertilizante BARRETT *et al.*, 2003).

La efectividad de los fosfonatos parece que aumentan cuando se aumenta su concentración hasta valores fototóxicos. En este trabajo los fosfonatos parecen mostrar fenómenos de fitotoxicidad en encima de concentración de 15 g l. El escaso numero de tratamientos no permite estudiar los valores óptimos de aplicación, lo cual requiere trabajar con un rango de concentraciones más ajustados, tal y como recomiendan otros autores (HARDY *et al.*, 2001). A partir de las medidas de concentración de fosfonato en hoja y raíz, parece que la protección del fosfonato podría estar relacionada con una rápida traslocación

desde las hojas a la raíz. Podría ser interesante estudiar el efecto de aplicaciones sucesivas (2 al año) de fosfonatos en concertaciones de 5-10 g l<sup>-1</sup> para estudiar los efectos de fitotoxicidad y concertación de fosfonatos en las diferentes fracciones de la planta. En otras especies un incremento del pH de la solución a 7,2 redujo la toxicidad en hojas (LEONARDI y WHILEY, 1999), lo cual podría ser efectivo en condiciones naturales. Alternativamente, se pueden utilizar otras estrategias como el uso de surfactantes, y la mejora de los equipos de dosificación, lo que podría mejorar la absorción de fosfonatos en especies mediterráneas. Sería bueno investigar los rangos mínimos de aplicación y la frecuencia entre tratamientos para garantizar la acción protectora del fosfonato, que diversos autores la sitúan alrededor de los 6 meses, aunque varía con muchos factores (WILKINSON *et al.*, 2001). Su efecto en individuos adultos, y posteriormente en masas naturales y repoblaciones, deben ser estudiados, ajustando las dosis adecuadas para evitar problemas de fitotoxicidad (WILKINSON *et al.*, 2001), y desarrollando los procesos operativos más adecuados para su aplicación en campo de forma sencilla y económica (HARDY *et al.*, 2001).

## AGRADECIMIENTOS

Este trabajo se ha realizado con el apoyo del Servicio de Ordenación de los Recursos Forestales de la Consejería de Medio Ambiente de la Junta de Andalucía a través del Convenio *Seguimiento de los daños de seca sobre masas de Quercus en Andalucía. Propuesta de soluciones, y Selección de individuos resistentes a procesos de decaimiento* financiado por la Fundación Caja el Monte, así como el proyecto AGL2002-00530 *Bases biológicas, epidemiológicas y selvícolas para el control de las principales enfermedades asociadas a la seca de los Quercus en Andalucía. decaimiento* financiado por la Fundación Caja el Monte.



## ABSTRACT

NAVARRO CERRILLO R. M<sup>a</sup>, I. JORGE, D. ARIZA, C. PORRAS, J. JORRIN. 2007. Phosphonate phytotoxicity in saplings of *Quercus ilex*. *Bol. San. Veg. Plagas*, 33: 111-120.

Phosphonate is a foliar fertilizer which has been successfully used in the control of *P. cinnamomi* in several forest species. Although phosphonates are considered to have a low toxicity level, lesion symptoms in several species using different application methods have been observed. In this work, phosphonate phytotoxicity was studied in saplings of *Quercus ilex*. Chlorophyll fluorescence and phosphonate and phenol concentration were evaluated in leaf and root tissues at two concentrations of phosphonate, 10, and 15 g l<sup>-1</sup>. The plants showed visual phytotoxicity symptoms at a concentration of 15 g l<sup>-1</sup> of phosphonate, with apical necroses at 12-13 days after the treatment. However, the values of the Fv/Fm ratio and the photosynthetic efficiency (PHIE<sub>0</sub>) did not reveal any significant differences between measurements.

Phosphonates concentration in root and leaf was increased as the foliar application concentrations did. The level of phenolic compounds was always higher in leaf than in root, with significant differences being observed in root at 14 days for the treatment of 10 g l<sup>-1</sup> of phosphonate. This work showed that the defence systems associated with phenolic compounds were activated after 7 days of treatment with phosphonate.

**Palabras clave:** *Phytophthora cinnamomi*, treatments, application methods.

## REFERENCIAS

- ABERTON, M. J.; WILSON, B. A.; CAHILL, D. M. 1999. The use of potassium phosphonate to control *Phytophthora cinnamomi* in native vegetation at Anglesca, Victoria. *Australasian Plant Pathology*, 28: 225-234.
- BARRETT, S. R., SHEARER, B. L., HARDY, G. E. 2003. The efficacy of phosphite applied after inoculation on the colonisation of *Banksia brownii* stems by *Phytophthora cinnamomi*. *Australasian Plant Pathology*, Vol. 32, (1):1-7.
- BRASIER, C. M., ROBREDO, F., FERRAZ, J. F. P., 1993. Evidence for *Phytophthora cinnamomi* involvement in Iberian oak decline. *Plant Pathology*, 42: 140-145.
- CANDELA, M. E., ALCÁZAR, M. D., ESPIN, A., EGEA, C., ALMELA L., 1995. Soluble phenolic acids in *Cap-sicum annuum* stems infected with *Phytophthora capsici*. *Plant Pathology*, 44: 116-123.
- CAHILL, D. M.; BENNETT, I. J.; MCCOMB, J. A. 1993. Mechanism of resistance to *Phytophthora cinnamomi* in clonal, micropropagated *Eucalyptus marginata*. *Plant Pathology*, 42: 865-872.
- CANDELA, M. E., ALCÁZAR, M. D., ESPIN, A., EGEA, C., ALMELA L., 1995. Soluble phenolic acids in *Cap-sicum annuum* stems infected with *Phytophthora capsici*. *Plant Pathology*, 44: 116-123.
- DUNHILL, R. H. 1990. The manufacture and properties of phosphonic (phosphorous) acid. *Australasian Plant Pathology*, 19: 138-139.
- FAIRBANKS, M., HARDY, G., MCCOMB, J. A. 2000. Comparisons of phosphite concentrations in *Corymba (Eucalyptus) calophylla* tissues after spray, mist or soil drench applications with the fungicide phosphite. *Australasian Plant Pathology*, 29: 96-101.
- FERNÁNDEZ-ESCOBAR, R., GALLEGO, F. J., BENLLOCH, M., MEMBRILLO, J., INFANTE, J., PÉREZ DE ALGABA, A., 1999. Treatment of oak decline using pressurized injection capsules of antifungal materials. *Eur. J For Pathol.*, 29: 29-38.
- GARCÍA, F., POZO, J. D. 1993. Ensayo de eficacia de un fungicida y un abono foliar para el control de "seca de la encina". Servicio de Sanidad Vegetal. Consejería de Agricultura y Comercio. Junta de Extremadura. 10 pp.
- GUEST, D. I., GRANT, B. R., 1991. The complex action of phosphonates as antifungal agents. *Biological Review*, 66: 159-87.
- HARDY, G. E., BARRETT, S. R., SHEARER, B. L. 2001. The future of phosphite as a fungicide to control the soil-borne plant pathogen *Phytophthora cinnamomi* in natural ecosystems. *Australasian Plant Pathology*, Vol. 30, (2): 133-139.
- HOAGLAND, D. R., ARNON, A. I. 1959. The Water-Culture Method for Growing Plants Without Soil. California Agricultural Experiment Station Circular 347, Berkeley, 1950. 32 pages.
- JACKSON TJ, BURGESS T, COLQUHOUN I, HARDY GE. 2000. Action of the fungicide phosphite on *Eucalyptus marginata* inoculated with *Phytophthora cinnamomi*. *Plant Pathol.*, 49: 147-154
- LEONARDI, J., WHILEY, A.W.: 1999. Progress on the use of foliar applications of phosphonate for the control of *Phytophthora* root rot in avocados. *Talking avocados*, 10: 18-21.
- LÓPEZ-VALBUENA R. 1980. Efectos del mildiu (*Plasmo-para halstedii*) en el metabolismo de compuestos fenólicos en girasol. Tesis Doctoral. UCO. Córdoba, España
- NAVARRO CERRILLO, R M; GALLO, L.; SÁNCHEZ, E.; TRAPER, A.; FERNÁNDEZ, P. 2004. Efecto de distintas fertilizaciones de fósforo en la resistencia de brinzales de encina y alcornoque a *Phytophthora cinnamomi*.

- mi Rands. *Investigación Agraria. Sistemas y Recursos Forestales*, Vol. 13 (3): 550-557.
- NAVARRO CERRILLO, R M; TERÁN BOCERO, A. 2006. Acción preventiva y curativa del fosfonato en el control de *Phytophthora cinnamomi* Rands en encina y alcornoque. *Bol. San. Veg. Plagas*, 32: 685-694.
- NEMESTOTHY, G. S.; GUEST, D. I. 1990. Phytoalexin accumulation, phenylalanine ammonia lyase activity and ethylene biosynthesis in fosetyl-Al treated resistant and susc eptible tobacco cultivars infected with *Phytophthora nicotianae* var. *nicotianae*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 36: 207-219.
- PÉREZ DE ALGABA, A., CABEZUELO, P., FERNÁNDEZ DE CÓRDOVA, J. 1990. La "seca de la encina". Experiencia con *Phytophthora cinnamomi* y *Trichoderma harzianum* en distintos tipos de suelo. Sección de Sanidad Vegetal. Delegación Prov. De Agricultura y Pesca (Córdoba). Junta de Andalucía. 15 pp.
- PILBEAM, R. A.; COLQUHOUN, I. J.; SHEARER, B.; HARDY, G. E. 2000. Phosphite concentration: its effect on phytotoxicity symptoms and colonisation by *Phytophthora cinnamomi* in three understory species of *Eucalyptus marginata* forests. *Australasian Plant Pathology*, 29: 86-95.
- PRATS E. 2001. Importancia de las cumarinas y otros compuestos fenólicos en la defensa del girasol frente a patógenos. Tesis Doctoral. UCO. Córdoba, España
- ROOS G. H. P., LOANE C. DELL B, HARDY G. E. 1999. Facile high performance ion chromatographic analysis of phosphite and phosphate in plant samples. *Communicat. Soil Sci. Plant Anal.* 30: 17-18
- RUPÉREZ, A., MUÑOZ, M. 1980. Grave enfermedad de las encinas. *Bol. San. Veg. Plagas*, 6: 107-108.
- SÁNCHEZ, M. E., SÁNCHEZ, J. E., NAVARRO, R. M.; FERNÁNDEZ, P.; TRAPERO, A. 2003. Incidencia de la podredumbre radical causada por *Phytophthora cinnamomi* en masas de *Quercus* en Andalucía. *Bol. San. Veg. Plagas*, 29: 87-108.
- SMITH, I. M., DUNEZ, J., LELLIOTT, R. A., PHILLIPS, D. H., ARCHER, S. A. 1992. Manual de Enfermedades de las Plantas. Ed. Mundi-Prensa, Madrid. 671 pp.
- STRASSER, R., SRIVASTAVA, A., TSIMILLI-MICHAEL, M. 2000. The fluorescence transient as a tool to characterise and screen photosynthetic samples. En: M. Junus, U. Parte y P. Mohantray (eds.), *Probing photosynthesis: mechanisms, regulation and adaptation*. 445-483 pp.
- TUSET, J., HINAREJOS, C., MIRA, J., COBOS, J. 1996. Implicación de *Phytophthora cinnamomi* Rands en la enfermedad de la seca en encinas y alcornoques. *Bol. San. Veg. Plagas*, 22: 491-499.
- TYNAN, K.M., WILKINSON, C.J., HOLMES, J.M., DELL, B., COLQUHOUN, I., MCCOMB, J.A., HARDY, G.E. 2001. The long-term ability of phosphite to control *Phytophthora cinnamomi* in two native plant communities of Western Australia. *Australian Journal of Botany*, Vol. 49, (6): 761-770.
- WILKINSON, C. J., HOLMES, J. M., TYNAN, K. M., COLQUHOUN, I., MCCOMB, J. A. HARDY, G. E., DELL, B. 2001. Ability of phosphite applied in a glasshouse trial to control *Phytophthora cinnamomi* in five plant species native to Western Australia. *Australasian Plant Pathology*, Vol. 30, (4): 343-351.

(Recepción: 8 noviembre 2006)

(Aceptación: 18 enero 2007)

## Aplicación de ortofotos para la estimación de pérdida de individuos en dehesas de encina (*Quercus ilex* L. subsp. *ballota* (Desf.) Samp.) afectadas por procesos de decaimiento

E. ROMERO DE LOS REYES, R. M<sup>a</sup> NAVARRO CERRILLO, A. GARCÍA-FERRER PORRAS

El objetivo de este trabajo fue estudiar la aplicación de ortofotos digitales para evaluar la pérdida de arbolado de encina en dehesas del Andévalo (Huelva), asociado a procesos de decaimiento. Se trata de una de las zonas que presenta uno de los mayores niveles de daños por decaimiento forestal en Andalucía, pudiéndose observar numerosos rodales e individuos muertos. El trabajo se realizó a partir de las ortofotos de 1997 y 2002 mediante un proceso de binarización de las coberturas digitales. La pérdida de arbolado estimado en número de pies para ocho municipios fue de 93.608 individuos, con una pérdida media de fracción de cabida cubierta por término municipal del 7,2%.

E. ROMERO DE LOS REYES, R. M<sup>a</sup> NAVARRO CERRILLO. Departamento de Ingeniería Forestal-Universidad de Córdoba. Apartado de correos 3048 (14080 Córdoba-España). E-mail: irlnacer@uco.es

A. GARCÍA-FERRER PORRAS. Departamento de Ingeniería Gráfica e Ingeniería y Sistemas de Información Cartográfica.

**Palabras clave:** ortofotos digitales, evaluación de daños, *seca*.

### INTRODUCCIÓN

La dehesa es un sistema agrosilvopastoral de uso múltiple, fundamentalmente dedicado a la ganadería extensiva, donde destaca la presencia de un arbolado disperso, principalmente de especies del género *Quercus* (SAN MIGUEL, 1994). Según los datos ofrecidos por la RED NATURA 2000 la dehesa ocupa 12,5 millones de hectáreas en España, lo que supone el 23,4% de la superficie nacional. En Andalucía, cubre 780.000 ha, siendo el paisaje más característico de muchas comarcas.

El momento crítico que atraviesa en estos momentos la dehesa se debe en gran medida al mal estado selvícola de las masas de *Quercus* y a la presencia de procesos de decaimiento o *secas* (NAVARRO *et al.*, 2004).

El análisis de las características de los focos y la identificación de los agentes bióticos presentes en cada provincia (NAVARRO *et al.*, 2004) supuso el punto de partida para una primera biogeografía de la *seca* en Andalucía, caracterizando cuatro grandes áreas que responden a situaciones bien diferenciadas. La biogeografía facilita el diagnóstico de *seca* en Andalucía ya que permite diferenciar, con razonable seguridad, los agentes bióticos y abióticos más relevantes en cada provincia o comarca. En Andalucía occidental el patrón de daños se caracteriza por focos de tamaño pequeño, con un porcentaje medio de pies afectados, con patrones de distribución al azar en el terreno, y dominancia de muertes progresivas. Los daños han sido relacionados claramente con la presencia de *Phytophthora cinnamomi* Rands, a partir de

un muestreo realizado en 28 explotaciones en la comarca (SÁNCHEZ *et al.*, 2003).

Los síntomas de esta enfermedad radical se manifiestan por la presencia de grandes grupos o focos de árboles sintomáticos, situados preferentemente en valles o depresiones topográficas, o en zonas estacionalmente encharcadizas, aunque también se detecta en zonas alteradas, como márgenes de caminos o áreas que soportan altas cargas ganaderas (SÁNCHEZ *et al.*, 2000; 2002). Los síntomas aéreos de la enfermedad (clorosis y marchitez foliar, defoliación, puntisecado de ramas) se corresponden con los síntomas radicales de muerte y/o ausencia de raicillas absorbentes (SÁNCHEZ *et al.*, 2000).

En estas circunstancias, la detección y el seguimiento del fenómeno de la *seca* en un área tan extensa como es Andalucía no tiene una fácil solución. Los medios que aportan la teledetección (fotografía aérea e imágenes de satélite) son capaces de dar una representación cartográfica precisa de procesos asociados a ecosistemas forestales. La fotografía aérea, considerada como una parte de la teledetección, puede salvar algunos de los inconvenientes que presenta la inventariación en campo, siempre que sean usados de una forma correcta (AVERY, 1977; LÓPEZ, 1996). La teledetección es una técnica cada vez más aplicada para los estudios de vegetación, al reducir el coste y el tiempo invertido en la interpretación de cubiertas forestales (HOLMGREN y THURESSON, 1998). Así por ejemplo, son muchos los estudios que revelan la utilidad imágenes de diferentes sensores en la evaluación de daños en ecosistemas forestales (HOLMGREN y THURESSON, 1998; CANO *et al.*, 2005).

En los últimos años, el desarrollo de sensores de alta resolución, y nuevos productos fotogramétricos, como las ortofotografías digitales, ha aumentado el ámbito de aplicaciones forestales de este tipo de productos, pero también plantea la necesidad de experimentar y corroborar la validez y viabilidad de estas nuevas fuentes de información antes de generalizar su uso, tanto cuantitativos (RUIZ DE LA TORRE, 1990; PHILIPSON, 1997), como

cuantitativos (MUCHONEY y HAACK, 1994; HAARA y NEVALAINEN, 2002). En concreto, el uso de emulsiones de infrarrojo (falso color) ha permitido estudiar el grado de vigor del arbolado y la afección de plagas y enfermedades (FERNÁNDEZ, 2000). Esto se debe a que la vegetación sana o vigorosa posee una reducida reflectividad en las bandas visibles, con un máximo relativo en la porción verde del espectro y una alta reflectividad en el infrarrojo cercano. Esta elevada reflectividad de la vegetación en la banda del infrarrojo cercano se ha asociado tradicionalmente al estado de vigor de la planta, la proporción de cobertura verde y su buen estado foliar. Esta información aportada por las imágenes de satélites hace que en un futuro sean los soportes adecuados para realizar nuevos estudios del estado de la vegetación. La ortofotografía es, como resultado de una serie de tratamientos, un producto cartográfico georreferenciado y corregido de deformaciones, manteniendo toda la información de la fotografía aérea, lo que permite medir a escala tanto distancias como superficies, garantizando el ajuste con mapas existentes a la misma escala. La fotogrametría y la fotointerpretación han sido y siguen siendo herramientas muy útiles en tareas de gestión forestal (LÓPEZ 1996; FERNÁNDEZ, 2000). No sólo no han sido desplazadas por nuevas técnicas o nuevos sensores sino que se han mejorado mediante la implantación de nuevos productos o por las nuevas posibilidades de aplicación derivadas de la informática (WULDER *et al.*, 2006).

El objetivo de este trabajo es estudiar las posibilidades de la fotointerpretación digital para evaluar la reducción de la fracción de cubida cubierta y del número de individuos en encinares adhesados de la comarca del Andévalo occidental (Huelva) a partir de una secuencia de ortofotos correspondientes a 1997 y 2002.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### *Descripción de la zona de estudio*

La comarca del Andévalo occidental se corresponde con una penillanura ondulada, de

pequeña altitud, en las que las zonas más accidentadas se localizan al suroeste de la misma, con 613 m en el cerro Cabezo Gordo. En esta zona se suceden, en dirección noroeste-sureste, las sierras Madroñera, Aguaría, Tres Piedras, Vaca, Granado y Tallisca, con alturas inferiores a los 300 m. Más hacia el sur cabe destacar las sierras de la Estrella y del Águila, ubicándose en esta última el alto de su mismo nombre en el que se alcanzan los 385 m de altitud. La gran mayoría de los suelos de la comarca pertenecen al orden Inceptisol. Se trata de suelos, en general, pobres, ácidos, y de texturas normalmente gruesas. Constituyen, por tanto, terrenos de baja fertilidad para los cultivos, a excepción de las zonas con posiciones fisiográficas más favorecidas, estando ocupadas gran parte de ellas por dehesas.

En el Andévalo occidental la superficie forestal supone el 86% de la superficie comarcal, correspondiendo a aquellas zonas que debido a las limitaciones fisiográficas no son aptas para el laboreo, o éste se da de forma esporádica para el mantenimiento de pastos y monte (Fig. 1). La superficie forestal arbolada es la más abundante, con más de 133.000 ha. Las coníferas ocupan una superficie algo mayor de 2700 ha, estando constituidas principalmente por pino negral (*Pinus pinaster* Aiton.) y piñonero (*Pinus pinea* L.). Los *Quercus* presentes son fundamentalmente encina (*Q. ilex* L. subs. *ballota* (Desf.) Samp.) y alcornoque (*Q. suber* L.), que conforman las dehesas de la zona. En los últimos años se han realizado numerosas repoblaciones en el Andévalo,

como parte del programa de forestación de tierras agrarias, lo que ha supuesto un contribución muy notable a la creación de nuevas dehesas, con una superficie total establecida de 53.543 ha. Por último, existen 155.500 ha de matorral, que ocupan un 67% de la comarca. La composición de matorral es muy variable en función de la altitud, la calidad de los suelos, la proximidad del mar, o la pluviometría, aunque predominan las formaciones de *Cistaceas* (*Cistus ladanifer* L., *Cistus crispus* L., *Cistus monspeliensis* L.) y retamares (*Retama monosperma* (L.) Boiss., *Retama sphaerocarpa* (L.) Boiss.).

#### *Ortofotografías utilizadas*

El nivel de información ofrecido por la fotografía aérea es limitado y depende de su escala y la emulsión fotográfica a la que corresponde. Las ortofotografías que han servido de apoyo para la realización de este estudio son en blanco y negro, en formato digital, correspondientes a los dos vuelos más recientes disponibles de la zona de estudio (Cuadro 1).

#### *Metodología*

##### Revisión de la cobertura inicial de dehesa

La zona objeto de estudio se restringió a los términos municipales de Cabezas Rubias, El Cerro del Andévalo, Paymogo, Sanlúcar de Guadiana, San Silvestre de Guzmán, Villanueva de las Cruces, Alosno, y El Granado (Fig.1).

El concepto de dehesa que se ha empleado en la elaboración de la cartografía inicial

Cuadro 1. Características de las ortofotos utilizadas en este estudio.

Año de vuelo	Formato	Origen	Sistema de referencia	Sistema de proyección	Escala
1997-1998	.ecw	MAPA SIG oleícola	European Datum 1950	Universal Transverse Marcador. Huso 30	1:20.000
2001-2002	.ecw Resolución geométrica 0,5 m Resolución radiométrica 8 bits	CMA-Junta de Andalucía	European Datum 1950	Universal Transverse Marcador. Huso 30	1:20.000

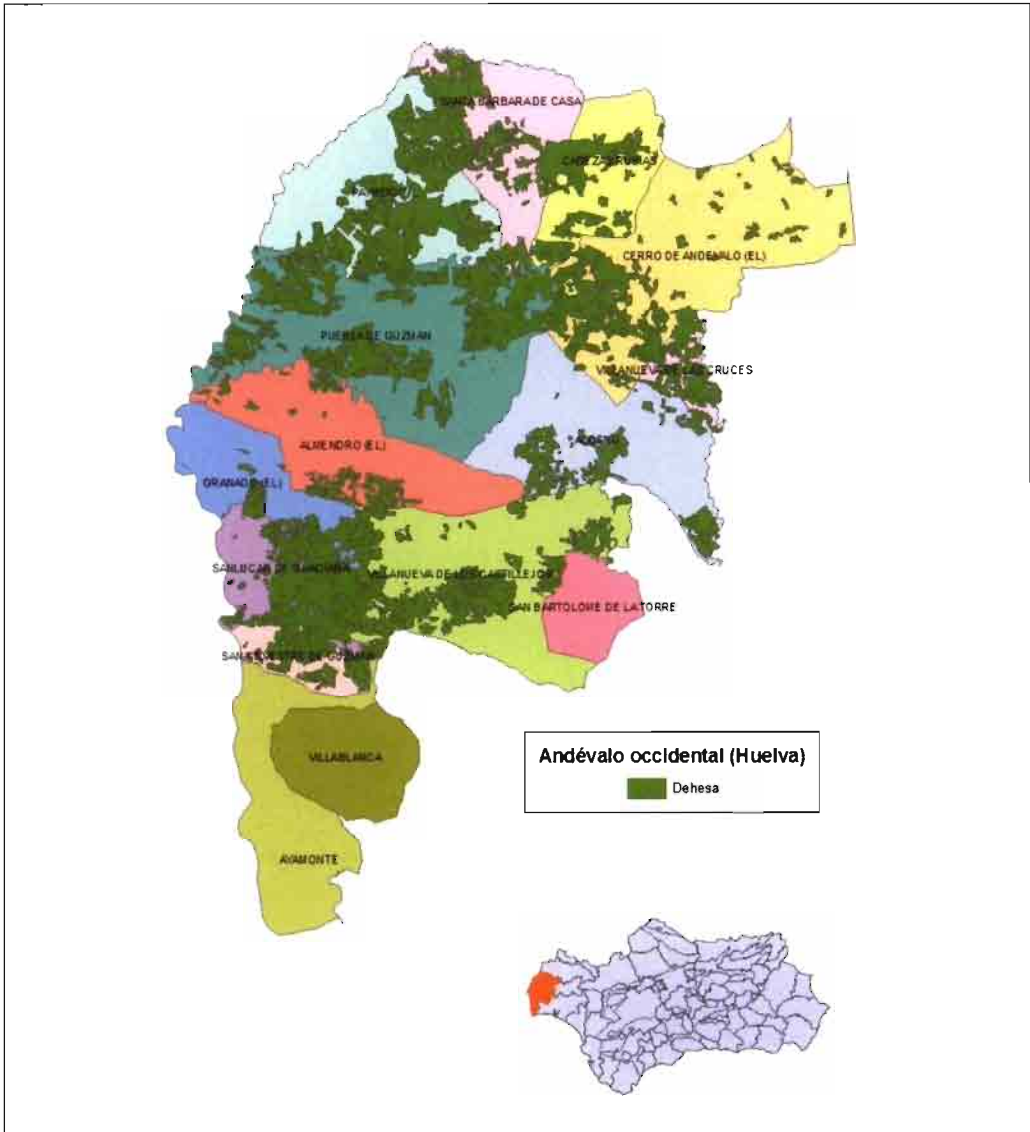


Figura 1. Distribución de la dehesa en la comarca del Andévalo occidental.

correspondió a todo el monte de encinas con fracción de cabida cubierta (fcc) superior al 5% e inferiores del 50%. La determinación de la cobertura inicial de dehesa se hizo utilizando la Cartografía de dehesa de Andalucía (CMA-EGMASA, 2005), seleccionando aquellos tipos de coberturas que a priori

corresponden a los valores de fcc seleccionados. Por otro lado, se eliminaron la dehesa que en la leyenda previa presentaban un subpiso de matorral, en las que la fotointerpretación no discrimina las copas de las encinas entre la vegetación que cubre el suelo. Se realizó un proceso de verificación, compro-

bando en las fotos que la cobertura seleccionada correspondía a encinares adherados de acuerdo a los criterios previos, y mediante el contraste tonal, la textura, la apariencia de copas, y la sombra (FERNÁNDEZ, 2000). Algunas de las teselas se eliminaron al comprobar visualmente sobre las ortofotos que representaban zonas de dehesa con excesivo matorral en el subpiso y que, por lo tanto, dificultarían el proceso de binarización.

#### Generación de cobertura binaria de la dehesa

Una vez generada la cobertura inicial de dehesa, se procedió a un proceso de *binarización* de las ortofotos. Dicho proceso consiste en cambiar la apariencia de la ortofoto, de modo que para cada píxel de la imagen, los diferentes valores de reflectancia se agrupan en dos rangos, a los que se les asignará el valor 0 y 1 respectivamente, según correspondan a la copa de una encina o a otro tipo de cubierta (suelo, pasto, etc.). Las ortofotos de los años 1997-1998 y 2001-2002 presentan diferentes características que se aprecia en la visualización de las mismas. Las características espectrales de los píxeles que corresponden a las encinas varían de unas a otras, ya que también cambia el nivel de resolución de cada una. Así se establecieron dos rangos diferentes de reflectancia distintos para cada vuelo (Cuadro 2).

El resultado obtenido es una imagen en la que aparecen solamente dos colores, cada uno de ellos asignado a uno de los grupos de reflectancia definidos. Así se obtiene por una parte la copa de las encinas y la sombra proyectada por el árbol y, por otro, el resto de elementos de la imagen de partida. El proce-

so de trabajo seguido para generar la cobertura binaria fue el siguiente:

Generación de una cobertura raster de cada ortofoto por separado para simplificar el proceso.

Intersección de las ortofotos en formato raster 1997-1998 con las Hojas de Andalucía a escala 1:10.000 (ICA, 1992), por lo que cada ortofoto quedó dividida en 16 secciones de escala 1:10.000 cada una. Las ortofotos del período 2001-2002 ya venían divididas según las hojas 1:10.000.

Reclasificación de los valores de reflectancia de la ortofoto en dos grupos según se tratase de las imágenes antiguas o las más recientes. La modificación afectó sólo a los píxeles que pertenecían a las zonas de dehesa en cada cobertura de las ortofotos (Fig. 1).

Aplicación en dos ocasiones de un filtro de media, para borrar las pequeñas unidades que no se correspondían con las copas de los árboles tras la binarización.

Conversión del formato raster de partida a un formato shp., para facilitar el trabajo posterior.

Intersección de las coberturas shp. de dehesa con las hojas 1:10.000, para eliminar el solape de las mismas debido al sesgo que tienen las ortofotos.

Eliminar de la imagen aquellas estructuras de superficie mayor y menor que el rango asignado a la superficie de la copa de las encinas. Se consideró un tamaño mínimo de copa de 12 m<sup>2</sup>, que se corresponde con una copa de radio 1,95 m. Este dato se apoya en los trabajos de campo realizados, en los que se determinó este valor de radio a partir de cual se podía considerar que se trataba de

Cuadro 2. Intervalos de reflectancia utilizados en cada ortofoto para el proceso de binarización de la cobertura de dehesa.

Año de vuelo	Copa de encina	Otras superficies
1997-1998	0-105 Negro hasta diferentes tonos de grises	105-255 Resto de escala de grises hasta blanco
2001-2002	0-120 Negro hasta diferentes tonos de grises	120-255 Resto de escala de grises hasta blanco

una encina de porte arbóreo y no vegetación arbustiva, o encinas de porte arbustivo.

Generación de una máscara en cada ortofoto para eliminar del estudio las zonas de dehesa *matorralizada* y elementos de distorsión, como por ejemplo embalses, edificaciones, carreteras y caminos.

Cálculo de la superficie de encinar según los términos municipales para el intervalo 1997-1998 y para 2001-2002. El resultado obtenido es la suma de la superficie real de la copa más la proyección de la sombra, ya que en el proceso de binarización no se discrimina entre copa y sombra proyectada por la misma.

Obtención de un factor de corrección de sombra para cada año de vuelo de las ortofotos, para obtener la superficie definitiva que representase sólo la superficie de la copa de la encina. Para el cálculo de este factor se emplearon los datos obtenidos a partir de las parcelas de campo.

#### Parcelas de campo

Con el objetivo de apoyar en campo la interpretación de las ortofotos se establecieron un total de 24 parcelas en campo. El criterio de elección de estas parcelas fue:

Situárlas en aquellas zonas tipificadas como dehesa.

Facilidad de acceso y cercanía a las vías de comunicación.

Posibilidad de identificar visualmente en la ortofoto los ejemplares de encina de modo que fuese sencillo establecer la parcela en el monte.

Evitar, en lo posible, aquellas parcelas situadas en zonas de densidad elevada, en las que hubiese tangencia de copas que dificultase el cálculo de superficie ocupada por la copa de cada pie.

Una vez seleccionados los puntos de muestreo se establecieron parcelas cuadradas de 30x30 m. El tamaño permitió un replanteo rápido y sencillo de las mismas, así como su identificación en las ortofotos del año 2002 ampliadas a escala 1:3000. En cada parcela se tomaron los diámetros cruzados de la proyección de la copa, y el diámetro

normal. También se tomó una foto de cada parcela como prueba del estado fisiológico en el que se encuentran los ejemplares.

#### Generación del modelo de sombra

A partir de los datos de campo se estableció una relación numérica entre el valor real de la proyección de la copa respecto a lo observado en cada ortofoto, obteniéndose los factores de corrección para calcular el valor definitivo de fracción de cabida cubierta:

Factor de corrección 2002 0,779

Factor de corrección 1997 0,762

Los valores de las áreas procedentes de las ortofotos binarizadas se corrigieron por el factor correspondiente según el año de vuelo de cada imagen.

#### Generación de cartografía de cambio

Se crearon tablas para cada uno de los municipios estudiados para evaluar la pérdida de arbolado en el periodo objeto de estudio, expresado en número de pies y fracción de cabida cubierta. Las bases de datos asociadas a la binarización se pasaron a una hoja de cálculo donde de manera sencilla se calcularon los valores totales.

## RESULTADOS

#### *Binarización*

El primer paso metodológico fue el proceso de binarización, que produjo una imagen en dos colores que representan los dos grupos de valores de reflectancia de los píxeles de la ortofotografía (Figura 2). En esa figura se puede observarse la discriminación entre los polígonos de vegetación (copas y rodales continuos de árboles y/o matorral) y el suelo desnudo.

La aparición de pequeños grupos de píxeles en la imagen (Fig. 2), hizo recomendable el paso de un filtro de media. El resultado del proceso del filtrado redujo el número de polígonos pequeños, y mejoró la definición de las copas asignadas inicialmente a árboles. La cobertura se convirtió a un formato shp. de ArcGIS donde cada polígono quedó registrado de forma vectorial (Fig. 3).



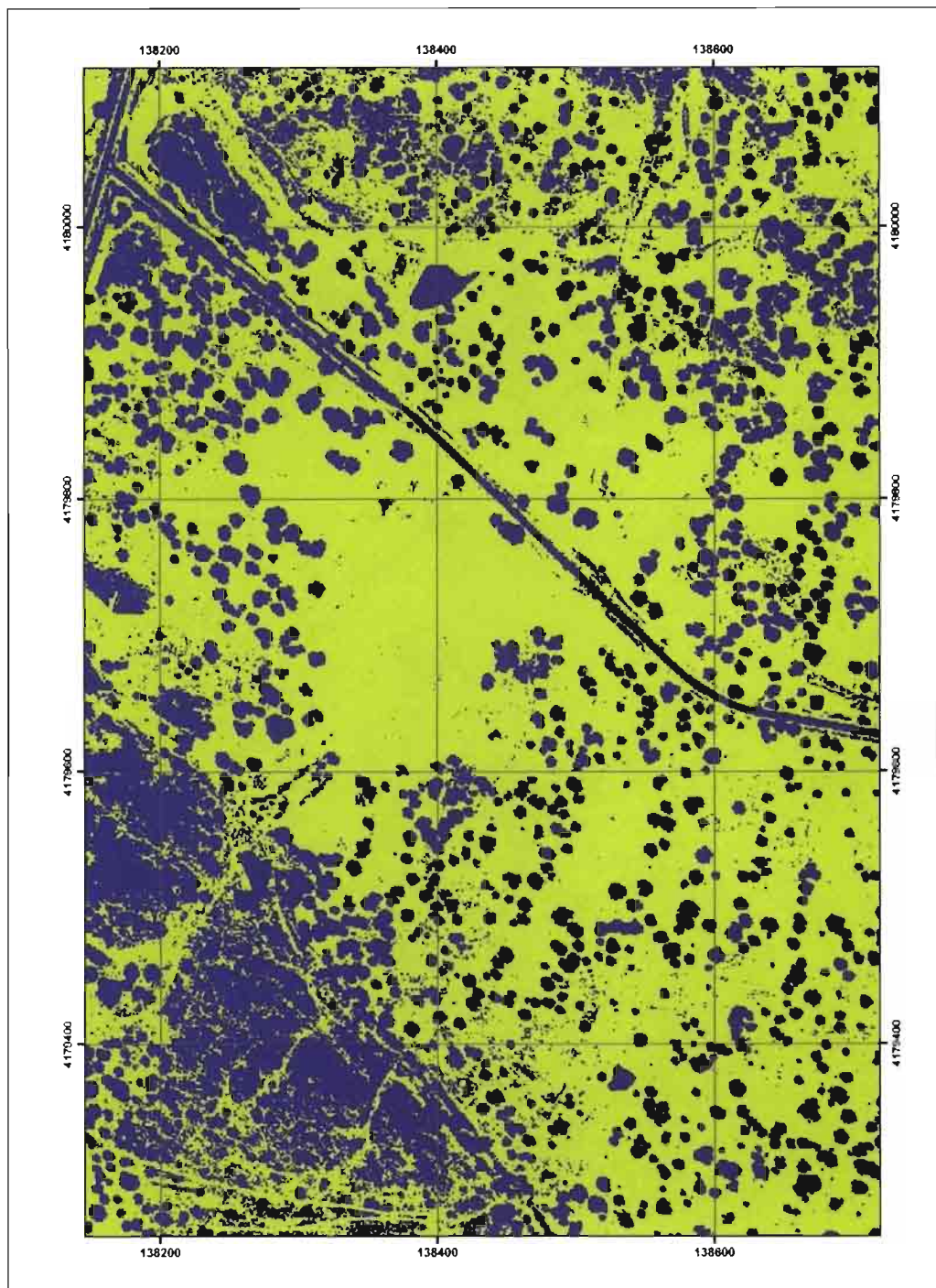


Figura 2. Ejemplo de cobertura de dehesa tras realizar el proceso de binarización.  
(Proyección ED 1950 UTM, Zona 30 N).

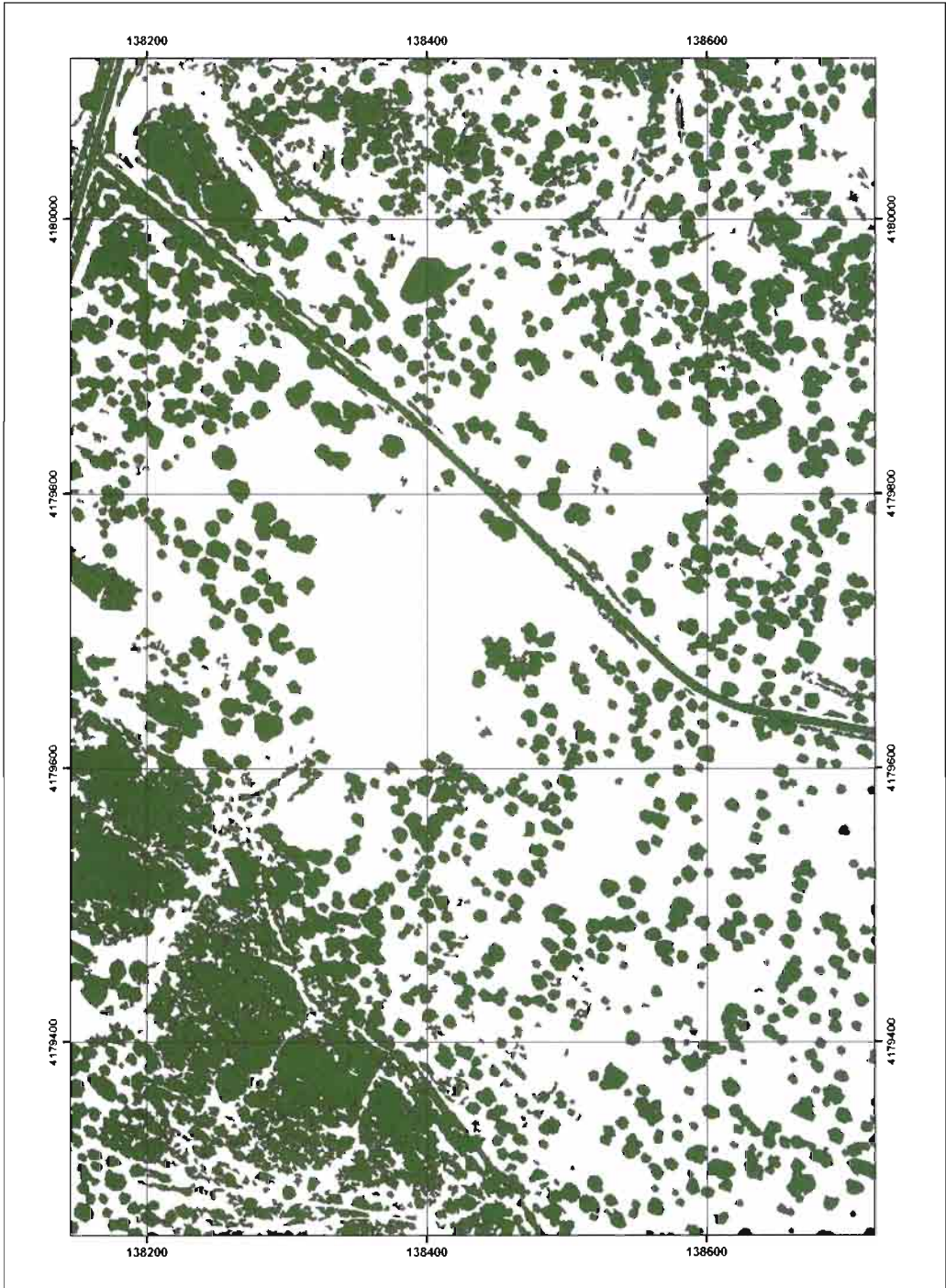


Figura 3. Cobertura en formato shp. (ArcGis9.0) de los polígonos correspondientes a la cobertura de dehesa (Proyección ED 1950 UTM, Zona 30 N)

**Cuadro 3. Superficie de los términos municipales estudiados y porcentaje de superficie ocupado por dehesa.**

Término Municipal	Superficie TM (ha)	Superficie dehesa (ha)	Dehesa %
Alosno	19.238,91	3.573,06	18,57
Cabezas Rubias	10.868,73	3.351,59	30,83
Cerro del Andévalo (El)	28.675,08	6.353,71	22,15
Granado (El)	9.837,13	1.709,65	17,37
Paymogo	21.392,87	9.928,81	46,41
San Silvestre de Guzmán	4.908,87	2.641,71	53,81
Sanlúcar de Gadiana	9.694,24	5.662,04	58,40
Villanueva de las Cruces	3.434,72	2.316,39	67,44

*Cobertura corregida de dehesa*

Con el fin de reducir las fuentes de error se consideró adecuado eliminar aquellos polígonos que con seguridad no correspondían a formaciones de encinar como cursos de agua (y su vegetación asociada), carreteras y manchas de matorral arbustivo. El proceso se realizó mediante la creación de una máscara que eliminó las zonas de confusión (Fig. 4a). El resultado final fue una cobertura de dehesa corregida para poder realizar la cuantificación de la cobertura y el número de individuos de encina (Fig. 4b).

*Cambios en la cobertura de dehesa*

La superficie de dehesa de cada municipio, y el porcentaje que representa respecto al total de la superficie municipal se muestra en el cuadro 3.

Mediante la comparación de las superficies de dehesa a través de las variables cobertura y número de individuos es posible evaluar los cambios experimentados por la cubierta de dehesa en el período 1997-2002. Las tablas de datos asociadas a las imágenes de ArcGIS se exportaron a hojas de cálculo y se generó un campo asociado a los valores de fracción de cabida cubierta y el número de individuos (número de polígonos). De este modo se obtuvieron los resultados del número de encinas en cada municipio para cada año de estudio.

En el cuadro 4 se incluyen los valores correspondientes a los cambios en número de individuos y de fracción de cabida cubierta en el período 1997-2002. En los 8 municipios estudiados se perdieron un total de 93.608 pies de encina. El término municipal

**Cuadro 4. Evolución del número de pies y de la fracción de cabida cubierta media en los ocho términos municipales estudiados en el período 1997-2002.**

Municipios	Numero de pies año 1997	Numero de pies año 2002	Diferencia (individuos)	Fcc (%) 1997	Fcc (%) 2002	Diferencia (%)
Alosno	69.405	63.040	6365	26,1	19,2	6,9
Cabezas Rubias	61.594	59.685	1909	16,1	13,0	3,1
Cerro (El)	97.115	96.304	811	19,2	16,7	2,5
Granado (El)	25.843	22.962	2881	14,5	10,3	4,2
Paymogo	121.512	86.970	34.542	28,8	10,9	17,9
Sanlúcar	138.626	108.446	30.180	18,9	10,8	8,1
San Silvestre	34.390	22.863	11.527	14,8	7,5	7,3
Villanueva de las Cruces	46.136	40.743	5393	21,9	13,7	8,2

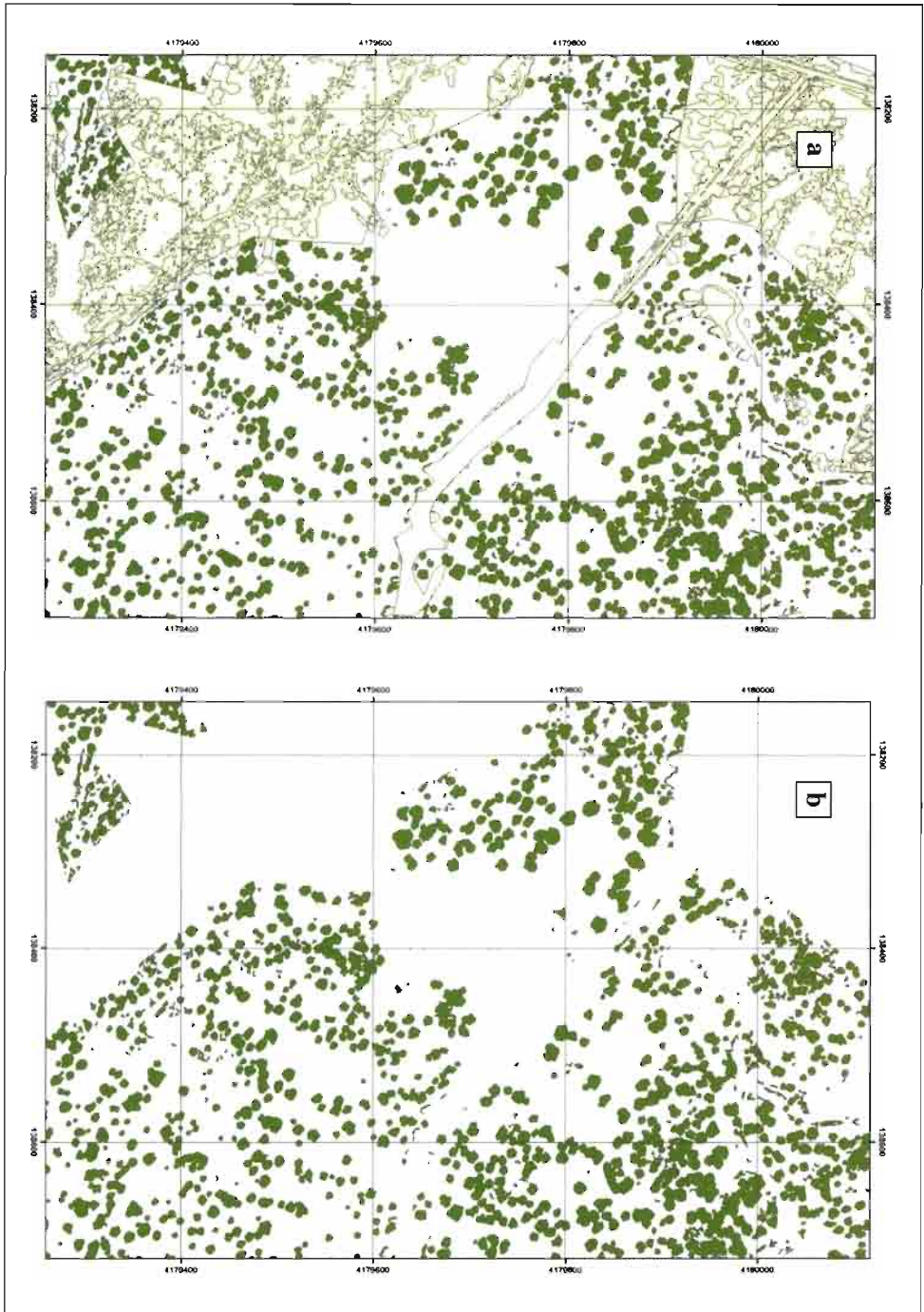


Figura 4. Ejemplo de máscara creada para eliminar la superficie de dehesa con presencia de matorral (a) y cobertura final utilizada en el proceso de evaluación de pérdida de arbolado y fracción de cabida cubierta (b). (Proyección ED 1950 UTM, Zona 30 N).

más afectado fue Paymogo (perdida de 34.542 pies) seguido de Sanlúcar (30.180 pies), y San Silvestre de Guzmán con un valor próximo de 11.527 pies. La pérdida de individuos llevó asociada una pérdida de la fracción de cabida cubierta, que mantiene un patrón territorial análogo al de la pérdida de individuos, con un valor medio para el conjunto de los términos municipales incluidos en este estudio del 7,2%.

## DISCUSIÓN

El presente estudio se ha aplicado al Andévalo occidental de Huelva, debido a la gran incidencia de la *seca* en la zona, lo que promovió la realización de estudios que localizaron numerosos focos de *seca* en esa comarca (NAVARRO *et al.*, 2004). La dehesa es la principal formación que define el paisaje de la comarca, con una superficie de 67.292 has. Ambas comarcas del Andévalo de Huelva han sufrido un importante proceso de pérdida de arbolado en las últimas décadas, lo que ha motivado el interés de las personas y organismos afectados por conocer las causas y las posibles alternativas de solución. Esto motivó que se creara un convenio entre la Universidad de Córdoba y la Consejería de Medio Ambiente de la Junta de Andalucía para generar la primera biogeografía de la *seca* en Andalucía (NAVARRO *et al.*, 2004).

En el sector occidental de Andalucía el patrón de daños se caracteriza por focos de tamaño pequeño, con un porcentaje de pies afectados medio, con patrones de distribución al azar en el terreno, y dominancia de muertes progresivas. En un muestreo realizado en el año 2002, en 28 explotaciones de la comarca, se identificó el hongo *Phytophthora cinnamomi* como causante de los daños (SÁNCHEZ *et al.*, 2002). No hay información anterior documentada de los daños producidos por esta enfermedad, pero sí se ha constatado la pérdida de individuos en numerosas explotaciones en los últimos años.

La metodología seguida en este proyecto ha permitido caracterizar las coberturas de

dehesa de encina a partir de ortofotos, y evaluar los procesos de cambio de cubierta (número de pies y fracción de cabida cubierta) para una secuencia temporal entre 1997 y 2002 en la comarca del Andévalo occidental. En el momento actual, en que están disponibles imágenes adquiridas por sensores remotos de diferente tipo (fotografías convencionales, fotografías digitales, imágenes en satélites, etc.) y métodos específicos para el manejo de la información asociadas a las mismas; la fotografía aérea y la fotointerpretación, siguen estando vigentes (HAARA y NEVALAINEN, 2002).

Los medios para obtener información sobre las masas forestales de un territorio son básicamente tres: los inventarios de campo, la fotografía aérea y las imágenes satélites. Los inventarios han sido la técnica más utilizada en dasometría y selvicultura, y consiste en la medición de los recursos forestales mediante medidas directas en campo, siendo su fin último proporcionar la situación actual y pasada del monte, así como su más probable evolución. Las ventajas principales son la fiabilidad y la calidad de la información. La fotografía aérea permite salvar algunos de los inconvenientes que presenta la inventariación en campo, siempre que sean usados de forma correcta, utilizando fotogramas a escala adecuada y georreferenciados (LÓPEZ, 1996; FERNÁNDEZ, 2000). Por todo lo anterior, se desprende que las características que presentan las ortofotos las convierten en elementos útiles para evaluar daños en ecosistemas forestales. La aparición de las ortofotografías digitales georreferenciadas ha permitido ampliar el ámbito de aplicación forestal de este tipo de productos fotogramétricos (PHILIPSON, 1997). Fuera de las aplicaciones métricas, la fotografía aérea también ha adquirido, de forma precoz un elevado interés en la evaluación cualitativa de las masas forestales, propia de la fotointerpretación.

La metodología que se propone en este estudio aporta una serie de ventajas para el análisis de los cambios de cobertura en formaciones de dehesa:

Es un procedimiento automatizado, que aplicado a la escala adecuada, resulta sencillo y rápido en la obtención de imágenes de la dehesa lista para el análisis que se requiera. Para el análisis de zonas a grandes escalas este formato sigue siendo imprescindible, ya que las imágenes de satélite se están consolidando como útiles para los estudios a pequeña escala y para el análisis de la vegetación en ciclos temporales cortos.

Permite el seguimiento de la masa forestal en secuencias temporales largas, ya que es posible comparar las ortofotos actuales con otras de años anteriores

Es posible establecer la pérdida o incremento (por procesos de regeneración natural o repoblación artificial) en el número de ejemplares por superposición de las coberturas (shp.) generadas.

Se puede calcular de manera fiable la espesura del arbolado y el grado de cobertura de una explotación (fcc).

Permite visualizar e identificar los ejemplares, pudiendo incluso estudiar el estado fisiológico de los mismos, a través del análisis de la copa, según la densidad y espesura efectiva del arbolado

En este estudio, el método que se propone ha contado con una serie de problemas que han dificultado su aplicación. Hay una serie de factores que condicionan el proceso inicial de binarización, el ángulo de elevación solar modifica la cantidad de sombra proyectada, y las características del soporte que toma las imágenes influyen en el nivel de grises de la imagen en formato raster. Los valores de reflectancia de cada píxel de la imagen dependen de estos elementos, por lo que el rango de binarización debe ser ajustado para cada grupo de imágenes. Por el contrario, el resultado final del proceso está influido en gran medida por la resolución y calidad de las imágenes de partida. El año de vuelo está relacionado con el nivel de precisión que tiene las imágenes obtenidas, por lo que en este estudio las imágenes del 2002 tienen una mayor precisión que las del año 1997, este hecho es determinante en el caso de la identificación de *visu* de las encinas en las imágenes binarizadas.

La aplicación de la binarización exige que la zona de estudio esté libre de vegetación arbustiva de gran porte o pequeños árboles de otras especies que puedan confundirse con pies de encinas. Este aspecto ha sido importante en el estudio de las dehesas del Andévalo, ya que esta comarca es rica en vegetación arbustiva. Algunas especies abundantes en esta categoría son la jara (*Cistus ladanifer*) y la coscoja (*Quercus coccifera*), especies asociadas a la encina que pueden alcanzar una talla elevada. En las ortofotos aéreas, esta vegetación adquiere tonos de grises similares a los de la vegetación arbórea, pudiéndose confundir con pies de encinas. La diferenciación se realizó mediante interpretación de las imágenes basándose en los atributos que presenta la encina: apariencia de las copas, forma, aspecto del borde y tamaño.

El proceso de generación de máscaras de las imágenes es bastante largo y exige un nivel de detalle elevado para que el resultado obtenido sea el deseado. En este trabajo se crearon máscaras para eliminar del estudio aquellas fuentes de error, como son caminos, embalses, zonas de dehesa muy matorralizada, etc. Las formaciones de matorral ocupan en la comarca 155.500 ha, por lo que la generación de una cobertura para enmascararlas ha sido un paso obligado en la metodología propuesta.

En la evaluación realizada a partir de la metodología propuesta en este trabajo se ha estimado una pérdida de 93.608 pies de encina en toda la comarca, en un total de 8 términos estudiados. Los términos municipales más afectados han sido Paymogo con 34.542 encinas y Sanlúcar con 30.180 encinas. La pérdida de arbolado tiene asociada una importante pérdida de fracción de cabida cubierta, que representó para toda la comarca una pérdida media por término municipal del 7,2% de la cobertura inicial.

La metodología que se propone en este estudio ofrece una nueva propuesta en el campo de aplicación de las ortofotografías digitales georreferenciadas, haciendo posible la evaluación de los procesos de cambio de cubierta en una secuencia temporal determina-

da. La aplicación de este método proporciona una herramienta nueva para analizar la pérdida de arbolado asociada a procesos de decaimiento forestal de dehesas de encina en grandes superficies. El diagnóstico en campo de los agentes bióticos asociados (enfermedades y plagas), podría ayudar a conocer los patrones temporales y espaciales de dichos agentes.

## AGRADECIMIENTOS

Este trabajo se ha realizado con el apoyo del Servicio de Ordenación de los

Recursos Forestales de la Consejería de Medio Ambiente de la Junta de Andalucía a través del Convenio *Seguimiento de los daños de seca sobre masas de Quercus en Andalucía. Propuesta de soluciones, y Selección de individuos resistentes a procesos de decaimiento* financiado por la Fundación Caja el Monte, así como el proyecto AGL2002-00530 *Bases biológicas, epidemiológicas y selvícolas para el control de las principales enfermedades asociadas a la seca de los Quercus en Andalucía*.

## ABSTRACT

ROMERO DE LOS REYES E., R. M<sup>a</sup> NAVARRO CERRILLO, A. GARCÍA-FERRER PORRAS. 2007. Applicability of digital orthophotos data for damage evaluation of forest decline process of *Quercus ilex* dehesas. *Bol. San. Veg. Plagas*, **33**: 121-134.

The aim of this project was to investigate the applicability of digital orthophotos data for different damage evaluation of forest decline process of *Quercus ilex* dehesas. The test site selected was Andevalo (Huelva), one of the most severely damaged parts in Andalusia, cover with pure Holm oak stands. Today these stands show a variety of forest decline ranking from almost no injuries to more severe damages like total defoliation symptoms. The number of trees death estimated was 93,608 on the period 1997-2002, with an average cover reduction of 7.2%. From the results of the orthophotos evaluation it can be deduce that a distinctive as well as an extensive mapping of forest damage can be elaborated by remote sensing data.

**Key words:** digital orthophotos, pattern recognition, forest decline.

## REFERENCIAS

- AVERY, T. E. 1977. Interpretation of Aerial Photographs. Burgess Publishing Company. Minneapolis.
- CANO GONZÁLEZ, F.; NAVARRO CERRILLO, R. M.; GARCÍA PORRAS, A.; SÁNCHEZ DE LA ORDEN, M. 2005. Evaluación de la defoliación mediante imágenes IKONOS en masas de *Quercus suber* L. en el sur de España. *Invest Agrar: Sist Recur For* **14**(2): 242-252.
- CMA-EGMASA, 2005. Mapa de dehesas de Andalucía. Consejería de Medio Ambiente-EGMASA, Sevilla. Documento inédito.
- FERNÁNDEZ GARCÍA, F. 2000. Introducción a la fotointerpretación. Ed. Ariel Geográfica. Barcelona.
- HAARA, A. NEVALAINEN, S. 2002. Detection of dead or defoliated spruces using digital aerial data. *Forest Ecology and Management*, **160**: 97-107.
- HOLMGREN, P., THURESSON, T. 1998. Satellite remote sensing for forestry planning- a review. *Scandinavian Journal of Forest Research*, **13** (1): 90-110.
- LOPEZ CUERVO ESTÉVEZ, S., 1996. Topografía. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid.
- MUCHONEY, D. M. HAACK, B. N. 1994. Change detection for monitoring forest defoliation. *Photogrammetric Engineering and Remote Sensing*, **60**: 1243-1251.
- NAVARRO CERRILLO, R. M., FERNÁNDEZ REBOLLO, P., TRAPERO, A., CAETANO, P., ROMERO, M. A., SÁNCHEZ, M. E., FERNÁNDEZ CANCIO, A., SÁNCHEZ, I., LÓPEZ PANTOJA, G. 2004. Los procesos de decaimiento de encinas y alcornoques. Consejería de Medio Ambiente-Universidad de Córdoba. Junta de Andalucía.
- PHILIPSON, W. R. 1997. Manual of Photographic Interpretation. 2nd ed. Bethesda, MD: American Society for Photogrammetry and Remote Sensing.
- SAN MIGUEL AYANZ, A. 1994. La dehesa española. Origen, tipología, características y gestión. Fundación Conde del Valle de Salazar, Madrid.
- SÁNCHEZ, M. E., NAVARRO, R. M., TRAPERO, A., FERNÁNDEZ, P. 2000. La seca de encinas y alcornoques: una visión histórica. *Montes*, **62**: 29-39.
- SÁNCHEZ, M. E., CAETANO, P., FERRAZ, J., TRAPERO, A. 2002. Phytophthora disease of *Quercus ilex* in southwestern Spain. *For. Path.*, **32**: 5-18.

SÁNCHEZ, M. E., SÁNCHEZ, J. E., NAVARRO, R. M., FERNÁNDEZ, P., TRAPERO, A. 2003. Incidencia de la podredumbre radical causada por *Phytophthora cinnamomi* en masas de *Quercus* en Andalucía. *Bol. San. Veg. Plagas*, **29** (1): 87-108.

RUIZ DE LA TORRE, J. (Coord.). 1990. Mapa Forestal de España. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, Madrid.

WULDER, M. A., DYMOND, C. C., WHITE, J. C., LECKIE, D. G., CARROLL, A. L. 2006. Surveying mountain pine beetle damage of forests: A review of remote sensing opportunities. *Forest Ecology and Management*, **221**: 27-41.

(Recepción: 29 octubre 2006)

(Aceptación: 18 enero 2007)









# SUMARIO DEL VOL. 33 (1)

## ENTOMOLOGÍA

- L. DE LA IGLESIA, Y. SANTIAGO, C. M. MORENO, A. PÉREZ, H. PELÁEZ, N. DE PRADO, S. CEPEDA, F. FERRAGUT. Ácaros fitoseoides (Acari: *Phytoseiidae*) asociados a frutales de pepita y viñedo del Bierzo (León) ..... 3
- R. T. THULER, S. A. DE BORTOLI; C. L. T. P. VIANA, R. M. GOULART, D. PRATISSOLI. Efeito de inseticidas químicos e produtos vegetais sobre os parasitóides *Trichogramma pretiosum* e *Trichogramma exiguum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) ..... 15
- C. A. MANFRÉ MEDEIROS, A. L. BOIÇA JR., M. ROBLES ANGELINI. Efeito sub-letal de extratos vegetais aquosos de *Azadirachta indica* A. Juss. e *Sapindus saponaria* L. sobre aspectos biológicos de *Ascia monuste orseis* (Latreille) (Lepidoptera: Pieridae) em couve ..... 27
- S. A. DE BORTOLI, A. TAKAO MURATA. Aspectos biológicos de *Ceraeochrysa paraguaria* (Navás, 1920) (Neuroptera: Chrysopidae), em condições de laboratório ..... 35
- V. ARTHUR, G. A. GROppo. Nota. Influencia da radiação gama sobre adultos de *Tuta absoluta* (Meyrick)(Lepidoptera: Gelechiidae) ..... 43
- N. GONZÁLEZ GARCÍA, A. RODRÍGUEZ MANZANO, P. E. DE LA TORRE SANTANA, N. LASTRES GONZÁLEZ, X. GARCÍA MEDEROS, N. RAMOS GÓMEZ. Primera cita del ácaro *Calacarus flagelliset* (Fletcher, De Moraes y Barbosa, 2001) sobre el cultivo de la papaya "Maradol Roja" en Cuba ..... 45
- E. LÓPEZ-SEBASTIÁN, H.-P. TSCHORSNIG, J. PUJADE-VILLAR, M. GUARA, J. SELFA. Sobre los parasitoides asociados a las fases de larva y pupa de la procesionaria del pino en cuatro bosques mediterráneos (España) ..... 53
- E. TREJO, G. MAREGGIANI, C. REZZANO, E. MARTÍNEZ, P. CARRIZO. Distribución de larvas neonatas de mosca sierra del frambueso a través del eje vertical de la planta, como indicador de ovipostura ..... 61
- S. PASCUAL RUIZ, M<sup>a</sup> J. VERDÚ, J. A. JACAS, A. URBANEJA. Comunicación. Parasitismo natural de huevos de crisópidos por el parasitoide *Telenomus acrobates* Giard (Hymenoptera: Scelionidae) ..... 65
- L. M. TORRES-VILA, P. DEL ESTAL PADILLO. Nota. Detección de *Brachmia convolvuli* (Lepidoptera: Gelechiidae) en Lanzarote (Islas Canarias) ..... 69
- M. BIANCHI, A.SÁNCHEZ. Biología de *Phoracantha recurva* Newman y *Phoracantha semipunctata* Fabricius (Coleoptera: Cerambycidae) en Laboratorio sobre dieta natural: *Eucalyptus* ssp. *Globulus* ..... 71
- M. COCA-ABIA, C. QUERO LÓPEZ, J. M. SOPEÑA MAÑAS, E. MARTÍN BERNAL, A. GUERRERO. Contribución al conocimiento de la Ortopterocenosia de la Península Ibérica ..... 79

## PATOLOGÍA

- P. SÁNCHEZ TORRES, R. HINAREJOS, J. J. TUSET. *Fusicladium eriobotryae*: hongo causante del moteado del níspero en el mediterráneo español ..... 87
- A. ALFARO-FERNÁNDEZ, M. C. CÓRDOBA-SELLÉS, M. C. CEBRIÁN MICÓ, I. FONT, M. JUÁREZ, V. MEDINA, A. LACASA, J. A. SÁNCHEZ-NAVARRO, V. PALLÁS, C. JORDÁ GUTIÉRREZ. Avances en el estudio del "torrao" o cribado del tomate ..... 99

## TERAPÉUTICA

- R. M<sup>a</sup> NAVARRO CERRILLO, I. JORGE, D. ARIZA, C. PORRAS, J. JORRIN. Fitotoxicidad del fosfonato en brinzales de encina *Quercus ilex* L. subsp. *ballota* (Desf.) Samp.) ..... 111

## OTROS TEMAS

- E. ROMERO DE LOS REYES, R. M<sup>a</sup> NAVARRO CERRILLO, A. GARCÍA-FERRER PORRAS. Aplicación de ortofotos para la estimación de pérdida de individuos en dehesas de encina (*Quercus ilex* L. subsp. *ballota* (Desf.) Samp.) afectadas por procesos de decaimiento ..... 121

