

Tesis doctoral

Mejora en las estrategias de control de Cerambícidos en el cultivo de la vid.

Álvaro Rodríguez González

León, 2014

Programa de Doctorado en
Ingeniería de Biosistemas



Universidad
de León

Departamento de Ingeniería y
Ciencias Agrarias
Instituto de Medio Ambiente,
Recursos Naturales y Biodiversidad



**universidad
de león**

Mejora en las estrategias de control de Cerambícidos en el cultivo de la vid.

“Melhoria nas estrategias de controle de Cerambícidos na cultura da videira”

Álvaro Rodríguez González

Universidad de León

Dpto. Ingeniería y Ciencias Agrarias.

Instituto de Medio Ambiente Recursos Naturales y Biodiversidad

Programa de doctorado en Ingeniería de Biosistemas

**Memoria presentada para optar al grado de
Doctor en Ingeniería de Biosistemas**

Presenta:

D. Álvaro Rodríguez González

Directores: Dr. Pedro Antonio Casquero Luelmo

Dr. Horacio José Peláez Rivera

León, Marzo de 2014.

A mis padres.

A mi hermano, *in memoriam*.

ÍNDICE

<u>RESUMEN</u>	i
<u>RESUMO</u>	iii
<u>CAPÍTULO 1: JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS</u>	1
<u>CAPITULO 2: INTRODUCCIÓN.</u>	5
2.1.- CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LAS ZONAS GEOGRÁFICAS ESTUDIADAS.	7
2.1.1.- ESPAÑOLAS.	8
2.1.1.1.- DOP Ribera del Duero.	8
• Situación:	8
• Climatología:	8
• Geología:	9
2.1.1.2.- DOP Tierra de León.	9
• Situación:	9
• Climatología:	10
• Geología:	11
2.1.1.3.- DOP Toro.	11
• Situación:	11
• Climatología:	11
• Geología:	12
2.1.2.- PORTUGUESAS.	12
2.1.2.1.- DOC Denominación de Origen Controlada Douro.	12
• Situación:	12
• Climatología:	13
• Geología:	13
• Paisajes culturales Patrimonio de la Humanidad.	14
• Baixo Corgo.	16
• Cima Corgo.	16

• Douro Superior.	17
2.1.2.2.- DOC Denominación de Origen Controlada Tras-os-Montes.	17
• Situación:	17
• Geología:	18
• Climatología:	18
• Otras características:	18
• Chaves.	19
• Valpaços.	19
• Planalto Mirandes.	19
2.2.- LA VID.	19
2.2.1.- GENERALIDADES.	20
2.2.2.- CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LAS VARIEDADES ESTUDIADAS.	21
2.2.2.1.- Cabernet - Sauvignon.	21
2.2.2.2.- Cogega de Larinho.	21
2.2.2.3.- Malvasía Fina.	22
2.2.2.4.- Malvasía Preta.	22
2.2.2.5.- Moscatel Galego Branco.	23
2.2.2.6.- Prieto Picudo.	24
2.2.2.7.- Rabigato.	24
2.2.2.8.- Syrah.	24
2.2.2.9.- Tempranillo, Tinta del País, Tinto Fino, Tinta de Toro ó Tinta Roríz.	25
2.2.2.10.- Touriga Franca.	26
2.2.2.11.- Touriga Nacional.	26
2.2.2.12.- Trincadeira ó Tinta Amarela.	27
• Tabla resumen de las variedades españolas estudiadas.	27
• Tabla resumen de las variedades portuguesas estudiadas.	28

2.3.- FAMILIA CERAMBYCIDAE.	29
2.3.1.- DIVERSIDAD.	29
2.3.2.- BIOLOGÍA.	30
2.3.3.- ECOLOGÍA E IMPORTANCIA COMO PLAGA.	32
2.3.3.1.- Presencia del genero <i>Xylotrechus</i> como plaga en otras partes del mundo.	33
• <i>Xylotrechus quadripes</i> (Chevrolat, 1863).	33
• <i>Xylotrechus chinensis</i> (Chevrolat, 1852).	35
• <i>Xylotrechus villioni</i> (Villard, 1892).	35
• <i>Xylotrechus pyrrhoderus</i> (Bates, 1873).	36
• <i>Xylotrechus altaicus</i> (Gebler, 1836).	37
• <i>Xylotrechus namangamensis</i> (Heyden, 1885).	38
• <i>Xylotrechus rufilius</i> (Bates, 1884).	40
2.3.3.2.- Presencia del genero <i>Xylotrechus</i> como plaga en otras partes de Europa.	41
• <i>Xylotrechus ibex</i> (Gebler, 1825).	41
• <i>Xylotrechus pantherinus</i> (Savenius, 1825).	42
• <i>Xylotrechus stebbingi</i> (Gahan, 1906).	42
• <i>Xylotrechus capricornis</i> (Gebler, 1830).	43
• <i>Xylotrechus antilope</i> (Schönherr, 1817).	43
• <i>Xylotrechus rusticus</i> (Linnaeus, 1758).	44

2.4.- DESCRIPCIÓN DE <i>XYLOTRECHUS ARVICOLA</i> (OLIVIER, 1795).	45
2.4.1.- INTRODUCCIÓN.	45
2.4.2.- MORFOLOGÍA.	45
2.4.3.- BIOLOGÍA.	46
2.4.4.- DISTRIBUCIÓN.	48
2.4.5.- SÍNTOMAS Y DAÑOS.	49
2.5.- CRÍA EN CAUTIVIDAD DE CERAMBICIDOS.	51
2.5.1.- INTRODUCCIÓN.	51
2.5.2.- DIETAS ARTIFICIALES.	52
2.5.3.- CRÍA EN CAUTIVIDAD DE <i>X. arvicola</i>.	54
2.5.3.1.- Antecedentes.	54
2.6.- CONTROL DE CERAMBÍCIDOS.	56
2.6.1.- INTRODUCCIÓN.	56
2.6.2.- ATRAYENTES.	57
2.6.2.1.- Volátiles florales.	57
2.6.2.2.- Volátiles humo.	57
2.6.2.3.- Volátiles en troncos y hojas.	58
2.6.2.4.- Feromonas de los escarabajos de la corteza.	59
2.6.3.- REPELENTES Y MEDIDAS DISUASORIAS.	59
2.6.4.- ESTIMULANTES DE LA OVIPOSICIÓN.	60
2.6.5.- FEROMONAS.	60
2.6.5.1.- Feromonas de marcaje.	61
2.6.5.2.- Feromonas sexuales.	61
2.7.-CONTROL DE <i>XYLOTRECHUS ARVICOLA</i>.	62
2.7.1.- CONTROL QUÍMICO.	62
2.7.1.1.- Organofosforados.	63
2.7.1.2.- Cloronicotilínicos.	64
2.7.1.3.- Reguladores del crecimiento del insecto.	65
2.7.2.- CONTROL BIOLÓGICO.	65

2.7.2.1.- Hongos entomopatógenos.	66
2.7.2.2.- Insecticidas biológicos.	67
• Derivados naturales.	67
• Inhibidores de la embriogénesis.	68
2.7.2.3.- Depredadores.	69
2.7.2.4.- Parasitoides.	70
2.7.2.5.- Organismos entomopatógenos.	71
2.7.3.- OTROS MÉTODOS DE SEGUIMIENTO Y CONTROL.	72
2.7.3.1.- Monitoreo/Seguimiento.	72
2.7.3.2.- Prácticas culturales.	72
2.8.- OTROS ENSAYOS REALIZADOS EN LABORATORIO FRENTE ACOLEÓPTEROS.	73
<u>CAPITULO 3: PROSPECCIÓN DE ZONAS ESTUDIADAS.</u>	75
3.1.- INTRODUCCIÓN.	77
3.2.- MATERIAL Y MÉTODOS.	77
3.2.1.- PROSPECCIONES EN CAMPO.	77
3.2.1.1.- Parcelas españolas.	80
• DOP Ribera del Duero.	80
• DOP Tierra de León.	81
• DOP Toro.	81
3.2.1.2.- Parcelas portuguesas.	82
• DOC Douro.	82
• DOC Tras-os-Montes.	84
• Valpaços.	86

3.2.1.3.- Tabla resumen de las parcelas y cepas prospectadas.	87
3.3.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN.	88
3.3.1.- <i>X. arvicola</i> EN DENOMINACIONES DE CASTILLA Y LEÓN (ESPAÑA).	88
3.3.1.1.- DOP Ribera del Duero.	88
3.3.1.2.- DOP Tierra de León.	89
3.3.1.3.- DOP Toro.	89
3.3.2.- <i>X. arvicola</i> EN DENOMINACIONES DE ORIGEN DE BRAGANÇA Y VILA-REAL (PORTUGAL).	90
3.3.2.1.- DOC Douro.	90
• Baixo Corgo.	90
• Cima Corgo.	91
• Douro Superior.	91
3.3.2.2.- DOC Tras-os-Montes.	91
• Chaves.	91
• Planalto Mirandes.	92
• Valpaços.	92
3.3.3.- ZONAS SELECCIONADAS POR PRESENCIA DE <i>X. arvicola</i> .	93
<u>CAPÍTULO 4: CRÍA EN CAUTIVIDAD.</u>	94
4.1.- INTRODUCCIÓN.	97
4.2.- MATERIAL Y MÉTODOS.	97
4.2.1.- CAPTURAS DE ADULTOS DE <i>X. arvicola</i> .	97
4.2.1.1.- Captura directa en campo.	97
• Trampas de Interceptación.	98
4.2.1.2.- Captura directa en evolucionario.	99
• Evolucionarios.	100

4.2.2.- MANEJO DE ADULTOS.	102
4.2.3.- CRIA EN CAUTIVIDAD DE <i>X. arvicola</i>.	103
4.2.3.1.- Dieta artificial.	103
4.2.3.2.- Proceso de la cría.	105
• Huevo.	105
• Larva.	106
• Pupa.	109
• Adulto.	110
4.2.4.- VARIABLES ESTUDIADAS.	111
4.2.4.1.- Fecundidad de las hembras.	111
4.2.4.2.- Viabilidad larvaria.	112
4.2.4.3.- Estadios inmaduros.	112
4.2.4.4.- Longevidad de los adultos.	113
4.2.5.- ESTUDIO BIOMÉTRICO.	114
4.2.5.1.- Caracterización biométrica de adultos de <i>X. arvicola</i>.	114
4.2.5.2.- Variables estudiadas.	115
4.2.6.- ANÁLISIS ESTADÍSTICO.	116
4.3.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN.	117
4.3.1.- CAPTURAS DE ADULTOS DE <i>X. arvicola</i>.	117
4.3.1.1.- Capturas directas en trampas de interceptación.	117
• DOP Ribera del Duero.	117
• DOP Toro.	117
• DOP Tierra de León.	118
4.3.1.2.- Capturas directas en evolucionarios.	118
4.3.2.- PROCEDENCIAS, EMPAREJAMIENTOS Y NÚMERO DE HUEVOS DE ADULTOS DE <i>X. arvicola</i>.	119
4.3.2.1.- DOP Ribera del Duero.	119
• Trampa de Interceptación.	119
• Evolucionarios.	120

4.3.2.2.- DOP Toro.	120
4.3.2.3.- DOP Tierras de León.	121
4.3.2.4.- Cruces entre Denominación de Origen.	121
4.3.3.- VARIABLES ESTUDIADAS DE HEMBRAS DE <i>X. arvicola</i>.	122
4.3.3.1.- Fecundidad de las hembras.	122
• Según DOP de procedencia.	122
• Según años de cría en laboratorio y periodos de frío.	124
4.3.3.2.- Comparación entre procedencias.	126
4.3.4.- OTRAS VARIABLES ESTUDIADAS DE ESTADÍOS INMADUROS DE <i>X. arvicola</i>.	128
4.3.4.1.- Viabilidad larvaria de <i>X. arvicola</i> por meses.	128
• Según DOP de procedencia.	128
• Según generaciones en laboratorio y periodos de frío.	129
• Mortalidad y viabilidad en prepupa y pupa de <i>X. arvicola</i> .	134
4.3.4.2.- Días de larva, prepupa y pupa de <i>X. arvicola</i> .	138
• En el primer año de cría.	138
• En el segundo año de cría.	143
4.3.5.- VARIABLES ESTUDIADAS DE ADULTOS DE <i>X. arvicola</i>.	145
4.3.5.1.- Longevidad de los adultos de <i>X. arvicola</i> de campo.	145
• Por denominación de origen de procedencia y sexo.	145
• Por denominaciones de origen de procedencia, año y sexo.	146
4.3.5.2.- Longevidad de los adultos de <i>X. arvicola</i> de laboratorio.	147
• Por años de cría en laboratorio y sexos.	147
• Por periodos de frío y sexos.	148
• Por generaciones obtenidas, años de cría en laboratorio, sexo, periodo de frío y año.	149
4.3.5.3.- Comparación entre ambas poblaciones de adultos.	150
4.3.6.- ESTUDIO BIOMÉTRICO.	152
4.3.6.1.- Variables estudiadas según procedencias DOP y laboratorio.	152
• Longitud del pronoto en su línea media (LP).	152

• Anchura máxima del pronoto (AP).	153
• Longitud máxima de élitros (LE).	155
• Anchura máxima de élitros (AE).	156
• Longitud total (LT).	158
• Anchura pronoto / Longitud pronoto (AP/LP).	160
• Anchura élitro /Longitud élitro (AE/LE).	161
<u>CAPÍTULO 5: ESTRATEGIAS DE CONTROL FITOSANITARIO.</u>	163
5.1.- INTRODUCCIÓN.	165
5.2.- MATERIAL Y MÉTODOS.	165
5.2.1- FITOSANITARIOS.	165
5.2.1.1.- Materias activas.	166
• <i>Spinosad.</i>	166
• <i>Beauveria bassiana.</i>	168
• <i>Imidacloprid.</i>	169
• <i>Clorpirifos.</i>	170
• <i>Piriproxifen.</i>	172
• <i>Flufenoxuron.</i>	173
5.2.2.- CONDICIONES DE LABORATORIO: TORRE DE POTTER.	174
5.2.2.1.- Material de partida.	175
• Insecticidas.	175
• Insectos: adultos, huevos y larvas neonatas de <i>X. arvicola.</i>	175
5.2.2.2.- Diseño de los tratamientos.	179
• Tratamientos sobre adultos de <i>X. arvicola.</i>	180
• Tratamientos sobre huevos de <i>X. arvicola</i>	182
• Tratamientos sobre larvas neonatas (<24h) de <i>X. arvicola.</i>	185

5.2.2.3.- Análisis estadístico.	187
5.2.3.- CONDICIONES SIMILARES AL CULTIVO EN CAMPO.	187
5.2.3.1.- Material de partida.	187
• Material vegetal.	187
• Insecticidas.	189
• Huevos de <i>X. arvicola</i> .	189
5.2.3.2.- Diseños de los tratamientos.	191
• Ritidoma.	192
• Grieta.	193
5.2.3.3.- Análisis estadístico.	193
5.3.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN.	194
5.3.1.- CONDICIONES DE LABORATORIO: TORRE DE POTTER.	194
5.3.1.1.- Ensayo sobre huevos de <i>X. arvicola</i>.	194
• <i>Spinosad</i> .	200
• <i>Beauveria bassiana</i> .	202
• <i>Imidacloprid</i> .	204
• <i>Clorpirifos</i> .	206
• <i>Flufenoxuron</i> .	207
• <i>Piriproxifen</i> .	208
• Agua destilada (testigo).	210
5.3.1.2.- Ensayo sobre larvas neonatas (<24h) de <i>X. arvicola</i>.	211
• <i>Spinosad</i> .	214
• <i>Beauveria bassiana</i> .	216
• <i>Imidacloprid</i> .	219
• <i>Clorpirifos</i> .	221
• <i>Flufenoxuron</i> .	223
• <i>Piriproxifen</i> .	225
• Agua destilada (Testigo).	227

5.3.1.3.- Ensayo sobre adultos de <i>X. arvicola</i>.	228
• <i>Spinosad</i> .	231
• <i>Beauveria bassiana</i> .	232
• <i>Imidacloprid</i> .	237
• <i>Clorpirifos</i> .	238
• Agua destilada (Testigo).	240
5.3.2.- CONDICIONES SIMILARES AL CULTIVO EN CAMPO.	241
5.3.2.1.- Huevos de <i>X. arvicola</i> no eclosionados ubicados en distintas partes de la cepa.	241
• <i>Spinosad</i> .	244
• <i>Beauveria bassiana</i> .	245
• <i>Imidacloprid</i>	245
• <i>Clorpirifos</i> .	246
• <i>Flufenoxuron</i> .	247
• <i>Piriproxifen</i> .	248
• Agua destilada (testigo).	248
5.3.2.2.- Larvas neonatas de <i>X. arvicola</i> previa aplicación de materias activas sobre huevos en distintas partes de la cepa.	253
• <i>Spinosad</i> .	256
• <i>Beauveria bassiana</i> .	257
• <i>Imidacloprid</i> .	257
• <i>Clorpirifos</i> .	258
• <i>Flufenoxuron</i> .	259
• <i>Piriproxifen</i> .	260
• Agua destilada (testigo)	260
5.3.3.- RECOMENDACIONES DE USO DE LAS MATERIAS ACTIVAS ENSAYADAS.	265
5.3.3.1. Materias activas.	265
• <i>Spinosad</i> .	265
• <i>Beauveria bassiana</i> .	266

• <i>Imidacloprid.</i>	267
• <i>Clorpirifos.</i>	267
• <i>Flufenoxuron.</i>	268
• <i>Piriproxifen.</i>	268
5.3.3.2.- Estrategias de control.	269
<u>CAPÍTULO 6: CONCLUSIONES</u>	271
CAPÍTULO 6: CONCLUSIONES	273
CAPÍTULO 6: CONCLUSÕES	275
<u>CAPÍTULO 7: REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.</u>	277

RESUMEN

Xylotrechus arvicola (Coleoptera: Cerambycidae) es una de las plagas más destructivas que existen en vid, debido a su capacidad para colonizar desde los primeros años de implantación del viñedo y a su potencial para causar graves daños económicos. La vid es uno de los principales cultivos de nuestro país y del vecino Portugal.

Por el carácter xilófago del insecto, por el reducido número de materias activas que pueden usarse y los cambios en la legislación que les afecta, se hace necesario profundizar en el conocimiento básico sobre la biología del insecto, su dinámica poblacional y su vulnerabilidad ante nuevas materias activas o tipo de formulados, para el planteamiento de estrategias razonables de control.

Se han estudiado distintas localizaciones para conocer la presencia, y el nivel de la misma, dentro de la cuenca del Duero, en Portugal y España. En las zonas españolas, donde sí estaba presente, se han recogido adultos para establecer poblaciones de cría en cautividad. Se han valorado y estudiado mejoras en la metodología de cría en cautividad para acortar los tiempos y poder tener individuos suficientes en los estadios huevo, larva neonata y adultos, para realizar los ensayos de fitosanitarios en condiciones de laboratorio y similares a campo. El ciclo de larva a adulto se ha reducido en 67 días respecto a lo que se había mejorado, 322 días, pero las sucesivas generaciones pierden su viabilidad al tener altos porcentajes de mortalidad, siendo necesario iniciar nuevas poblaciones a partir de individuos recolectados en campo. Los adultos en cría en cautividad son mucho más grandes que los de campo, no mostrando las medidas biométricas características de las poblaciones silvestres, mayor tamaño de las hembras y machos más estilizados. Un dato a resaltar es la no necesidad de pasar frío para cerrar el ciclo biológico en un número de individuos significativo.

Se evaluaron en condiciones de laboratorio y en condiciones similares al cultivo en campo, el efecto de diferentes materias activas *Spinosad*, *Beauveria bassiana*, *Imidacloprid*, *Clorpirifos*, *Flufenoxuron* y *Piriproxifen*, sobre los estadios más accesibles de *X. arvicola*: huevo, larva neonata y adulto. La mortalidad en adultos, en condiciones de laboratorio, fue mayor del 87 % para todas las materias activas analizadas, mientras que los productos con efecto exclusivo ovicida y larvicida mejoran estos porcentajes de mortalidad, pero sin efecto adulticida.

El momento indicado para la realización de los tratamientos, para todas las materias activas analizadas sería el de máxima emergencia de adultos, pero sería recomendable usar las materias activas de amplio espectro. El uso de materias activas como *Clorpirifos*, con efectos negativos para otras especies no diana, estaría justificado en parcelas con niveles de infestación muy altas. Para situaciones con bajas densidades de población, el uso de *Beauveria bassiana*, *Imidacloprid* o *Spinosad*, pueden ser un gran instrumento, para que en varios años, de seguimiento y control, se pueda controlar.

Una estrategia de control frente a *X. arvicola* sería, en primer lugar realizar las labores culturales en la planta en la poda de invierno y, ya en el tiempo de emergencia de adultos, si es necesario, realizar el tratamiento con la materia activa que se considere más conveniente, en función del grado de infestación y de la orientación productiva de la parcela.

RESUMO.

Xylotrechus arvicola (Coleoptera: Cerambycidae) é uma das pragas mais destrutivas que existem na videira, devido a sua capacidade para colonizar desde os primeiros anos da implantação do vinhedo, e seu potencial para causar graves danos econômicos. A videira é um dos principais cultivos de nosso país e do nosso vizinho Portugal.

Por seu caráter xilófago do inseto, por reduzido número de matérias ativas que podem ser usada devido a troca de legislação que os afeta, se faz necessário aprofundar o conhecimento básico sobre a biologia do inseto, sua dinâmica populacional e sua vulnerabilidade diante de novas matérias ativas e formulados, para o planejamento razoável de controle.

Se estudou diferentes localizações para conhecer a presença, e o nível da mesma, dentro de região de Duero, em Portugal e Espanha. Nas zonas espanholas, onde se encontrava presente, se coletou adultos para estabelecer criação de populações em cativeiro. Se classificou e estudou melhorias da metodologia de criação em cativeiro para reduzir o tempo e ter indivíduos suficientes nos estádios de ovos, larvas e adultos. O ciclo de larva até adulto se reduziu em 67 dias do que se tinha encontrado antes que foi de 322 dias, porém as sucessivas gerações perderam sua viabilidade por terem altas porcentagens de mortalidade, sendo necessário iniciar novas populações a partir de indivíduos coletados em campo. Os adultos criados em cativeiro são muito maiores que os de campo, não mostrando as medidas biométricas características das populações silvestres, maior tamanho de fêmeas e machos mais exuberantes. Um dado a ressaltar e que não é necessário passar frio para fechar o ciclo biológico em um número significativo de indivíduos.

Se avaliou em condições de laboratório e em condições similares ao cultivo em campo, o efeito de diferentes matérias ativas *Spinosad*, *Beauveria bassiana*, *Imidacloprid*, *Clorpirifos*, *Flufenoxuron* e *Piriproxifen*, sobre os estádios mais acessíveis de *X. arvicola*, ovo, larva e adulto. A mortalidade em adultos, em condições de laboratório, foi maior em 87% para todas as matérias ativas analisadas, enquanto que os produtos com efeito exclusivo ovicida e larvicida melhoraram estas porcentagens de mortalidade, porém sem efeito no adulto.

O momento indicado para a realização dos tratamentos, para todas as matérias ativas analisadas seria o de máxima emergência dos adultos, porém seria recomendado usar as matérias ativas de amplo espectro. O uso de matérias ativas como *Clorpirifos*, com efeito negativo para outras espécies não alvo estaria justificado em parcelas com níveis de infestações muito alta. Para situações com baixas densidades populacionais, o uso de *Beauveria bassiana*, *Imidacloprid* ou *Spinosad*, podem se um grande instrumento, para uso em monitoramento e controle durante o ano.

Uma estratégia de controle frente a *X. arvicola* seria, em primeiro lugar realizar praticas culturais na planta e poda de inverno, no tempo de emergencia dos adultos, se necessário, realizar o tratamento com a matéria ativa que se consider mais conveniente, dependendo do grau de infestação e da exposição produtiva da parcela.



Capítulo 1: Justificación y Objetivos



CAPÍTULO 1: JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

El insecto *Xylotrechus arvicola* (Coleoptera: Cerambycidae) tiene el potencial/la capacidad de causar graves daños económicos a la vid (*Vitis vinífera*), que es uno de los principales cultivos de nuestro país. Hasta la fecha existen pocos estudios sobre estrategias de control, aplicándose técnicas culturales preventivas en los que se elimina el material infestado o ya afectado, que suponen sistemas de control costosos, de eficacia limitada y destructiva para las cepas.

La vid es un cultivo leñoso que tiene que cumplir/asumir, como el resto de cultivos, una estricta legislación que limita el tipo de materias activas a utilizar para el control de las problemáticas fitosanitarias que le afectan, a lo que hay que añadir la dificultad del largo ciclo biológico de este coleóptero y, que se desarrolla mayoritariamente en el interior de la planta huésped.

Para establecer una estrategia de control lo más eficaz posible, primero hay que conocer su biología y aquellos estadios en los que puede ser más accesible y susceptible para el control de sus poblaciones, para después poder evaluar la eficacia de técnicas culturales, semioquímicos o materias activas que la legislación vigente permite, que tengan el menor efecto negativo en la producción y que sean respetuosas con el medio ambiente en general.

Con el fin de profundizar/avanzar en el control más eficaz y racional de *X. arvicola* en el viñedo, se plantearon los trabajos que conforman esta tesis, cuyos **objetivos** se enumeran a continuación:

- 1.- Recolectar poblaciones de *X. arvicola* de diferente procedencia, que sirvan de partida para su cría en laboratorio, y ampliar los conocimientos de la presencia y distribución del mismo en denominaciones de vinos de calidad de España y Portugal.
- 2.- Mejorar las técnicas de cría en cautividad, a partir de los adultos de *X. arvicola* recolectados en las distintas denominaciones de origen para:
 - Reducir el tiempo de cría y analizar las posibles repercusiones que tiene en el ciclo biológico y en la viabilidad de los diferentes estadios del insecto.
 - Obtener el número suficientemente de individuos en los diferentes estadios, en los que *X. arvicola* es vulnerable, para poder realizar los ensayos de eficacia de diferentes materias activas para su control.
- 3.- Evaluar en condiciones de laboratorio y en condiciones similares al cultivo en campo, el efecto de diferentes materias activas sobre las fases de huevo, larva neonata y adulto, estadios en que *X. arvicola* es accesible.



Capítulo 2: Introducción.



CAPITULO 2: INTRODUCCIÓN.

2.1.- CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LAS ZONAS GEOGRÁFICAS ESTUDIADAS.

Las zonas donde se han llevado a cabo los estudios que conforman esta tesis han sido tres de las principales denominaciones de origen por las que discurre el Duero, dos en la parte española, Ribera del Duero y Toro, y una en la parte portuguesa, Douro.

También se han llevado a cabo los estudios en otras dos denominaciones de origen presentes en la cuenca hidrográfica del Duero, nuestro nexo de unión, una en la parte española, Tierra de León, y otra en la parte portuguesa, Tras-Os-Montes.

A continuación se describen brevemente la historia, sus localizaciones (Fig. 2.1), y las características (suelo, clima, variedades,...) de cada una de estas zonas vitícolas.



Figura 2.1: Zonas vitícolas en las que se han llevado a cabo los muestreos (Imagen tomada de Data SIO, NOAA, U.S., Navy, NGA, GEBCO © 2013 Cnes/Spot Image. © 2013 Google Map Data © 2013 AND)

2.1.1.- ESPAÑOLAS.

2.1.1.1.- DOP Ribera del Duero.

- **Situación:**

Las tierras que se agrupan bajo la DOP Ribera del Duero se sitúan en la meseta norte y en la confluencia de cuatro provincias integradas en la Comunidad Autónoma de Castilla y León: Burgos, Segovia, Soria y Valladolid.

El río Duero es el eje que une a más de 100 pueblos extendidos a lo largo de una franja vitícola de unos 115 km de longitud y 35 km de anchura. La Denominación de Origen Ribera del Duero tiene una superficie inscrita de 21.731 ha de superficie de viñedo (D.O.P. Ribera del Duero, 2013).

La DOP Ribera del Duero abarca:

- Los municipios de Adrada de Haza, La Aguilera, Anguix, Aranda de Duero, Baños de Valdearados, Berlangas de Roa, Boada de Roa, Caleruega, Campillo de Aranda, Castrillo de la Vega, Fresnillo de las Dueñas, Fuentecén, Fuentelcéspedes, Fuentelisendo, Fuentemolinos, Fuentenebro, Fuentespina, Gumiel de Izán, Gumiel del Mercado, Guzmán, Haza, Hontangas, Hontoria de Valdearados, La Horra, Hoyales de Roa, Mambrilla de Castrejón, Milagros, Moradillo de roa, Nava de Roa, Olmedillo de Roa, Pardilla, Pedrosa de Duero, Peñaranda de Duero, Quemada, Quintana del pidió, Quintanamanvirgo, Roa, San Juan del Monte, San Martín de Rubiales, Santa Cruz de la Salceda, La Cueva de Roa, La Sequera de Haza, Sotillo de la Ribera, Torregalindo, Vadocondes, Valcabado de roa, Valdezate, La Vid, Terradillos de Esgueva, Tórtoles de Esgueva, Tubilla del lago, Valdeande, Villalba de Duero, Villalbilla de Gumiel, Villaescusa de Roa, Villanueva de Gumiel, Villatuelda, Villovela de esgueva, Zazuar y Zuzones de la provincia de Burgos.

- Los municipios de Aldehorno, Honrubia de la Cuesta, Montejo de la Vega de la Serrezuela y Villaverde de Montejo de la provincia de Segovia.

- Los municipios de San Esteban de Gormaz, Aldea de San Esteban, Atauta, Ines, Matanza de Soria, Olmillos, Pedraja de San Esteban, Peñalba de San Esteban. Quintanilla de tres barrios, Rejas de San Esteban, Soto de San Esteban, Velilla de San Esteban, Villálvaro, Langa de Duero, Castillejo de Robledo, Miño de San Esteban, Alcubilla de Avellaneda, Alcoba de la Torre y Alcubilla del Marqués de la provincia de Soria.

- Los municipios de Bocos de Duero, Canalejas de Peñafiel, Castrillo de Duero, Curiel de Duero, Fompedraza, Manzanillo, Olivares de Duero, Olmos de Peñafiel, Peñafiel, Pesquera de Duero, Piñel de Abajo, Piñel de Arriba, Quintanilla de Arriba, Quintanilla de Onésimo, Rábano, Roturas, Torre de peñafiel, Valbuena de Duero y Valdearcos de la Vega de la provincia de Valladolid.

- **Climatología:**

Las específicas condiciones climatológicas que caracterizan el cultivo de la vid en la Ribera del Duero, tienen gran influencia a lo largo del ciclo vegetativo de las viñas,

desempeñando un papel fundamental en el desarrollo de la planta y la maduración de la uva. De esas especiales condiciones depende, en gran medida, la calidad de los caldos obtenidos. La climatología de la Ribera del Duero se caracteriza por una pluviometría moderada-baja (450 mm de lluvia al año) que, unida a sus veranos secos y calurosos (máximas de hasta 40 °C) e inviernos largos y rigurosos (mínimas de hasta -18 °C), y con acusadas oscilaciones térmicas a lo largo de las estaciones, la enmarcan dentro de un clima mediterráneo, con más de 2.400 horas de sol, cuyo carácter primordial es la continentalidad (D.O.P. Ribera Del Duero, 2013).

- **Geología:**

La Ribera del Duero se localiza en la gran meseta septentrional de la Península Ibérica, formada por un gran zócalo antiguo arrasado y, en parte, recubierto por sedimentos terciarios. El mayor volumen de estos sedimentos está constituido por capas más o menos lenticulares de arenas limosas o arcillosas., y destaca la alternancia de capas, tanto de calizas como de margas e, incluso, de concreciones calcáreas. La cuenca ribereña, formada durante el Mioceno, presenta niveles horizontales, suavemente ondulados, limitados por la erosión diferencial, y convertidos hoy al estado de penillanura. El relieve de la zona oscila entre las lomas interfluviales, con cotas de 911 metros, y los valles, con una altura topográfica situada entre los 750 y 850 metros (D.O.P. Ribera Del Duero, 2013).

2.1.1.2.- DOP Tierra de León.

- **Situación:**

La zona de producción se encuentra ubicada al sur de la provincia de León, integrando parte de la provincia de Valladolid y limitando con las provincias de Zamora y Palencia. La superficie de la zona de producción asciende hasta los 3.317 km². La Denominación de Origen Tierras de León tiene una superficie inscrita de 5.892 ha de superficie de viñedo (D.O.P. Tierra de León, 2013).

La DOP Tierra de León abarca:

- Los municipios de Algadefe, Alija del Infantado, La Antigua, Ardón, León (pedanía de Armunia), La Bañeza, Bercianos del Páramo, Bercianos del Real Camino, El Burgo Ranero, Cabrereros del Río, Calzada del Coto, Campazas, Campo de Villavidel, Castilfalé, Castroalbón, Castrotierra de Valmadrigal, Cebrones del Río, Cimanos de la Vega, Corbillos de los Oteros, Cubillas de los Oteros, Chozas de Abajo, Fresno de la Vega, Fuentes de Carvajal, Gordaliza del Pino, Gordoncillo, Grajal de Campos, Gusendos de los Oteros, Izagre, Joarilla de las Matas, Laguna de Negrillos, Matadeón de los Oteros, Matanza, Onzonilla, Pajares de los Oteros, Palacios de la Valduerna, Pobladura de Pelayo García, Pozuelo del Páramo, Quintana del Marco, Quintana y Congosto, Riego de la Vega, Roperuelos del Páramo, Sahagún, San Adrián del Valle, San Esteban de Nogales, San Millán de los Caballeros, Santa Cristina de Valmadrigal, Santa Elena de Jamuz, Santa María del Monte Cea, Santas Martas, Santovenia de la Valdoncina, Toral de los Guzmanes, Valdemora, Valderas, Valdevimbre, Valencia de Don Juan, Valverde Enrique, Vallecillo, Vega de Infanzones, Villabraz, Villademor de la Vega, Villamandos,

Villamañán, Villamontán de la Valduerna, Villamoratiel de las Matas, Villanueva de las Manzanas, Villaornate y Castro, Villaquejida, Villaturiel y Zotes del Páramo de la provincia de León.

- Los municipios de Becilla de Valderaduey, Bustillo de Chaves, Cabezón de Valderaduey, Castrobol, Castroponce, Cuenca de Campos, Mayorga, Melgar de Abajo, Melgar de Arriba, Monasterio de Vega, Quintanilla del Molar, Roales de Campos, Saelices de Mayorga, SanTervas de Campos, La Unión de Campos, Valdunquillo, Villacid de Campos, Villagomez la Nueva y Villalba de la Loma de la provincia de Valladolid (D.O.P. Tierra de León, 2013).

- **Climatología:**

Al ser el ámbito geográfico de la mención “DOP Denominación de Origen Tierra de León” bastante amplio, y abarcar la zona de influencia de dos riberas; Esla y Cea, se sitúa bajo el amplio contexto del dominio climático mediterráneo en su variante fría.

El influjo del Atlántico y del Norte debería suavizar sus temperaturas y hacer abundantes las precipitaciones, pero la elevada altitud de la meseta donde se encuentra y el borde del relieve montañoso de la Cordillera Cantábrica, modifican las características climáticas, dando lugar a una fuerte continentalidad, donde los rasgos más destacados son:

- Las temperaturas, con un riguroso y dilatado periodo invernal durante el cual se producen persistentes nieblas y heladas, aunque en ningún momento las temperaturas mínimas absolutas en los meses más fríos, superan los -15° C (temperatura límite invernal para el cultivo de la vid).
- Un periodo primaveral irregular, alternando las temperaturas suaves con las temidas heladas primaverales, no suponiendo en ningún caso un factor limitante para el cultivo de la vid.
- Un periodo estival irregular, alternándose periodos tórridos y áridos con otros fríos que dotan al cómputo de carácter suave, situándose siempre la temperatura media de los meses más cálidos por encima de los 20° C (necesaria para el periodo de floración y envero de la vid).
- Un periodo otoñal suave y generalmente lluvioso que favorece un buen final de maduración.
- Temperaturas extremas entre el día y la noche. Factor condicionante y favorable para la acumulación de los polifenoles de la uva y la potenciación de los aromas.
- Las precipitaciones medias anuales en torno a los 500 mm, repartidas durante los periodos estival y otoñal. Lo que hace que el cultivo de la vid en la zona no precise de riego salvo en algunos años aislados.
- La insolación, produce una alta luminosidad en la zona, con una media de 2.700 horas de sol anuales, lo que favorece una maduración uniforme de la baya (D.O.P.

Tierra de León, 2013).

- **Geología:**

Las variaciones que se producen en los suelos aptos para el cultivo del viñedo en la Meseta Leonesa, están todos situados bajo los 900m de altitud.

Son suelos asentados sobre terrazas aluviales, tanto los pardos sobre depósitos pedregosos, como los calizos sobre materiales blandos, poseen características que hacen que se los pueda considerar como los más adecuados para el cultivo de viñedo de calidad, y prueba de ello, es que las grandes denominaciones de origen de Castilla y León se asientan en su mayoría sobre este tipo de suelos.

Son suelos con excelentes condiciones de drenaje interno, con una aceptable capacidad de retención hídrica, facilidad de aireación y penetrabilidad de las raíces, bajo contenido en sales minerales, profundidad, contenido adecuado de caliza y pobreza en materia orgánica. (D.O.P. Tierra de León, 2013)

2.1.1.3.- DOP Toro.

- **Situación:**

La provincia de Zamora está situada en el extremo occidental de la región de Castilla y León. La zona de producción de los vinos amparados por la “DOP Toro” se encuentra situada al sureste de la provincia de Zamora y suroeste de la provincia de Valladolid. Comprende parte de las comarcas naturales de Tierra del Vino, Valle del Guareña y Tierra de Toro y linda con los páramos de Tierra del Pan y Tierra de Campos.

La extensión total de la zona que ampara la “DOP Toro”, abarca 62.000 ha de terreno. Según los datos del anuario de Estadística Agraria de Castilla y León del año 2013, la “DOP Denominación de Origen Toro” tiene una superficie inscrita de 7.436 ha de superficie de viñedo, que pertenecen a los algo más de 1.200 viticultores inscritos (D.O.P. Toro, 2013).

La “DOP Toro” abarca:

- Los municipios de Argujillo, Bóveda de Toro, Morales de Toro, El Pego, Peleagonzalo, El Piñero, San Miguel de la Ribera, Sanzoles, Toro, Valdefinjas, Venialbo y Villabuena del Puente de la provincia de Zamora.

- Los municipios de Villafranca de Duero, San Román de Hornija y Pedrosa del Rey (los Pagos de Villaester de Arriba y Villaester de Abajo) de la provincia de Valladolid (D.O.P. Toro, 2013).

- **Climatología:**

La zona de esta Denominación está caracterizada por un clima continental y extremado

con influencias atlánticas, de carácter árido.

Las precipitaciones rondan los 350-400 mm anuales, con una temperatura media anual de 12-13 °C (con unas temperaturas máximas y mínimas que van desde los -11 a los 37 °C). Todas estas condiciones climáticas, extremado frío en invierno, gran número de horas de sol, etc. dan una calidad excepcional a la uva, lo que es primordial para la elaboración de buenos vinos (D.O.P. Toro, 2013).

- **Geología:**

El suelo está formado por sedimentos de areniscas, arcillas y pudingas calizas pliocénicas, que en superficie originan suelos pardos calizos sobre material no consolidado. Se alternan desde materiales limosos, a areniscas de grano grueso y fino con niveles de calizas y margas detríticas formados durante el Mioceno.

La altitud de los viñedos está comprendida entre los 620 y los 750 m, perteneciendo estos suelos a la Era Terciaria (D.O.P. Toro, 2013).

2.1.2.- PORTUGUESAS.

2.1.2.1.- DOC Denominación de Origen Controlada Douro.

Hay un vino que caracteriza inmediatamente la región del Douro, Douro Portugues, el “Vino de Oporto”. Este embajador de los vinos portugueses, nace en tierras pobres y laderas escarpadas bañadas por el Rio Douro. Además del Oporto, esta región es cada vez más conocida por los excelentes vinos tintos y blancos (Infovini, 2013).

- **Situación:**

Ubicada en el nordeste de Portugal, en la cuenca hidrográfica del Douro, rodeada de montañas (Sierras de Marão y Montemuro) que le confieren características mesológicas y climáticas particulares, la región se extiende por un área total de cerca de 250.000 hectáreas, y está dividida en tres subregiones distintas (Fig. 2.2), no sólo por factores climáticos sino también socioeconómicos. Las tres subregiones en las que se divide la región del Douro son: “Baixo Corgo” al Oeste, “Cima Corgo” en el centro y “Douro Superior” al Este (IVDP, I.P., 2013).



Figura 2.2: Sub-regiones en las que se divide la “DOC Douro”. (Imagen tomada de Infovini – Vinhos de Portugal, 2013, www.infovini.com)

Las superficies que abarcan cada subregión, y las superficies de cada una en las que se encuentran plantaciones con viñedo, se detallan en la Tabla 2.1.:

Tabla 2.1: Superficies de las subregiones en la “DOC Douro”

SUBREGIÓN	ÁREA TOTAL	%	ÁREA CON VIÑA (ha)	% DEL ÁREA TOTAL
Baixo Corgo	45.000	18	14.582	32,4
Cima Corgo	95.000	38	20.969	22,07
Douro Superior	110.000	44	10.175	9,25
TOTAL	250.000	100	45.726	18,29

Antiguamente, el cultivo de la viña se practicaba únicamente en el “Alto Duero”. Este era el nombre que por aquel entonces los autores usaban para referirse a la zona vinatera que hoy es conocida como el “Baixo Corgo” y el “Cima Corgo”, y que se estableció en la reforma administrativa de 1936. El área de viña asume mayor importancia en el “Baixo Corgo”, donde ocupa cerca de 32,4% del área de esta subregión, que se extiende desde Barqueiros en la margen norte y Borrô en la margen sur hasta la confluencia de los ríos Corgo y Ribeiro de Temilobos con el Duero. El “Cima Corgo” se extiende hacia el este hasta Cachão da Valeira, siendo menos importante el área cultivada de viña. El “Duero Superior” prosigue hasta la frontera con España (IVDP, I.P., 2013).

- **Climatología:**

La particularidad del Duero se debe a su ubicación; gran influencia ejercen las Sierras de Marão y de Montemuro, sirviéndoles como barrera contra los vientos húmedos del oeste. Situada en valles profundos, protegidos por montañas, la región se caracteriza por inviernos muy fríos y veranos muy calurosos y secos (IVDP, I.P., 2013).

En cada sub-región hay ligeras alteraciones climáticas, debido a la latitud y a la exposición solar en los valles profundos. La exposición al sol, factor fisográfico de gran relevancia en la caracterización climática de cualquier región, y en el Duero cobra un interés doble ya que permite una mejor comprensión del comportamiento de la viña en las diferentes situaciones. La margen norte del río está bajo la influencia de vientos secos del sur, y la margen sur expuesta a los vientos del norte, más fríos y húmedos, y a una mayor insolación. La temperatura del aire es más alta en los lugares orientados al sur que los orientados al norte. Las temperaturas medias anuales oscilan entre los 11,8 y 16,5°C (IVDP, I.P., 2013).

De un modo general, el clima es bastante seco y los conjuntos montañosos ofrecen a las viñas protección contra los vientos. En el “Baixo Corgo” el aire es más húmedo y fresco, pues recibe todavía alguna influencia atlántica. Además de eso, la pluviosidad es más elevada, ayudando a fertilizar los suelos y a aumentar la producción. En el “Cima Corgo”, el clima es mediterráneo y el “Duero Superior” el clima llega a ser desértico (las temperaturas llegan a los 50°C en el verano) (Infovini, 2013).

- **Geología:**

En lo que respecta al material originario de los suelos, la mayor parte de la Región

determinada, en particular a lo largo del valle del Duero y sus afluentes, pertenece a la formación geológica del complejo pizarra - grauváquico ante - ordovicio, con algunas inclusiones de una formación geológica granítica envolvente.

Los suelos son casi en su totalidad derivados de pizarra de este complejo y se dividen en dos grupos fundamentales:

(I) – Suelos donde la influencia de la acción del hombre es muy patente, durante las labores de roturación, aterrazado y abancalado que anteceden a la plantación de la viña, concretamente mediante las movilizaciones profundas con desagregación forzada de la roca y la consecuente profundización del perfil y modificaciones en la morfología original, acompañada de la incorporación de fertilizantes. Constituyen la gran mayoría del área ocupada por viña y concretamente, según la simbología de la FAO/UNESCO (1988), por Antrosuelos áricos.

(II) – Suelos donde la acción del hombre ha sido más suave, donde el suelo ha conservado su perfil original, con modificaciones únicamente en la capa superficial. En este grupo, se distinguen tres unidades principales:

a) **Leprosuelos:** suelo dominante en el área no ocupada con viña estando constituida por suelos que se caracterizan principalmente por la presencia de roca dura a menos de 30 cm de profundidad.

b) **Cambisuelos** – Suelos de espesor superior a 30 cm.

c) **Fluvisuelos** - Son suelos derivados de depósitos aluviales recientes, ubicados en superficies de acumulación de sedimentos (IVDP, I.P., 2013).

En cuanto a las características físico-químicas de los suelos:

(i) Dominan la texturas franco - arenosa fina y franco - limosa, con elevada cantidad de elementos toscos en los Astrosuelos, tanto en la superficie como en el perfil, lo que confiere protección contra la erosión hídrica, buena permeabilidad a las raíces y al agua y elevada absorción de energía radiante con consecuencias positivas en la maduración y en la disminución de la amplitud térmica diaria.

(ii) Bajo contenido de materia orgánica de la región; (pH H₂O entre 5,6 y 6,5), en ambos casos con bajos valores de calcio y magnesio.

(iv) Valores generalmente muy bajos a bajos en fósforos extraíble (<50 mg/kg⁻¹) y medios a altos de potasio extraíble (50 a 100 mg/kg⁻¹) (IVDP, I.P., 2013).

- **Paisajes culturales Patrimonio de la Humanidad.**

El esfuerzo humano en la conversión de estas tierras inhóspitas en zonas adaptables para los viñedos ha dado lugar a la aparición de tres formas distintas de plantación: en terrazas, en bancales y en las cimas de las montañas.

Las terrazas son frecuentes en zonas con pendiente pronunciada y se asemejan a los balcones separados por muros de “esquistos grauváquicos” (Fig. 2.3). Los bancales están hechos de terrazas construidas mecánicamente sin paredes para apoyar la tierra (Fig. 2.4), mientras que si la plantación se ubica en las cimas, se tiene en cuenta el drenaje de la tierra y el espacio necesario para la mecanización y el manejo de las máquinas de la viña (Fig. 2.5).



Figura 2.3: Plantación en terrazas, separadas por muros de piedra.



Figura 2.4: Plantación en bancales, separadas por talud



Figura 2.5: Plantación en las zonas altas.



Figura 2.6: Paisajes culturales Patrimonio de la Humanidad

Las viñas, que se disponen desde la cima de las montañas, pasando por las laderas más inaccesibles de los valles profundos y llegando hasta el margen del río, han creado con el paso de los años, un paisaje reconocido por la UNESCO como Patrimonio de la Humanidad en 2001 (Fig. 2.6).

Otras características:

El mejor “Vino de Oporto” es obtenido en las laderas más áridas y próximas del río, en cuanto a los “Vinos de Mesa”, son producidos en las laderas más frescas. La sub-región de “Baixo Corgo”, una vez considerada la mejor sub-región para la producción de “Vino de Oporto”, revela mejores condiciones para la producción de “Vino de Mesa”. En la zona de Pinhão (“Cima Corgo”) las bayas llegan a mayores concentraciones de azúcar, siendo un área considerada perfecta para la producción de vinos “Vintages”. Los vinos blancos, espumosos y de género Moscatel, provienen de las zonas más altas de “Cima Corgo” y “Duero Superior”.

Las variedades no son célebres por su elevada producción, sin embargo, algunas de estas variedades ya se citan en la época de la Orden del Cister (Edad Media). En la mitad del siglo XX, se inició su estudio y análisis de las variedades plantadas, y se llegó a la conclusión que las mejores variedades para la producción de “Vino de Porto” y “Vino de Douro” son: Touriga Nacional, Touriga Franca, Tinta Barroca, Aragonez (en la región se denomina Tinta Roriz, lo que en España conocemos como Tempranillo) y Tinto Cão.

Las nuevas “Quintas” de la región cultivan esencialmente estas variedades, y también otras muy importantes y con bastante expresión en la región, como por ejemplo las variedades Trincadeira (denominada también en la región como Tinta Amarela) y Souzão. La producción de vinos blancos es esencialmente sustentada por la plantación de variedades como la Malvasía Fina, Gouveio, Rabigato y Viosinho. Para la producción de Moscatel, se planta la variedad Moscatel Galego. (IVDP, I.P., 2013).

El área geográfica de producción de la “DOC Douro” corresponde el área de todas las sub-regiones, que son las siguientes:

- **Baixo Corgo.**

La Subregión “Baixo Corgo” abarca:

- Los municipios de Mesão Frio, Peso da Régua, Santa Marta de Penaguião y Vila Real (y las localidades de Aباças, Ermida, Folhadela, Guiães, Mateus, Nogueira, Parada de Cunhos, São Dinis y São Pedro y parte de la localidad de Nossa Senhora da Conceição), del distrito de Vila Real.

- Los municipios de Armamar (localidades de Aldeias, Armamar, Folgosa, Fontelo, Santo Adrião, Vacalar y Vila Seca), Lamego (localidades de Cambres, Ferreiros de Avões, Figueira, Parada do Bispo, Penajóia, Samodães, Sande, Santa Maria de Almacave, Sé e Valdigem y las “Quintas” de Foutoura, de Prado y de las Várzeas, en la localidad de Várzea de Abrunhais) y Resende (pedanía de Barrô), del distrito de Viseu.

- **Cima Corgo.**

La Subregión “Cima Corgo” abarca:

- Los municipios de Alijó (localidades de Alijó, Amieiro, Carlão, Casal de Loivos, Castedo, Cotas, Favaio, Pegarinhos, Pinhão, Sanfins do Douro, Santa Eugénia, São Mamede de Riba Tua, Vale de Mendiz, Vilar de Maçada y Vilarinho de Cotas), Murça (localidades de Candedo, Murça y Noura) y Sabrosa (localidades de Celeirós, Cova do Douro, Gouvães do Douro, Gouvinhas, Paços, Paradela de Guiães, Provesende, Sabrosa, São Cristóvão do Douro, São Martinho de Anta, Souto Maior y Vilarinho de São Romão), del distrito de Vila Real.

- Los municipios de S. João da Pesqueira (localidades de Casais do Douro, Castanheiro do Sul, Espinhosa, Ervedosa do Douro, Nagozelo do Douro, Paredes da Beira, São João da Pesqueira, Sarzedinho, Soutelo do Douro, Trevões, Vale de Figueira, Valongo dos Azeites, Várzea de Trevões y Vilarouco) y Tabuaço (localidades de Adorigo, Barcos, Desejosa, Granjinha, Pereiro, Santa Leocádia, Sendim, Tabuaço, Távora

y Valença do Douro), del distrito de Viseu.

- Los municipios de Carrazeda de Ansiães (localidades de Beira Grande, Castanheiro do Norte, Carrazeda de Ansiães, Lavandeira, Linhares, Parambos, Pereiros, Pinhal do Norte, Pombal, Ribalonga, Seixo de Ansiães y Vilarinho de Castanheira), del distrito de Bragança.

- **Douro Superior.**

La Subregión “Douro Superior” abarca:

- Los municipios de Alijó de Alfândega da Fé (localidad de Vilarelhos), Freixo de Espada à Cinta (localidad de Freixo de Espada à Cinta, Ligares, Mazouco y Poiars), Mirandela (las propiedades que fueran de D. María Angélica de Sousa Pinto Barroso, en la localidad de Frechas, y las de la Sociedad Clemente Meneres, en las localidades de Avantos, Carvalhais Frechas y Romeu), Torre de Moncorvo, (localidades de Açoreira, Adeganha, Cabeça Boa, Horta, Lousa, Peredos dos Castelhanos, Torre de Moncorvo Urros), y Vila Flor (localidades de Assares, Freixiel, Lodões, Roios, Sampaio, Santa Comba da Vilarça, Seixo de Manhoses, Vale Frechoso y Vilarinho das Azenhas, las “Quintas” de la Peça y de las Trigueiras y las Propiedades de Vimieiro, situadas en la localidad de Vilas Boas, y Vila Flor), del distrito de Bragança.

- Los municipios de Figueira Castelo Rodrigo (localidad de Escalhão), Meda (localidad de Fontelonga, Longroiva, Meda, y Poço do Canto) y Vila Nova de Foz Côa, del distrito de Guarda.

2.1.2.2.- DOC Denominación de Origen Controlada Tras-os-Montes.

Ya durante la ocupación de los romanos, se cultivaban las viñas y se producía vino en la región de “Tras-os-Montes”, volviéndose éstos conocidos y apreciados por sus cualidades (Infovini, 2013).

El nombre de “Tras-os-Montes” se refiere a la localización de la región, que se sitúa paralela a las sierras de Marão e Alvão, al Norte del río Duero.

- **Situación:**

En el extremo Nordeste de Portugal, al Norte de la región del Duero, muy próximo a la frontera española, (lindando con las provincias de Orense al Norte, y de Zamora y Salamanca al Oeste), existe la región vitivinícola de “Tras-os-Montes”. Dicha región vitivinícola se divide en tres subregiones (Fig. 2.7): Chaves, al Noroeste, Valpaços, en el centro y Planalto Mirandés, al Este (Infovini, 2013).



Figura 2.7: Sub-regiones en las que se divide la “DOC Tras-os-Montes”. (Imagen tomada de Infovini – Vinhos de Portugal, 2013, www.infovini.com).

- **Geología:**

Los suelos de esta región están predominantemente formados por esquistos precámbricos, con algunas manchas graníticas, existiendo en un área pequeña manchas calcáreas de rocas metamórficas (Gneiss) y de aluviones (Infovini, 2013).

- **Climatología:**

Los vinos de la región de “Tras-os-Montes” son bastante bien diferenciados, en función de los microclimas que tienen en origen (altitud, exposición solar, pluviosidad, temperatura, etc...). El clima es muy caluroso en el verano, y en el invierno, por el contrario, las temperaturas alcanzan valores negativos muchas veces (Infovini, 2013).

- **Otras características:**

En la sub-región de Chaves, las cepas son plantadas en las laderas de los pequeños valles, por donde fluyen los afluentes del río Tamega. La sub-región de Valpaços es rica en recursos hídricos, y se encuentra en una zona de planicie y altitud. La sub-región de Planalto Mirandês, es el río Duero quien influye la viticultura.

Las variedades plantadas son prácticamente comunes en las tres sub-regiones. Las variedades (castas) tintas más plantadas son: Trincadeira (Tinta Amarela), Bastardo, Marufo, Tinta Roriz (Tempranillo), Touriga Nacional y Touriga Franca. Las variedades “castas” blancas más plantadas en la región son: Síria, Fernão Pires, Gouveio, Malvasia Fina, Rabigato y Viosinho (Infovini, 2013).

Los vinos tintos de “Tras-os-Montes” son generalmente afrutados y levemente adstringentes. Los vinos blancos son suaves y con aromas florales. El vino con indicación geográfica, comúnmente designado por “Vino Regional Trasmontano”, se produce en toda la región de “Tras-os-Montes” (Infovini, 2013).

El área geográfica de producción de la “DOC Denominación de Origen Controlada Trás-os-Montes” corresponde el área de todas las subregiones, que son las siguientes:

- **Chaves.**

La Subregión “Chaves” abarca:

- Los municipios de Chaves (localidad de Anelhe, Arcossó, Bustelo, Calvão, Cela, Curalha, Eiras, Ervededo, Faiões, Lama de Arcos, Loivos, Madalena, Oura, Outeiro Seco, Póvoa de Agrações, Redondelo, Samaiões, Sanjurge, Santa Cruz/Trindade, Santa Maria Maior, Santo António de Monforte, Santo Estêvão, São Pedro de Agostém, Seara Velha Shhariz, Soutelinho da Raia, Soutelo, Vale de Anta, Vidago, Vila Verde de Raia, Vilar de Nantes, Vilarelho da Raia, Vilarinho das Paranheiras, Vilas Boas, Vilela do Tâmega y Vilela Seca), Vila Pouca de Aguiar (localidades de Capeludos y Valoura).

- **Valpaços.**

La Subregión “Valpaços” abarca:

- Los municipios de Macedo de Cavaleiros (localidades de Arcas, Cortiços, Lamalonga, Sesulfe, y Vilarinho de Agrochão), Mirandela (localidades de Abambres, Aguieiras, Alvites, Avantos, (excluyendo las propiedades de la Sociedad Clemente Meneres), Bouça, Cabanelas, Carvalhais (excluyendo las propiedades de la Sociedad Clemente Meneres), Fradizela, Franco, Lamas de Orelhão, Múrias, Mascarenhas, Mirandela, Passos, São Pedro Velho, São Salvador, Suções, Torre de D Chama, Vale de Gouvinhas, Vale de Salgueiro y Vale de Telhas), Murça (localidad de Jou), Valpaços (localidades de Água Revés y Castro, Algeriz, Barreiros, Bouçoães, Canaveses, Carrazedo de Montenegro, Ervões, Fornos do Pinhal, Possacos, Rio Torto, Sanfins, Santa Maria de Emeres, Santa Valha, São Pedro de Veiga de Lila, Sonim, Vales, Valpaços, Vassal, Veiga de Lila, e Vilarandelo), Vinhais (localidades de Agrochão, Ervedosa, Rebordelo, Vale das Fontes, y Vale de Janeiro).

- **Planalto Mirandes.**

La Subregión “Planalto Mirandes” abarca:

- Los municípios de Miranda do Douro (localidades de Águas Vivas, Atenor, Cicouro, Constantim, Duas Igrejas, Genísio, Ifanes, Malhadas, Miranda do Douro, Palaçoulo, Paradela, Picote, Póvoa, São Martinho de Angueira (San Martino, Sendim, Silva, Vila Chã de Braciosa), Mogadouro (localidades de Azinhoso, Bemposta, Bruçó, Brunhoso, Brunhozinho, Castanheira, Castelo Branco, Castro Vicente, Meirinhos, Mogadouro, Paradela, Penas Róias, Peredo da Bemposta, Remondes, Saldanha, Sanhoane, São Martinho do Peso, Soutelo, Tó, Travanca, Urrós, Vale da Madre, Vale de Porco, Valverde, Ventozelo, Vila de Ala, Vilar de Rei, Vilarinho dos Galegos), Vimioso, Freixo de Espada à Cinta (localidades de Fornos y Lagoaça), Torre de Moncorvo (localidades de Carviçais, Felgar, Felgueiras, Larinho, Maçores, Mós y Souto da Velha, excluyendo las áreas pertenecientes a la Región del Duero).

2.2.- LA VID.

Monlau describe a la Vid (Compendio de Historia Natural) como «una familia de arbustos sarmentosos y trepadores, con hojas estipuladas, opuestas inferiormente y

alternas en la parte superior. Las flores son pequeñas y verdosas. Cáliz entero o apenas dentado, corola de cuatro a cinco pétalos, insertos en la cara exterior de un disco que ciñe el ovario, más anchos en la base, encorvados y en general soldados por el ápice; el número de estambres igual al de la pieza de la corola; el pistilo presenta el ovario libre, el estilo cortísimo o nulo y el estigma sencillo. Las flores y los frutos ordenados en forma de racimo (compuesto). El fruto consiste en una baya globosa, de dos celdas cuando es joven y simplemente unicolar cuando maduro, con una, dos, tres a cuatro semillas» (Hidalgo, 2006).

La posición taxonómica del género *Vitis* se describe en la Tabla 2.2:

Tabla 2.2: Posición taxonómica del género *Vitis*:

AGRUPACIÓN	Cormofitas
TIPO	Fanerógamas
SUBTIPO	Angiospermas
CLASE	Dicotiledóneas
SUBCLASE	Dialiétales
ORDEN	Ramnales
FAMILIA	Vitáceas
GÉNERO	Vitis

2.2.1.- GENERALIDADES.

El género *Vitis* (Galet, 1967), se divide en dos, subgénero *Muscadinea* y *Euvitis*.

- Subgénero *Muscadinea*: presenta zarcillos bifurcados, corteza exfoliable, nudos sin diafragma y 40 cromosomas. El subgénero *Muscadinea* comprende tres especies originarias del sudeste de EE.UU. y Méjico, pero sólo se cultiva una de ellas, *Vitis rotundifolia* para su consumo en fresco, jaleas, helados, vinos. Es de gran interés en mejora varietal, pues es resistente a la filoxera y diversas enfermedades.
- Subgénero *Euvitis*: presenta 38 cromosomas, nudos con diafragma, zarcillos simples y corteza no exfoliable. Esta es la clasificación de Foex (1888), posteriormente modernizada por Galet (1967). En el subgénero *Euvitis* se concentran las especies de mayor interés. Para estudiarlas se agrupan geográficamente:
 - Vides americanas, las cuales constituyen la base para la obtención de patrones utilizados en viticultura. Alrededor de 20 especies.
 - Vides asiáticas. Apenas han contribuido al cultivo y desarrollo de la vid. Sin interés. Entre 10 y 15 especies.
 - Vides europeas: 1 sólo especie. Se cultiva en gran parte del mundo por la calidad de sus frutos *Vitis vinífera*.

Nos centramos en la especie *Vitis vinífera*, y más concretamente en las variedades

estudiadas en los muestreos llevados a cabo en el campo en las denominaciones de origen de España y Portugal que más adelante describiremos.

2.2.2.- CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LAS VARIEDADES ESTUDIADAS.

Se describen a continuación las características más importantes de las variedades españolas y portuguesas estudiadas en los muestreos de campo, según estudios realizados por Sousa (2007), Chomé *et al.* (2006) y Alburquerque *et al.* (2006).

2.2.2.1.- Cabernet – Sauvignon.

- Variedad de porte semi-erecto, vigorosa. La poda puede ser corta o larga, pero evitando heridas en la madera, aceptando casi cualquier tipo de poda. Mejores resultados en terrenos de grava si hay exceso de agua, algo ácidos y bien expuestos. Muy sensible al oídio, eutipiosis y yesca. Sensibilidad media a botrytis.
- Las hojas adultas son de tamaño medio, de forma orbicular-pentagonal, de cinco a siete lóbulos. El perfil irregular de empotramiento es medio, con los limbos laterales superiores ligeramente superpuestos. Los dientes de longitud media y convexa. El seno peciolar es poco abierto, con la base en forma de U.
- Los racimos son pequeños y muy pequeños, de compacidad media, con bayas redondas pequeñas y con epidermis muy gruesa, azulada, con abundante pruina, de pulpa consistente pero muy jugosa de sabor y aromas muy peculiares y característicos.
- Época de deborre tardía y variedad de maduración media-tardía.
- Los vinos tienen una estructura tánica muy interesante y color estable siempre que se alcance la madurez. El vino monovarietal puede carecer de suavidad y redondez. Tiene gran aptitud enológica, da buenos vinos del año, vinos de crianza. Aptos para el envejecimiento.
- Posee una potencialidad enológica excelente para vinos tanto jóvenes como envejecidos, posee aromas varietales específicos, con un olor muy vivo, y estables con una excelente estructura tánica.

2.2.2.2.- Cogega de Larinho.

- Variedad de porte semi-erecto, vigor y productividad medios, sensible al mildiu y poco sensible al oídio y a la podredumbre gris.
- Presenta una hoja adulta de tamaño medio a grande, de forma pentagonal, con cinco lóbulos. Su color es verde claro. El limbo es alabeado, con ondulaciones

entre las nerviaciones generalizadas. Los dientes son medios, con lados rectilíneos. El seno peciolar presenta lóbulos ligeramente sobrepuestos, con base en V.

- El racimo es grande y compacto, con uvas de tamaño medio, redondeado, de color amarillo, con hollejo medianamente grueso, pulpa succulenta y de sabor particular.
- Variedad de maduración media.
- Los mostos poseen un potencial alcohólico medio y una acidez baja.
- Vino de color cetrino, con aroma bastante complejo, afrutado intenso (frutos tropicales) y floral. En la boca muestra algún déficit en frescura (poco ácido), compensando con un excelente perfil aromático y gran persistencia. Normalmente, una corrección ácida mejora el perfil gustativo de estos vinos.
- El análisis sensorial revela un potencial de calidad bueno, muy bueno.

2.2.2.3.- Malvasía Fina.

- Variedad de porte semi-erecto, vigor medio y de productividad media, siendo alta con material vegetativo seleccionado, y moderadamente sensible al mildiu y a la podredumbre gris, y sensible al oídio.
- Presenta hojas adultas de tamaño medio, de foirma pentagonal, con cinco lóbulos. Su color es verde medio. El perfil es irregular, con pequeño arrugado y el limbo ligeramente arrugado y con ondulación generalizada. Los dientes son de medios a cortos y rectilíneos. El seno peciolar es poco abierto, con base en V.
- El racimo es de tamaño medio y medianamente de compacto abierto, con uvas de pequeñas a medias, redondeadas, color verde amarillento, con hollejo medianamente grueso, pulpa suave y succulenta y de sabor indefinido.
- Variedad de maduración media.
- Los mostos poseen un potencial alcohólico medio-alto y una acidez media.
- Vino de color cetrina, aromado frutado, levemente floral, que le confiere alguna complejidad. En la boca muestra equilibrio en la relación alcohol/acidez y un final con alguna persistencia aromática. Los vinos tienen tendencia para alguna oxidación, siendo así importante prevenir la su ocurrencia.
- El análisis sensorial revela un potencial de calidad bueno.

2.2.2.4.- Malvasía Preta.

- Variedad de porte semi-erecto, vigorosa y de productividad media alta, y
-

moderadamente sensible al Mildiu, y sensible al oídio y a la podredumbre gris.

- Presenta hojas adultas de tamaño pequeño a medio, de forma pentagonal, generalmente con cinco lóbulos. Su color es verde oscuro. El perfil es irregular y medianamente arrugado, el limbo ligeramente arrugado y con ondulación generalizada. Los dientes son cortos y convexos. El seno peciolar presenta lóbulos sobrepuestos con base en V.
- El racimo es de tamaño medio y compacto, con uvas pequeñas, redondeadas, color negro azulado, con hollejo medianamente grueso, pulpa no coloreada, suave y semi-cuculenta, con sabor indefinido.
- Variedad de maduración tardía.
- Los mostos poseen un potencial alcohólico medio y una acidez baja.
- Los vinos presentan una intensidad de color media (rubí), aroma de alguna intensidad a frutos rojos (frambuesa), ligeramente floral (violeta) y una estructura y un potencial de envejecimiento elevado.
- El análisis sensorial revela un potencial de calidad bueno.

2.2.2.5.- Moscatel Galego Branco.

- Variedad de porte semi-erecto y poco vigoroso. Rendimiento bajo. Necesita una temperatura elevada durante la floración (tendencia al corrimiento). Requiere temperaturas altas para buena maduración y buen agostamiento de la madera. Muy sensible al oídio, sensible al mildiu, araña roja y a las heladas primaverales.
- Presenta hojas adultas de tamaño medio, de forma pentagonal, con cinco lóbulos. Su color es verde medio. El perfil es alabeado, su profundidad es superficial, con lóbulos laterales superiores ligeramente superpuestos. Los dientes son de longitud media y convexa. El seno peciolar es poco abierto, en forma de V, y es ligeramente más largo que el nervio, y con una baja densidad de vello.
- El racimo es de tamaño grande y de compactación media suelto, con uvas de tamaño medio a grande, no regulares, color verde amarillento, con hollejo medianamente grueso, pulpa suave y muy succulenta y de sabor característico.
- Época de desborre medio, siendo una variedad de maduración tardía.
- Vinos blancos secos y dulces naturales con aromas potentes, elegantes y florales. Se pueden emplear en coupages para aportar aromas. Usada como uva de mesa por su labor amoscatelada, pulpa firme y hollejo de espesor medio. Resiste bien el transporte. Se utiliza desde antaño por sus cualidades para vinificación, uva de mesa y pasificación.

2.2.2.6.- Prieto Picudo.

- Variedad de porte semirrastrero, poco vigorosa, fertilidad media y producción baja. Poco resistente a la sequía, precisa podas largas y es sensible a los golpes de calor, y algo sensible al oídio.
- Las hojas adultas son de tamaño pequeño a medio de forma pentagonal, con siete lóbulos. El perfil es plano, con senos laterales muy pronunciados, con haz verde muy oscuro y envés ligeramente arañoso.
- El racimo es de tamaño pequeño-medio y compacto, con uva de tamaño pequeño y uniforme, de forma acuminada, color negro azulado, en el que el hollejo es fino, pulpa no coloreada, jugosa, sin sabor.
- Época de desborre media-temprana, siendo una variedad de maduración temprana.
- Los mostos poseen un potencial alcohólico alta y una acidez alta.
- Los vinos presentan color cereza y tonalidades violáceas, variedad muy aromática con tonos de frutas del bosque y aromas especiados de pimienta negra; acidez alta. Interesante persistencia en boca y aromas retronasales. Su empleo ha sido para elaborar vinos rosados y claretes con un punto de aguja. Actualmente en muchas zonas se empiezan a elaborar tintos monovarietales o mezclados con Mencía que dan vinos de mucho interés.

2.2.2.7.- Rabigato.

- Variedad de uva blanca autóctona, es cultivada en diversas regiones, destacando especialmente en las DOC Denominación de Origen "Douro", "Porto" y "Trás-os-Montes".
- Es una variedad de maduración precoz, presentando en general un vigor y productividad medios; adaptándose a todos los tipos de porta-injertos, prefiere suelos secos en un clima moderado, demostrando buena adaptación para la vendimia mecánica
- Su elevada acidez natural, se vuelve interesante para la elaboración de lotes con variedades menos ácidas; los vinos normalmente son de una calidad elevada y con una razonable capacidad de envejecimiento, presentan aromas de intensidad media, dulce, recordando flores de naranja con notas más vegetales y en el gusto son equilibrados, frescos, presentándose con vivacidad y alguna persistencia en la boca.

2.2.2.8.- Syrah.

- Variedad de porte semi-erecto, elevado vigor con mucha ramificación de sus
-

sarmientos que son delgados, largos y frágiles, y de productividad alta. Muy sensible a clorosis y mal adaptada a suelos calizos. Periodo óptimo de recolección relativamente corto. Bastante sensible a ácaros y a botrytis, sobre todo al final de la maduración. Resistente al mildiu, al oídio y a la excoriosis.

- Presenta hojas adultas de tamaño medio-grande, de forma pentagonal, con cinco lóbulos, poco vellosa de color verde, muy vivo, y sin ningún tipo de pigmentación. El perfil es irregular, con flaco empotramiento y el limbo ligeramente arrugado y con ondulación generalizada. Los dientes son de tamaño alternos, con mucrón muy evidente con los lados convexos. El seno peciolar en V muy abierta.
- Los racimos son de tamaño medio, de compactación media con bayas de tamaño pequeño a medio, uniformes y coloración negra azulada, de hollejo medio-grueso, de pulpa ligeramente dura y con succulencia de la pulpa, de apenas jugosa a ligeramente jugosa.
- Época de desborre media, siendo una variedad de maduración temprana.
- Los mostos poseen un potencial alcohólico medio-alto.
- Vinos tintos de buen grado alcohólico aptos para un envejecimiento de gran calidad, de color intenso (azulado), muy aromáticos, finos y complejos con aromas que recuerdan la violeta, el cuero, el tabaco y el regaliz; tánicos con estructura y relativamente poco ácidos. Es posible elaborar también vinos rosados muy afrutados e interesantes.

2.2.2.9.- Tempranillo, Tinta del País, Tinto Fino, Tinta de Toro ó Tinta Roríz.

- Variedad de porte erecto, ciclo corto, vigor medio y de productividad media-alta en función del terreno. Sensible al viento, a la sequía, al oídio, y medianamente sensible a excoriosis.
- Presentan hojas adultas de tamaño medio-grande, de forma pentagonal, de cinco a siete lóbulos. De color verde intenso con brillo mate. El perfil es irregular, de senos laterales muy profundos y el limbo ligeramente arrugado, con ondulaciones generalizadas. Por su parte, los dientes de las hojas son rectilíneos largos y no muy numerosos y el seno peciolar posee brotes superpuestos, con senos laterales superiores e inferiores bien definidos y frecuentemente con bordes superpuestos.
- El racimo es de tamaño medio-grande y compacto, con uvas pequeñas, uniformes, de forma redondeada, color negro azulado, con hollejo medianamente grueso a muy grueso, pulpa no coloreada, suave y poco succulenta, con sabor indefinido.
- Época de desborre temprana, al igual que su maduración, también temprana.
- Los vinos presentan una intensidad de color media (rubí), aroma de frutos rojos silvestres y algo herbáceo. Posee una estructura y un potencial de envejecimiento medio. En función de los rendimientos y con producciones limitadas, da vinos

óptimos con poca acidez.

- Indicada para elaboración de vinos jóvenes de maceración carbónica. Admite crianza en barrica de roble, con buenos resultados. Vendimiada adecuadamente permite la elaboración de vinos de excelente calidad.

2.2.2.10.- Touriga Franca.

- Variedad de porte semi-erecto, vigor medio y de productividad media alta, es moderadamente sensible al mildiu, podredumbre gris y al oídio.
- Las hojas adultas son de media longitud de forma pentagonal, de tres a cinco lóbulos. El color es verde fuerte. El perfil irregular, con el limbo ligeramente arrugado y con ondulaciones generalizadas. Los dientes son cortos y convexos. El seno peciolar es cerrado y ligeramente sobrepuesto, con la base en V.
- El racimo es de tamaño medio y compacto, con uva de tamaño medio uniforme, de forma achatada a redondeada, color negro azulado, en el que el hollejo es medianamente grueso, pulpa no coloreada, poco succulenta, con sabor indefinido.
- Variedad de maduración media-tardía.
- Los mostos poseen un potencial alcohólico y una acidez medios.
- Los vinos presentan una intensidad de color elevada (rubí cerrado de tonalidad violácea), aroma de alguna complejidad a frutos rojos (frambuesa, cereza), frutos silvestres (mora), floral (violeta) y ligeramente herbáceo. Posee una estructura y un potencial de envejecimiento elevado.
- Al análisis sensorial revela un potencial de calidad bueno.

2.2.2.11.- Touriga Nacional.

- Variedad de porte semi-erecto, vigorosa y de productividad media, siendo alta con material vegetativo seleccionado. Es moderadamente sensible al mildiu y a la podredumbre gris, y sensible al oídio.
- La variedad Touriga Nacional presenta hojas adultas muy heterogéneas y de grandes poliformismos, siendo más característica: tamaño medio a pequeño, de forma pentagonal, con cinco lóbulos. Su color es verde medio. El perfil es irregular de medio, el limbo ligeramente arrugado y con ondulaciones generalizadas. Los dientes son cortos, apareciendo dientes cóncavos, rectilíneos convexos y convexos-cóncavos. El seno peciolar es poco abierto, en U.
- El racimo es pequeño y medianamente compacto, con uva de tamaño pequeño a medio, uniforme, de forma redondeada y elíptica corta, color negro azulado, con

hollejo grueso, pulpa no coloreada, suave y succulentas, con sabor indefinido.

- Variedad de maduración media.
- Los mostos poseen un potencial alcohólico y una acidez media-alta.
- Los vinos presentan una intensidad de color elevada (rubí cerrado de tonalidad violácea) aroma complejo e intenso a frutos rojos (frambuesa, cereza), frutos negros (ciruela), frutos silvestres (mora), manzana, uvas pasas y floral (rosa y violeta). Poseen una estructura y un potencial de envejecimiento elevado.
- El análisis sensorial revela un potencial de calidad muy bueno.

2.2.2.12.- Trincadeira ó Tinta Amarela.

- Variedad de porte semi-erecto, vigor medio y de productividad media-alta, y sensible al mildiu, muy sensible al oídio y a la podredumbre gris.
- Presenta hoja adulta media, de forma pentagonal, generalmente con tres a cinco lóbulos. Su color es verde claro. El perfil es irregular con pequeñas arrugas y el limbo con alguna huella. Los dientes son medios y convexos. El seno peciolar presenta lóbulos ligeramente sobrepuestos, con base en V.
- El racimo es de tamaño medio y muy compacto, con baya de tamaño medio, de forma redondeada, color negro azulado, con hollejo medianamente grueso, pulpa no coloreada, suave y succulenta, con sabor indefinido.
- Variedad de maduración media.
- Los mostos poseen un potencial alcohólico y una acidez medio-altos.
- Los vinos presentan una intensidad de color alta (rubí cerrado), con aromas de frutos rojos silvestres (cereza, mora) y floral (violeta). Posee una estructura y un potencial de envejecimiento alto.
- El análisis sensorial revela un potencial de calidad regular bueno.

• **Tabla resumen de las variedades españolas estudiadas.**

Tabla 2.3: Variedades españolas: localidad, denominación de origen y variedades estudiadas.

LOCALIDAD	DENOMINACIÓN DE ORIGEN PROTEGIDA	VARIETADES ESTUDIADAS
Peñañiel	“Ribera del Duero”	Tinta del País, Tempranillo o Tinto Fino
Gordoncillo	“Tierras de León”	Tinta del País, Tempranillo o Tinto Fino
		Prieto Picudo
Toro	“Toro”	Tinta de Toro

- **Tabla resumen de las variedades portuguesas estudiadas.**

Tabla 2.4: Variedades portuguesas: localidad, denominación de origen y variedades estudiadas.

LOCALIDAD	DENOMINACIÓN DE ORIGEN CONTROLADA	SUB-REGIÓN	VARIEDADES ESTUDIADAS
Peso da Regua	“Douro”	“Baixo Corgo”	Touriga Franca
Pinhao	“Douro”	“Cima Corgo”	Touriga Franca
Pombal	”Douro”	“Cima Corgo”	Rabigato Codega de Larinho
Torre de Moncorvo	“Douro”	“Douro Superior”	Tinta Roríz
Freixo Espada a Cinta	“Douro”	“Douro Superior”	Tinta Roríz
Barca d´alva	“Douro”	“Douro Superior	Touriga Nacional
Faiões	“Tras-os-Montes”	“Chaves”	Malvasía Preta Tinta Roríz
Mogadouro	“Tras-os-Montes”	“Planalto Mirandes”	Touriga Nacional Touriga Franca Trincadeira
Peredo de Bemposta	“Tras-os-Montes”	“Planalto Mirandes”	Tinta Roríz
Sendim	“Tras-os-Montes”	“Planalto Mirandes	Malvasía Preta Tinta Roríz
Atenor	“Tras-os-Montes”	“Planalto Mirandes	Tinta Roríz Trincadeira
Valpaços	“Tras-os-Montes”	“Valpaços”	Tinta Roríz Touriga Nacional Moscatel Galego Branco
Vilarandelo	“Tras-os-Montes”	“Valpaços”	Tinta Roríz Syrah
Algeriz	“Tras-os-Montes”	“Valpaços”	Tinta Roríz Malvasía Fina

2.3.- FAMILIA CERAMBYCIDAE.

La posición taxonómica de la familia *Cerambycidae* se describe en la tabla 2.5:

Tabla 2.5: Posición taxonómica de la familia *Cerambycidae*

REINO	Animale sensu L., 1758
SUBREINO	Eumetazoa Butschli, 1910
FILO	Arthropoda Siebold, 1846
SUBFILO	Hexapoda Blainville, 1816
CLASE	<i>Insecta</i> L., 1735
ORDEN	<i>Coleoptera</i> L., 1746
SUBORDEN	<i>Polyphaga</i> Emery, 1886
INFRAORDEN	<i>Cucujiformia</i> Latreille, 1802
SUPERFAMILIA	<i>Chrysoleloidea</i> Latreille, 1802
FAMILIA	<i>Cerambycidae</i> Latreille, 1802

2.3.1.- DIVERSIDAD.

Dentro del Orden *Coleoptera*, la familia *Cerambycidae*, es una de las más extensas, puesto que cuenta con aproximadamente 20.000 especies por todo el mundo, exceptuando las zonas ártica y antártica. En contrapunto a estas zonas sin presencia, tenemos las áreas tropicales, y norteamericana donde se estima que hay entre 956 y 1.400 especies, repartidos en 300 géneros (USDA, 1985; Downie y Arnett, 1996; Yanega, 1996; Arnett, 2000). La mayoría de los géneros son pequeños en cuanto a número, con una media de 4 a 6,5 especies por género. Uno de los géneros más numeroso en cuanto a especies es el género *Glenea*, con cerca de 600 especies identificadas, con origen en África, Sur y Este de Asia, y la región del Pacífico Sur Tropical. En el otro extremo, están los más de 1.000 géneros monotípicos (Linsley, 1959).

Atendiendo a la clasificación taxonómica anteriormente descrita, la familia *Cerambycidae* está incluida dentro del orden *Coleoptera*, suborden *Polyphaga*, infraorden *Cucujiformia*, superfamilia *Chrysoleloidea*, en la que también se engloban las subfamilias *Vesperinae* Mulsant, 1839, *Prioninae* Latreille, 1802, *Spondylidinae* Audinet-Serville, 1832, *Necydalinae* Latreille, 1825, *Lepturinae* Latreille, 1802, *Cerambycinae* Latreille, 1802, *Lamiinae* Latreille, 1825, *Oxypeltinae* Lacordaire, 1869, *Disteniinae* J. Thomson, 1860, *Anoplodermatinae* Guérin-Méneville, 1840, *Philinae* J. Thomson, 1860, *Parandrinae* Blanchard, 1845 y *Apatophyseinae* Lacordaire, 1869.

En la Península Ibérica, según el “Catálogo de los *Cerambycidae* (Coleoptera) de la Península Ibérica, islas Baleares e islas atlánticas: Canarias, Azores y Madeira” realizado por González *et al.* (2007), el número de especies que se consideraron presentes en la Península Ibérica y las islas Baleares fué de 267 de las cuales 54 eran endemismos de la Península Ibérica y dos de las Islas Baleares.

En cuanto a los archipiélagos atlánticos, se catalogaron 37 especies, distribuidas de la siguiente forma, en Canarias 29 especies de las que 15 eran endemismos; Azores 10 especies de las que una era endémica y en Madeira 14 especies, de las que dos eran

endémicas.

En cuanto a la distribución por europea, Althoff y Danilevsky (1997) señalaron para Europa un total de 621 especies. Sama (1988) consideró presentes en Italia 261 especies; Brustel, Berger y Cocquempot (2002) catalogaron 242 especies para Francia y Villiers (1946), 240 especies para el Norte de África.

2.3.2.- BIOLOGÍA.

El rasgo más característico de los adultos de la familia *Cerambycidae* son sus antenas largas, escarabajos longicórnicos (Fig. 2.8), que en muchos casos, en los machos, puede llegar a ser dos veces la longitud del cuerpo. Los adultos son alargados y casi cilíndricos, y sus longitudes varían desde los 2 mm (p.ej. *Cyrtinus pygmaeus*), hasta los más de 160 mm (p.ej. *Titanus giganteus*) (Linsley, 1959).

Las larvas, son alargadas, casi cilíndricas y de coloración blanca o amarillenta (Fig. 2.8). Los estadios larvales de la familia *Cerambycidae* son considerados como fitófagos, mayoritariamente xilófagos, ya que se alimentan de madera muerta, o muy debilitada, por encontrarse enferma. Las larvas de algunas especies se alimentan de tejido vivo, localizándose en el interior de troncos y ramas de plantas leñosas (Duffy, 1953; Linsley, 1959; Hanks *et al.*, 1999).

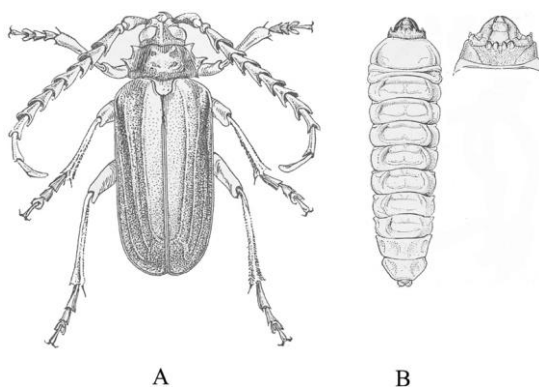


Figura 2.8: Típico adulto longicórnico (A) y larva barrenadora de cabeza redonda (B) (*Coleoptera: Cerambycidae*). El adulto es *Prionus californicus* (Motschulsky) y la larva es la espinada o barrenadora pesada, *Ergates spiculatus* (Le Conte) (ambos en la familia *Prioninae*). Ilustraciones redibujadas cortesía de la Universidad de California (Linsley, 1962) y la compañía de libros McGraw-Hill Book (Doane *et al.* 1936).

Los adultos, escarabajos longicórnicos, se pueden alimentar de una variedad de sustratos vegetales, tales como flores, corteza, savia, frutas, raíces y hongos (Linsley, 1959) o de ninguno de ellos en absoluto. Tras la emergencia de su hospedador, algunos adultos necesitan someterse a un periodo de alimentación para su maduración, como por ejemplo, *Monochamus* spp. (Walsh y Linit, 1985; Zhang y Linit, 1998), lo que puede causar un daño considerable a árboles vivos (Hiratsuka *et al.*, 1995).

Exceptuando los adultos que se alimentan de flores, la copulación generalmente se produce en el lugar, donde posteriormente se dará la emergencia de las larvas (Linsley *et*

al., 1961b), o en el nuevo hospedador (Hanks *et al.*, 1999; Allison y Borden, 2001).

Después de la cópula, los machos de algunas especies, permanecen con las hembras para buscar y preparar los lugares de oviposición, repitiendo la copulación y así defenderse de otros machos (Linsley, 1959; Hanks *et al.*, 1996a). La competencia entre machos por las hembras es común en alguna subfamilia como, por ejemplo, *Cerambycinae*, *Prioninae*, y *Lamiinae*, en los que la defensa puede ser violenta (Linsley, 1959; Hughes, 1979; 1981; Hughes y Hughes, 1982).

Las fases de colonización del huésped, por parte de la familia *Cerambycidae* son análogas a los escarabajos de la corteza, *Scolytidae*, en cuanto a las fases de dispersión, selección, concentración y establecimiento (Wood, 1982). Las dos últimas fases son menos aplicables a la familia *Cerambycidae*, ya que la mayoría de las investigaciones han sido enfocadas hacia la colonización del huésped. Linsley (1959) especuló que los cerambícidos tienen la sensibilidad dominante para buscar el huésped mediante el olfato, ya que los adultos responden a volátiles o feromonas sexuales relacionadas con el huésped. El último paso en la fase de selección del huésped por los cerambícidos, es la aceptación del huésped para el desarrollo o la oviposición. En la familia *Cerambycidae*, los anfitriones de las larvas, son elegidos por la madurez sexual y puesta de huevos de las hembras (Linsley, 1961).

Debido a que las larvas no pueden dispersarse tras la eclosión de los huevos, la oviposición en especies no hospedantes o anfitriones de baja calidad, puede tener consecuencias significativas. La mayoría de las hembras depositan sus huevos en las grietas, hendiduras en la corteza o en el córtex de las plantas, sin embargo, algunas hembras de la subfamilia *Lamiinae*, mastican un hueco, donde colocan sus huevos, recubriéndolos posteriormente con una sustancia gelatinosa (Anbutsu y Togashi, 1997a; 2000, 2001; Hanks, 1999; Peddle *et al.*, 2002).

Esto puede facilitar a otras especies, la identificación de cual son los anfitriones que ya están ocupados. Los huevos pueden ser depositados en grupos (Hanks *et al.*, 1993a), o por separado (Raske, 1972), y aquellas especies que preparan la cavidad o hueco en el anfitrión, los depositan uno a uno.

Las larvas eclosionan, días o semanas después de la puesta, alimentándose en la mayoría de los casos, por primera vez en el floema y más tarde en el xilema (albura y duramen) formando galerías largas e irregulares (Furniss y Carolin, 1977; Hiratsuka *et al.*, 1995; Yanega, 1996).

El desarrollo larvario se produce totalmente en el huésped y puede variar en duración, desde meses [*Phytoecia* spp. (Kemner, 1922)], hasta ocho años [*Hylotrupes bajulus* L. (USDA, 1985)] o "décadas" para algunas especies de la subfamilia *Prioninae* (Yanega, 1996). Las larvas generalmente se convierten en pupa cerca de la superficie de la albura, aunque algunas especies pupan en el suelo o en "capullos", o en celdas pupales ovaladas rodeadas de gruesas fibras entre la corteza y la albura de la superficie, por ejemplo, *Rhagium inquisitor* L.). El estado de pupa es relativamente corto, de días a semana (Yanega, 1996), y el adulto, posteriormente emerge hacia el exterior a través de un túnel, en la corteza del huésped.

2.3.3.- ECOLOGÍA E IMPORTANCIA COMO PLAGA.

La mayoría de los escarabajos longicornios son los iniciadores de los deterioros en la madera de los bosques (Furniss y Carolin, 1977; Edmonds y Eglitis, 1989). Las larvas comienzan la destrucción física del tejido leñoso, favoreciendo posteriormente la penetración y la infección de hongos descomponedores de madera (Basham y Belyea, 1960), siendo vía de acceso para otros insectos como termitas u hormigas de madera.

Algunos cerambícidos utilizan simbiosis intestinales para romper la celulosa de la madera (Linsley, 1959; Kukor y Martin, 1986; Martin, 1987). Los adultos de algunas especies de cerambícidos eligen árboles sanos para la oviposición, mientras que otros eligen árboles enfermos, como por ejemplo, los dañados por el fuego (Gardiner, 1957a), por sequías acentuadas (Melander, 1904), derribados por el viento (Gardiner, 1975), o desfoliados severamente (Belyea, 1952a, b). La alimentación posterior y el desarrollo larvario, puede matar a ambos tipos de árboles, los enfermos, y los que no lo están.

Los adultos de cerambícidos también han sido implicados en la transmisión de patógenos fúngicos de árboles, por ejemplo, el chancro del castaño, la marchitez del roble, la muerte regresiva del abeto, el chancro *Hypoxylon* en Aspen o el nematodo de la madera del pino (PWN), *Bursaphelenchus xylophilus* (Donley, 1959; Linsley, 1961; Nord y Knight, 1972; Ostry y Anderson, 1995; Pajares *et al.*, 2004, 2010; Ibeas *et al.*, 2008). La invasión de las larvas a través de las galerías que oradan en la madera, y los hongos asociados a la madera, pueden provocar el manchado de la madera, (Prebble y Gardiner, 1958; Vallentgoed, 1991; Bradbury, 1998), provocando grandes pérdidas económicas en productos derivados de la madera.

Árboles frutales, nogales, viñedos, plantas de café, plantas de cacao, hortalizas y cultivos de campo, también son atacados por Cerambícidos (Linsley, 1959). *Oemona hirta* (F.) es una plaga importante en muchos árboles y cultivos de vid en Nueva Zelanda (Wang *et al.*, 1998). A finales de 1980, los productores de café de Sudáfrica informaron de pérdidas de aproximadamente un 25% en tres años a partir del daño ocasionado por las larvas de *Monochamus leuconotus* (Pascoe) en las plantas (Schoeman *et al.*, 1998).

En Japón, el escarabajo longicornio con manchas amarillas *Psacotha hilaris* (Pascoe), es una de las plagas más graves de la morera (*Morus spp.*), mientras que el barrenador *Xylotrechus pyrrhoderus* (Bates,) es una de las principales plagas de los viñedos. El escarabajo longicornio con manchas blancas *Anoplophora malasiaca* (Thomson), es una de las plagas más graves en cítricos, manzana, pera, arce y sauce que se dan en Asia y otras especies de *Anoplophora spp.* han sido reconocidas a nivel mundial como plagas de importancia económica (Lingafelter y Hoebeke, 2002).

Los hábitos de las larvas de muchas familias de cerambícidos, los hacen ideales para su introducción en productos de maderas exóticas y plantas de vivero. El barrenador marrón del abeto, *Tetropium fuscum* (F.), en Nueva Escocia y Canadá, el escarabajo asiático longicornio, *Anoplophora glabripennis* (Motschulsky), en las maderas nobles de Nueva York y Chicago, y los barrenadores de eucalipto, *Phoracantha semipunctata* (F.) y *Phoracantha recurva* (Newman), en California, todos ellos tienen la similitud de atacar y matar árboles estresados (Allison *et al.*, 2004).

Otras especies invasoras como el pequeño escarabajo del cedro japonés *Callidiellum*

rufipenne (Motschulsky), se ha registrado en Italia (Campadelli y Sama, 1988) y en el Este de los EE.UU. (Maier y Lemmon, 2000), donde se ha convertido en una de las plagas más importantes de hortícolas y de árboles la familia (*Cupressaceae spp.*).

Stenidea annulicornis Brullé 1838 (*Coleoptera: Cerambycidae*), es otro escarabajo que también ha producido daños en los viñedos de algunas comarcas vitícolas de las islas canarias, en el momento del desborre de las yemas, mediante la ingesta de brotes jóvenes, sin llegar a partirlos, lo que produce un marchitamiento de la parte superior del brote (Lorenzo Bethencourt *et al.*, 2004).

2.3.3.1.- Presencia del genero *Xylotrechus* como plaga en otras partes del mundo.

Moreno (2005), hace una revisión en su tesis doctoral de las especies del género *Xylotrechus*, que tienen importancia, por los daños ocasionados, en plantas cultivadas a lo largo de todo el mundo. Dichas especies plaga son:

- *Xylotrechus quadripes* (Chevrolat, 1863)
- *Xylotrechus chinensis* (Chevrolat, 1852)
- *Xylotrechus villioni* (Villard, 1892)
- *Xylotrechus pyrrhoderus* (Bates, 1873)

Se hace una revisión de las especies del género *Xylotrechus* anteriormente citadas, y se introducen tres especies más del género *Xylotrechus*, que también se citan como plagas en otras partes del mundo (EPPO, 2005a, b, 2007).

- *Xylotrechus altaicus* (Gebler, 1836)
- *Xylotrechus namanganensis* (Heyden, 1885)
- *Xylotrechus rufilius* (Bates, 1884).

A continuación se hace una descripción de las especies del género *Xylotrechus* anteriormente citadas:

- ***Xylotrechus quadripes* (Chevrolat, 1863).**

El taladro del tallo del café blanco, *Xylotrechus quadripes* Chevrolat (*Coleoptera: Cerambycidae*) (Fig. 2.9) es la plaga más importante del café arábica en la India, Sri Lanka, China, Vietnam y Tailandia (Le Pelley, 1968; Rhainds *et al.*, 2002).

Los adultos de *X. quadripes* tienen distintos períodos de vuelo. Las hembras realizan las puestas de huevos en las grietas de la corteza. Los huevos eclosionan varios días después de la puesta, las larvas una vez en el interior de los troncos, van taponando las galerías con excrementos para disuadir a los depredadores. Las galerías, en el interior de los

troncos y de las raíces, provocan rápidamente la muerte a las plantas de hasta 7-8 años de edad, mientras que las plantas de más edad, pueden sobrevivir varios años más, pero llegando a sucumbir, al igual que las otras.

Entre las medidas de control actuales se incluye el mantenimiento de buenas zonas de sombra, ya que los adultos están más activos a la luz solar, pero a su vez, tiene el gran inconveniente de reducir la fotosíntesis y rendimiento de la planta, eliminar la corteza suelta, o el lavado de la corteza en la base del árbol, desalienta la oviposición por parte de las hembras adultas, y la poda de los árboles pueden llegar a ser efectivas, siempre y cuando la plaga no haya llegado a las raíces. El BHC (Hexacloruro de benceno), aplicado al tronco en los momentos críticos durante el periodo de vuelo era el único insecticida eficaz contra las larvas jóvenes de *X. quadripes*, pero ha sido prohibido para uso agrícola en la India y en muchos otros países. Una vez que las larvas han penetrado en el tallo, los árboles deben ser retirados y quemados para evitar la propagación de la infestación (Le Pelley, 1968; Sreedharan y Kumar, 2001; Rhainds *et al.*, 2002).

Venkateshu *et al.* (1986) describieron que el adulto macho de *X. quadripes*, consiguió atraer escarabajos hembra en el campo. Para la sintetización de una feromona sexual, Iwabuchi (1982), se basó en especies afines a *X. pyrrhoderus*, y las estructuras químicas de los componentes que fueron identificados por Sakai *et al.* (1984). Los mismos componentes se demostraron que se producían por el género *Morus*, hospedador del barrenador *X. chinensis* (Iwabuchi *et al.*, 1987; Kuwahara *et al.*, 1987).

La identificación y la síntesis de la feromona sexual masculina de *X. quadripes* podría proporcionar la base para el desarrollo de un sistema de seguimiento para esta plaga con el fin de determinar su distribución, y con el tiempo las medidas de control dirigidas a las larvas más jóvenes. Realizar un trapeo masivo, con trampas de intercepción cebadas con la feromona, permitiría proporcionar un método para el control de esta plaga, ya que ocurre en densidades relativamente bajas, y la feromona atraería a adultos femeninos, lo que afecta directamente a la puesta de huevos.



Figura 2.9: Imago de *X. quadripes*. (Imagen tomada de www.cerambycoidea.com, 2013).

La feromona ha sido identificada por Hall *et al.*, (1998), como una mezcla de (2S)-2-hidroxi-3-decanona como componente principal, y 3-hidroxi-2 decanona, en menor proporción. Esto fue confirmado por Rhainds *et al.*, (2001a), utilizando insectos en China.

- ***Xylotrechus chinensis* (Chevrolat, 1852).**

Otra especie, que produce pérdidas económicas importantes es el coleóptero cerambícido *X. chinensis* Chevrolat 1852 (Fig 2.10) y ataca la morera (*Morus* spp.) y se distribuye en Japón. La especie es univoltina y los adultos emergen entre julio y agosto. El escarabajo macho también produce un olor característico detectable durante el día, que es similar a la de los machos de la especie *X. pyrrhoderus*. La estructura química del compuesto (s) también se supone que es homóloga ya que hay muchos ejemplos del mismo compuesto o similar, y se utiliza como una feromona sexual entre especies taxonómicamente relacionadas. La identificación de los componentes del olor del adulto macho, específico del *X. chinensis*, se llevaron a cabo como posible ejemplo de feromona sexual masculina secretada en escarabajos cerambícidos.



Figura 2.10: Imago de *X. chinensis*. (Imagen tomada de www.cerambycoidea.com, 2013).

Tres componentes se encontraron como principales componentes, cuyas estructuras químicas fueron identificados como 2, 3-octadienol, 2-hidroxi-3-octanona y 3-hidroxi-2-octanona, que a la postre, sería el compuesto aislado para el control de la especie. (Kuwahara *et al.*, 1987).

- ***Xylotrechus villioni* (Villard, 1892).**

Xylotrechus villioni (Villard, 1892) (Fig.2.11), es una especie endémica de Japón, siendo un barrenador primario de los árboles de coníferas, en su mayoría de los géneros *Abies* y *Picea* (Iwata *et al.*, 1990). Se han llevado a cabo estudios (Iwata *et al.*, 1997) para un mayor conocimiento de su biología y sus características ecológicas, así como de sus estadíos larvarios a lo largo del cambium de los troncos, mediante la comprobación de todas las cicatrices y exudados de resina en los troncos de los árboles del género *Abies* spp. Aunque las cámaras pupales y los orificios de emergencia de los adultos, se encuentran principalmente en los troncos, las larvas también pueden oradar las ramas de los arboles hospedadores, (Iwata *et al.*, 1990; Adachi, 1995).



Figura 2.11: Imago de *X. villioni* (Imagen tomada de www.tskk.exblog.jp, 2013).

Tanto los estudios que se han llevado a cabo en torno a las galerías que forman esta especie en los árboles hospedadores, tanto en el campo, como en el laboratorio, han sido identificadas galerías características de *X. villioni*, por la particularidad de su morfología (espirales, tirabuzones,...) y por la presencia de excremento finos compactados con fuerza en su interior (Iwata *et al.*, 1997).

- ***Xylotrechus pyrrhoderus* (Bates, 1873).**

La larva barrenadora de *Xylotrechus pyrrhoderus* (Bates, 1873) (Fig.2.12) es una de las plagas más importantes en los viñedos de Japón. El comportamiento que realiza el adulto macho en el inicio del cortejo, implica la producción de una feromona sexual masculina, que hace atraer a las hembras, en una distancia de 1-1,5 metros. (Iwabuchi, 1982).

La feromona sexual masculina se identificó como una mezcla de dos componentes de él (2S, 3S)-octadienol (S, S-diol) y (2S)-hidroxi-3-octanona (S-ketol), aunque el detalle de su significación biológica dentro de la especie no se ha aclarado aún (Sakai *et al.*, 1984).



Figura 2.12: Imago de *X. pyrrhoderus* (Imagen tomada de © Jiří Mička, www.biolib.cz, 2013).

- ***Xylotrechus altaicus* (Gebler, 1836).**

Adquiere el nombre “altaicus” de la región del Sur de Siberia “altay”, donde existe principalmente la especie. Los adultos de *Xylotrechus altaicus* (Fig. 2.13) no se alimentan y no vuelan demasiado. Atacan a árboles situados a una distancia que no supera los 400 metros del árbol donde se han desarrollado.

Las hembras de *X. altaicus* realizan las puestas durante las dos semanas posteriores a la emergencia, siendo más intensas durante los 5-6 primeros días tras la emergencia. Las puestas las realizan en grietas que presentan las cortezas, generalmente orientadas al sur. *X. altaicus* ataca a árboles sanos, nunca a árboles enfermos o muertos. Desde la puesta de los huevos hasta a aparición de las primeras larvas transcurren de 13 a 16 días. Las larvas neonatas eclosionadas durante el primer año, comienzan a alimentarse de la corteza y posteriormente del cambium, realizando galerías en el tronco, llegando a profundidades de 20-30 cm, donde pasarán el segundo año alimentándose de la madera del huésped. En el tercer año, las larvas siguen alimentándose en la madera y gradualmente se van acercando hacia la superficie donde preparan las cámaras pupales cerca de la superficie (3-5 mm debajo de la corteza).

La fase pupal dura de 16 a 20 días a partir de los cuales, emergen los adultos, haciendo los orificios de salida de 4 a 6 mm de diámetro. Es por eso, que *X. altaicus* necesita tres años completos para desarrollarse (Cherepanov, 1952, 1981; Pavlovskii y Shtakelberg, 1955; Issaev, 1966; Maslov *et al.*, 1973; Mamaev, 1985; Maslov, 1988; Shamaev, 1994; Vorontsov, 1995).

X. altaicus solo ataca al género *Larix* spp.: *Larix sibirica*, *Larix gmelinii*, *Larix olgensis*, *Larix kamtschatica*, *Larix x maritime* (*L. gmelinii* × *L. kamtschatica*). No se ha especificado aún si *X. altaicus* ataca a especies cultivadas en Europa (*Larix decidua*, *Larix leptolepis* y sus híbridos).

X. altaicus se distribuye por Rusia (el Sur de Siberia, Transbaikalia, el Extremo Oriente), en Asia: Rusia (el Sur de Siberia, Transbaikalia, el Extremo Oriente) y el Norte de Mongolia (Pavlovskii y Shtakelberg, 1955; Issaev, 1966; Vorontsov, 1995).

Se trata de una plaga muy grave en el bosque donde ataca. Tiene el potencial para establecerse en todas las áreas donde el género *Larix* spp. puede crecer de forma natural o en plantación. A día de hoy, no se han encontrado productos fitosanitarios para el control de la plaga. En 2002, se añadió a los países miembros de la EPPO, como plaga de cuarentena, entre las que se incluyen, las importaciones desde zonas libre de la plaga (EPPO, 2005a).



Figura 2.13: Imago de *X. altaicus* (Imagen tomada de www.extension.entm.purdue.edu, 2013).

- ***Xylotrechus namanganensis* (Heyden, 1885).**

Los adultos de *X. namanganensis* son de color marrón o casi negro, de 10-20 mm de largo, con patas de color amarillo u ocre y antenas (Fig. 2.14). Los élitros son de un color más claro, ocre o marrón-ocre, en la base. El abdomen es de color rojizo u ocre. Los pelos son de color amarillo o gris, blanquecino o blanco. Los élitros tienen varias manchas de un color más claro (amarillo o blanco). Los machos son más anchos en el medio de los élitros y son iguales o más anchos en el pronoto. Las antenas son cortas, llegando sólo al primer tercio o la mitad de los élitros en el macho, y aún más corto en la hembra. El primer segmento del tarso trasero es tan largo, o incluso más largo que todos los otros segmentos juntos (Makhnovskii, 1955, 1966).

X. namanganensis se localiza en las zonas montañosas de Asia central. Su período de vuelo es muy largo, en los valles (comienzan en abril), y en las montañas (comienzan en mayo o junio), llegando ambos periodos de vuelo hasta agosto. Los adultos son fácilmente detectables, activos en la corteza. Se alimentan de néctar de las plantas del género *Apiaceae* y de la savia de las plantas hospedantes. Copulan en las flores y los troncos. Las hembras ponen los huevos en las grietas de la corteza de los troncos y de las ramas grandes. Las larvas eclosionan entre 13 y 16 días después de la puesta, y comienzan a realizar galerías bajo la corteza, para posteriormente, seguir profundizando en la madera. Las larvas comienzan a pupar después de la primavera del segundo invierno, por lo que el ciclo de vida de *X. namanganensis* dura dos años. (Pavlovskii y Shtakelberg, 1955; Makhnovskii, 1955, 1966; Kadyrov, 1988; Wang *et al.*, 1999).

X. namanganensis ataca a numerosas especies leñosas, incluso a los árboles plantados en calles y en parques de ciudades (*Celtis australis*, *Elaeagnus angustifolia*, *Platanus hispanica*, *Populus alba*, *Populus nigra*, *Ulmus minor*, *Ulmus pumila*, *Alnus glutinosa*, *Salix alba* y *Salix* spp.) y diversas especies de árboles de fruta (*Juglans regia*, *Malus domestica*, *Morus nigra*, *Prunus armeniaca*, *Prunus avium*, *Prunus dulcis*). Otros géneros también se registran como huéspedes (*Betula* y *Crataegus*). (Pavlovskii y Shtakelberg, 1955; Makhnovskii, 1955, 1966; Romanenko, 1981; Kadyrov, 1988).

Los síntomas que muestran las plantas atacadas por *X. namanganensis* son los orificios de emergencia de los adultos en troncos y grandes ramas, perforaciones en la base de los árboles infectados, marchitamiento y secado de las hojas, retrasos en la brotación, y

pérdida de vigor y pérdida de valor de la madera para su comercialización. *X. namanganensis* ataca tanto a árboles con estresados como arboles sanos de diferentes edades. Cuando un árbol es atacado por un número significativo de estos escarabajos longicornicos, el árbol puede llegar a morir en 1 ó 2 años tras el primer ataque. La concentración de la plaga puede llegar a ser muy alta, llegando a registrarse de 5 a 10 orificios de emergencia por 10 dm² de la superficie del huésped.

Su distribución geográfica se extiende por Afganistán, China (Xinjiang), Irán, Kazajstán, Kirguistán, Tayikistán, Turkmenistán, Uzbekistán (Pavlovskii y Shtakelberg, 1955; Makhnovskii, 1955, 1966; Romanenko, 1981, Kadyrov, 1988; Wang y col., 1999).

El gran impacto económico que *X. namanganensis* produce es debido a que es una plaga importante de los bosques, especies ornamentales y árboles frutales de hoja caduca en la región de su distribución actual (Montañas de Asia Central), sobre todo de *Populus* y *Salix* spp. en los bosques de ribera, *Elaeagnus* spp. en cortavientos, árboles frutales en los valles, plantas ornamentales y plantaciones en ciudades. Su mayor impacto es en las ciudades situadas en condiciones climáticas cálidas y secas, donde los grandes árboles de hoja caduca tienen un carácter de utilidad especial y son difíciles de reemplazar (Makhnovskii, 1955, 1966).

Se han llevado a cabo importantes esfuerzos de control en los países en los que se distribuye *X. namanganensis*. Las medidas de control incluyen medidas fitosanitarias, como por ejemplo la eliminación de cortes de plantas afectadas, la plantación de especies y variedades de árboles más resistentes, tratamientos con insecticidas químicos y biológicos (Makhnovskii, 1955, 1966; Wang y col., 1999).

X. namanganensis se considera como una plaga muy grave de bosques, árboles ornamentales y frutales en los países donde se produce. En vista de las condiciones climáticas cálidas y secas en sus países de origen y la distribución actual, se ha optado por establecer medidas preventivas en los países mediterráneos de la región de la EPPO (European and Mediterranean Plant Protection Organization) donde existen plantas huésped de la misma especie. El principal riesgo fitosanitario viene dado por el movimiento de material de relleno sin tratar o por embalajes de madera.

X. namanganensis se añadió en 2004 a la acción EPPO para elaborar una lista con una serie de países en peligro, y regular una serie de medidas de cuarentena para esta plaga, incluyendo una serie de medidas fitosanitarias para su exclusión, entre las que se encuentran, partidas de material desde zonas libres, embalaje de madera deben cumplir las normas de la ISPM N°15 (International Standards For Phytosanitary Measures) (International Commission on Phytosanitary Measures, ICPM, 2003), plantas para la siembra de especies deben estar latentes y sin hojas o restos vegetales, para maderas de plantas hospedantes, descortezado, secado u otro tratamiento (EPPO, 2005b, 2007).



Figura 2.14: Imago de *X. namanganensis* (Imagen tomada de © Václav Hanzlík, www.biolib.cz, 2013).

- ***Xylotrechus rufilius* (Bates, 1884).**

Los adultos de *Xylotrechus rufilius* miden entre 8 y 13 mm de longitud, se diferencian de todos los demás especies del género *Xylotrechus* el pronoto de color rojo y los élitros cortos (su longitud es el doble de la anchura) (Cherepanov, 1988; Dobesberger, 2004) (Fig. 2.15).

Los árboles a los que ataca son los del género *Acer* spp. *Ulmus* spp. y *Fraxinus* spp., atacando a árboles vivos, muertos o talados recientemente. Las hembras ponen los huevos individualmente o en grupos, dentro de la corteza, tras la eclosión de los huevos, las larvas comienzan a alimentarse de la corteza, realizando galerías transversales. Si las puestas se realizan en grupos, los huevos quedan orientados en diferentes direcciones. Las longitudes de las galerías de las larvas es de aproximadamente 28 cm de longitud de media, con una anchura inicial de 1mm, y 12 mm en la parte final (Cherepanov, 1988). Las cámaras pupales llegan a ser de 15 a 19 mm de largo por 5 a 7 mm de ancho. Un ataque de *X. rufilius* excesivo, puede llegar a originar una reducción en el crecimiento del árbol, marchitez, enanismos, y muerte de agunas ramas (Dobesberger, 2004). Se distribuye en la parte asiática de Rusia, Japón, noreste de China y Korea (Cherepanov, 1988).



Figura 2.15: Imago de *X. rufilius*. (Imagen tomada de www.zin.ru/animalia/coleoptera/rus/xylrufms.htm www.zin.ru, 2013).

2.3.3.2.- Presencia del genero *Xylotrechus* como plaga en otras partes de Europa.

Atendiendo a la última fecha de actualización, 24 de mayo de 2013, de la base de datos de la Fauna Europaea, (Fauna Europaea, 2013), estas son las siete especies del género *Xylotrechus*, presentes en Europa:

- *Xylotrechus arvicola* (Olivier, 1795)
- *Xylotrechus ibex* (Gebler, 1825)
- *Xylotrechus pantherinus* (Savenius, 1825)
- *Xylotrechus stebbingi* (Gahan, 1906)
- *Xylotrechus antilope* (Schönherr, 1817)
- *Xylotrechus capricornis* (Gebler, 1830)
- *Xylotrechus rusticus* (Linnaeus, 1758)

A continuación se hace una descripción de las especies del género *Xylotrechus* anteriormente citadas:

- ***Xylotrechus ibex* (Gebler, 1825).**

Se distribuye por Alemania, Polonia, Finlandia y parte oriental de Rusia. Los adultos (Fig. 2.16) tienen una longitud de 8,5 a 17 mm. La cabeza, el pronoto, las patas y las antenas son negras. Élitros negros con un dibujo de bandas transversas blanco o amarillento.

Se desarrolla principalmente en *Betula*, pero también en *Ulmus*, *Caprinus* y *Alnus*. Las larvas se alimentan debajo de la corteza de brazos y troncos muertos (Moreno, 2005).



Figura 2.16: Imago de *X. ibex*. (Imagen tomada de © M. Hoskovec, www.cerambyx.uochb.cz, 2013).

- ***Xylotrechus pantherinus* (Savenius, 1825).**

La distribución geográfica europea es Rusia, Cáucaso norte y Kazajistan.

El adulto (Fig. 2.17) tiene una longitud de 10 a 20 mm, el cuerpo es negro o marrón oscuro con manchas blanquecinas y franjas transversales aparte de una pubescencia irregular de fondo.

Se desarrolla sobre especies de sauce (*Salix caprea*). Las larvas infestan troncos de árboles vivos o recién muertos (Moreno, 2005).



Figura 2.17: Imago de *X. pantherinus*. (Imagen tomada de © M. Hoskovec, www.cerambyx.uochb.cz, 2013).

- ***Xylotrechus stebbingi* (Gahan, 1906).**

Esta especie es originaria de la India y del Tibet, y desde hace unos años, se ha instalado en Europa.

X. stebbingi se extendió y se aclimató rápidamente en Suiza, Francia, Grecia (Sama y Cocquempot, 1995; Sama, 1999; Braud *et al.*, 2002; Brustel *et al.*, 2002; Colombi y Brunetti, 2002; Teunissen, 2002; Rahola, 2003; Dauber, 2004; Goujet y Rahola, 2004; Wittenberg, 2005; Sama, 2007), mientras que solo se interceptó en Alemania (Kohler, 2000). Ha sido introducido en Israel (Pavlicek *et al.*, 1998; Sama, 2007). Es por tanto que se le considera como una de las especies exóticas invasoras más importantes de los últimos años en Europa.

Los adultos (Fig. 2.18) tienen una longitud de 12-23mm. Las larvas son polífagas de árboles caducifolios, atacando a troncos y grandes ramas, entre ellos *Morus alba* L. Esta especie vive a expensas de diferente especies como *Alnus* spp., *Ficus* spp., *Morus* spp., *Populus* spp., *Rhus* spp.



Figura 2.18: Imagos de *X. stebbingi*. Izquierda (Macho), derecha (Hembra). (Imagen tomada de © M. Hoskovec, www.cerambyx.uochb.cz, 2013).

- ***Xylotrechus capricornis* (Gebler, 1830).**

Esta especie, que pasa su estado larvario sobre abedul (*Betula verrucosa*), se distribuye exclusivamente por los países del Este.

Los adultos (Fig. 2.19) tienen una longitud de 9 a 14 mm. La cabeza, las patas y las antenas son negras. El pronoto también es negro y frecuentemente presenta dos manchas pálidas con forma de discos. Los élitros son negros con un dibujo de bandas transversas blanco o amarillento. Las antenas son muy cortas. (Moreno, 2005).



Figura 2.19: Imago de *X. capricornis*. (Imagen tomada de © M. Hoskovec, www.cerambyx.uochb.cz, 2013).

- ***Xylotrechus antilope* (Schönherr, 1817).**

Los adultos (Fig. 2.20) tienen una longitud de 6-12 mm. La coloración es pardo oscura, casi negra. El pronoto, los élitros, y la parte inferior del cuerpo están provistos de bandas de pubescencia amarilla. Las antenas y las patas rojizas. Posee cuatro pequeñas manchas de tomento amarillo situadas en cada uno de los cuatro ángulos del pronoto. Los élitros son cortos y estrechados en su parte posterior. La banda basal en esta especie es

claramente oblícua. Su larva vive perfectamente sobre *Quercus*, pero es citado también sobre *Fagus* (Moreno, 2005).

Althoff y Danilevsky (1997) describen dos subespecies de *X. antilope*:

- *spp. antilope* (Schönherr, 1817), distribuido en Europa, el Cáucaso, Norte de África, Oriente Próximo e Irán.
- *spp. sekeari* (Paulian, 1986), citado en Córcega (Francia).



Figura 2.20: Imagos de *X. antilope* spp. *antilope* Izquierda (Hembra), derecha (Macho). (Imagen tomada de © M. Hoskovec, www.cerambyx.uochb.cz, 2013).

- ***Xylotrechus rusticus* (Linnaeus, 1758).**

El adulto de *Xylotrechus rusticus*, también es conocido como “el escarabajo-tigre gris” (“the grey tiger longicorn”) (Fig 2.21), y sus larvas son muy voraces cuando atacan a los tallos, donde las hembras realizan las puestas, concentrándose el daño de las larvas en el xilema. Se citó por primera vez en China, en la década de los años 70, y sus daños se han ido extendiendo gradualmente en áreas próximas. Se ha catalogado como especie de cuarentena por la Administración Forestal del Estado (China).

Las medidas de control encontradas hasta el momento consiguen pequeños efectos en el control de la plaga.



Figura 2.21: Imagos de *X. rusticus*. Izquierda (Macho), derecha (Hembra). (Imagen tomada de © M. Hoskovec, www.cerambyx.uochb.cz, 2013).

2.4.- DESCRIPCIÓN DE *XYLOTRECHUS ARVICOLA* (OLIVIER, 1795).

La posición taxonómica del género *Xylotrechus*, se describe en la Tabla 2.6.

Tabla 2.6: Posición taxonómica del género *Xylotrechus*.

REINO	<i>Animale sensu L., 1758</i>
SUBREINO	<i>Eumetazoa Butschli, 1910</i>
FILO	<i>Arthropoda Siebold, 1846</i>
SUBFILO	<i>Hexapoda Blainville, 1816</i>
CLASE	<i>Insecta L., 1735</i>
ORDEN	<i>Coleoptera L., 1746</i>
SUBORDEN	<i>Polyphaga Emery, 1886</i>
INFRAORDEN	<i>Cucujiformia Latreille, 1802</i>
SUPERFAMILIA	<i>Cerambycoidea Latreille, 1802</i>
FAMILIA	<i>Cerambycidae Latreille, 1802</i>
SUBAFAMILIA	<i>Cerambycinae Latreille, 1802</i>
GENERO	<i>Xylotrechus Chevrolat, 1860</i>
ESPECIE	<i>arvicola Olivier, 1795</i>

2.4.1.- INTRODUCCIÓN.

Xylotrechus arvicola (Olivier, 1795), es un coleóptero cerambícido más conocido como “tornillo de la vid”, por la forma de sus larvas. Desde finales de los años 90 se ha detectado daños de importancia en los viñedos de Castilla y León (Peláez *et al.*, 2001), La Rioja (Ocete y Del Tío, 1996), Castilla La Mancha (Rodríguez *et al.*, 1996) y Navarra (EVENA, 2005; Moreno, 2005).

2.4.2.- MORFOLOGÍA.

Los adultos de *X. arvicola* (Fig 2.22) pueden medir entre 8 y 20 mm de longitud. El tamaño medio de la hembra es mayor que el del macho. Su coloración es parda o negruzca, con bandas pronotales y elitrales claras, generalmente amarillas. Las antenas y las patas son más claras, de color ámbar o rojizo. Las antenas, largas y delgadas, no sobrepasan 1/3 de la longitud del cuerpo en su conjunto y las patas son más oscuras en los machos que en las hembras, con tonalidades amarillo-rojizas (Moreno *et al.*, 2002).

La cabeza es ancha, surcada por una cresta en forma de “V”. El pronoto, globuloso y rasposo, presenta cuatro manchas amarillas, una en cada ángulo.

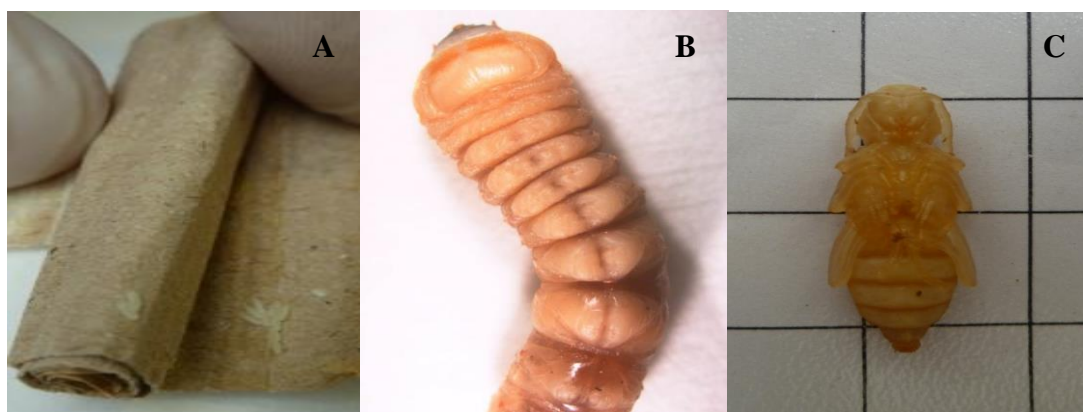
Los élitros son cuneiformes y están también provistos de bandas claras bastante variables, aunque casi siempre aparece una ancha en la base de los élitros, cruzándolos de lado a lado, otra en el ápice basal corta y oblicua, una banda sutural anterior recurvada, que desde la mitad del élitro se dirige a su parte externa, y una apical entera (Vives-Noguera, 2000).



Figura 2.22: Imagos de *X. arvicola*. Izquierda (Macho), derecha (Hembra). (Imagen tomada de © M. Hoskovec, www.cerambyx.uochb.cz, 2013).

Los huevos (Fig. 2.23A) son de color blanquecino o crema bastante homogéneo y alargados, con una longitud media en torno a 1,8 mm y una anchura media de aproximadamente 0,7 mm (Moreno, 2005).

Las larvas (Fig. 2.23B) son ápodas, blancas y troncocónicas, de un tamaño medio de unos 22 mm en el último estadio, aunque pueden llegar a los 32 mm (Moreno *et al.*, 2003). La cápsula cefálica, muy embutida en el protórax, es de color blanquecino con la parte anterior fuertemente esclerotizada. Las antenas son triarticuladas y las mandíbulas, robustas de color marrón rojizo con puntas redondeadas. Las pupas (Fig. 2.23C) son exaratas, de color crema y ligeramente ovaladas, de unos 17,5 mm de tamaño medio. Presentan fuertes espinas en el séptimo segmento abdominal (Moreno, 2005).



Figuras 2.23: Huevos (A), larva (B) y pupa (C) de *Xylotrechus arvicola*.

2.4.3.- BIOLOGÍA.

El ciclo biológico de *X. arvicola* dura como máximo dos años (Vives-Noguera, 2000). La emergencia de adultos es muy escalonada y se produce principalmente entre finales de

marzo y finales de julio, coincidiendo con la subida de temperatura. El pico de máximo vuelo suele producirse en los meses de mayo y junio, observándose un mayor número de machos en los primeros días. Se mueve, principalmente, entre la vegetación y las flores, pero tiene capacidad para dar vuelos cortos (García Ruiz, 2009).

Después de la cópula, pocos días tras la emergencia, realizan la puesta. Los huevos se concentran en rendijas de la madera de plantas leñosas o debajo del ritidoma (Peláez *et al.* 2002). La localización de la puesta facilita que las larvas emergentes no tengan problemas para introducirse en la madera y realizar galerías hacia el interior de la planta (García Ruiz, 2009).

La fase larvaria tiene una duración media de dos años en condiciones de campo, aunque puede reducirse a la mitad en condiciones controladas de laboratorio. A medida que las larvas van realizando las galerías las van taponando por detrás con serrín y restos propios (Fig. 2.24). Permanecen alimentándose de la madera en los brazos, el tronco e incluso en algunos casos en la zona del patrón, realizando galerías, en sentido horizontal o vertical, ascendente o descendente, en madera sana o seca (Moreno, 2005).



Figura 2.24: Galerías realizadas en el interior de las plantas por larvas de *X. arvicola*, y posterior taponado con serrín.

Aún no se conoce el número exacto de estadios larvarios, posiblemente entre 6 y 8, aunque se cree que pueda ser variable, como ocurre en otras especies de la misma familia, como es el caso de *Anoplophora malasiaca* Thomson (Coleoptera: Cerambycidae) (Adachi, 1988). Posteriormente, excavan la cámara pupal (Fig. 2.25), una galería de una anchura mayor que el resto, limpia de serrín y conectada con el exterior (García Ruiz, 2009) (Fig. 2.26).



Figura 2.25: Detalle de cámara pupal



Figura 2.26: Orificio de salida hacia el exterior desde la cámara pupal

.En la cámara, la larva se transforma en pupa y permanece hasta convertirse en adulto, que emerge una vez que se ha quitinizado y melanizado correctamente (Fig. 2.27). Esta fase se alarga desde finales del invierno hasta poco antes de la emergencia de los últimos adultos, en verano (Moreno, 2005). Por tanto, durante los meses de abril, mayo y junio pueden verse simultáneamente en el campo, pero no así en el laboratorio, donde los estados de desarrollo son independientes del mes, como se verá en el capítulo cuarto de la presente tesis.



Figura 2.27: Quitinizado y melanizado de adultos en la cámara pupal.

Los adultos en el campo no son fáciles de ver, sobre todo en las horas posteriores a la emergencia, cuando el tegumento todavía está blando. En ocasiones son observables al sol sobre las hojas de las vides. A pesar de su color aposemático (el negro y amarillo como en abejas y avispas es señal de peligro) son totalmente inofensivos para las personas (Peláez *et al.*, 2006).

2.4.4.- DISTRIBUCIÓN.

Esta especie es originaria de árboles de ribera pero se ha encontrado en árboles pertenecientes a los géneros *Quercus*, *Carpinus*, *Castanea*, *Fagus*, *Populus*, *Salix*, *Tilia*, *Morus*, *Sorbus*, *Crataegus*, *Prunus*, *Malus* y *Cidonia* (Bahillo, 1996; Vives-Noguera, 2000; Moreno, 2005).

Especie típicamente holomediterránea, se encuentra distribuida por Europa, Asia Menor hasta Irán y norte de África (Villiers, 1978). Es común en toda la Península (aunque más abundante en la parte norte) y en las Islas Baleares (García Ruiz, 2009).

Se trata de una especie xilófaga extraordinariamente polífaga, que ha sido citada desde antiguo sobre madera muerta o en árboles debilitados de numerosas especies de hoja caduca (Picard, 1929; Villiers, 1978; Vives-Noguera, 1984).

Desde mitad de los años 90 viene siendo detectada como causante de graves daños sobre parcelas de vid en diferentes zonas vitícolas españolas. En 1996 ya se citaba su presencia en La Rioja Alta y Alavesa (Ocete y Del Tío, 1996; Ocete y López, 1999), y en Navarra, se observaron parcelas con un 81% de cepas infestadas (Ocete *et al.* 2002). En 1997 se detectaba en Castilla-La Mancha (Rodríguez y Ocaña, 1997) y posteriormente en Castilla y León (Ocete y López, 1999, Peláez *et al.* 2001), donde en los últimos años se ha producido un fuerte incremento en el número de parcelas afectadas (Moreno *et al.*, 2004a).

Se considera que es una plaga en progresión, ya que se ha producido un importante aumento en el número de parcelas y cepas afectadas en pocos años, incluso tratándose de viñedos jóvenes (García Ruiz, 2009).

Estudios llevados a cabo por Moreno *et al.* (2004a) en Castilla y León indican que el grado de ataque y daños del perforador está íntimamente relacionado con la variedad del cultivo, así como con el sistema de conducción, mayor en vaso, y la edad del viñedo, mayor cuanto más edad tiene la cepa.

También se ha citado en Navarra, en los troncos de árboles del endrino, *Prunus spinosa*, donde el ataque de *X. arvicola* ocasionó el debilitamiento de los árboles afectados, y la muerte o rotura de alguno de los brazos de los mismo (Biurrun *et al.*, 2007).

2.4.5.- SÍNTOMAS Y DAÑOS.

Los síntomas visibles de la presencia del coleóptero en un viñedo son las galerías producidas por las larvas, que se observan en los cortes de poda (Fig. 2.28), y los orificios de emergencia de los adultos, circulares y de unos 5 mm de diámetro (Fig. 2.29). Las galerías pueden estar rellenas de serrín de color blanquecino si son del año, debido a que el insecto ha discurrido por allí recientemente, o bien están ennegrecidas o vacías por el viento o lluvia cuando son galerías viejas (Peláez *et al.*, 2006).

Hay que tener en cuenta que la observación de un orificio de emergencia de una cepa supone que ha sido colonizada durante aproximadamente 2 años por una larva que se ha alimentado de la madera, con una consecuente pérdida de capacidad vegetativa al ver disminuida su sistema xilema-floema y un aumento notable de la fragilidad de la cepa (Moreno, 2005).



Figura 2.28: Síntomas de larvas de *X. arvicola* en cortes de poda



Figura 2.29: Orificio de emergencia de imagos de *X. arvicola*.

Un síntoma que manifiesta la presencia de *X. arvicola* en un viñedo es el alto número de cepas con brazos o sarmientos quebrados, y nuevas formaciones en vaso (Fig. 2.30) o en espaldera (Fig. 2.31) de cepas muy afectadas.

Si existe una alta infestación, se puede producir la rotura de brazos y tronco como consecuencia de la pérdida de resistencia mecánica y la muerte precoz de la planta.



Figura 2.30: Síntomas y nuevas formaciones en vaso.

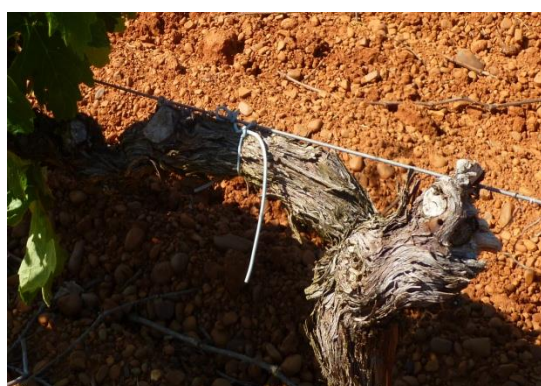


Figura 2.31: Síntomas y nuevas formaciones en espaldera

Estos síntomas son más fáciles de ver en el momento de la parada vegetativa y sobre todo después de la poda. En ocasiones pueden confundirse los síntomas con los producidos por otros insectos también xilófagos como *Bostrichus capucinus* Linnaeus 1758 (*Coleoptera: Bostrichidae*) o *Clytus arietis* Linnaeus 1758 (*Coleoptera: Cerambycidae*) (Peláez *et al.*, 2006).

Si la cepa se ve afectada durante varios años, el desarrollo foliar se vuelve escaso y los sarmientos poco vigorosos y productivos (Moreno *et al.*, 2004). Los racimos son más pequeños, tanto en longitud como en número de flores, además de que éstas se desprenden más fácilmente (Ocete *et al.*, 2002).

Por último, la acción de las larvas de este coleóptero favorece la propagación de hongos

de la madera hacia el interior de la cepa y existe un alto grado de asociación entre los daños directos (por *X. arvicola*) e indirectos (por el ataque de hongos) especialmente en algunas variedades (Ocete *et al*, 2002).

Una vez conocidos y estudiados los distintos síntomas visibles que *X. arvicola* podía mostrar en un cultivo afectado, han sido varios los autores (Moreno, 2005; Biurrun *et al.*, 2007; Ocete, 2010) que han descritos distintas metodologías de muestreo para evaluar la distribución geográfica de *X. arvicola* dentro de un cultivo afectado.

Moreno (2005) marcaba en cada parcela de viñedo, un cuadro de 450 cepas, 10 líneas por 45 cepas, de forma que la cepa número 1 estaba situada siempre al noroeste. Si las dimensiones de la parcela lo permitían, alternaba líneas que no muestreaba, permitiéndole así aumentar el área de muestreo por parcela. Cada cepa las examinaba de forma individual, anotando con el calificativo de positivo o negativo, los síntomas de la presencia o no, respectivamente, de la presencia del xilófago. Dentro de cada marco de control establecido (por ejemplo, en un marco de 10 líneas, por 45 cepas por línea), la autora muestreaba los líneas 1,5 y 10, que suponían un total de 135 plantas, en la que no tenía en consideración las marras, patrones y cepas jóvenes. Cada planta/cepa/vid se referenció con un GPS.

Otra metodología de muestreo descrita en viñedo, es la realizada por Ocete (2010), en la que realiza un muestreo durante 9 años (del año 2000 al 2008) sobre una parcela de viñedo de 1,5 ha de superficie, de la variedad Tempranillo con sistema de conducción en vaso. En la parcela, elegía 1 de cada 3 líneas, hasta un máximo de 10 líneas, y en cada línea, elegía 1 de cada 3 cepas, hasta llegar también a un máximo de 10 cepas. En total evaluaba 100 cepas de las que anotaba las coordenadas de cada una mediante un GPS. Otras 100 cepas situadas en las dos diagonales mayores de la parcela eran observadas cada año para comprobar la presencia o ausencia de síntomas de *X. arvicola*. Obtuvo nueve mapas con la evolución de la densidad poblacional de cada año según la presencia o ausencia de orificios de emergencia de *X. arvicola* utilizando el programa Surfer 7 (Software de Golden, Golden, CO, USOS), que comparó con la estabilidad a largo tiempo de las poblaciones de *X. arvicola*.

Biurrun *et al.*, (2007) para conocer cuál sería la mejor época para el tratamiento frente a adultos de *X. arvicola*, que habían ocasionado el debilitamiento de árboles del endrino, *Prunus spinosa*, seleccionó una serie de árboles en la parcela afectada y los rodeó de una malla, que permitió la recogida de adultos de *X. arvicola*, conforme fueran emergiendo. Con revisiones periódicas supervisaba las emergencias, tapaba los orificios con plastilina, y de este modo pudo saber cuáles eran los orificios nuevos si los adultos conseguían escapar de las mallas. La posibilidad de realizar tratamientos frente a la plaga se localizaban entre mayo y junio, periodo en el que emergían el 80% de los adultos de *X. arvicola*.

2.5.- CRÍA EN CAUTIVIDAD DE CERAMBICIDOS.

2.5.1.- INTRODUCCIÓN.

En la obra *Fauna des Coléopteres de France. I. Cerambycidae*, se dice textualmente:

«sería deseable que los entomólogos se aficionaran al método de cría, único susceptible de aportar precisiones sobre el modo de vida de estos xilófagos y de permitir con certeza la determinación de las larvas, de las cuales muy pocas son conocidas de forma satisfactoria» (Villiers, 1978).

Criterios similares son expuestos en el desarrollo de una dieta definida para la cría individual de insectos lignícolas por Notario (1978), ya que los objetivos que se deseaban alcanzar con la aplicación de esta dieta artificial son:

- Obtención y determinación de adultos.
- Obtención de pupas.
- Estudio de ciclos biológicos.
- Estudio de la influencia de factores externos.
- Obtención de endoparásitos y estudios citogenéticos.

Los estudios sobre nutrición que se han aplicado a la familia *Cerambydae* son escasos comparados con la importancia y cantidad de especies que comprende, unas 20.000. Harley y Willson (1968) son los primeros que crían artificialmente un cerambícido, *Plogiohammus spinipennis* Thomson, con una dieta compuesta de celulosa, sacarosa, almidón soluble, dextrosa, sales de Wesson, caseína, colesterol, ácido linoleico, lecitina, agar, agua, ácido sórbico, metil p-hidroxibenzoato, alcohol etílico y solución vitamínica (Baragaño *et al.*, 1981).

La dificultad a la hora de criar cerambícidos en condiciones de laboratorio durante mucho tiempo había dificultado el avance en la investigación sobre esta familia de insectos (Linsley, 1959; Payne *et al.*, 1975).

El mantenimiento de cerambícidos sobre dieta artificial en un número de individuos relativamente pequeño, buscaba la finalidad de avanzar en estudios sobre taxonomía o estudios citogenéticos de la especie (Gardiner, 1970; de Viedma *et al.*, 1985).

2.5.2.- DIETAS ARTIFICIALES.

El uso de dietas artificiales para el mantenimiento de poblaciones de insectos en el laboratorio es una práctica necesaria cuando se requiere un gran número de ejemplares en un tiempo discreto. Las dietas artificiales confieren una ventaja fundamental, y es su independencia de los recursos estacionales, lo que permite una cría continuada del insecto con el fin de ser utilizado para ensayos en el laboratorio o para el estudio de su ecología, fisiología y comportamiento (Singh, 1983).

La cría artificial puede llevarse a cabo mediante alimentos naturales o artificiales. Es evidente que las dos modalidades son idóneas para lograr los objetivos indicados con anterioridad. El uso de alimentos naturales puede presentar algunos problemas, de los cuales, y tal vez los más importantes, son la consecución y el mantenimiento en fresco de tales alimentos. Un modo de paliar estos inconvenientes es mediante el empleo de la dieta

artificial (Baragaño *et al.*, 1981). Por otro lado, la facilidad de la elaboración de ésta en el laboratorio y su mayor perdurabilidad son indudables ventajas. Si a esto añadimos la posibilidad de poder controlar las condiciones ambientales, se puede reducir el ciclo biológico de algunos insectos lignícolas, hecho muy importante, ya que sus estadios larvarios son, a veces, extraordinariamente largos (Baragaño *et al.*, 1981).

Algunos autores han demostrado la reducción del ciclo de vida del insecto al usar dietas artificiales, como es el caso de Gardiner (1970), que redujo el tiempo de desarrollo larvario de un gran número de cerambícidos, entre los que se encuentran algunas especies del género *Xylotrechus* Chevrolat 1860. Los cerambícidos son, sin embargo, un grupo que presenta dificultades en su cría en laboratorio, que viene condicionada por una alta tasa de mortalidad en el estado larvario y ciclos biológicos muy largos (Galford, 1985; Linit, 1985).

A pesar de esto, este grupo de coleópteros cuenta con algunas de las especies-plaga más importantes que son causa de enormes pérdidas en productividad de un gran y variado número de especies forestales y agrícolas en todo el mundo. Por ello, son abundantes los investigadores que han centrado sus esfuerzos en la cría en laboratorio de estas especies, con el fin de estudiar posibles métodos de control biológico, estudios bionómicos, etológicos, bioensayos con plaguicidas, etc, (Viedma *et al.*, 1983). Entre los diversos autores que con éxito han probado la cría en estas dietas podemos citar a Harley y Willson (1968), Wollerman *et al.* (1969), Gardiner (1970), Hatchett *et al.* (1973), Galford (1974), Payne *et al.* (1975), Notario (1978), Campadelli (1982), Baragaño *et al.* (1981), Viedma *et al.* (1983), Iglesias (1988), Iglesias *et al.* (1989) Kosaka & Ogura (1990), Lee y Lo (1998), Dubois *et al.* (2002), Wang *et al.* (2002), Rogers *et al.* (2002), Moreno (2005), Lieutier *et al.* (2008), García Ruiz, (2009), Dojnov *et al.* (2012).

Sin embargo, la cría de cerambícidos sobre la dieta artificial para estudios conductuales o ecológicos puede tener tres desventajas:

- Puede ser difícil desarrollar una dieta que las larvas de los insectos ingieran, y que ésta, proporcione todas las sustancias nutritivas necesarias para su desarrollo (Hanks *et al.*, 1993a).
- Las etapas larvarias de los coleópteros cerambícidos son altamente largas (Linsley, 1962), y la cría de estos puede ser muy costosa debido a la necesidad de transferir larvas periódicamente a recipientes con dietas frescas (Linit, 1985).
- La dieta artificial puede influir en la fisiología adulta y el comportamiento, causando diferencias entre insectos de campo y de laboratorio (Stanic *et al.* 1989). La cría de cerambícidos en laboratorio elimina la cría de éstos en hospedadores naturales y sus componentes dietéticos, que pueden llegar a ser más simples y productivos que la utilización de una dieta artificial.

2.5.3.- CRÍA EN CAUTIVIDAD DE *X. arvicola*.

2.5.3.1.- Antecedentes.

Moreno (2005), en su tesis doctoral, evaluó 4 dietas para la cría en laboratorio de *X. arvicola* (Tabla 2.7), una dieta semisintética adaptada de Viedma *et al.*, (1983), dos dietas sintéticas (Gardiner ,1970 y Notario, 1978), y una natural (utilizando serrín de vid y encina), para mantener en cría las larvas vivas que eran extraídas en las aperturas de cepas, ensayo en el que realizaba un seguimiento del ciclo biológico en el interior de la cepa y que le permitió determinar en cada uno de los meses del año el número y situación de las larvas o pupas de *X. arvicola* con respecto al conjunto de la cepa. Consiguió reproducir el ciclo completo de *X. arvicola*, siendo la duración del estado larval de un año.

A raíz de los estudios iniciales realizados por Moreno (2005) en cuanto a las dietas artificiales para larvas de *X. arvicola*, García Ruíz (2009) planteó la obtención de una dieta artificial para la cría de *X. arvicola* en laboratorio que, además de adecuarse a los requerimientos nutricionales para un correcto metabolismo y desarrollo en su ciclo completo, facilitara el manejo de los estadíos larvarios de *X. arvicola*.

García Ruiz (2009) probó cuatro dietas (Tabla 2.8) que podían ofrecer buenos resultados para la cría de *X. arvicola* en laboratorio, dos basadas en la empleada para la cría de coleópteros lignícolas del tocón de pino, propuestas por Iglesias *et al.* (1989), denominadas SSI (Semisintética de Iglesias) y SI (Sintética de Iglesias) y otras dos basadas en la propuesta por Rogers *et al.* (2002), para la cría de *Prionoplus reticularis* White 1843, cerambícido presente en madera de numerosas especies forestales en Nueva Zelanda, denominadas R (Rogers) y RM (Rogers Modificada). Para la evaluación de cada dieta empleó 70 larvas neonatas de (<24 h) de *X. arvicola*, excepto en la dieta SSI, en la que empleó 140.

Tabla 2.7: Composición de las dietas Semisintética (adaptada de Viedma *et al.*, 1983), Sintéticas (Gardiner, 1970 y Notario, 1978).

COMPONENTES	SEMISINTÉTICA (Adaptada de Viedma <i>et al.</i> , 1983)	SINTÉTICA (Gardiner, 1970)	SINTÉTICA (Notario, 1978)
	Peso/Volumen	Peso/Volumen	Peso/Volumen
Agua Destilada	200 cm ³	200 cm ³	80 cm ³
Agar	10 g	-	4 g
Agar 4%	-	62 ml	-
Caseína libre de vitaminas	-	3,5 g	1,2 g
Serrín de vid o encina triturado y esterilizado	44 g	-	-
Celulosa	-	0,5 g	2 g
Sacarosa	-	3,5 g	2,5 g
Glucosa	-	-	1,5 g
Levadura de cerveza	11 g	-	3 g

Tabla 2.7: Composición de las dietas Semisintética (adaptada de Viedma *et al.*, 1983), Sintéticas (Gardiner, 1970 y Notario, 1978). (continuación).

COMPONENTES	SEMISINTÉTICA (Adaptada de Viedma <i>et al.</i> , 1983)	SINTÉTICA (Gardiner, 1970)	SINTÉTICA (Notario, 1978)
	Peso/Volumen	Peso/Volumen	Peso/Volumen
Hidróxido potásico 4 M	-	0,5 ml	-
Solución de Nipagina	20 cm ³	-	-
Cloruro de colina	-	0,1 g	-
Ácido Benzoico	1 g	-	0,1 g
Sémola de Maíz	22 g	-	-
Mezcla de sales Wesson	-	1,0 g	1,0 g
Germen de Trigo	44 g	3,0 g	-
Solución de Vitaminas	-	1,0 ml	2,0 ml
Aureomicina	-	0,03 g	-
Formaldehído 37%	-	0,05 ml	-
Ácido sórbico	-	-	0,05 g
Ácido ascórbico	0,4 g	0,4 g	0,4 g

De las cuatro dietas empleadas, solo consiguió la supervivencia de las larvas en la dieta Semisintética de Iglesias (SSI) y en la Dieta Rogers Modificada (RM), logrando una supervivencia del 73,04% y del 1,43% respectivamente. Los valores de supervivencia, del número de larvas que iban alcanzando cada etapa del desarrollo de *X. arvicola*, para la dieta (SSI) fue, larvas (44,29%, de un total de 140), prepupas (90,32%, de un total de 62), pupas (89,29%, de un total de 56) y larva-adulto (35,71%, de un total de 50).

Tabla 2.8: Composición de las dietas Semisintética de Iglesias SSI (Iglesias *et al.*, 1989), Sintética de Iglesias SI (Iglesias *et al.*, 1989), R (Rogers, 2002) y RM (Rogers, 2002).

COMPONENTES	SEMISINTÉTICA (Iglesias <i>et al.</i> , 1989)	SINTÉTICA (Iglesias <i>et al.</i> , 1989)	DIETA R (Rogers, 2002)	DIETA RM (Rogers, 2002)
	Peso/Volumen	Peso/Volumen	Peso/Volumen	Peso/Volumen
Serrín de roble	151,8 g	-	48,7 g	75 g
Polvo de celulosa	-	60 g	73 g	73 g
Glucosa	-	45 g	12,2 g	12,2 g
Sacarosa	-	75 g	20,3 g	20,3 g
Sal Wesson	-	30 g	8,1 g	8,1 g
Caseína	-	36 g	24,3 g	24,3 g
Levadura de cerveza	33 g	90 g	24,3 g	25 g
Sémola/Harina fina de maíz	66 g	-	-	30g
Germen de trigo	122 g	-	24,3 g	60 g
Etanol 70%	37,5 ml	37,5 ml	14,5 ml	29 ml
Nipagina (metil-p- hidroxibenzoato)	3,75 g	3,75 g	1,3 g	2,55 g

Tabla 2.8: Composición de las dietas Semisintética de Iglesias SSI (Iglesias *et al.*, 1989), Sintética de Iglesias SI (Iglesias *et al.*, 1989), R (Rogers, 2002) y RM (Rogers, 2002) (continuación)

COMPONENTES	SEMISINTÉTICA	SINTÉTICA	DIETA R	DIETA RM
	(Iglesias <i>et al.</i> , 1989)	(Iglesias <i>et al.</i> , 1989)	(Rogers, 2002)	(Rogers, 2002)
	Peso/Volumen	Peso/Volumen	Peso/Volumen	Peso/Volumen
Ácido benzoico	3 g	3 g	-	-
Ácido sórbico	-	-	1,7 g	3,42 g
Fumagilina	-	-	-	0,2 g
Ácido ascórbico	1,8 g	12 g	3,5 g	3,5 g
L-metionina	-	3 g	-	-
Solución vitamínica	-	60 ml	16,2 ml	16,2 ml
Agar	30 g	42 g	32,5 g	32,5 g
Agua destilada	600 ml	660 ml	700 ml	600 ml

2.6.- CONTROL DE CERAMBÍCIDOS.

2.6.1.- INTRODUCCIÓN.

Los adultos de la familia *Cerambycidae* son atraídos por compuestos volátiles que poseen las plantas (ya sea tras la alimentación de inflorescencias por parte de los adultos, o por las larvas de éstos tras las ingesta de partes de troncos u hojas), por feromonas de insectos de otro género, o por feromonas sexuales de corto y largo alcance en insectos del mismo género y especie. Estas señales químicas interfieren también en otros cerambícidos a la hora de elegir el hospedador, pueden ser utilizados para evitar su depredación, o para regular oviposiciones de huevos, disuadiendo a otros insectos de hospedadores ocupados (Allison *et al.*, 2004).

La mayoría de los cerambícidos son selectivos en cuanto a la fisiología del material del hospedador (Linsley, 1959; Solomón, 1995; Hanks, 1999). En el caso de *P. semipunctata* el contenido de agua de los tejidos del huésped (específicamente la corteza) influye en la nutrición, y en consecuencia en la calidad del hospedador (Hanks *et al.* 1991a; 1999).

El contenido de humedad de la madera muerta y/o enferma del hospedador disminuye con la edad y reduce la calidad del hospedador para el desarrollo de las larvas (Hanks *et al.* 1991a, 1999). Si el contenido de humedad de la corteza es demasiado alta, las larvas neonatas no llegan a establecerse. Una vez que el nivel de humedad se sitúa por debajo del umbral para el establecimiento (55%), se optimiza la supervivencia de las larvas y adultos.

La selección del hospedador, debe favorecer a aquellos individuos que son capaces de localizar y explotar rápidamente un hospedador de alta calidad. La rápida localización del hospedador y posterior asentamiento en él, sería comunicado mediante señales semi-químicas hacia el resto de individuos de la especie, lo que nos hace entender la importancia que tienen los semi-químicos en prácticamente todos los aspectos de la vida que rodea a los cerambícidos. La aplicación de productos químicos que modifiquen el

comportamiento de los cerambícidos tiene un gran potencial para su aplicación comercial en la gestión de plagas (Allison *et al.* 2004).

Un gran impulso que se ha dado en el campo de la ecología química de los cerambícidos ha sido generado por la identificación de semi-químicos que podrían ser utilizados en programas de manejo de plagas. Además de una mejor comprensión en cuanto a la susceptibilidad y/o resistencia de las plantas huésped, se podría tener un mejor conocimiento de la ecología química de una especie que se ha convertido en plaga, y poder dar lugar a la aplicación de productos químicos que interfieran en la conducta activa de los individuos para su detección, monitoreo y control. Como por ejemplo, los escarabajos longicornios, que han asumido en los últimos años un gran protagonismo a nivel mundial como plagas (Allison *et al.* 2004).

2.6.2.- ATRAYENTES.

Los cerambícidos generalmente colonizan y realizan la oviposición en hospedadores sanos, enfermos, recientemente muertos o que ya se encuentran en fase de descomposición. Sin embargo, la mayoría de las especies de cerambícidos colonizan un hospedador específico (Tavakilian *et al.* 1997), siendo el ataque y colonización del hospedador en un estado fisiológico determinado (Linsley, 1959; Solomon, 1995; Hanks, 1999).

Meurer-Grimes y Tavakilian (1997) descubrieron que aunque las plantas hospedadoras de cerambícidos estén relacionadas taxonómicamente, las especies de cerambícidos no lo están entre sí. De lo que se deduce que el reconocimiento de las plantas hospedantes por parte de los cerambícidos está determinado por señales químicas procedentes de las plantas.

2.6.2.1.- Volátiles florales.

Algunos cerambícidos son atraídos por volátiles florales, que se acercan a las flores para alimentarse de polen y néctar (Lovell, 1915a,b; Garman, 1921; Lange, 1937; Burakowski, 1980; Scriven *et al.*, 1986; Hanks *et al.*, 1990; Sawyer y Anderson, 1998).

Algunos de estos cerambícidos poseen pelos y vellosidades por su cuerpo que favorecen que el polen se adhiera a ellos (Burakowski, 1980; Sawyer y Anderson, 1998), facilitando la polinización (Faegri y Van der Pijl, 1979), siendo muy pocos los cerambícidos que son polinizadores (Faegri y Van der Pijl, 1979; Sawyer y Anderson, 1998).

2.6.2.2.- Volátiles humo.

Después de un incendio forestal, algunos cerambícidos se sienten atraídos por la zona afectada por el incendio (Furniss, 1937; Parmelee, 1941; Gardiner, 1957a; Ross, 1960; 1966; Wickman, 1964; Evans, 1971; Hosking y Bain, 1977; Ehnstrom *et al.*, 1995; Markalas, 1997). Estos insectos se especializan en los hábitats post-incendio, depositando

los huevos en árboles afectados o muertos tras el incendio (Evans, 1971). La colocación de difusores, que emitan volátiles de humos como atrayentes primarios (Kairomonas), en las proximidades de hospedadores, pueden disminuir significativamente la eficiencia de estos barrenadores de madera. En bioensayos de olfatometría, la hembra de *Arhopalus tristis*, mostró una marcada preferencia por los volátiles de humo frente a los volátiles de corteza de pino (Suckling *et al.* 2001).

2.6.2.3.- Volátiles en troncos y hojas.

La capacidad de poder percibir y responder a los atrayentes primarios (Kairomonas) producidos por hospedadores con larvas, puede facilitar la selección del hospedador y la reproducción de insectos que no usan feromonas sexuales (Allison *et al.* 2004).

Los atrayentes primarios (Kairomonas) han sido encontrados en algunos escolítidos, particularmente en aquellos que carecen o son muy débiles sus feromonas sexuales de agregación, como por ejemplo, *Tomicus piniperda*, *Dendroctonus valens* LeConte, *Hylastes brunneus* Erichson y *Scolytus ventralis* LeConte (Loyttyniemi *et al.*, 1988; Hobson *et al.*, 1993; Tunset *et al.*, 1993; Niemeyer *et al.*, 1996; Macías-Sámano *et al.*, 1998; Brattli *et al.*, 1998).

Los monoterpenos y el etanol son utilizados como atrayentes primarios (Kairomonas) por algunos escarabajos barrenadores de floema, incluyendo cerambícidos (Moeck, 1970; Coté y Allen, 1980; Schroeder, 1988; Chénier y Philogène, 1989, Schroeder y Lindelöw, 1989).

Los monoterpenos son compuestos defensivos que se producen en el tronco y en los tejidos foliares de las plantas leñosas, algunos se liberan en grandes cantidades cuando el tejido de las plantas está dañado (Trapp y Croteau 2001; Fäldt *et al.* 2003).

El etanol es un subproducto natural de la respiración anaeróbica y se libera a partir de árboles muertos estresados, enfermos o muertos (Moeck, 1970; Kelsey, 1994, 1996; Joseph y Kelsey, 1997; Kelsey y Joseph, 1997, 1998, 1999a, b, 2003).

Numerosos estudios han informado sobre la importante atracción de cerambícidos a los volátiles y/o etanol en bioensayos de olfatometría y en experimentos de trampas en campo. Algunos de esos estudios son difíciles de interpretar debido a las bajas capturas y limitaciones en los diseños de los experimentos. Ensayos electrofisiológicos han demostrado también que algunos monoterpenos volátiles de los hospedadores estimulan las antenas de *Arhopalus tristis*, *Xylotrechus pyrrhoderus*, *M. alternatus* y *Phoracantha semipunctata* (Ikeda 1981; Iwabuchi *et al.* 1985; Barata *et al.* 2000; Suckling *et al.*, 2001).

Debido a que la mayoría de los cerambícidos se especializan en un hospedador y en un estado fisiológico específico (Hanks, 1999), los hospedadores no son siempre adecuados y por lo tanto no siempre pueden ser atractivos para los insectos (Ikeda *et al.*, 1981; Stein y Nagata, 1986; Paiva *et al.*, 1993).

2.6.2.4.- Feromonas de los escarabajos de la corteza.

Las larvas de los cerambícidos que se alimentan y desarrollan en el floema y en el xilema de árboles enfermos, estresado o recientemente muertos y con frecuencia coinciden en el espacio y en el tiempo con otros miembros de este gremio, son los escarabajos de la corteza (Dahlsten y Stephen, 1974; Stephen y Dahlsten 1976; Coulson *et al.*, 1976; Furniss y Carolin, 1977). Los escarabajos de la corteza a menudo son también conocidos como descortezadores porque pueden producir la pérdida de la corteza. Existen más de 300 especies diferentes agrupadas en 22 géneros, todas pertenecientes a la subfamilia *Scolytidae*.

Dentro de los escarabajos de la corteza que causan grandes pérdidas económicas podemos citar el escarabajo de la corteza del almendro, *Scolytus amygdali* Geurin-Meneville, (Coleoptera: Scolytidae), el escarabajo de la corteza del olmo, *Scolytus scolytus* (Coleoptera: Scolytidae), el escarabajo de la corteza del abeto, *Ips typographus* (Coleoptera: Scolytidae) y los escarabajos de la corteza del pino *Dendroctonus adjunctus* (Coleoptera: Scolytidae) y *Dendroctonus frontalis* (Coleoptera: Scolytidae).

Las interacciones subcorticales entre escarabajos de la corteza, y escarabajos longicórnicos han sido clasificados como competitividad (Coulson *et al.* 1976; Schroeder y Weslein 1994b), comensalismo (Flamm *et al.* 1989) o depredación (Dodds *et al.* 2001).

La mayoría de los estudios investigaron las interacciones entre los cerambícidos y las crías de los escarabajos de la corteza (Coulson *et al.*, 1976, 1980; Schroeder y Weslein, 1994b) en el que se observó una disminución en las poblaciones de cría de los escarabajos de corteza que se atribuyó a la competencia asimétrica entre las larvas de los cerambícidos y las larvas de los escarabajos de la corteza, siendo esta competencia a favor de las larvas de los cerambícidos, por ser más grandes y más móviles. Schroeder y Weslein (1994b) pusieron de manifiesto una reducción del 78% por metro cuadrado en la producción de la progenie *T. piniperda* como resultado de la competencia asimétrica con *Acanthocinus aedilis* (L.).

2.6.3.- REPELENTE Y MEDIDAS DISUASORIAS.

Aojin y Qing'an (1998) descubrieron que los aceites esenciales derivados de los no hospedadores *Eucalyptus citriodora* Hook. y *Eucalyptus globulus* (Labille) fueron repelentes para adultos *Apriona germari* (Hope), *Psacotha hilaris* y *Monochamus alternatus*.

Conophthorin, es un repelente volátil de angiospermas para algunos xilófagos de coníferas y escarabajos ambrosia del laurel *Xyleborus glabratus* Eichhoff (Coleoptera: Curculionidae) (Huber *et al.*, 1999, 2000a, b; Zhang *et al.*, 2001), que redujo las capturas en trampas de *Monochamus scutellatus* y *Monochamus clamator* (Morewood *et al.*, 2003).

Suckilng *et al.*, (2001) observó que la adición de dos volátiles de las hojas verdes, (E)-2-hexen-1-ol y (E)-2-hexenal, mezcladas con aceite mineral en un ratio, 1:12 provocaba una reducción cinco veces mayor en las capturas de *Arhopalus tristis* en trampas cebadas con

cortezas quemadas y, la aplicación de esta solución a la corteza de pino quemado redujo la oviposición a un 98,5%.

2.6.4.- ESTIMULANTES DE LA OVIPOSICIÓN.

La alimentación y la oviposición preferente en las plantas hospedadoras o en partes de ellas, está aparentemente mitigado por señales visuales y químicas. Los estudios más importantes sobre estimulantes de oviposición son para *H. bajulus*, *M. alternatus*, *Xylotrechus quadripes* Chevrolat, y *P. semipunctata* (Allison *et al.*, 2004).

Hylotrupes bajulus preferentemente oviposita en madera infestadas con larvas específicas (Higgs y Evans, 1978). Por el contrario, la hembra de *M. alternatus* deposita un número de huevos significativamente menor en hospedadores tratados con extractos de metanol obtenidos de los excrementos de las larvas (Anbutsu y Togashi, 2002).

Aunque la corteza de *Pinus densiflora* y volátiles foliares son atrayentes de machos y hembras de *M. alternatus* (Yamasaki y Suzuki, 1982), no inducen la oviposición (Yamasaki *et al.*, 1989). Sin embargo, si existe la presencia de humedad en el ambiente, los extractos acuosos y etanólicos de la corteza interna de *P. densiflora*, si inducen a la oviposición. Paiva *et al.* (1993) y Rhainds *et al.* (2001b) encontraron que *P. semipunctata* y *Xylotrechus quadripes* preferían ovipositar el hospedador cuyo material ya hubiera sido previamente atacado.

2.6.5.- FEROMONAS.

Las feromonas químicas parecen estar estrechamente relacionadas o muy alejadas en las familias de escarabajos cerambícidos, en la medida que algunas especies producen una sustancia química que potencialmente podrían atraer a otras muchas especies (Barbour *et al.*, 2011; Hanks *et al.*, 2012; Hanks y Millar., 2012; Macías-Samano *et al.*, 2012). Por ejemplo, (R)-3-hidroxihexan-2-ona parece ser el componente único o principal de las feromonas de agregación para muchas especies en la subfamilia *Cerambycinae*, debido a que muchas trampas cebadas con el compuesto sintético, han capturado múltiples especies (Hanks y Millar, 2012; Hanks *et al.*, 2007, 2012; Lacey *et al.*, 2007, 2009; Wong *et al.*, 2012).

Las especies pueden evitar la atracción a ciertos compuestos volátiles de las plantas hospedadoras en combinación con la feromona, debido a las diferencias en la actividad estacional o por periodos circadianos de actividad (Hanks *et al.*, 2012), así como también existen especies con especificidad de señales de feromonas, es decir, que pueden ser mantenidas con menores componentes de feromonas. Por ejemplo, los machos de la subfamilia *Cerambycinae* *Phymatodes Lengi* Joutel producen “3R-cetona”, pero ninguno de los sexos es atraído por el compuesto sintético a menos que se libere junto con un segundo componente, “(R)-2-metilbutan-1-ol” (Hanks *et al.*, 2012), o los individuos *Xylotrechus colonus* (F.) y *Sarosestes fulminans* (F.), que producen “3R-cetona” y se sienten atraídos por las trampas cebadas con los compuestos sintéticos, pero la especificidad que poseen los individuos de esta especie, hace que pueda ser impartida por

los diferentes isómeros de 2,3-hexanodiol que los machos producen en menor cantidad (Lacey *et al.*, 2009.; Hanks y Millar, 2012).

2.6.5.1.- Feromonas de marcaje.

Muchos insectos utilizan señales semioquímicas para detectar, marcar y evitar hospedadores ocupados por sus congéneres (Prokopy 1972; Oshima *et al.* 1973; Rothschild y Schoonhoven 1977; Imai *et al.* 1990).

Las cicatrices de la oviposición de *Monochamus alternatus* suelen estar distribuidas uniformemente en el hospedador (Shibata, 1984), lo que sugiere que, la separación entre las puestas está marcada por una feromona. Anbutsu y Togashi (1996; 1997a; 2000) encontraron una oviposición reducida en los hospedadores que contenían huevos de *Monochamus saltuarius* Gebler y los huevos o larvas de *Monochamus alternatus*.

Peddle *et al.*, (2002) encontraron que las hembras de *Monochamus scutellatus* prefirieron ovipositar en las ubicaciones de los hospedadores no colonizadas de puestas, que en las ubicaciones que contenían puestas de otras hembras. La capacidad selectiva de los semiquímicos que determinan la oviposición en los cerambícidos podría ser para evitar la densidad de la mortalidad de las larvas. En *Monochamus alternatus* esta mortalidad posiblemente podría ser debido al canibalismo (Togashi, 1990).

El canibalismo es común en la familia cerambycidae y es a menudo un dato significativo de mortalidad (Victorsson y Wikars, 1996; Anbutsu y Togashi, 1997b; T.D. Paine, com. pers.). Higgs y Evans (1978) sugirieron que la (-)-verbenona (un atrayente que se encuentra en bajas concentraciones en los excrementos de las larvas de *Hylotrupes bajulus*) puede ser en altas concentraciones un repelente para el ovipositado de hembras conespecíficas.

2.6.5.2.- Feromonas sexuales.

Las feromonas sexuales de corto alcance producidas por las hembras, han sido aisladas y caracterizadas para dos especies, *Psacotha hilaris* (Fukaya *et al.*, 1996, 1997) y *Xylotrechus colonus* (F.) (Ginzel *et al.*, 2003), y en ambos casos se trata de hidrocarburos cuticulares que provocan el comportamiento pre-copulador o la cópula de los machos.

Una feromona sexual que implica el desarrollo de hidrocarburos y cetonas, ha sido caracterizado para *Anoplophora malasiaca* (Fukaya *et al.*, 2000; Yasui *et al.*, 2003) y para los *Anoplophora glabripennis* (Zhang *et al.*, 2003), en ambos casos (Iwabuchi, 1986; Nakamuta *et al.*, 1994; Noldt *et al.*, 1995) el atrayente es liberado a través de los poros situados en la cutícula o en las depresiones asociadas con el protórax masculino.

El género más interesante estudiado ha sido el *Xylotrechus* (Iwabuchi *et al.* 1986; Kuwahara *et al.*, 1987; Rhainds *et al.*, 2001a) y la especie *Hylotrupes bajulus* (Fettköther *et al.*, 1995, 2000).

El dimorfismo sexual que presentan en las antenas es común en la familia *Cerambycidae*

(más pronunciada en la familia *Prioninae*), y ha sido interpretada como una evidencia indirecta para transmitir la feromona sexual femenina de largo alcance (Linsley, 1959). Sin embargo, las observaciones en el comportamiento de la reproducción de 20 especies han sugerido que estas especies no utilizan feromonas sexuales de largo alcance (Hanks, 1999).

2.7.-CONTROL DE *XYLOTRECHUS ARVICOLA*.

Hasta el momento, no se conocen posibles métodos de control de *X. arvicola*. Las larvas de *X. arvicola*, por su situación en el interior de la madera, quedan inaccesibles a un control eficaz con insecticidas, así como a la acción mecánica, por la dificultad de localizarlas. Otro problema añadido es el tratamiento sobre los adultos de *X. arvicola*, que se plantea dificultoso por tener un patrón de emergencia tan escalonado en el tiempo (García Ruiz, 2009).

Hasta ahora, la mayoría de las acciones para el control de *X. arvicola*, se dirigen a la realización de prácticas culturales, como la eliminación del ritidoma de la planta para evitar la puesta y la eliminación en la poda, de la madera que presente síntomas de infestación en las parcelas. Ante esta escasez de recursos, puede ser interesante plantear la posibilidad de emplear técnicas de control biológico contra esta plaga. El conocimiento de los enemigos naturales de *X. arvicola* es muy escaso, por lo que puede ser interesante estudiar qué enemigos naturales de otras especies de cerambícidos están dando buenos resultados en su control biológico y plantearse la posibilidad de utilizarlos para el control de *X. arvicola* (García Ruiz, 2007).

Aún no se ha aislado ninguna feromona que pueda ser utilizada en la monitorización o en control mediante trampeo masivo de esta especie, como ocurre con otras especies del mismo género, como *Xylotrechus quadripes* Chevrolat 1863 (Hall *et al.*, 2006), *Xylotrechus pyrrhoderus* Bates 1873 (Sakai *et al.* 1984), *Xylotrechus chinensis* Chevrolat 1852 (Kuwahara *et al.*, 1987) (García Ruiz, 2009), o más recientemente *Xylotrechus colonus* (Champlain y Knull, 1932; Dunn y Potter, 1991; Ginzl y Hanks, 2005; Lacey *et al.*, 2009; Mitchell *et al.*, 2011; Hanks *et al.*, 2012).

La búsqueda de una feromona que pueda ser utilizada para *X. arvicola* y sustancias alimenticias atrayentes se han planteado en distintos proyectos, con el fin de atraer a los adultos y así poder, en primer lugar, estimar las poblaciones y después aplicar técnicas de captura masiva que disminuyan el apareamiento y las puestas de huevos (Moreno, 2005).

2.7.1.- CONTROL QUÍMICO.

En los lugares donde las estrategias anteriores citadas no sean aplicables, se optará por tratamientos insecticidas cuando se supere el control económico de daños (Bombosch y Dedek, 1994).

Los estados más susceptibles de la especie son los huevos, aunque estén generalmente protegidos por la corteza, y los adultos. Las larvas, una vez que se introducen en la cepa, son inaccesibles a los compuestos químicos. Se han probado distintos productos insecticidas, todos inhibidores del crecimiento de los insectos, con resultados

prometedores (Moreno, 2005).

García Ruiz (2009) evaluó el efecto de dos insecticidas *Fenoxicarb* y *Piriproxifen*, sobre uno de los estadios más expuestos de la plaga, el de huevo. Con ambos productos se observó la imposibilidad del embrión para completar su desarrollo, romper el corion y/o eclosionar. La inexistencia de estudios llevados a cabo sobre el posible control de *X. arvicola*, más allá de los tratamientos preventivos en los que se elimina el material infestado, que se han venido aplicando hasta ahora (Peláez *et al.* 2002), o de los productos utilizados, como el arsenito sódico, que por sus características contaminantes han sido prohibidos, hace que los resultados obtenidos con estos productos sean, si cabe, más importantes, ya que ofrecen una posible herramienta incorporable al control integrado de *X. arvicola* (García Ruiz, 2009).

Los resultados que arroja García Ruiz (2009) sobre los insecticidas utilizados, todos inhibidores del crecimiento de los insectos, en cuanto al control de *X. arvicola*, hace que sea a partir de aquí donde se intenta avanzar en el control de dicha plaga mediante la utilización de distintas materias activas, con distinto modo de acción, sobre los estadios más susceptibles de la especie.

Con el fin de conseguir un control de *X. arvicola*, se requiere una combinación de diferentes estrategias, mediante la aplicación de otras materias activas, que han proporcionado buenos resultados en otros coleópteros que se han descrito como insectos plaga.

2.7.1.1.- Organofosforados.

Insecticidas, como los organofosforados (*Clorpirifos*) han demostrado reducir las poblaciones de varios escarabajos de corteza, como por ejemplo, *Phloeotribus scarabaeoides* (Coleoptera: Scolytidae) (Lozano *et al.*, 2001).

En *Oryzaephilus surinamensis* (Coleoptera: Silvanidae), escarabajo del grano de los dientes de sierra, se ha discutido la utilidad de *Clorpirifos* como estrategia de control efectiva frente a *O. surinamensis*, debido a las resistencias encontradas a los organofosforados (Wallbank, 1996),

El escarabajo del olivo, *Phloeotribus scarabaeoides* (Coleoptera: Scolytidae) ha sido descrito como plaga en los olivos de la costa mediterránea y en las regiones del sur de Europa y Asia. El uso de *Clorpirifos* junto con otras materias activas, provocó la mortalidad del 100% de los adultos de *P. scarabaeoides* más allá de los 30 días en los que se hizo el seguimiento (Peña *et al.*, 2003). Sin embargo, al evaluar *Clorpirifos* sobre *Hypocryphalus mangiferae* Stebbing (Coleoptera: Scolytidae), los resultados mostraron que la toxicidad acumulada en laboratorio y en campos de ensayo de *Clorpirifos* era significativamente mayor que *Deltametrin*, pero similar a la conseguida con *Bifentrin* (Saeed *et al.*, 2011).

Ensayos llevados a cabo por Goodwin (2005) sobre *Acalolepta vastator* (Coleoptera: Cerambycidae), insecto plaga en los viñedos de Nueva Gales del Sur, demostró que la aplicación de *Azinfos-metil*, *Clorpirifos* y *Metidation* en los inicios de temporada

demostraban eficacia frente al control de adultos de *A. vasator*, pero dio lugar a un posterior resurgimiento de la plaga. El ensayo posterior de *Imidacloprid* y λ -*Cihalotrina*, mostró un excelente control de la plaga.

En el caso de *Prostephanus truncatus* Horn (Coleoptera: Bostrychidae), *Clorpirifos* fue poco efectivo frente a los adultos, pero sí lo fue frente a las larvas de *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae), siendo el tratamiento realizado a 20°C el más eficaz frente a los otros dos niveles de temperatura examinados (25 y 30°C) (Podizi-Metaxa y Athanassiou, 2013)

Los efectos letales y sub-letales de *clorpirifos* frente a adultos y larvas de *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant (Coleoptera: Coccinellidae), insecto útil depredador, fueron evaluados en condiciones de laboratorio, donde se clasificó a *Clorpirifos* como moderadamente tóxico debido a sus efectos sobre la fecundidad, eclosión de huevos y supervivencia de las crías de *C. montrouzieri* (Planes *et al.*, 2013).

2.7.1.2.- Cloronicotilínicos.

Los insecticidas sistémicos, como *Imidacloprid*, de baja toxicidad para los mamíferos y ningún impacto no objetivo (Takai *et al.*, 2000), han demostrado ser útiles en la gestión de varios coleópteros plagas, como por ejemplo *Hylobius palidece* Herbst y *Anoplophora glabripennis* Motschulsky (Grosman y Upton, 2006; Poland *et al.*, 2006). *Imidacloprid* es altamente eficaz para el control de plagas de homópteros y muchas especies del orden *Coleoptera*, *Diptera* y *Hymenoptera*.

Las dificultades para el control del barrenador de los viñedos en Nueva Gales del Sur *Acalolepta vastator* (Coleoptera: Cerambycidae) mediante el uso de *Clorpirifos*, condujo a desarrollar nuevas estrategias de control de la plaga mediante aplicaciones de *Imidacloprid* (200 ml/100l) que controlaron la emergencia de adultos de *A. vastator*. Esta estrategia acabó con numerosos problemas experimentados con métodos químicos (*Clorpirifos*) para esta plaga (Goodwin, 2005).

Hylobius abietis (L.) (Coleoptera: Curculionidae) se convirtió en un gran problema para el sector forestal en Reino Unido, árboles tratados con *imidacloprid*, mostraron el envenenamiento de *H. abietis* hasta 3 semanas después del contacto con el árbol tratado, y se observó la búsqueda de nuevas fuentes de alimentos en otros adultos de *H. abietis*, lo que demuestra la capacidad de repeler y las propiedades insecticidas secundarias de *imidacloprid* (Rose *et al.*, 2005).

Los ensayos realizados en laboratorio y en campo con *Imidacloprid* sobre adultos de *Hypocryphalus mangiferae* Stebbing (Coleoptera: Scolytidae), muestran mayor rapidez para erradicar el 50% de la población, cuando se compara con *Deltametrin* o *Bifentrin*. Wang *et al.* (2002) informaron que la persistencia de *Imidacloprid* en hojas, ramas, corteza o xilema puede llegar a 2 años, por lo que la inyección de los árboles con insecticidas sistémicos, sería útil para la erradicación y gestión integrada de larvas y adultos de escarabajos longicórnicos (Saeed *et al.*, 2011).

Anoplophora glabripennis Motschulsky (Coleoptera: Cerambycidae) es uno de los

insectos forestales no nativo descubiertos en Estados Unidos y el barrenador del álamo, *Plectrodera scalator* (F.) (Coleoptera: Cerambycidae), es un cerambícido nativo estrechamente relacionado sobre el que se han determinado la toxicidad sistémica de *imidacloprid*, mediante la dilución en dietas artificiales donde se alimentaban sus larvas. Las concentraciones aplicadas de *Imidacloprid* (1,6 ppm y 160 ppm) muestran una mortalidad larvaria del 60% en *A. glabripennis* y del 100% en *P. scalator* respectivamente. Sobre ramas tratadas con *Imidacloprid* (150 ppm), se colocaron adultos de *A. glabripennis*, donde se alcanzó una mortalidad del 100% (Poland *et al.*, 2006).

2.7.1.3.- Reguladores del crecimiento del insecto.

Otra estrategia fitosanitaria para el control integrado de coleópteros, puede ser el uso insecticidas, que actúen en los estadios inmaduros del insecto, es decir, actuar mediante reguladores del crecimiento del insecto ("Insect growth regulators", IGRs), que interfieren con la síntesis, la polimerización o la deposición de la quitina en insectos, huevos o larvas (Siddall, 1976).

La toxicidad de *Flufenoxurón* afectó gravemente *Gonipterus scutellatus* Gyllenhal (Coleoptera: Curculionidae), causando el 100% de mortalidad de adultos después de 7 días, y el 75% en larvas mediante en ensayos de pulverización directa, y una mortalidad del 93% en adultos, y el 100% de mortalidad en larvas mediante ensayos de ingesta (Santolamazza-Carbone y Fernández de Ana-Magán, 2004).

Flufenoxurón es conocido por ser tóxico en el laboratorio y en el campo contra el escarabajo-hocico *G. scutellatus*, concretamente sobre las larvas, donde pulverizaciones directas de *Flufenoxuron* han mostrado una mortalidad larvaria del 100% a los 8 días, pero con mortalidades superiores al 50% tras 24h desde la aplicación (Pérez-Otero *et al.*, 2003). En adultos de *G. scutellatus* la aplicación de *Flufenoxuron* muestra una toxicidad débil, y una tasa de mortalidad sesgada por sexos, siendo los machos más afectados que las hembras (Echeverri y Santolamazza, 2010).

2.7.2.- CONTROL BIOLÓGICO.

Cuando se desea emprender una estrategia de control biológico de plagas, se suele intentar en primer lugar técnicas inoculativas, buscando encontrar uno o varios enemigos naturales, para que se establezcan y se diseminen, y que a largo plazo consigan mantener poblaciones por debajo de los niveles tolerables. Siempre que la plaga se encuentre determinada en una zona geográfica y que dicha plaga no provoque un alto impacto, se optará por técnicas inoculativas frente a inundativas. La elección de una estrategia u otra no solo depende de la plaga sino también de los organismos a emplear en el control biológico. Así que hay que estudiar, por un lado la fauna auxiliar local, y por otro la posibilidad de encontrar agentes exóticos potencialmente válidos para la estrategia inoculativa (García Ruiz, 2007).

Se conoce poco sobre los posibles organismos a utilizar en el control biológico de *X. arvicola*. Vives-Noguera (2000) afirma que sus larvas suelen ser parasitadas por los

icneumónidos *Xorides filiformis* Gravenhorst 1829 (Hymenoptera: Ichneumonidae) y *Xorides rufipes* Gravenhorst 1829 (Hymenoptera: Ichneumonidae) y por el braconido *Doryctes leucogaster* Nees 1834 (Hymenoptera: Braconidae).

No se le conocen parasitoides de sus puestas de huevos, excepto la detección del hongo *Beauveria bassiana* (Balsamo.-Criv.) Vuillemin 1912 (Hypocreales: Clavicipitaceae) descrita en individuos muertos de *X. arvicola* por García-Calleja y Sánchez-Urraca (2002).

Se desconoce el efecto que pueden tener los patógenos más comúnmente utilizados en la lucha biológica contra larvas, pupas o adultos de *X. arvicola* (García Ruiz, 2007).

2.7.2.1.- Hongos entomopatógenos.

Una estrategia para el control integrado de coleópteros, puede ser el uso de hongos entomopatógenos (Vaupel y Zimmermann, 1996; Kreutz *et al.*, 2004a), como es el caso de *Beauveria bassiana*.

Dos especies de *Anoplophora* (Coleoptera: Cerambycidae), *A. glabripennis* y *A. nobilis* han sido importantes plagas de árboles ornamentales en Estados Unidos, Canadá y China. Se han realizado ensayos con los hongos entomopatógenos *Beauveria bassiana* F-263, *Beauveria brongniartii* F-1101 y *Metarhizium anisopliae* demostrando *B. bassiana* F-263 sobre adultos y larvas de *A. glabripennis* cierto grado de control (Mitsuaki *et al.*, 2002).

Beauveria bassiana es más eficaz cuando afecta a larvas de *X. arvicola* en sus primeros estadios, localizadas debajo de la corteza, que contra larvas de mayor edad, localizadas dentro de la madera (García Ruíz, 2007).

El uso de *B. bassiana* para control de los barrenadores del café, *Xylotrechus quadripes* Chevrolat (Coleoptera: Cerambycidae) y *Acalolepta cervinus* Hope, ha sido testado en condiciones de laboratorio y de campo, mostrando los resultados que todos los estadios de los barrenadores del café (*X. quadripes* y *A. cervinus*) podían ser infectados y muertos satisfactoriamente cuando se les ponía en contacto con *B. bassiana* (Jia-Ning y Rong-Ping, 2002).

El pequeño escarabajo de cuernos largos, *Saperda populnea* (L.) (Coleoptera: Cerambycidae), es una de las plagas de insectos más graves en álamos (*Populus* spp.) El hongo entomopatógeno *B. bassiana* demuestra un efecto patogénico de *B. bassiana* sobre sus larvas bajo condiciones de laboratorio. Bajas concentraciones de *B. bassiana* (10^6 conidias/ml), alcanzan un 56% de mortalidad en larvas, mientras que para concentraciones mayores (10^7 y 10^8 conidias/ml), conllevan ambas una mortalidad larvaria del 100% (Eken *et al.*, 2006).

El escarabajo de la corteza del almendro, *Scolytus amygdali* Geurin-Meneville, (Coleoptera: Scolytidae) es un insecto plaga que afecta a muchas especies de frutales de hueso cultivadas, especialmente ciruelo, albaricoque y almendro, que se cultivan en la región del Mediterráneo y el sur de Europa. El uso de hongos entomopatógenos como *B. bassiana*, sobre adultos de *S. amygdali* ha mostrado una alta mortalidad, próxima al 100%, durante los bioensayos (Batta, 2007). Otros trabajos publicados que se utilizan como

agente de control biológico frente a otras especies de escarabajos de corteza, son los descritos para el escarabajo de la corteza del Olmo, *Scolytus scolytus* (Coleoptera: Scolytidae) (Doberski, 1981), el escarabajo de la corteza del abeto, *Ips typographus* (Coleoptera: Scolytidae) (Kreutz *et al.*, 2004a,b), además de otras especies como *Agrilus plannipes* (Coleoptera: Buprestidae) (Liu y Bauer, 2006), y *Anoplophora glabripennis* (Coleoptera: Cerambycidae) (Hajek *et al.*, 2006.).

El gorgojo defoliador del eucalipto, *Gonipterus scutellatus* Gyllenhal (Coleoptera: Curculionidae), es una de las plagas de defoliadores más importantes del mundo, fue testado con *Beauveria bassiana* EC (Emulsionable Concentrado) (PPRI 5339) por contacto, e ingestión, mostrando alta efectividad, en adultos de *Gonipterus scutellatus* Gyllenhal (Coleoptera: Curculionidae) (Echeverri y Santolamazza, 2010).

Beauveria bassiana también ha demostrado buenos resultados en gestión de plagas de almacén como por ejemplo en el falso gorgojo de la harina, *Tribolium confusum* (Coleoptera: Tenebrionidae) (Michalaki *et al.*, 2006).

En el barrenador de los granos *Rhyzopertha dominica* F. (Coleoptera: Bostrychidae), la aplicación de éste hongo entomopatógeno (*B. bassiana*) en combinación con Diatomycetes de Tierra (insecticida alternativo para el control de plagas de productos almacenados), ha provocado las mayores mortalidades de adultos de *R. dominica* en ensayos en condiciones de laboratorio (Wakil y Ghazanfar, 2010; Wakil *et al.*, 2012).

Con *Enaphalodes rufulus* (Haldeman) (Coleoptera: Cerambycidae), barrenador del roble rojo, nativo del este de los EE.UU., se han realizado aplicaciones de *B. bassiana* sobre árboles infestados por la plaga, obteniendo resultados eficaces sobre huevos y fases larvarias iniciales de *E. rufulus* (Meyers *et al.*, 2013).

2.7.2.2.- Insecticidas biológicos.

- **Derivados naturales.**

Otra estrategia para el control integrado de coleópteros, puede ser el uso de sustancias que son eficaces, y al mismo tiempo, son seguros tanto para la salud humana y el medio ambiente, que se obtienen de derivados naturales, y que tienen un espectro de actuación relativamente amplio, como el *Spinosad*. Esta materia activa se ha utilizado eficazmente para el control de muchas especies de plagas de insectos en los órdenes Lepidoptera, Diptera, Coleoptera y Thysanoptera en diversos sistemas de cultivo (Liu y Sparks, 1999; Sparks *et al.*, 2001; Liu *et al.*, 2003).

El barrenador del pequeño grano, *Rhyzopertha dominica* L. (Coleoptera: Bostrychidae), es la principal plaga del trigo, y ha desarrollado resistencia a algunos de los insecticidas utilizados para su control (Arthur, 1996, 2004; Daghli, 2008). La aplicación de *Spinosad*, que también se ha registrado como insecticida adecuado para el almacenado de grano, pasa por ser uno de los poco insecticidas que tienen control sobre *R. dominica* (Athanassiou *et al.*, 2011). *Spinosad* también desarrolla control sobre *Prostephanus truncatus* Horn (Coleoptera: Bostrychidae) y *Sitophilus oryzae* (L.) (Coleoptera: Curculionidae), (Fang *et al.*, 2002a,b; Athanassiou *et al.*, 2008a, b, c; Kavallieratos *et al.*,

2010).

También se ha descrito para *spinosad* el control del barrenador *Prostephanus truncatus* Horn (Coleoptera: Bostrychidae), especie plaga de cuarentena (Tyler y Hodges, 2002), muy destructivo para el maíz y la yuca (Hill *et al.*, 2002).

Hypocryphalus mangiferae Stebbing (Coleoptera: Scolytidae) es una de las plagas de insectos más destructivas de los árboles de mango, en la que se demostró que la potencialidad de *spinosad* para producir el 50% y el 90% de la mortalidad en la especie, es superior a *Bifentrin* y *Deltamentrin* en ensayos de laboratorio y de campo (Saeed *et al.*, 2011).

Spinosad y *Metopreno* fueron evaluados en 6 especies de insectos plagas de productos almacenados, produciendo mortalidades del 100% en *Rhyzopertha dominica* L. (Coleoptera: Bostrychidae), 65% en *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae), 100% *Sitophilus granarius* (Coleoptera: Curculionidae), y 97% en *Cryptolestes ferrugineus* Stephens (Coleoptera: Laemophloeidae). No causaron la muerte en adultos de *Oryzaephilus surinamensis* L. (Coleoptera: Silvanidae) ni en adultos de *Liposcelis bostrychophila* (Psocoptera: Liposcelidae) (Athanassiou *et al.*, 2011).

Podizi-Metaxa y Athanassiou (2013) comparan *Spinosad* con tres protectores tradicionales de grano (*Deltametrina*, *Pyrimifos-metil* y *Clorpirifos*) frente a adultos de *Prostephanus truncatus* Horn (Coleoptera: Bostrychidae) y larvas de *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae). *Spinosad* era muy eficaz contra los adultos de *P. truncatus* en concentraciones de 0,5 ppm y 1 ppm, aumentando la mortalidad en menos días. La mortalidad alcanzada de la exposición de *P. truncatus* frente a *Spinosad* fue del 100%, evaluado hasta 21 días tras la aplicación, pudiéndose utilizar en ambas especies sin una pérdida grave de eficacia de esta materia activa por aumento de temperatura.

- **Inhibidores de la embriogénesis.**

Dentro del control de coleópteros, se incluye el uso de materias activas ovicidas, que actúan sobre el estadio más susceptible de los insectos plaga, el huevo.

Piriproxifen actúa sobre huevos inhibiendo la embriogénesis y suprimiendo la eclosión, y sobre larvas, alterando la metamorfosis, e inhibiendo la emergencia de adultos. Causa la muerte de estados inmaduros del insecto de 2 a 10 días después de aplicación (Nauen *et al.*, 2008).

Abo-Elghar *et al.* (2003), describen que después de aplicar *piriproxifen* al sustrato de puesta y alimentación donde se desarrolla *Callosobruchus maculatus* Fabricius 1775 (Coleoptera: Bruchidae), se producía un efecto ovicida que se mantenía hasta 8 días después de haber aplicado el tratamiento.

El hecho de que las hembras de *Delphastus catalinae* Horn 1895 (Coleoptera: Coccinellidae) se alimentasen de individuos de *Bermisia tabacci* tratadas con *piriproxifen* influía en la fertilidad de los huevos que ponía la hembra (Liu y Stansly, 2004). *Piriproxifen* ha sido utilizado frente a *Conotrachelus nenuphar* Herbst 1797 (Coleoptera:

Curculionidae), en el que no se observa el efecto ovicida de *Piriproxifen* cuando la dosis se encuentra por debajo de 100 ppm (Hoffmann *et al.*, 2008).

Los efectos letales y subletales de *piriproxifen* frente a adultos y larvas de *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant (Coleoptera: Coccinellidae) fueron evaluados en condiciones de laboratorio, donde las larvas de *C. montrouzieri*, tratadas directamente con *piriproxifen* o aplicado a las presas de las que se alimentaban, alcanzaban el estado de pupa, pero la mayoría de ellos morían durante la metamorfosis, y los que sobrevivían eran estériles (Planes *et al.*, 2013).

2.7.2.3.- Depredadores.

La depredación se encuentra muy limitada, dado el tipo de ciclo biológico de los cerambícidos, ya que los estados de desarrollo más susceptibles de ser depredados se localizan en el interior de la madera, como es el caso de la larva y la pupa, o protegidos entre la corteza, como es el caso de los huevos. La utilización de depredadores, por tanto, no parece ser una buena opción para el control biológico de *X. arvicola* (García Ruiz, 2007).

Las larvas de *X. arvicola* emiten sonidos estridulatorios cuando se encuentran alimentándose del interior de la madera. Estos sonidos sirven para ahuyentar a posibles parásitos o depredadores, pero también para su situación espacial dentro de la cepa, evitando de éste modo el encuentro entre individuos (Moreno, 2005).

Grimble *et al.*, (1969), señala que el canibalismo es una posible fuente de mortalidad, especialmente en estadios tempranos de alguna especie de cerambícidos. Goodwin y Pettit (1994), sugieren, que en el caso de la vid, la competencia larvaria en una misma cepa podría ser el factor de mortalidad más importante en alguno estadios de *Acalolepta vastator* (Coleoptera: Cerambycidae).

Son pocos los depredadores naturales conocidos de especies de la familia Cerambycidae. En el desierto de Rajastan, estado al noroeste de la India, se han citado seis especies de depredadores pertenecientes a cuatro familias de coleópteros (Trogositidae, Cleridae, Colydidae e Histeridae) sobre diferentes cerambícidos perforadores de madera, la mayoría huéspedes habituales de la acacia.

Peláez *et al.*, (2012), citó en la cuenca española del río Duero, ejemplares de cléridos de las especies: *Denops albofasciatus* (Coleoptera: Cleridae, Charpentier 1825) citado como depredador del barrenillo de la vid (*Sinoxylon sexdentatum*), *Clerus mutillarius* (Coleoptera: Cleridae, Fabricius 1775) citado como depredador activo de las fases preimaginales de diversas especies de insectos xilófagos, y *Opilo mollis* (Linnaeus, 1758) cuyos imagos depredan insectos xilófagos, principalmente anóbidos y algunas especies de cerambícidos. Peláez *et al.*, (2012) también expuso la gran capacidad depredadora de dos arápidos *Drassodes lapidous* (Araneae: Gnaphosidae) y *Misumena vatia* (Araneae: Misumena) sobre adultos de *X. arvicola*, en condiciones de campo y laboratorio respectivamente.

2.7.2.4.- Parasitoides.

Existe un gran número de plagas xilófagas frente a las que se están usando parasitoides como herramienta de control. Los más abundantes son los parasitoides de larvas y, de hecho, son los únicos enemigos detectados hasta ahora sobre *X. arvicola*. En ambientes forestales se conocen tres especies: los icneumónidos *Xorides filiformis* y *Xorides rufipes* y el braconídeo *Doryctes leucogaster*. En bosques de Bulgaria, se cita *Xorides gracilicornis* como parasitoide de diferentes especies de *Xylotrechus*, aunque su baja densidad sugiere que no juega un papel muy importante. Otro parasitoide del mismo género, *Xorides australiensis*, ataca la plaga más importante del eucalipto en Australia, *Phoracantha semipunctata*, confirmando al género *Xorides* como posible candidato a utilizarse en el control biológico de *X. arvicola* (García Ruiz, 2007).

Dentro del mismo género, *Xylotrechus quadripes*, el perforador del tallo de café y una de las plagas más serias de las plantaciones de la variedad arábica en el sur de la India y sureste asiático, en el que se han encontrado un número importante de parasitoides de larvas de este xilófago, pertenecientes a las familias *Bethylidae*, *Braconidae*, *Eurytomidae*, *Evaniidae* e *Ichneumonidae*. En Vietnam se intentó la cría del evánido *Pristaulacus nigripes* para controlar esta plaga, aunque sin resultados concluyentes (García Ruíz, 2007).

En India, algunos braconídeos son los principales parasitoides de las larvas de *X. quadripes*, mientras que en Tailandia el principal parasitoide de esta especie es el himenóptero aulácido *Pristaulacus* spp. aunque también es parasitada por un estefánido y un icneumónido, con un porcentaje total de parasitismo de hasta un 20,7 %. *Pristaulacus* es un parásito de huevos, pero lamentablemente aún no se ha conseguido su cría en laboratorio, posiblemente por no conocer ningún huésped de sustitución adecuado (García Ruíz, 2007).

Xylotrechus namanganensis es una especie endémica de la zona montañosa central de Asia, que causa graves daños en más de 20 especies diferentes de caducifolios con aprovechamiento maderero del norte de Xinjiang, en China. Se han encontrado tres especies de parasitoides asociados a *X. namanganensis*, *Leluthia* spp., *Aspidocolpus erythrogaster* y *Zombrus sjostedti* (Makhnovskii, 1955, 1966; Wang y col., 1999).

Sclerodermus pupariae Yang et Yao (Hymenoptera: Bethyidae) fue identificado por primera vez como un parasitoide de pupas de *Agrilus planipennis* Fairmaire (Coleoptera: Buprestidae), en Tianjin, China (Yang et al., 2012). En condiciones naturales, el parasitoide también ataca a las larvas del escarabajo longicornico *Xylotrechus grayii* White (Coleoptera: Cerambycidae) e infecta al árbol hospedador *Fraxinus vetulina* Torr de *Agrilus planipennis* (Wang et al., 2010).

Estudios biológicos revelaron que *Sclerodermus pupariae* podía parasitar con éxito larvas de muchas especies de buprestidos y escarabajos cerambídeos, incluyendo *Agrilus auriventris*, *A. mali*, *A. zanthoxylumi*, *Nalanda* spp. (Coleoptera: Buprestidae), *Stenomalus complicatus*, *Anoplophora glabripennis*, *Monochamus alternatus* y *Thyestilla gebleri* (Coleoptera: Cerambycidae).

S. pupariae puede tener desarrollo completo de cada uno de sus hospedadores, lo que

indica que es un excelente enemigo natural de palgas de insectos barrenadores (Wu *et al.*, 2008).

Usando selección artificial para mejorar la capacidad de explorar y adaptarse a nuevos hospedadores, *S. pupariae* ha obtenido resultados efectivos en el control de larvas de *Massicus raddei* Blessig (Coleoptera: Cerambycidae), barrenador del roble en el noreste de China. *S. pupariae* puede matar a hospedadores adicionales, con alimentación suplementaria antes de que inicien la oviposición, lo que indica que la utilización de *S. pupariae* es un prometedor agente potencial para el control biológico de *M. raddei* (Xiao-yi *et al.*, 2013).

En Portugal, el cerambícido *Monochamus galloprovincialis* es el principal vector de infección del nematodo de la madera del pino (PWN), *Bursaphelenchus xylophilus*. En la búsqueda de enemigos naturales de esta plaga no se han encontrado parasitoides de huevos, mientras que el 10% de las larvas observadas se encontraban atacadas por tres especies diferentes de braconidos. *Cyanopterus flavator* fue el más numeroso, aunque también se encontraron *Iphiaulax impostor* y *Coeloides sordidator* (García Ruíz, 2007).

Anoplopora chinensis es el escarabajo antelado de los cítricos y constituye una importante especie plaga invasiva en Francia. Se ha encontrado un himenóptero de la familia *Euplophidae*, *Aprostocetus anoplophorae*, que juega un importante papel como parasitoide de sus huevos (García Ruíz, 2007).

También en California se ha llevado a cabo un estudio sobre las preferencias de oviposición y desarrollo de la progenie de *Avetianella longoi* (Hymenoptera: Encyrtidae), un parasitoide de huevos de *Phoracantha semipunctata*, utilizado como principal agente para su control. Los porcentajes de parasitismo alcanzan el 90%. Sin embargo, se ha encontrado que el parasitismo que ejerce sobre otro cerambícido del mismo género, *Phoracantha recurva*, alcanza valores ineficaces. Mediante estudios de preferencia se llega a la conclusión de que, a pesar de que *A. longoi* se desarrolla sobre *P. recurva*, prefiere los huevos de *P. semipunctata* de manera innata. Esto explicaría el aumento de poblaciones de *P. recurva* frente al claro descenso de *P. semipunctata* en las masas de eucalipto de California como consecuencia del uso de *A. longoi* como agente de control biológico y, además, que un parasitoide de una determinada especie no tiene por qué ser también efectivo sobre otra especie del mismo género o, por lo menos, no con la misma eficacia (García Ruíz, 2007).

Baeoanusia xanthopleuron y *Avetianella coombsi* (Hymenoptera: Encyrtidae) son parasitoides de huevos del cerambícido, *Agrianome spinicollis*, una plaga importante de las pacanas, árboles de madera muy estimada de la familia de las juglandáceas, en el este de Australia (García Ruíz, 2007).

2.7.2.4.- Organismos entomopatógenos.

El empleo de hongos y nematodos entomopatógenos en el control de algunas especies de cerambícidos, como el caso de *Xylotrechus namanganensis*, en el ataque de hongos de los géneros *Fusarium* y *Aspergillus* a larvas, pupas y adultos de este xilófago, mostró buenos

resultados (Makhnovskii, 1955, 1966; Wang y col., 1999), lo que plantea la posibilidad de la utilización de estos géneros de hongos en el control de *X. arvicola*.

Sobre larvas de dos especies de *Anoplophora* (Coleoptera: Cerambycidae), *A. glabripennis* y *A. nobilis*, se ha estudiado el efecto de varios nematodos de los géneros *Steinernema* y *Heterorhabditis*, encontrando un elevado efecto insecticida de las especies *Steinernema feltiae* y *Steinernema carpocapsae* sobre los primeros estadios larvarios del insecto (García Ruíz, 2007).

En Japón, el cerambícido *Monochamus alternatus* actúa como vector del PWD, agente responsable del marchitamiento de los pinos. Existen estudios relacionados con la eficacia de algunos patógenos en el control de este coleóptero. El nematodo tilénquido *Contortylenchus genitalicola*, que tiene una fase entomófaga y otra micetófaga, reduce el potencial reproductivo de esta plaga y puede ser considerado como un enemigo más en el control biológico del insecto. Otro patógeno, el hongo *Nosema alternatus*, presenta gran patogeneicidad frente a larvas y pueden ser un organismo natural efectivo en el control de esta plaga (García Ruíz, 2007).

2.7.3.- OTROS MÉTODOS DE SEGUIMIENTO Y CONTROL.

2.7.3.1.- Monitoreo/Seguimiento.

Realizar un monitoreo/seguimiento sobre *X. arvicola* puede permitir tener un mejor conocimiento para poder desarrollar un manejo integrado sobre dicha plaga, es por ello que Peláez *et al.*, (2006) describen una serie de medidas para realizar la evaluación de la presencia del coleóptero en el viñedo, como son:

- Realización de muestreos de campo, en la época de parada vegetativa de la planta, para valorar la incidencia de *X. arvicola*, anotando el número de plantas visibles afectadas con síntomas, para poder desarrollar mapas de infestación.
- Colocar madera infectada dentro de evolucionarios en campo, que nos indicará las fechas en las que se han ido produciendo la emergencia de los adultos. Además se deben tener en cuenta las variedades de los viñedos, siendo Tempranillo una variedad muy sensible a la plaga.

2.7.3.2.- Prácticas culturales.

Peláez *et al.*, (2006) enumeran una serie de medidas culturales aconsejables que se pueden llevar a cabo en el viñedo, que pueden tener un control indirecto sobre *X. arvicola*, como pueden ser:

- Realizar el descortezado de las cepas para conseguir una mayor dificultad para la hembra de *X. arvicola*, a la hora de poner los huevos.
- Realizar una poda de eliminación, en la que debemos ser capaces de eliminar toda

la madera que presente síntomas de daños.

Cuando la población es muy alta y las cepas tienen un gran nivel de ataque, se ha llegado incluso a rebajar el tronco por debajo de la zona de galerías y volver a formar la cepa con la consiguiente drástica reducción de la producción en los años posteriores (Ocete *et al.*, 2004).

2.8.- OTROS ENSAYOS REALIZADOS EN LABORATORIO FRENTE A COLEÓPTEROS.

A la hora de evaluar un insecticida frente a un insecto, siempre se realizan los ensayos iniciales en laboratorio, que son uno de los métodos más utilizados para evaluar la eficacia de los insecticidas en entornos más controlados que las condiciones variables que nos podemos encontrar en campo, sin embargo, representan la peor situación de los casos en la que se encuentran los insectos, en los que son confinados frente al tratamiento con la materia activa, sin tener la posibilidad de escapar (Longley y Jepson, 1997), y no representan las condiciones reales del campo.

Para la realización de los ensayos en laboratorio, en los que se aplican distintas materias activas mediante pulverización directa sobre distintos estadios de insectos, se realizan mediante pulverización de precisión con Torre Potter (Burkard Scientific Limited, Uxbridge, U.K.) (Potter, 1952).

Muchos han sido los ensayos realizados hasta la fecha, en la que se han evaluado la capacidad de control de muchas materias activas, con diferente modo de acción, frente a otros coleópteros, entre los ensayos realizados sobre otros coleópteros mediante Torre Potter, podemos citar los ensayo realizado por:

Marco y Castañera (1996), quienes evaluaron *Beauveria bassiana*, *Cipermetrina*, *Acefato*, *Clorpirifos*, *Fosalone*, *Malation*, *Metil-Clorpirifos* y *Diazinon* frente a adultos de *Aubeonymus mariaefranciscae* Roudier (Coleoptera: Curculionidae) “Maripaca”.

Boyero *et al.*, (2005) evalúan frente a dos especies de coccinélidos, la vaquita de San Antón, *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant (Coleoptera: Coccinellidae) y las chinitas de Chile *Rhyzobius lophantae* Blaisdell (Coleoptera, Coccinellidae) el efecto de *Tetradifon*, *Dicofol*, *Malation* más proteína hidrolizada, *Metidation*, *Clorpirifos* y *Spinosad*, empleados habitualmente en el control químico de fitófagos en cítricos.

Cutlet *et al.*, (2005) en el que evalúa los efectos agudos y subletales de *Novaluron* (inhibidor de la síntesis de quitina) frente al escarabajo de la patata, *Leptinotarsa decemlineata* (Coleoptera: Chrysomelidae).

Coccinella undecimpunctata (Coleoptera: Coccinellidae), es evaluado por Cabral *et al.*, (2011) para conocer los efectos de *pirimicarb* y *pimetrozina* en la voracidad de las larvas y adultos de *C. undecimpunctata*, sobre sus plantas hospedadoras y sus presas.

Planes *et al.*, (2013) en *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant (Coleoptera: Coccinellidae) “Mariquita”, en el que se evalúa *Espirotetramato* (nuevo insecticida sistémico enumerados en el Grupo 23 de la clasificación de los insecticidas, IRAC (Insecticide

Resistance Action Committee), que actua como inhibidor de la biosíntesis de lípidos) sobre los enemigos naturales de *C.montrouzieri*.

El ensayo realizado por Jankov *et al.*, (2013) frente a el gorgojo del arroz, *Sitophilus oryzae* (L.) (Coleoptera: Curculionidae), en el que se evaluaron las distintas superficies de las instalaciones de almacenamiento de grano (hormigón, metal y madera), a la hora de interferir sobre tres insecticidas (Malathion, Pirimiphos-Methyl y Lambda-Cialotrin), utilizados contra el gorgojo del arroz, *S. oryzae* (Jankov *et al.*, 2013).



Capítulo 3: Prospección de zonas estudiadas.



CAPITULO 3: PROSPECCIÓN DE ZONAS ESTUDIADAS.

3.1.- INTRODUCCIÓN.

Moreno (2005), en su tesis doctoral, realiza un estudio de la distribución geográfica de *X. arvicola* en los viñedos de las principales denominaciones de origen de Castilla y León, donde pone de manifiesto que todas las parcelas presentan o han presentado sintomatología por ataque de *X. arvicola*.

Para conocer la expansión de este coleóptero cerambícido, tanto a nivel regional tras el estudio de Moreno (2005), como a nivel internacional (norte de Portugal), en este capítulo se realiza un estudio en búsqueda de sintomatología por ataque de *X. arvicola* en las principales denominaciones de origen por las que discurre el río Duero, tanto a nivel de España (DOP Denominación de Origen Ribera del Duero y DOP Denominación de Origen Toro), como en el país vecino, Portugal (DOC Denominación de Origen Controlada Douro).

Se han evaluado otras denominaciones de origen, que también se ubican en la cuenca hidrográfica del Duero, tanto en la parte española (DOP Denominación de Origen Tierra de León), como en su parte portuguesa (DOC Denominación de Origen Tras-Os-Montes), con el objetivo de obtener parcelas que surtieran de individuos “salvajes” de *X. arvicola*.

Para ampliar los conocimientos en cuanto a la distribución de *X. arvicola* se plantean los siguientes objetivos parciales para este capítulo:

- Estudiar la presencia o ausencia de *X. arvicola* en Denominaciones de Origen de España y Portugal.
- Realizar un análisis de la incidencia del ataque de *X. arvicola* en cada una de las zonas descritas.
- Una vez conocidas las zonas en las que se haya obtenido una mayor incidencia, estudiar la colocación de trampas de interceptación para la obtención del mayor número de individuos salvajes de *X. arvicola* de distintas procedencias, para su posterior estudio y cría en laboratorio.

3.2.- MATERIAL Y MÉTODOS.

3.2.1.- PROSPECCIONES EN CAMPO.

Los muestreos en campo son una herramienta importante dentro del manejo integrado de plagas para determinar las características cuantificables de la población de una plaga (*Xylotrechus* spp.) dentro de un cultivo (*Vitis* spp.), con la finalidad de definir la necesidad de alguna medida de control. En todo proceso de muestreo, los resultados que se observan, tienen que ser representativos del resto de la población a la que pertenece la muestra. En nuestro caso valoramos la incidencia de *X. arvicola* sobre cepas de vid, mediante el número de plantas con individuos de la plaga o visibles con síntomas, sobre

el total de plantas evaluadas (porcentaje).

Nuestro muestreo se realizó en parcelas de las principales denominaciones de origen de España y Portugal entre los meses de enero a abril de 2010, en el momento de la parada vegetativa de la vid, concretamente después de la poda, pues era el momento óptimo en el que eran observables de una forma más fácil los síntomas por ataque de *X. arvicola* (Fig. 3.1).



Figura 3.1: Prospecciones en campo durante los meses de enero a abril de 2010.

En cada parcela se realizaron los muestreos, en los líneas de plantas de control, realizando observaciones en las cepas, una a una, de los síntomas externos característicos de ataque de *X. arvicola*, orificios de emergencia de adultos, circulares y de 5 mm de diámetro medio (Fig. 3.2); nuevas direcciones a partir de la formación desde la base de yemas “ciegas” o tras el rebaje de brazo o tronco (Fig. 3.3); galerías viejas, ennegrecidas por el serrín y deyecciones o vacías por la acción del viento o lluvia visibles en los cortes de poda (Fig. 3.4); galerías nuevas, rellenas de serrín de color blanquecino, que denotaban que la larva había discurrido recientemente por allí (Peláez *et al.*, 2006) (Fig.3.5) y muertes precoces de plantas por ataque de *X. arvicola* (Figs. 3.6 y 3.7).



Figura 3.2: Orificio circular de emergencia de *X. arvicola*



Figura 3.3: Nuevas direcciones desde la base tras el rebaje de brazo en cepas con formación en vaso



Figura 3.4: Galerías viejas visibles en los cortes de poda.



Figura 3.5: Galerías nuevas, con presencia de larva de *X. arvicola*, tras reciente corte de poda.



Figura 3.6: Muerte precoz en cepa, con orificios de emergencia en tronco. Vista frontal.



Figura 3.7: Muerte precoz en cepa, con galerías viejas en tronco. Vista de la sección del corte del tronco.

El diseño del muestreo se realizó caminando sobre los líneas elegidos, anotando síntomas en cada cepa de la presencia o ausencia de síntomas de *X. arvicola*. Este tipo de muestreo resulta útil cuando no se tiene evidencia sobre la distribución espacial de una plaga en un cultivo. La aplicación de un diseño de muestreo permite, en estos casos, realizar un barrido de toda el área de estudio, y conocer si la distribución espacial de la plaga es homogénea o heterogénea. La forma del trayecto es variable y puede ir desde líneas diagonales a través del campo de muestreo, en zig-zag o hasta diseños que representan letras del alfabeto, como en “X”. El diseño de muestreo realizado, se describe a continuación mediante un croquis (Tabla 3.1).

Tabla 3.1: Croquis del diseño de muestreo en las parcelas.

PARCELA “X”																				
Nº Líneas	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
Subtramo	A	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n
	B	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n
	C	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n
	D	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n
	E	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n

Donde:

- (X), es la parcela elegida para muestrear. En este caso se trata de una parcela en la que se tienen 20 líneas de plantas (1, 2, 3,....., 20).
- (A, B, C, D y E) son los subparcelas en las que se divide cada línea.
- (n) es el número de cepas a muestrear (letras sombreadas).

3.2.1.1.- Parcelas españolas.

- **DOP Ribera del Duero.**

Las características de las parcelas estudiadas en la DOP Ribera del Duero se detallan en la Tabla 3.2.

Tabla 3.2: Características de las parcelas estudiadas en la DOP Ribera del Duero.

LOCALIDAD	CÓDIGO DE PARCELAS	VARIEDAD	SISTEMA DE CONDUCCIÓN	ALTITUD (m)	Nº DE CEPAS PROSPECTADAS
Peñañiel	PEÑA-P1	Tinta del País, Tempranillo o Tinto Fino	Doble cordón Royat	780	237
	PEÑA-P2			790	646
	PEÑA-P3			790	295
	PEÑA-P4			750	76
	PEÑA-P5			915	150
	PEÑA-P6			902	1.037
	PEÑA-P7			888	747



Figura 3.8: Parcela “PEÑA-P6” en la localidad de Peñañiel.



Figura 3.9: Parcela “PEÑA-P2” en la localidad de Peñañiel.

- **DOP Tierra de León.**

Las características de las parcelas estudiadas en la DOP Tierra de León se detallan en la Tabla 3.3.

Tabla 3.3: Características de las parcelas estudiadas en la DOP Tierras de León.

LOCALIDAD	CÓDIGO DE PARCELAS	VARIEDAD	SISTEMA DE CONDUCCIÓN	ALTITUD (m)	Nº DE CEPAS PROSPECTADAS
Gordoncillo	GORD-P1	Tinta del País, Tempranillo o Tinto Fino	Doble cordón Royat	768	1.037
	GORD-P2	Prieto Picudo		767	929



Figura 3.10: Parcela “GORD-P1” en la localidad de Gordoncillo.



Figura 3.11: Parcela “GORD-P2” en la localidad de Gordoncillo.

- **DOP Toro.**

Las características de las parcelas estudiadas en la DOP Toro se detallan en la Tabla 3.4:

Tabla 3.4: Características de las parcelas estudiadas en la DOP Toro.

LOCALIDAD	CÓDIGO DE PARCELAS	VARIEDAD	SISTEMA DE CONDUCCIÓN	ALTITUD (m)	Nº DE CEPAS PROSPECTADAS
El Pego	TORO-P1	Tinta de Toro*	Vaso	760	195
Toro	TORO-P2	Tinta de Toro		750	279
Bóveda de Toro	TORO-P3	Tinta de Toro		740	284

* En esta parcela había otras variedades mezcladas.



Figura 3.12: Parcela “TORO-P3” en la localidad de Bóveda de Toro.

3.2.1.2.- Parcelas portuguesas.

- **DOC Douro.**
 - **Baixo Corgo.**

Las características de las parcelas estudiadas en la DOC Douro, subregión Baixo Corgo, se detallan en la Tabla 3.5:

Tabla 3.5: Características de las parcelas estudiadas en la DOC Douro, subregión Baixo Corgo.

LOCALIDAD	CÓDIGO DE PARCELAS	VARIEDAD	SISTEMA DE CONDUCCIÓN	ALTITUD (m)	Nº DE CEPAS PROSPECTADAS
Peso da Regua	PESO-P1	Touriga Franca	Cordón unilateral	150	150



Figura 3.13: Parcela “PESO-P1” en la localidad Paso da Regua.

○ **Cima Corgo.**

Las características de las parcelas estudiadas en la DOC Douro, subregión Cima Corgo, se detallan en la Tabla 3.6:

Tabla 3.6: Características de las parcelas estudiadas en la DOC Douro, subregión Cima Corgo.

LOCALIDAD	CÓDIGO DE PARCELAS	VARIEDAD	SISTEMA DE CONDUCCIÓN	ALTITUD (m)	Nº DE CEPAS PROSPECTADAS
Pinhao	PINH-P1	Touriga Franca	Cordón unilateral	160	340
	POMB-P1	Rabigato		523	121
Pombal	POMB-P2	Códega de Larinho		165	150



Figura 3.14: Parcela "PINH-P1" en la localidad de Pinhao.



Figura 3.15: Parcela "POMB-P2" en la localidad de Pombal.

○ **Douro Superior.**

Las características de las parcelas estudiadas en la DOC Douro, subregión Douro Superior, se detallan en la Tabla 3.7.

Tabla 3.7: Características de las parcelas estudiadas en la DOC Douro, subregión Douro Superior.

LOCALIDAD	CÓDIGO DE PARCELAS	VARIEDAD	SISTEMA DE CONDUCCIÓN	ALTITUD (m)	Nº DE CEPAS PROSPECTADAS
Torre de Moncorvo	TORR-P1	Tinta Roriz	Doble cordón Royat	375	77
Freixo Espada a Cinta	FREI-P1			550	66
	FREI-P2			264	102



Figura 3.16: Parcela “TORR-P1” en la localidad de Torre de Moncorvo.



Figura 3.17: Parcela “FREI-P2” en la localidad de Freixo Espada a Cinta.

- **DOC Tras-os-Montes.**

- **Chaves.**

Las características de las parcelas estudiadas en la DOC Tras-Os-Montes, subregión Chaves, se detallan en la Tabla 3.8.

Tabla 3.8: Características de las parcelas estudiadas en la DOC Tras-Os-Montes, subregión Chaves.

LOCALIDAD	CÓDIGO DE PARCELAS	VARIEDAD	SISTEMA DE CONDUCCIÓN	ALTITUD (m)	Nº DE CEPAS PROSPECTADAS
Faioes	FAIO-P1	Malvasía Preta	Vaso	560	60



Figura 3.18: Parcela “FAIO-P1” en la localidad de Faioes.

○ **Planalto Mirandes.**

Las características de las parcelas estudiadas en la DOC Tras-Os-Montes, subregión Planalto Mirandes, se detallan en la Tabla 3.9.

Tabla 3.9: Características de las parcelas estudiadas en la DOC Tras-Os-Montes, subregión Planalto Mirandes.

LOCALIDAD	CÓDIGO DE PARCELAS	VARIEDAD	SISTEMA DE CONDUCCIÓN	ALTITUD (m)	Nº DE CEPAS PROSPECTADAS
Mogadouro	MOGA-P1	Tinta Roríz	Doble cordón Royat	656	119
	MOGA-P2	Touriga Nacional		656	127
	MOGA-P3	Touriga Franca		656	116
	MOGA-P4	Trincadeira o Tinta Amarela		656	50
Peredo da Bemposta	PERE-P1	Tinta Roríz	Doble cordón	675	124
	PERE-P2		Royat	670	64
	PERE-P3	Malvasía Fina	Cordón Unilateral	672	66
	PERE-P4	Tinta Roríz	Doble cordón Royat	700	70
Sendim	SEND-P1	Malvasía Preta	Vaso	691	130
	SEND-P2	Tinta Roríz	Cordón	723	70
	SEND-P3		Unilateral	723	111
Atenor	ATEN-P1	Tinta Roríz	Doble cordón Royat	720	66



Figura 3.19: Parcela “MOGA-P3” en la localidad de Mogadouro



Figura 3.20: Parcela “PERE-P1” en la localidad de Peredo da Bemposta



Figura 3.21: Parcela “SEND-P3” en la localidad de Sendim.



Figura 3.22: Parcela “ATEN-P1” en la localidad de Atenor

- **Valpaços.**

Las características de las parcelas estudiadas en la DOC Tras-Os-Montes, subregión Valpaços, se detallan en la Tabla 3.10.

Tabla 3.10: Características de las parcelas estudiadas en la DOC Tras-Os-Montes, subregión Valpaços.

LOCALIDAD	CÓDIGO DE PARCELAS	VARIEDAD	SISTEMA DE CONDUCCIÓN	ALTITUD (m)	Nº DE CEPAS PROSPECTADAS
Valpaços	VALP-P1	Trincadeira o Tinta Amarela	Doble cordón Royat	676	34
	VALP-P2	Tinta Roríz		676	34
	VALP-P3	Touriga Nacional		670	41
	VALP-P4	Moscatel Galego		669	39
Vilarandelo	VILA-P1	Tinta Roríz	Doble cordón	676	67
	VILA-P2	Syrah	Royat	670	73
Algeriz	ALGE-P1	Tinta Roríz	Doble cordón	511	105
	ALGE-P2	Malvasía Fina	Royat	523	165



Figura 3.23: Parcela “VALP-P3” en la localidad de Valpaços.



Figura 3.24: Parcela “VILA-P2” en la localidad de Vilarandelo.



Figura 3.25: Parcela “ALGE-P2” en la localidad de Algeriz.

3.2.1.3.- Tabla resumen de las parcelas y cepas prospectadas.

El número de cepas examinadas durante el año 2010 en España y Portugal fue de 8.649, divididas en 5.912 cepas en España (Tabla 3.11), y 2.737 cepas en Portugal (Tabla 3.12).

Tabla 3.11: Resumen de las parcelas y cepas prospectadas durante el año 2010 en las denominaciones de origen de España.

PAÍS	FIGURA DE CALIDAD	Nº DE PARCELAS PROSPECTADAS	Nº DE CEPAS PROSPECTADAS
España	DOP Ribera del Duero	7	3.188
	DOP Tierras de León	2	1.966
	DOP Toro	1	758
TOTAL		10	5.912

Tabla 3.12: Resumen de las parcelas y cepas prospectadas durante el año 2010 en las denominaciones de origen de Portugal.

PAÍS	FIGURA DE CALIDAD	SUBREGIÓN	Nº DE PARCELAS PROSPECTADAS	Nº DE CEPAS PROSPECTADAS
Portugal	DOC Douro	Baixo Corgo	1	150
		Cima Corgo	3	611
		Douro Superior	3	245
	DOC Tras Os Montes	Chaves	1	60
		Planalto Mirandes	12	1.113
		Valpaços	8	558
TOTAL			28	2.737

3.3.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

A continuación se muestra el porcentaje de cepas en las que se han encontrado síntomas de *X. arvicola*, en las parcelas muestreadas de España y Portugal.

3.3.1.- *X. arvicola* EN DENOMINACIONES DE CASTILLA Y LEÓN (ESPAÑA).

3.3.1.1.- DOP Ribera del Duero.

En la Tabla 3.13, se muestra el porcentaje de cepas en las que se han encontrado síntomas externos por ataque de *X. arvicola* en las parcelas muestreadas de la DOP Ribera del Duero.

Tabla 3.13: Porcentaje de síntomas en cepas de las parcelas de la DOP Ribera del Duero.

AÑO	LOCALIDAD	CÓDIGO PARCELA	CEPAS		% SÍNTOMAS
			TOTALES	SÍNTOMAS	
2010	Peñafiel	PEÑA-P1	237	20	8,6
		PEÑA-P2	646	78	22
		PEÑA-P3	295	53	18,7
		PEÑA-P4	76	2	2,8
		PEÑA-P5	150	48	33,3
		PEÑA-P6	1.037	26	2,6
		PEÑA-P7	747	72	11,3

Como podemos observar *X. arvicola* está presente en viñedos de la DOP Ribera del Duero.

En las siete parcelas muestreadas se han encontrado síntomas en el 2,6% de las cepas de la parcela “PEÑA-P6”, hasta unos valores altos y a la vez preocupantes del 33,3% en la parcela “PEÑA-P5”, lo que significa que 48 cepas de las 150 que conforman la plantación son o han sido colonizadas por *X. arvicola*.

También son destacables los valores obtenidos en las parcelas “PEÑA-P2” y “PEÑA-P3”, con 22 y 18,7% respectivamente. El resto de las parcelas, “PEÑA-P1”, “PEÑA-P4” y “PEÑA-P6” presentan valores por debajo del 10% de cepas con síntomas.

Moreno (2005) muestreó 18 parcelas en todo el área que abarca la denominación, observando que 7 de esas parcelas no presentaban ninguna sintomatología, otras 7 presentaban valores superiores al 70%, y las 4 restantes presentan valores en torno al 30% o inferiores.

Los resultados presentados, nos indican el avance en la propagación de la plaga a lo largo de todo el área de la denominación, ya que se ha pasado de parcelas sin mostrar ningún tipo de sintomatología, a que todas las parcelas muestreadas presenten los

síntomas característicos de la plaga.

3.3.1.2.- DOP Tierra de León.

En la Tabla 3.14, se muestra el porcentaje de cepas en las que se han encontrado síntomas externos por ataque de *X. arvicola* en las parcelas muestreadas de la DOP Tierra de León.

Tabla 3.14: Porcentaje de síntomas en cepas de las parcelas de la DOP Tierra de León.

AÑO	LOCALIDAD	CÓDIGO PARCELA	CEPAS		% SÍNTOMAS
			TOTALES	SÍNTOMAS	
2010	Gordoncillo	GORD-P1	1.037	192	15,8
		GORD-P2	929	34	3,8

En la DOP Tierra de León también se observa la presencia de *X. arvicola*. Cabe destacar, que la parcela en la que se ha encontrado mayor número de cepas con síntomas, la parcela “GORD-P1” es de variedad Tinta del País, Tempranillo o Tinto Fino, y la parcela “GORD-P2” es de la variedad Prieto Picudo.

Cuando Moreno (2005) realizó las prospecciones en campo de las parcelas de ésta área, “Tierra de León” no había obtenido la figura de calidad de denominación de origen, siendo anteriormente esta área era conocida como “Asociaciones del Vino de la Tierra: Tierra del Vino de León”, cuya variedad principal es el Prieto Picudo. Moreno (2005) muestreó 1.109 cepas en 9 parcelas diferentes, obteniendo un porcentaje de cepas afectadas del 3,9%. El número de cepas observadas en nuestro caso en “GORD-P2” es bastante aproximado en número (929 frente a 1.109) y el porcentaje de cepas con síntomas, un 3,8%, es prácticamente similar a los valores obtenidos en 2005, por lo que podemos decir, que aunque sigue siendo una variedad, Prieto Picudo, propensa a ser atacada por *X. arvicola*, lo es en menor medida que otras variedades, manteniéndose similares porcentajes de síntomas en las cepas.

Con respecto a la parcela “GORD-P1”, de la variedad Tinta del País, Tempranillo o Tinto Fino, que posee un 15,8 % de cepas con síntomas, se comprueba que es una variedad con grado de afección medio, muy por debajo de la variedad Cabernet-Sauvignon que es la variedad más atacada (83,5%), y bastante por encima de la variedad con menos afección, Mencía (1,4%) según describe Moreno (2005).

3.3.1.3.- DOP Toro.

En la Tabla 3.15, se muestra el porcentaje de cepas en las que se han encontrado síntomas externos por ataque de *X. arvicola* en las parcelas muestreadas de la DOP Toro.

Tabla 3.15: Porcentaje de síntomas en cepas de las parcelas de la DOP Toro.

AÑO	LOCALIDAD	CÓDIGO PARCELA	CEPAS		% SÍNTOMAS
			TOTALES	SÍNTOMAS	
2010	El Pego	TORO-P1	195	35	18,4
	Toro	TORO-P2	279	105	39,9
	Bóveda de Toro	TORO-P3	284	171	66,0

Moreno (2005) describía en su tesis sobre esta denominación de origen, que a lo largo de los años en los que realizó el muestreo, se habían incrementado el número de cepas con síntomas del coleóptero, con valores del 27,3% en 2002, 34,4% en 2003 y 48,9% en 2004. Esto confirma los valores que hemos obtenido, donde sigue habiendo un incremento en el número de cepas con síntomas, alcanzándose valores en la parcela “TORO-P3” del 66%.

También destacan las parcelas “TORO-P1” y “TORO-P2” con valores del 18,4% y del 39,9%, que aunque son los valores menores a los observados en ésta área, superan los valores máximos de síntomas de las parcelas de denominación de origen Ribera del Duero y Tierra de León.

3.3.2.- *X. arvicola* EN DENOMINACIONES DE ORIGEN DE BRAGANÇA Y VILA-REAL (PORTUGAL).

3.3.2.1.- DOC Douro.

En las Tablas 3.16, 3.17 y 3.18 se muestran la ausencia de síntomas externos por ataque de *X. arvicola* en las parcelas muestreadas de la DOC Douro.

- **Baixo Corgo.**

Tabla 3.16: Porcentaje de síntomas en cepas de las parcelas de la DOC Douro, subregión Baixo Corgo.

AÑO	LOCALIDAD	CÓDIGO PARCELA	CEPAS		% SÍNTOMAS
			TOTALES	SÍNTOMAS	
2010	Peso da Regua	PESO-P1	150	0	0

Una vez realizado el muestreo, no se han encontrado síntomas externos en las cepas por incidencia de *X. arvicola* en la DOC Douro, subregión Baixo Corgo.

- **Cima Corgo.**

Tabla 3.17: Porcentaje de síntomas en cepas de las parcelas de la DOC Douro, subregión Cima Corgo.

AÑO	LOCALIDAD	CÓDIGO PARCELA	CEPAS		% SÍNTOMAS
			TOTALES	SÍNTOMAS	
2010	Pinhao	PINH-P1	340	0	0
	Pombal	POMB-P1	121	0	0
		POMB-P2	150	0	0

Las cepas muestreadas en la DOC Douro, subregión Cima Corgo, no han mostrado síntomas externos por incidencia de *X. arvicola*.

- **Douro Superior.**

Tabla 3.18: Porcentaje de síntomas en cepas de las parcelas de la DOC Douro, subregión Douro Superior.

AÑO	LOCALIDAD	CÓDIGO PARCELA	CEPAS		% SÍNTOMAS
			TOTALES	SÍNTOMAS	
2010	Torre de Moncorvo	TORR-P1	77	0	0
	Freixo Espada a Cinta	FREI-P1	66	0	0
		FREI-P2	102	0	0

Tras haber realizado el muestreo de campo en las parcelas de la DOC Douro, subregión Douro Superior, no se ha observado cepas por incidencia de *X. arvicola*.

3.3.2.2.- DOC Tras-os-Montes.

En las Tablas 3.19, 3.20 y 3.21 se muestran la ausencia de síntomas externos por ataque de *X. arvicola* en las parcelas muestreadas de la DOC Tras-Os-Montes.

- **Chaves.**

Tabla 3.19: Porcentaje de síntomas en cepas de las parcelas de la DOC Tras-Os-Montes, subregión Chaves.

AÑO	LOCALIDAD	CÓDIGO PARCELA	CEPAS		% SÍNTOMAS
			TOTALES	SÍNTOMAS	
2010	Faioes	FAIO-P1	60	0	0

En la DOC Tras-Os-Montes, subregión Chaves, una vez muestreadas las cepas de las

parcelas seleccionadas, no se han encontrado síntomas externos por incidencia de *X. arvicola*.

- **Planalto Mirandes.**

Tabla 3.20: Ausencia de síntomas en cepas de las parcelas de la DOC Tras-Os-Montes, subregión Planalto Mirandes.

AÑO	LOCALIDAD	CÓDIGO PARCELA	CEPAS		% SÍNTOMAS
			TOTALES	SÍNTOMAS	
2010	Mogadouro	MOGA-P1	119	0	0
		MOGA-P2	127	0	0
		MOGA-P3	116	0	0
		MOGA-P4	50	0	0
	Peredo da Bemposta	PERE-P1	124	0	0
		PERE-P2	64	0	0
		PERE-P3	66	0	0
		PERE-P4	70	0	0
	Sendim	SEND-P1	130	0	0
		SEND-P2	70	0	0
		SEND-P3	111	0	0
	Atenor	ATEN-P1	66	0	0

No se han observado síntomas externos en las cepas muestreadas, en la DOC Tras-Os-Montes, subregión Planalto Mirandes, por la incidencia de *X. arvicola*.

- **Valpaços.**

Tabla 3.21: Presencia de síntomas en cepas de las parcelas de la DOC Tras-Os-Montes, subregión Valpaços.

AÑO	LOCALIDAD	CÓDIGO PARCELA	CEPAS		% SÍNTOMAS
			TOTALES	SÍNTOMAS	
2010	Valpaços	VALP-P1	34	0	0
		VALP-P2	34	0	0
		VALP-P3	41	0	0
		VALP-P4	39	0	0
	Vilarandelo	VILA-P1	67	0	0
		VILA-P2	73	0	0
	Algeriz	ALGE-P1	105	0	0
		ALGE-P2	165	0	0

En la DOC Tras-Os-Montes, subregión Valpaços, una vez muestreadas las cepas de las parcelas seleccionadas, no se han encontrado síntomas externos por incidencia de *X. arvicola*.

3.3.3.- ZONAS SELECCIONADAS POR PRESENCIA DE *X. arvicola*.

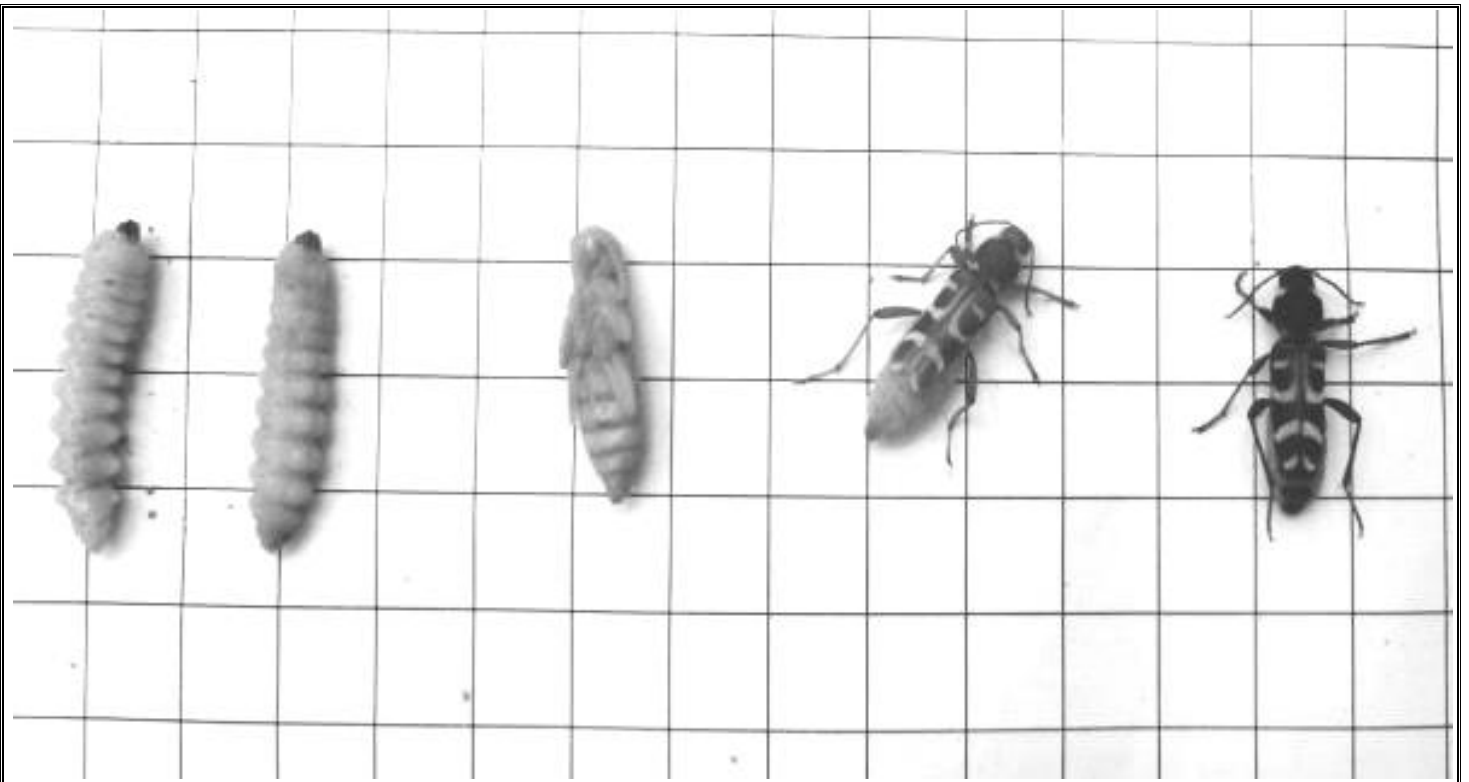
Una vez analizados los resultados obtenidos por los muestreos en todas las parcelas descritas anteriormente de las denominaciones de origen estudiadas, se concluye que:

- Las denominaciones de origen portuguesas no muestran ningún tipo de sintomatología de que tengan o que hayan tenido incidencia de *X. arvicola*.
- Las denominaciones de origen españolas muestran síntomas de *X. arvicola* en cepas, siendo la DOP Toro la que presenta valores más altos de sintomatología en cepas, por delante de la DOP Ribera del Duero y la DOP Tierra de León.

Una vez analizados los datos, se decide realizar el esfuerzo recolector, mediante la colocación de trampas de interceptación para captura directa en campo de adultos de *X. arvicola* y recogida en campo de material vegetal procedente de las cepas afectadas para introducir en evolucionarios, en las parcelas de las denominaciones de origen que se describe a continuación en la Tabla 3.22:

Tabla 3.22: Parcelas de las DOP Denominación de Origen españolas donde se decide realizar el esfuerzo recolector de material vegetal y capturas.

LOCALIDAD	FIGURA DE CALIDAD (DOP)	CÓDIGO PARCELA	% SÍNTOMAS
Peñafiel	Ribera del Duero	PEÑA-P5	33,3
Gordoncillo	Tierra de León	GORD-P1	15,8
Bóveda de Toro	Toro	TORO-P3	66,0



Capítulo 4: Cría en cautividad.



CAPÍTULO 4: CRÍA EN CAUTIVIDAD.

4.1.- INTRODUCCIÓN.

Un objetivo fundamental que se marcó dentro del estudio de esta plaga, era establecer y mantener una población en condiciones de laboratorio, y conseguir el mayor número de adultos de *Xylotrechus arvicola*, para tener suficientes individuos para la realización de ensayos de materias activas a partir de individuos capturados en campo, en evolucionarios y obtenidos mediante dieta artificial en laboratorio.

4.2.- MATERIAL Y MÉTODOS.

4.2.1.- CAPTURAS DE ADULTOS DE *X. arvicola*.

Estudiada la presencia de *X. arvicola* en las denominaciones de origen españolas, DOP Ribera del Duero, DOP Tierra de León y DOP Toro y portuguesas, DOC Douro y DOC Tras-Os-Montes, se descartaron estas últimas, por no haber detectado la presencia de *X. arvicola*.

En las parcelas elegidas en cada una de las denominaciones de origen españolas donde se había observado mayor infestación, se siguieron dos metodologías para la obtención de adultos de *X. arvicola*, que se describen a continuación:

- Obtención de adultos de *X. arvicola* a partir de captura directa en campo mediante trampas de interceptación.
- Obtención de adultos de *X. arvicola* a partir de madera de vid recogida en las parcelas y llevada a laboratorio e introducida en evolucionarios.

4.2.1.1.- Captura directa en campo.

Se comienza en una parcela pensando en capturar suficientes adultos de *X. arvicola* para establecer la población en laboratorio implementando el protocolo de cría en cautividad. Durante los meses de mayo y junio del año 2010, se inicia la colocación de trampas de interceptación en la parcela “PEÑA-P5” (Fig. 4.1) en la DOP Ribera del Duero, añadiendo el resto de parcelas en los años siguientes, e ir consiguiendo los primeros adultos de *X. arvicola*, para ir fijando una población estable en el laboratorio.

En el año 2011, en los mismos meses, se añadió la parcela “TORO-P3” (Fig. 4.2) en la DOP Toro y en el año 2012, el último año en el que se colocaron trampas de interceptación en campo, se añadió la parcela “GORD-P1” (Fig. 4.3), en la DOP Tierra de León (Tabla 4.1)

Tabla 4.1: Parcelas de las denominaciones de origen españolas y años en los que se colocaron las trampas de interceptación.

FIGURA DE CALIDAD (DOP)	LOCALIDAD	CÓDIGO PARCELA	AÑO		
			2010	2011	2012
Ribera del Duero	Peñafiel	PEÑA-P5	Trampa de Interceptación	Trampa de Interceptación	Trampa de Interceptación
Toro	Bóveda de Toro	TORO-P3		Trampa de Interceptación	Trampa de Interceptación
Tierra de León	Gordoncillo	GORD-P1			Trampa de Interceptación

- **Trampas de Interceptación.**

El método para la captura directa en campo fue realizado mediante la utilización de trampa de interceptación (Figs. 4.1 a 4.3) de la casa ECONEX (CROSSTRAP®), que consta de una tapa de polipropileno de 33 cm de diámetro con un colgador sujeto a ésta con un muelle, dos láminas colocadas perpendicularmente de 100 cm de longitud de PVC reforzado ancladas en su parte superior a la tapa por medio de cuatro muelles y en la parte inferior a un embudo de polipropileno de 30 cm de diámetro, por medio de otros cuatro muelles. En la parte inferior del embudo, se encuentra el bote colector de capturas sujeto con a éste con tornillos. El bote colector tiene unas medidas de 13 cm de diámetro y 13 cm de altura, con una capacidad aproximada de 1 litro. La trampa desplegada mide 33 cm de diámetro por 146 cm de altura.

Las láminas, el embudo y el colector estaban tratados con un producto deslizante, que facilitaba la recogida de adultos de *X. arvicola* que interceptaban y deslizaban hacia el bote recolector.



Figura 4.1: Trampa de interceptación en la DOP Ribera del Duero. Parcela "PEÑA-P5".



Figura 4.2: Trampa de interceptación en la DOP Toro. Parcela "TORO-P3".



Figura 4.3: Trampa de interceptación en la DOP Tierras de León. Parcela “GORD-P1”

Las trampas se visitaban con una periodicidad de tres veces por semana para obtener los adultos vivos en las mejores condiciones posibles.

4.2.1.2.- Captura directa en evolucionario.

Con la finalidad de avanzar en los estudios de la plaga y conocer nuevos datos sobre su biología, se llevaron a cabo recolecciones de cepas, o partes de cepas, que presentaban síntomas externos por ataque de *X. arvicola* (brazos debilitados, nuevas formaciones, orificios de emergencia de adultos,...) (Fig. 4.4) en distintas parcelas de la DOP Ribera del Duero (Fig. 4.5), durante los meses de febrero y marzo en los años 2010, 2011 y 2012. Las cepas se llevaron al laboratorio de la Universidad de León donde se introdujeron en evolucionarios. Con revisiones diarias se podía tener constancia de las fechas de emergencia de los adultos a partir de la madera infectada por la plaga allí introducida.



Figura 4.4: Orificio de emergencia de adultos de *X. arvicola* en el brazo de las cepas.



Figura 4.5: Síntoma externo por debilitamiento en cepas con formación en espaldera.

• **Evolucionarios.**

Las cepas procedían de la DOP Ribera del Duero y en su totalidad tenían formación en espaldera a Doble Cordon o Cordon Royat, estructura de formación lineal en la que los elementos de producción anual se distribuyen a lo largo del mismo. Está formado por una horquilla en la que los dos cordones laterales, horizontalmente opuestos, reciben el nombre de brazos y los elementos de producción y renovación anual son pulgares con orientación vertical superior (Yuste, 2001b). Habitualmente las cepas en Cordon Royat presentan vegetación más o menos ascendente y conducida más o menos en un plano (Yuste, 2001a) (Fig. 4.6).

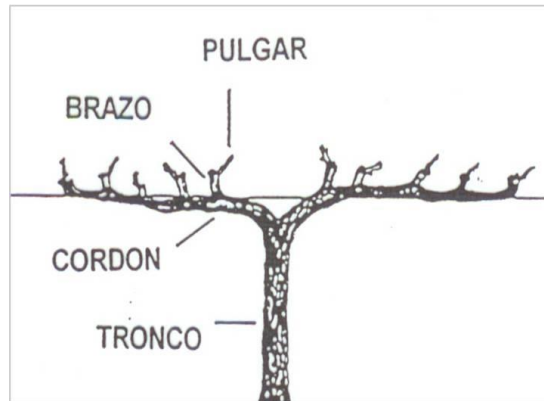


Figura 4.6: Cepa formada en Doble Cordon o Cordon Royat. (Imagen tomada de Pago de Larrainzar, www.pagodelarrainzar.com.mialias.net).

Las cepas con formación Doble Cordon o Cordon Royat se trocearon (Fig. 4.7) diferenciándose en tres zonas:

- Tronco, incluido el punto de injerto.
- Cruz, zona donde se bifurcan los brazos y se unen/entroncan con el fuste/tronco.
- Brazos.

Los trozos se colocaron en evolucionarios consistentes en cajas de plástico de 55 x 40 x 35 cm (largo-ancho-alto), cubiertos interiormente por malla anti-pulgón, para facilitar la visión y captura de los adultos emergidos y evitar su fuga (Fig. 4.8).

Los evolucionarios se colocaron en el exterior en iguales condiciones de campo, cubiertas mediante una malla de sombreado de jardín y sobre una estructura (bandejas forestales de polietileno) sobre del suelo, para favorecer la aireación de las cepas troceadas, evitando la acumulación de humedad en la madera, y la posible aparición posterior de hongos (Fig. 4.8).



Figura 4.7: Corte de cepas de madera procedente de viñedos.



Figura 4.8: Cepas troceadas introducidas en evolucionarios para captura de adultos de *X. arvicola*.

Los tratamientos fueron dos, con tres repeticiones cada tratamiento, un total de 6 tratamientos, con un diseño del ensayo en bloques completos totalmente aleatorizados (Fig. 4.9). Los evolucionarios se mantuvieron desde el año 2010, hasta el año 2012, pues la fase larvaria de *X. arvicola* en el interior de la cepa tiene una duración media de dos años (Moreno, 2005).

En la Tabla 4.2 se detallan los años, variedades, partes de la cepa y número de repeticiones que se realizaron en el ensayo.

Tabla 4.2: Años, variedades, partes de la cepa y número de repeticiones que se realizaron en el ensayo.

AÑO	VARIEDAD	PARTE DE LA CEPA	Nº REPETICIONES
2010	Tempranillo, Tinta del País o Tinta de Toro	Brazo	3
		Cruz	
		Tronco	
	Cabernet-Sauvignon	Brazo	3
		Cruz	
		Tronco	
2011	Tempranillo, Tinta del País o Tinta de Toro	Brazo	3
		Cruz	
		Tronco	
	Cabernet-Sauvignon	Brazo	3
		Cruz	
		Tronco	
2012	Tempranillo, Tinta del País o Tinta de Toro	Brazo	3
		Cruz	
		Tronco	
	Cabernet-Sauvignon	Brazo	3
		Cruz	
		Tronco	

Se realizaron revisiones diarias de abril a julio, durante los años 2010, 2011 y 2012 para recoger las emergencias que pudiera haber de adultos de *X. arvicola*. Se anotaba el número de adultos y se buscaba el orificio de emergencia por los indicios de serrín, pues el adulto al emerger de la madera expulsa los restos de serrín con los que la larva había

taponado el orificio de salida de la cámara pupal, antes de comenzar a pupar (Peláez *et al.*, 2006) (Fig. 4.10).



Figura 4.9: Ensayo de evolucionarios para captura de adultos de *X. arvicola*.



Figura 4.10: Adulto de *X. arvicola* emergido de la madera y capturado en evolucionario.

4.2.2.- MANEJO DE ADULTOS.

Los adultos de *X. arvicola* capturados se llevaban al laboratorio y se identificaban:

- Para los adultos capturados en campo se anotaba la procedencia de la parcela de la denominación de origen y la fecha de captura en campo, se sexaban previa identificación del color claro de los fémures de las hembras y ovipositores y fémures oscuro casi negro de los machos (Moreno, 2005).
- Para adultos capturados en laboratorio, se anotaba su origen, parcela de procedencia de las cepas troceadas, variedad, así como la fecha de captura, y para sexarlos se seguía la metodología descrita en el epígrafe anterior.

A continuación se introducían en botes cilíndricos de cristal, de 8 cm de diámetro y 10 cm de altura, con la tapa perforada para una correcta ventilación, cubriendo con papel de filtro el fondo, sobre el que se colocaban bebederos, consistentes en algodón impregnado en una solución de miel ecológica al 10% en agua destilada. Los algodones se cambiaban diariamente para evitar la proliferación de hongos, y se limpiaban los botes con la ayuda de un papel estéril.

Los botes de cristal con los adultos se mantuvieron en una cámara tipo Fitotron con condiciones controladas de temperatura ($24 \pm 1^\circ\text{C}$) y humedad ($60 \pm 5\%$), sometidos a un fotoperiodo de 16 horas de luz y 8 de oscuridad (16:8) y a una intensidad luminosa de 1000 a 4000 lux. Estas condiciones se mantuvieron para el resto del proceso de cría, haciendo coincidir el periodo de luz con el día natural, para facilitar el manejo, tal como realizó García Ruiz (2009) (Fig. 4.11).

Los emparejamientos se hicieron en función de los parámetros de las fechas de captura que se tenía anotadas de cada adulto de *X. arvicola* y su procedencia. Se emparejaron adultos con similares fechas de captura, de esta forma se evitó el apareamiento de adultos de diferentes días de vida (al no saber qué repercusiones pudieran tener), y misma procedencia, para poder analizar posteriormente si había diferencias en la cría en función

del origen de los adultos (Fig. 4.12).

Con adultos de *X. arvicola* que no se podían emparejar con ejemplares de la misma procedencia (por ser número impar, por llegar heridos, débiles o precisar de un tiempo de recuperación,...), se optó por emparejarlos, con adultos de otras procedencias, y así estudiar las posibles diferencias que hubiera en función de los orígenes.



Figura 4.11: Condiciones controladas de temperatura y humedad para adultos recibidos tras captura en campo.



Figura 4.12: Emparejamiento de adultos de *X. arvicola* recibidos tras captura en campo.

4.2.3.- CRIA EN CAUTIVIDAD DE *X. arvicola*.

4.2.3.1.- Dieta artificial.

De acuerdo con los resultados obtenidos por García Ruiz (2009) para la cría en laboratorio de larvas de *X. arvicola*, en cuanto a requerimientos nutricionales, supervivencia y manejo de los estadios larvarios, se optó por la utilización de la Dieta Semisintética de Iglesias SSI, (Iglesias *et al.*, 1989), cuya composición se muestra en la (Tabla 4.3).

Las larvas neonatas (< 24 h) de *X. arvicola* que se destinaron a cría en cautividad mediante dieta, fueron las obtenidas tras los emparejamientos de los adultos de *X. arvicola* obtenidos durante los años 2010 y 2011 en campo y evolucionarios.

Las características de cada uno de los componentes y su función dentro de la dieta, se describen a continuación:

- La base de la dieta es el agar, para dar cuerpo y facilitar el manejo de la misma (García Ruiz, 2009).
- El ácido ascórbico, es un factor de crecimiento necesario para un desarrollo adecuado de insectos fitófagos (Chippendale & Beck, 1965).
- El serrín de roble actúa como fagoestimulante por ser extracto o parte de la planta hospedadora natural y como promotor del crecimiento (Necibi & Linit, 1997).
- El aporte de minerales se realizó mediante germen de trigo. La levadura de

cerveza, es fuente de micro y macronutrientes necesarios para algunas especies de insectos, al igual que la sémola de maíz (Tsitsipis, 1989).

- Tanto la nipagina como el ácido benzoico se incorporaron con el fin de inhibir el crecimiento de levaduras, bacterias y hongos filamentosos en las dietas (García Ruiz, 2009).

Tabla 4.3: Composición de la dieta artificial Semisintética de Iglesias (SSI)

COMPONENTES	CANTIDAD (524,42g)
Serrín de roble (g)	75,90
Levadura de cerveza (g)	16,50
Sémola /Harina de maíz (g)	33,00
Germen de trigo (g)	61,00
Etanol 70 % (ml)	18,75
Nipagina (metil-p-hidroxibenzoato) (g)	1,87
Ácido benzoico (g)	1,50
Ácido ascórbico (g)	0,90
Agar (g)	15,00
Agua destilada (ml)	300,00

La metodología que se seguía para la elaboración de 524,42 g de la dieta SSI se describe a continuación:



Figura 4.13: Vasos de precipitados con serrín de roble, germen de trigo, levadura de cerveza y harina de maíz para autoclavar.



Figura 4.14: Homogeneización de la solución antifúngica, agua destilada y agar.

En autoclave se esterilizaron a 121°C durante 20 minutos en vasos separados, serrín de roble, levadura de cerveza, harina de maíz y germen de trigo. Una vez llenos, los vasos de precipitados se cerraban con papel de aluminio y se introducían en bolsas de autoclave (Fig. 4.13).

Por otra parte, se preparaba una solución antifúngica con 1,87 g de nipagina (metil-p-hidroxibenzoato), disueltos en 18,75 ml de etanol (70%) mediante un agitador magnético. Una vez disuelta la solución antifúngica, se añadían 1,50 g de ácido benzoico y se

continuaba agitando la mezcla hasta su completa disolución.

Se homogeneizaban agua destilada, agar y la solución antifúngica mediante un agitador-calefactor (Fig. 4.14) calentándose hasta que alcanzaba la ebullición. Cuando la mezcla obtenida bajaba de 60°C se añadía el ácido ascórbico. Con la ayuda de una batidora eléctrica, se mezclaban los ingredientes autoclavados, con la solución obtenida (Fig. 4.15), de esta forma se conseguía una mayor homogeneidad en el tamiz de las partículas. Para finalizar, se vertía toda la mezcla en placas Petri de 55 mm de diámetro (Fig. 4.16). La dieta obtenida, se dejaba enfriar hasta temperatura ambiente y se introducía en cámara frigorífica a temperatura ($4 \pm 1^\circ\text{C}$) y humedad ($60 \pm 5\%$).



Figura 4.15: Homogeneización de componentes con batidora eléctrica.

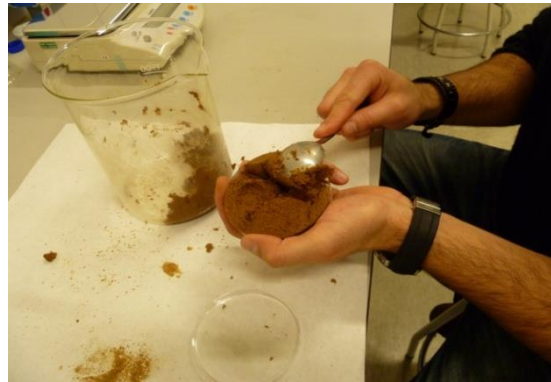


Figura 4.16: Vertido de la dieta en placas Petri de 55 mm de diámetro para su conservación.

4.2.3.2.- Proceso de la cría.

Todos los estadios de *X. arvicola*, huevos, larvas neonatas, larvas de otros estadios y adultos, durante el periodo de cría, se mantuvieron en una cámara con condiciones ambientales controladas de temperatura ($24 \pm 1^\circ\text{C}$), humedad ($60 \pm 5\%$), sometidos a un fotoperiodo de 16 horas de luz y 8 horas de oscuridad, y a una intensidad luminosa de 1000 a 4000 lux.

Se pasa a describir el proceso seguido para cada uno de los estadios según la metodología descrita por García Ruíz (2009).

• Huevo.

En los botes de cristal de 80 mm de diámetro y 10 cm de altura, donde se mantenían los adultos emparejados de *X. arvicola* en condiciones ambientales controladas, se introducían sustratos de puesta, consistentes en tiras de cartón ondulado (12 x 4 cm largo-ancho) enrollados sobre sí mismos (Fig. 4.18).



Figura 4.18: Extracción huevos de *X. arvicola* de los sustratos de puesta



Figura 4.19: Placas Petri con huevos de *X. arvicola* para mantenimiento en cámara (Fitotron).

Los sustratos de puesta y las bases de papel de filtro que se colocaban en el fondo de los botes de cristal, se revisaban diariamente y las puestas de huevos de *X. arvicola* se recortaban para colocarlos posteriormente en placas Petri de 55 mm de diámetro. Las placas se cubrían con papel de aluminio para asegurar una oscuridad total y se situaban dentro de la cámara con condiciones controladas (Fig. 4.19). Las placas Petri se revisaban diariamente hasta que se completaba la eclosión de todos los huevos, se anotaba la eclosión diaria, durante los 12 días siguientes a la puesta en los que se hacía el conteo. En el último día se contaban el número de huevos totales que no habían eclosionado.

• Larva.

Se hará la descripción del manejo de larvas de *X. arvicola* en función de si eran larvas neonatas o eran larvas de otros estadios.

- Las larvas neonatas se recogían diariamente de las placas Petri de 55 mm de diámetro, donde se mantenían las puestas de huevos y eran transferidas a la dieta artificial a fin de evitar una alta mortalidad. La dieta se cortaba en pequeños trozos que se introducían en botes de plástico de 2 cm de diámetro y 4 cm de altura. Esta dieta se presionaba con ayuda de toallitas de papel estériles, distribuyéndola por todo el bote y eliminando el exceso de humedad. Los botes se rellenaban con la dieta artificial hasta la mitad de su capacidad, 2 cm de altura de comida. Con ayuda de un escalpelo se practicaba un surco central en la superficie para favorecer la penetración de la larva neonata. Con un pincel de pelo de camello se colocaban las larvas neonatas de forma individualizada en los botes (Figs. 4.19 y 4.20) y se colocaba un disco de papel de filtro estéril de 3 mm de grosor encima de la dieta con la larva con el fin de absorber la posible condensación de humedad, y a la vez, para reproducir el hábitat que tienen las larvas neonatas en la naturaleza, ya que suelen eclosionar debajo de la corteza en el interior de la madera sin luz. Los botes de plástico se colocaban en una bandeja y eran cubiertos con una tapa de cartón para asegurar la oscuridad durante la cría (Fig. 4.22). Se realizaban dos revisiones por semana con el objetivo de secar la humedad que se iba condensando en la tapa, y en el interior de las paredes, y se anotaba la mortalidad que se iba produciendo.

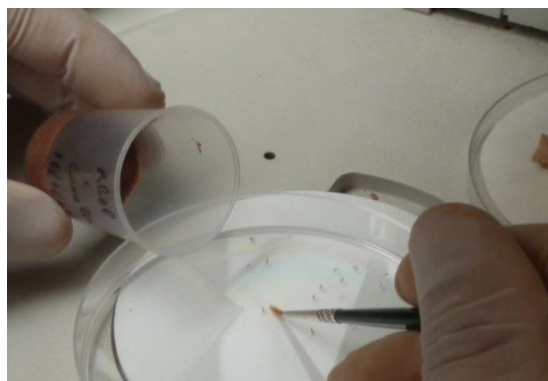


Figura 4.20: Paso a dieta artificial de larvas neonatas en botes de plástico pequeños.



Figura 4.21: Surco central para favorecer la penetración de la larva neonata.



Figura 4.22: Botes con larvas neonatas de *X. arvicola* colocados en bandeja y con tapa de cartón para asegurar la oscuridad durante el proceso de cría.

- Las larvas de otros estadios, a partir del segundo mes de cría en dieta artificial, se transferían de los botes descritos en el apartado anterior a otros botes de plástico más grandes, de 4 cm de diámetro y 6,5 cm de alto. Estos botes se rellenaban de dieta de la misma manera que para los botes utilizados para larvas

neonatas (Fig. 4.23), en este caso hasta la mitad de su capacidad, 3 cm de altura. Con una espátula se practicaba un surco en la parte central de la dieta ya presionada y se introducía una larva por bote con ayuda de unas pinzas blandas (Fig. 4.24) y se mantenían en las mismas condiciones descritas para larvas neonatas descritas en el punto anterior (Fig. 4.25).



Figura 4.23: Paso de larvas de *X. arvicola* con 2 meses de cría en dieta artificial, a botes de plástico más grandes.



Figura 4.24: Colocación de larva de *X. arvicola* tras cambio de comida.



Figura 4.25: Botes con larvas de *X. arvicola* colocados en bandeja y con tapa de cartón para asegurar la oscuridad durante el proceso de cría.

La periodicidad del cambio de la dieta introducida en los botes de plástico en los que se mantenían las larvas, fue de un mes debido a que esta dieta, por su bajo contenido en agua, perdía su textura al secarse en exceso (Fig. 4.26). Otro motivo por el cual se debía revisar la dieta, en los botes de plásticos que contenían las larvas, era debido a la alta voracidad de las larvas, que llegaban a comer el propio envase que las contenía, en los primeros estadios larvarios (Fig. 4.27).



Figura 4.26: Cambio de comida por pérdida de textura de la dieta artificial.



Figura 4.27: Cambio de comida y envase por la ingesta de las larvas que contenían.

- **Pupa.**

Transcurrido entre 9 y 10 meses desde la eclosión del huevo, las larvas dejaban de comer, lo que indicaba que estaban entrando en diapausa. En ocasiones, algunas larvas no entraban en diapausa, sino que pupaban directamente. Las larvas diapausantes se sometían durante 45 días a un periodo de frío, dentro de una cámara frigorífica con condiciones controladas de temperatura ($8 \pm 1^\circ\text{C}$), humedad ($60 \pm 5\%$) y en oscuridad. Pasado este tiempo, se volvían a colocar en las mismas condiciones que tenían antes, hasta su pupación, temperatura ($24 \pm 1^\circ\text{C}$) y humedad ($60 \pm 5\%$) (Fig. 4.28).



Figura 4.28: Larva de *X. arvicola* tras periodo de frío.

Las larvas empezaban a prepupar aproximadamente 1 mes después del periodo de frío. Las prepupas se estiraban y se volvían rígidas, empezando a presentar poco tiempo después unos movimientos rotatorios característicos. Se produce un engrosamiento en la parte central del abdomen y los segmentos del tórax se vuelven translúcidos (Fig. 4.29). En los mismos botes de plástico utilizados para el desarrollo larvario, se rodeaban las pupas (Fig. 4.30) con papel absorbente, hasta la completa esclerotización y melanización, anotándose la mortalidad que iba teniendo lugar. Estos individuos tienen capacidad de movimiento antes de su completa melanización y antes de que hayan reabsorbido todas las reservas de grasa del abdomen, aunque no se consideran adultos totalmente formados.



Figura 4.29: Larva de *X. arvicola* en periodo de prepupa, con segmentos traslúcidos en el torax y engrosamiento de la parte central.



Figura 4.30: Pupa de *X. arvicola* tras periodo de frío, con esbozos de adultos de *X. arvicola*.

La determinación del sexo se realiza en estos momentos, ya que es posible distinguir claramente el color claro de los fémures de las hembras del color pardo oscuro, casi negro, de los machos. Una vez determinado el sexo de los imagos obtenidos en el laboratorio, se anotaban, las emergencias que se iban obteniendo, así como la mortalidad que se había producido (Fig. 4.31).



Figura 4.31: Evolución morfológica en laboratorio de larva, prepupa, pupa y adultos de *X. arvicola*.

- **Adulto.**

Los adultos obtenidos de la cría en laboratorio se emparejaban (Fig. 4.32). Anotándose de cada hembra la procedencia desde la cual se inició su cría en laboratorio, fecha de emparejamiento, parejas y puestas. Esta operación de emparejamientos se repitió diariamente, según se iban considerando la completa formación de los adultos criados en laboratorio.



Figura 4.32: Apareamiento de adultos de *X. arvicola* obtenidos en laboratorio.

4.2.4.- VARIABLES ESTUDIADAS.

4.2.4.1.- Fecundidad de las hembras.

El objetivo era evaluar la fecundidad de las hembras de *X. arvicola*, en función de las diferentes denominaciones de origen de procedencia con las hembras obtenidas en laboratorio.

Las diferentes poblaciones de hembras adultas de *X. arvicola* que se utilizaron para el estudio se describen en la Tabla: 4.4:

Tabla 4.4: Origen, procedencias y años de las hembras de *X. arvicola* utilizadas para el estudio.

FECUNDIDAD DE HEMBRAS DE <i>X. arvicola</i>			
ORIGEN	PROCEDENCIAS	AÑO	NÚMERO
CAMPO	DOP	2010	6
	Ribera del Duero	2011	18
	DOP	2011	5
	Ribera del Duero "Evolucionario"		
	DOP	2011	10
Cruces entre DOP	2011	5	
LABORATORIO	DOP	2010	8
	Ribera del Duero "Primera generación"		
	DOP	2010	2
	Ribera del Duero "Segunda generación"		
DOP	2011	63	
	Ribera del Duero "Sin periodo de frío" "Segundo periodo de cría"		

4.2.4.2.- Viabilidad larvaria.

El objetivo era evaluar la viabilidad, de larvas neonatas de las distintas poblaciones conseguidas de las denominaciones de origen y de las larvas criadas en laboratorio.

Las diferentes poblaciones de larvas neonatas de *X. arvicola* que se utilizaron para el estudio se describen en la Tabla: 4.5:

Tabla 4.5: Origen, procedencias y años de las larvas neonatas de *X. arvicola* utilizados para el estudio.

LARVAS NEONATAS DE <i>X. arvicola</i>			
ORIGEN	PROCEDENCIAS	AÑO	NÚMERO
CAMPO	DOP	2010	89
	Ribera del Duero	2011	124
	DOP Ribera del Duero "Evolucionario"	2011	355
	DOP Toro	2011	160
	Cruces entre DOP	2011	125
LABORATORIO	DOP Ribera del Duero "Segundo año de cría"	2010	137
	DOP Ribera del Duero "Sin periodo de frío" "Primer año de cría"	2011	606

4.2.4.3.- Estadios inmaduros.

El estudio se basó en evaluar los días de duración de los periodos de transición desde larva a adulto, periodos de prepupa y pupa, un vez pasados los 9 meses de desarrollo larvario en laboratorio, para observar si se obtenían diferencias significativas entre las distintas procedencias de las que se habían obtenido las larvas, así como evaluar la mortalidad que se iba produciendo en estos periodos de desarrollo.

Las procedencias de las larvas que iniciaron el estadio de prepupa, y que se utilizaron en el estudio se describen en la Tabla: 4.6:

Tabla 4.6: Origen, procedencias y años de las larvas que iniciaron la etapa de prepupa de *X. arvicola* utilizadas para el estudio.

LARVAS DE <i>X. arvicola</i> QUE INICIARON PERIODO DE PREPUPA				
ORIGEN	PROCEDENCIAS	AÑO	OBTENCIÓN	
			PRIMER AÑO DE CRÍA	SEGUNDO AÑO DE CRÍA
LABORATORIO	DOP Ribera del Duero	2010	23	6
	DOP Ribera del Duero	2011	16	2
	DOP Ribera del Duero “Evolucionario”	2011	105	15
	DOP Ribera del Duero “Sin periodo de frío	2011	2	101
	DOP Toro	2011	40	3
	Cruces entre DOP	2011	41	3

4.2.4.4.- Longevidad de los adultos.

El estudio se basó en evaluar los días de vida, en ambos sexos, de las poblaciones de adultos que se recibieron en el laboratorio, procedentes de las denominaciones de origen, así como las distintas poblaciones de adultos que se obtuvieron, mediante la cría en laboratorio.

Las diferentes poblaciones de adultos de *X. arvicola* que se utilizaron para el estudio se describen en la Tabla 4.7:

Tabla 4.7: Origen, procedencias y años de los adultos de *X. arvicola* utilizados para el estudio.

LONGEVIDAD DE ADULTOS DE <i>X. arvicola</i>					
ORIGEN	PROCEDENCIAS	AÑO	NÚMERO		
			MACHOS	HEMBRAS	TOTAL
CAMPO	DOP Ribera del Duero	2010	5	6	11
		2011	13	18	31
		2012	19	51	70
	DOP Ribera del Duero “Evolucionario”	2011	5	5	10
		DOP Toro	2011	7	10
		2012	24	26	50
	DOP	2011	2	-	2
	Tierras de León	2012	177	198	375

Tabla 4.7: Origen, procedencias y años de los adultos de *X. arvicola* utilizados para el estudio. (continuación)

LONGEVIDAD DE ADULTOS DE <i>X. arvicola</i>						
ORIGEN	PROCEDENCIAS	AÑO	NÚMERO			
			MACHOS	HEMBRAS	TOTAL	
LABORATORIO	DOP	2010/2011	13	8	21	
	Ribera del Duero	2010/2013	1	2	3	
	DOP	2011/2012	4	9	13	
	Ribera del Duero	2011/2013	-	2	2	
	DOP	2011/2012	45	46	91	
	Ribera del Duero "Evolucionario"	2011/2013	1	7	8	
	DOP	2011/2012	1	1	2	
	Ribera del Duero "Sin periodo de frío"	2011/2013	28	63	91	
	DOP	2011/2012	13	17	30	
	Toro	2011/2013	2	-	2	
	Cruces entre DOP	2011/2012	21	19	40	
			2011/2013	3	-	3

4.2.5.- ESTUDIO BIOMÉTRICO.

El objetivo de éste trabajo es realizar la caracterización biométrica de las distintas poblaciones de *X. arvicola* que se han obtenido según su procedencia, los adultos capturados en campo y los adultos obtenidos en el laboratorio por cría en cautividad, y estudiar si hay diferencias entre dichas poblaciones y según el sexo.

4.2.5.1.- Caracterización biométrica de adultos de *X. arvicola*.

Las medidas se realizaron sobre un total de 400 insectos, diferenciando los individuos según procedencia y sexo, 50 individuos por procedencia y sexo. Las procedencias son las ya citadas DOP Ribera del Duero, DOP Toro, DOP Tierra de León, y cría en cautividad (Fig. 4.33).

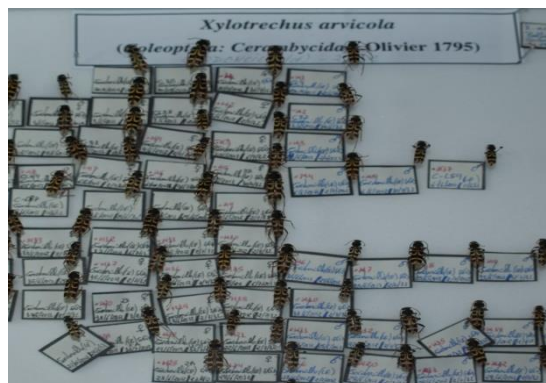


Figura 4.33: Diferentes poblaciones de *X. arvicola* utilizadas para la realización del estudio biométrico.

4.2.5.2.- Variables estudiadas.

Se ha utilizado la metodología descrita por Bahillo (1997) para estudiar las siguientes variables, que aparecen representadas en la Fig. 4.34.:

- Longitud del pronoto en su línea media (LP).
- Anchura máxima del pronoto (AP).
- Longitud máxima de los élitros (LE).
- Anchura máxima de los élitros (AE).

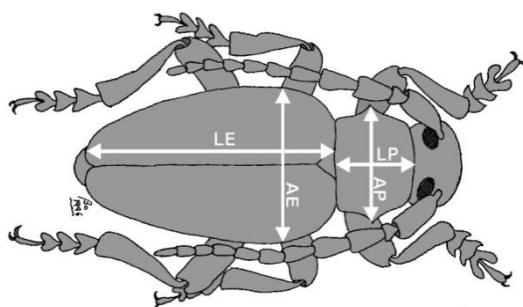


Figura 4.34: Esquema biométrico en el que se señalan los parámetros medidos. (Imagen de tomada Bahillo, 1997)

Se realizaron, a partir de las medidas enumeradas, los siguientes cálculos o relaciones:

- Longitud total (LT): $LP + LE$
- Relación anchura pronoto/longitud pronoto: AP/LP
- Relación anchura élitro/longitud élitro: AE/LE

Para la realización de las medidas enumeradas anteriormente se ha utilizado una lupa y el programa informático de la casa Motic, versión 2.0 (Fig. 4.35).



Figura 4.35: Instrumental de medida para estudio biométrico de *X. arvicola*.

4.2.6.- ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

Las comparaciones de medias realizadas en el presente trabajo se llevaron a cabo mediante el análisis de la varianza (ANOVA) y para determinar entre qué medias existían diferencias significativas se utilizó la prueba de comparaciones múltiples DMS (Diferencia Mínima Significativa).

Todas las pruebas señaladas se llevaron a cabo utilizando el programa SPSS 19.0. (SPSS Inc. 1999) empleándose un nivel de significación del 5%.

4.3.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

4.3.1.- CAPTURAS DE ADULTOS DE *X. arvicola*.

4.3.1.1.- Capturas directas en trampas de interceptación.

A continuación se detallan por Denominaciones de Origen, años, localidad, y variedades de las parcelas, donde se capturaron adultos de *X. arvicola* mediante las trampas de interceptación.

• DOP Ribera del Duero.

En la Tabla 4.8, se muestra el número de adultos de *X. arvicola* capturados en la DOP Ribera del Duero durante los años 2010, 2011 y 2012.

Tabla 4.8: Capturas de adultos de *X. arvicola* en la DOP Ribera del Duero durante los años 2010, 2011 y 2012.

ADULTOS DE <i>X. arvicola</i> DE LA DOP Ribera del Duero					
AÑO	LOCALIDAD	CÓDIGO PARCELA	NÚMERO		
			MACHOS	HEMBRAS	TOTAL
2010			3	4	7
2011	Peñafiel	PEÑA-P5	13	18	31
2012			19	51	70

En el año 2010, primer año en el que se colocaron las trampas de interceptación en ésta denominación de origen, se capturaron un total de 7 adultos de *X. arvicola*, divididos en 3 machos y 4 hembras. En el año 2011, en la misma parcela, se capturaron 32 adultos, divididos en 13 machos y 19 hembras. En el año 2012, último año en el que se colocaron las trampas, se capturaron 70 adultos, divididos en 19 machos y 51 hembras.

El número de capturas aumentó considerablemente, de las 7 conseguidas en el año 2010, a las 70 que se obtuvieron en el 2012.

• DOP Toro.

En la Tabla 4.9, se muestra el número de adultos de *X. arvicola* capturados en la DOP Toro durante los años 2011 y 2012.

Tabla 4.9: Capturas de adultos de *X. arvicola* en la DOP Toro durante los años 2011 y 2012.

ADULTOS DE <i>X. arvicola</i> DE LA DOP Toro					
AÑO	LOCALIDAD	CÓDIGO PARCELA	NÚMERO		
			MACHOS	HEMBRAS	TOTAL
2011			7	10	17
2012	Bóveda de Toro	TORO-P3	24	26	50

En la DOP Toro en el año 2011, primer año en el que se colocaron las trampas de interceptación en esta Denominación, se capturaron un total de 17 adultos de *X. arvicola*, divididos en 7 machos y 10 hembras. Durante el año 2012, en la misma parcela, se capturaron 50 adultos, divididos en 24 machos y 26 hembras.

Se observa, al igual que en la DOP Ribera del Duero, el número de capturas aumentó, de 17 a 50, del 2011 al 2012.

• DOP Tierra de León.

En la Tabla 4.10, se muestra el número de adultos de *X. arvicola* capturados en la DOP Tierras de León durante el año 2012.

Tabla 4.10: Capturas de adultos de *X. arvicola* en la DOP Tierras de León durante el año 2012.

ADULTOS DE <i>X. arvicola</i> DE LA DOP Tierra de León					
AÑO	LOCALIDAD	CÓDIGO PARCELA	NÚMERO		
			MACHOS	HEMBRAS	TOTAL
2011	Gordoncillo	GORD-P1	2	0	2*
2012			177	198	375

*Adultos capturados a mano en las parcelas por viticultores.

En la DOP Tierras de León en el año 2011, no se colocaron las trampas de interceptación, si bien, gracias a la colaboración de los viticultores de la zona, se capturaron 2 adultos macho de *X. arvicola*, que fueron enviados al laboratorio, para unirlos a las labores de cría, que se llevó a cabo durante los años 2010 y 2011 en el laboratorio, mediante el emparejamiento con otras hembras de *X. arvicola*, procedentes de otras Denominaciones de Origen.

En el año 2012, ya con las trampas de interceptación instaladas en la parcela, se capturaron un total de 369 adultos de *X. arvicola*, divididos en 170 machos y 199 hembras, que como se ha dicho en el apartado 4.2.1.1. (captura directa en campo), estos adultos fueron destinados a probar la eficacia de los insecticidas desarrollada en el capítulo 5 de esta tesis.

4.3.1.2.- Capturas directas en evolucionarios.

En la Tabla 4.11, se detallan los adultos de *X. arvicola* capturados en los evolucionarios, donde se introdujeron las cepas recogidas en campo durante los años 2010, 2011 y 2012 en la DOP Ribera de Duero, que presentaban sintomatología y que se habían troceado en 3 zonas por planta, brazo, cruz y tronco:

Tabla 4.11: Capturas de adultos de *X. arvicola* capturados en los evolucionarios durante los años 2010, 2011 y 2012.

NÚMERO DE ADULTOS DE <i>X. arvicola</i> DE LOS EVOLUCIONARIOS					
AÑO	VARIEDAD	ZONA DE LA CEPA	NÚMERO		
			MACHOS	HEMBRAS	TOTAL
2010	Tempranillo,	Brazo	2	2	4
	Tinta del País o	Cruz	-	-	-
	Tinta de Toro	Tronco	-	-	-
2011	Tempranillo,	Brazo	5	5	10
	Tinta del País o	Cruz	-	-	-
	Tinta de Toro	Tronco	-	-	-
	Cabernet-Sauvignon	Brazo	-	-	-
		Cruz	-	-	-
		Tronco	-	-	-
2012	Tempranillo,	Brazo	0	1*	1*
	Tinta del País o	Cruz	-	-	-
	Tinta de Toro	Tronco	-	-	-
	Cabernet-Sauvignon	Brazo	-	-	-
		Cruz	-	-	-
		Tronco	-	-	-

* Hembra adulta de *X. arvicola* encontrada muerta en los evolucionarios.

En total se han capturado 15 adultos de *X. arvicola*, 7 machos y 8 hembras (1 de ellas muerta), que se añadieron al resto de adultos capturados en campo, que se mantenían en laboratorio, para el proceso de cría que se realizó durante los años 2010 y 2011.

Con respecto a las capturas recogidas en los evolucionarios durante los 3 años que se realizó el ensayo, podemos destacar que todos los adultos capturados, provenían de la variedad Tempranillo, concretamente de la zona de los brazos en los que se habían troceado las cepas. Esto coincide con lo observado por otros autores, como Moreno (2005), quien en el estudio que lleva a cabo para determinar cuáles son las variedades más afectadas por ataques de *X. arvicola*, cita que la variedad Tempranillo, Tinta del País o Tinta Toro, es una de las variedades más afectadas.

4.3.2.- PROCEDENCIAS, EMPAREJAMIENTOS Y NÚMERO DE HUEVOS DE ADULTOS DE *X. arvicola*.

A continuación se detallan por denominaciones de origen, años, localidad y tipo de captura, los adultos capturados, el número de parejas formadas y el número de puestas conseguidas tras los emparejamientos de los adultos de *X. arvicola*.

4.3.2.1.- DOP Ribera del Duero.

- **Trampa de Interceptación.**

En la Tabla 4.12 se muestra el número de adultos de *X. arvicola* capturados en la DOP

Ribera de Duero mediante trampas de interceptación durante los años 2010, 2011 y 2012.

Tabla 4.12: Número de emparejamientos y huevos obtenidos de adultos de *X. arvicola* capturados mediante Trampas de Interceptación en los años 2010, 2011 y 2012.

AÑO	LOCALIDAD	TIPO DE CAPTURA	Nº ADULTOS <i>X. arvicola</i>	Nº PAREJAS FORMADAS	Nº DE HUEVOS OBTENIDOS
2010	Peñañiel	Trampa de Interceptación	7	6	295
2011			31	16	263
2012			70	18	119

Los emparejamientos de adultos de *X. arvicola* se hicieron como se describe en el punto 4.2.2. Manejo de adultos del presente capítulo de la tesis. El hecho de obtener un número total de huevos tan elevado, responde a la alta fecundidad que presentaron las hembras de ese año, pues cada hembra se mantenía durante toda su vida en el laboratorio emparejada con machos, a las que se les iba extrayendo todas las puestas de huevos que iban produciendo diariamente hasta que uno de los dos adultos fallecía, en ese momento se buscaba otro adulto macho o hembra de la misma procedencia, para realizar un nuevo emparejamiento y seguir consiguiendo el mayor número de huevos posibles. Si no había adultos de *X. arvicola* de la misma procedencia, se emparejaban con los de otra, obteniéndose un cruce de insectos entre distintas procedencias. Todo este proceso se repitió para las distintas procedencias de los insectos, tanto de campo (DOP Ribera del Duero, DOP Toro, DOP Tierras de León, evolucionarios) como de cría en laboratorio.

• Evolucionarios.

En la Tabla 4.13 se muestra el número de adultos de *X. arvicola* capturados mediante evolucionarios, a partir de madera recogida en la DOP Ribera del Duero en los años 2010 y 2011.

Tabla 4.13: Número de emparejamientos y huevos obtenidos de adultos de *X. arvicola* capturados en los evolucionarios en los años 2010 y 2011.

AÑO	LOCALIDAD	TIPO DE CAPTURA	Nº ADULTOS <i>X. arvicola</i>	Nº PAREJAS FORMADAS	Nº DE HUEVOS OBTENIDOS
2010	Peñañiel	Evolucionario	4	2	88
2011			10	3	555

4.3.2.2.- DOP Toro.

En la Tabla 4.14 se muestra el número de adultos de *X. arvicola* capturados en la DOP Toro mediante trampas de interceptación durante los años 2011 y 2012.

Tabla 4.14: Número de emparejamientos y huevos obtenidos de adultos de *X. arvicola* capturados mediante trampas de interceptación en los años 2011 y 2012.

AÑO	LOCALIDAD	TIPO DE CAPTURA	Nº ADULTOS <i>X. arvicola</i>	Nº PAREJAS FORMADAS	Nº DE HUEVOS OBTENIDOS
2011	Bóveda de	Trampa de	17	6	229
2012	Toro	Interceptación	50	22	668

4.3.2.3.- DOP Tierras de León.

En la Tabla 4.15 se muestra el número de adultos de *X. arvicola* capturados en la DOP Tierras de León mediante trampas de interceptación durante el año 2012.

Tabla 4.15: Número de emparejamientos y huevos obtenidos de adultos de *X. arvicola* capturados mediante trampas de interceptación en el año 2012.

AÑO	LOCALIDAD	TIPO DE CAPTURA	Nº ADULTOS <i>X. arvicola</i>	Nº PAREJAS FORMADAS	Nº DE HUEVOS OBTENIDOS
2012	Gordoncillo	Trampa de Interceptación	375	112	3.597

4.3.2.4.- Cruces entre Denominación de Origen.

En la Tabla 4.16, se muestra el número de parejas formadas y huevos obtenidos de *X. arvicola* capturados en distintas denominaciones de origen mediante distintos tipos de captura durante el año 2011.

Tabla 4.16: Número de emparejamientos y huevos obtenidos de adultos de *X. arvicola* capturados mediante distintos tipos de trampas y procedencias durante el año 2011.

AÑO	LOCALIDAD	TIPO DE CAPTURA	Nº PAREJAS FORMADAS	Nº DE HUEVOS OBTENIDOS
2011	Peñañiel	Trampas de Interceptación	1	33
	Gordoncillo	Captura manual en campo		
	Bóveda de Toro	Trampas de Interceptación	2	52
	Gordoncillo	Captura a mano en campo		
	Bóveda de Toro	Trampas de Interceptación	4	43
	Peñañiel	Trampas de Interceptación		
	Peñañiel	Trampas de Interceptación	3	-
Peñañiel	Evolucionarios	3	-	

Tabla 4.16: Número de emparejamientos y huevos obtenidos de adultos de *X. arvicola* capturados mediante distintos tipos de trampas y procedencias durante el año 2011. (continuación).

AÑO	LOCALIDAD	TIPO DE CAPTURA	Nº PAREJAS FORMADAS	Nº DE HUEVOS OBTENIDOS
2011	Bóveda de Toro	Trampas de Interceptación	1	34
	Peñafield	Evolucionario		

Si no había ejemplares adultos de *X. arvicola* de la misma procedencia, se emparejaban con otros, como hemos descrito anteriormente, es decir, que todas las parejas que se formaron, son a partir de adultos que ya tenían cierto tiempo de vida y emparejamiento en el laboratorio con otros individuos de su misma procedencia, con lo que todo ello implica, tanto para machos como hembras (senescencia, menor fertilidad y viabilidad de las puestas...), de ahí que se pudieran formar muy pocas parejas de las que se obtuvieran huevos, en comparación al número de adultos con el que se trabajó desde cada uno de los lugares de procedencia.

4.3.3.- VARIABLES ESTUDIADAS DE HEMBRAS DE *X. arvicola*.

4.3.3.1.- Fecundidad de las hembras.

- Según DOP de procedencia.

Una vez realizado el análisis estadístico se comprueba que existen diferencias significativas entre los huevos puestos por hembras capturadas en campo (Fig. 4.36).

Los resultados muestran que son las hembras procedentes de los evolucionarios de la DOP Ribera del Duero (2011), las que mayor número de **huevos totales** por hembra registran, 111,00 huevos, siendo significativamente diferente de las hembras de la DOP Ribera del Duero (2010) (63,83 huevos por hembra), que a su vez presentan diferencias significativas con las hembras de la DOP Ribera del Duero y de la DOP Toro del año 2011 (14,61 y 22,90 huevos por hembra, respectivamente, y con las hembras que se cruzaron con machos de otras DOP (32,40 huevos por hembra) (Fig. 4.36).

En el número de **huevos eclosionados**, las hembras capturadas en los evolucionarios de la DOP Ribera del Duero (2011) son las que más huevos tienen (71 huevos), siendo significativamente diferente de las hembras que se cruzaron con machos de otras DOP (2011), de las hembras de la DOP Toro (2011), y de las hembras de la DOP Ribera del Duero del año 2011 y 2012, con 25, 16, 14,83 y 6,88 huevos, respectivamente (Fig. 4.36).

En el número de **huevos no eclosionados**, las hembras de la DOP Ribera del Duero (2010) son las que mayor número presentan, (49 huevos), no siendo significativamente diferentes de las hembras de los evolucionarios de la DOP Ribera del Duero (2011) (40 huevos), ambas poblaciones si difieren significativamente con las hembras de la DOP Ribera del Duero, DOP Toro y con las hembras que se cruzaron con machos de otras DOP, con 7,72, 7 y 7,40 huevos, respectivamente (Fig. 4.36).

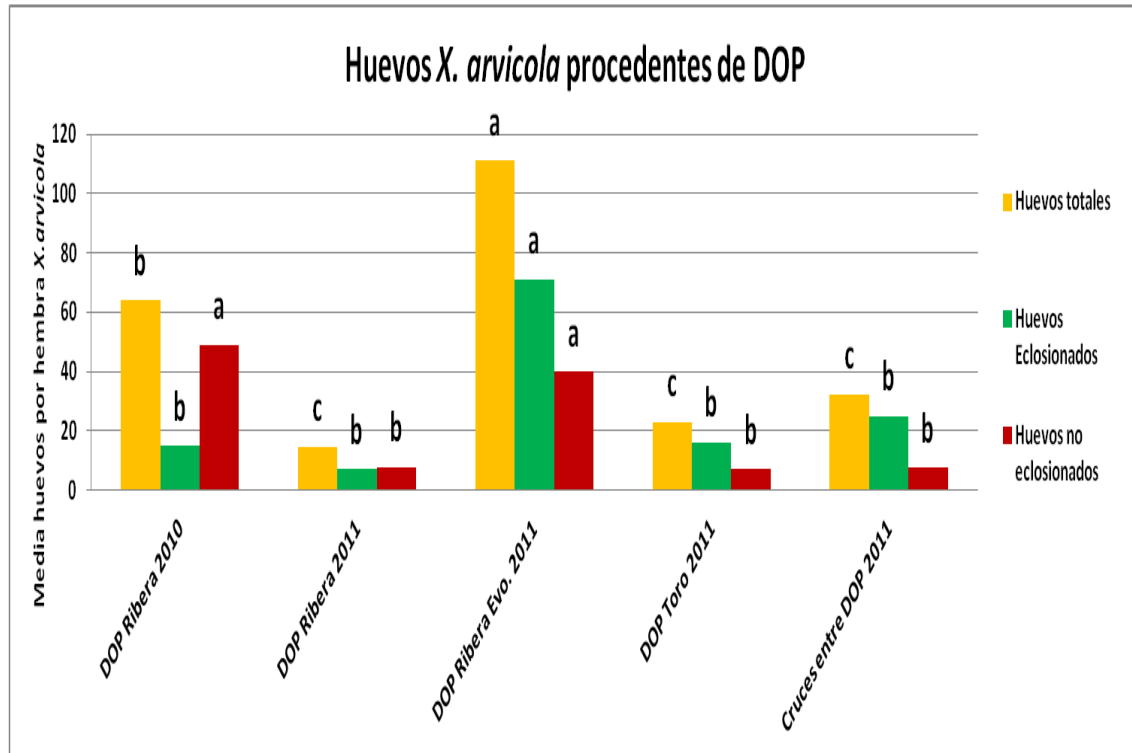


Figura 4.36: Comparación de medias entre procedencias de los huevos puestos por hembras capturadas en campo. Letras diferentes para cada carácter evaluado indican diferencias significativas entre procedencias ($P < 0,05$, test DMS).

En la Tabla 4.17, se exponen los valores de la mortalidad y de la viabilidad de las puestas de huevos de las hembras en función de la procedencia de cada denominación de origen.

Según las procedencias de los huevos estudiados en el laboratorio, se observa que son los huevos de los cruces entre DOP (2011), con 160 huevos eclosionados que representan un 77,16% los que mayor viabilidad poseen, mientras que los huevos de la DOP Ribera del Duero (2010), con 294 huevos que suponen un 76,77% los que mayor mortalidades poseen.

La mayor media de huevos totales por hembra con 111 huevos, se obtiene en las hembras que fueron capturadas en los evolucionarios que procedían de la DOP Ribera del Duero (2011), esta se debe a que estas hembras eran capturadas en el mismo día que emergían de la madera, llevadas a laboratorio y emparejadas, así de este modo nos asegurábamos tener todas las puestas posibles que hiciera la hembra a lo largo de su vida, siendo las puestas más fértiles y numerosas en los primeros días, al igual que describe García Ruiz (2009) que cita que el 80% de las hembras que se crían en la madera de vid, realizaban sus puestas en los 10 primeros días desde la emergencia.

Tabla 4.17: Huevos totales, mortalidades y viabilidades de los huevos de hembras de cada denominación de origen.

HUEVOS <i>X. arvicola</i> PROCEDENTES DE LAS DISTINTAS DOP						
PROCEDENCIA	AÑO	HUEVOS TOTALES	HUEVOS ECLOSIONADOS		HUEVOS NO ECLOSIONADOS	
		Nº	Nº	% Viabilidad	Nº	% Mortalidad
DOP Ribera del Duero	2010	383	89	23,23	294	76,77
DOP Ribera del Duero	2011	263	124	47,14	139	52,86
DOP Ribera del Duero "Evolucionario"	2011	555	355	63,96	200	36,31
DOP Toro	2011	229	160	69,86	69	30,14
Cruces entre DOP	2011	162	125	77,16	37	22,84

Sin embargo, las hembras capturadas en el campo cuando llegaban a laboratorio, no tenían datos de longevidad ni número de puestas realizadas, y estado fenológico, eran emparejadas con machos con la mayor brevedad posible, para obtener el mayor número de puestas y huevos que se pudieran conseguir hasta su muerte.

- **Según años de cría en laboratorio y periodos de frío.**

Se han estudiados dos poblaciones de hembras de *X. arvicola*, las hembras de la primera y de la segunda generación de la DOP Ribera del Duero del año 2010 y 2011, que puparon directamente sin pasar por periodo de frío.

Los **huevos totales** por hembra obtenidos en laboratorio en la primera generación de la DOP Ribera del Duero (2010) muestran una media de 55,37 huevos entre las 8 hembras que se obtuvieron en esta generación, mientras que las 2 hembras que se obtuvieron en la segunda generación de esta población fueron incapaces de realizar ninguna puesta. Las 63 hembras obtenidas en laboratorio en la segunda generación de la población de la DOP Ribera del Duero (2011) que no pasaron por periodo de frío poseen una media de 46,71 huevos por hembra, esta descendencia procedía de una pareja que tampoco había necesitado de periodo de frío y había dado lugar a una descendencia de 736 huevos.

Las hembras de la primera generación de la DOP Ribera del Duero (2010), poseen una media de 17,12 **huevos eclosionados** por hembra. Las 63 hembras de la segunda generación de la DOP Ribera del Duero (2011) que no necesitaron periodo de frío, tienen una media de 8,60 huevos eclosionados, mientras que la hembra en la primera generación había tenido 606 huevos eclosionados.

Por último, los **huevos no eclosionados** en las hembras de la primera generación de la

DOP Ribera del Duero (2011), poseen una media de 38,25 huevos no eclosionados por hembra. Las 63 hembras de la segunda generación de la DOP Ribera del Duero (2011), que no pasaron por periodo de frío, tenían una media de 38,12, y la hembra en la primera generación tuvo 130 huevos no eclosionados.

En la Tabla 4.18, se exponen los valores de la mortalidad y de la viabilidad de las puestas de huevos de las hembras en función de las generaciones y los periodos de frío.

Tabla 4.18: Huevos totales, mortalidades y viabilidades de los huevos de hembras de cada generación y periodo de frío.

HUEVOS <i>X. arvicola</i> PROCEDENTES DEL LABORATORIO						
PROCEDENCIA	AÑO	HUEVOS TOTALES	HUEVOS ECLOSIONADOS		HUEVOS NO ECLOSIONADOS	
		Nº	Nº	% Viabilidad	Nº	% Mortalidad
LAB Ribera del Duero "Primera Generación"	2010	443	137	30,92	306	69,08
LAB Ribera del Duero "Segunda Generación"	2010	0	0	0,00	0	0,00
LAB Ribera del Duero "Segunda Generación" "Sin periodo de frío"	2011	2943	542	18,41	2402	81,59

Según los datos obtenidos en el laboratorio en función de las generaciones de las hembras y las puestas que realizaron, se observa que las hembras de la primera generación que pusieron un total de 443 huevos, solamente 137 fueron capaces de eclosionar (30,92% de viabilidad) con 306 huevos no eclosionados (69,08% de mortalidad), mientras que las hembras que se obtuvieron en la siguiente generación fueron incapaces de realizar puestas de huevos debido probablemente a las degeneraciones y deformaciones presentes en los individuos obtenidos.

Moreno (2005), a partir de las hembras de *X. arvicola* obtenidas en laboratorio, consigue un total de 153 huevos, viables de 8 a 14 días, obteniendo una mortalidad del 22,20%, valor muy inferior al obtenido en las hembras de la DOP Ribera del Duero (2010) que tienen un 69,08% de mortalidad

Otros ensayos en los que se han descrito mortalidades de huevos en puestas de otros cerambícidos criados en laboratorio son los descritos por Grimble *et al.* (1969) en *Oberea schaumii* (Coleoptera: Cerambycidae), que obtienen un 21% de mortalidad; Kobayashi *et al.* (1984) en *Monochamus alternatus* (Coleoptera: Cerambycidae), en el que obtienen una mortalidad que va de un 13% al 21%; Visitpanich (1994a) en *Xylotrechus quadripes* (Coleoptera: Cerambycidae) que obtiene un 22,00%; Carabajal (2003) en *Ischionorax*

antiqua (Coleoptera: Cerambycidae) en el que obtienen un 30% y Dojnov *et al.* (2012) en *Morinus funereus* (Coleoptera: Cerambycidae) en el que obtienen un 27,33% de mortalidad.

Las hembras obtenidas en laboratorio en segunda generación sin periodo de frío son las que presentan mayores porcentajes de mortalidad (81,59%). La hembra de la misma población que en la primera generación tampoco necesitó periodo de frío y dio lugar a las hembras descritas anteriormente, obtuvo una viabilidad del 82,33% y una mortalidad del 17,67% en los huevos de las puestas realizadas.

4.3.3.2.- Comparación entre procedencias.

Una vez realizado el análisis estadístico se comprueba que existen diferencias significativas entre los huevos puestos por hembras capturadas en campo y las obtenidas en laboratorio (Fig. 4.37).

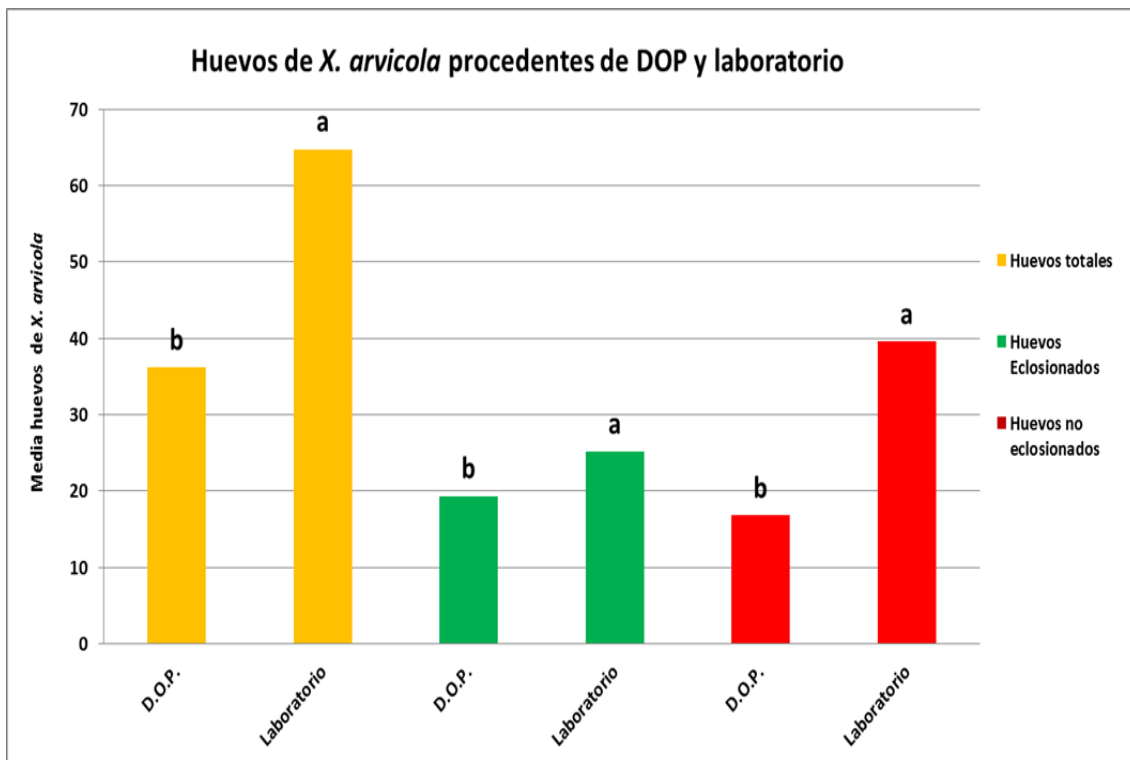


Figura 4.37: Comparación de medias entre procedencias de los huevos puestos por hembras capturadas en campo y obtenidas en laboratorio. Letras diferentes para cada carácter evaluado indican diferencias significativas entre procedencias ($P < 0,05$, test DMS).

El número de **huevos totales** por hembra muestra que las hembras de laboratorio tienen una cantidad significativamente mayor de huevos (64,77), que las hembras capturadas en campo (36,18). La media de **huevos eclosionados** por hembra, procedente de laboratorio (25,21), es también significativamente mayor a la obtenida de las hembras capturadas en las denominaciones de origen que con 19,38 huevos eclosionados de media por hembra. Los **huevos no eclosionados** por hembra de laboratorio (39,57) vuelven a ser significativamente diferentes de los procedentes de las 44 hembras capturadas en campo (16,81) (Fig. 4.37).

En nuestro ensayo, las hembras de *X. arvicola* que procedían de campo tenían un número de huevos totales por procedencias que oscilaban entre los 162 y los 555, frente a las hembras que se obtuvieron en laboratorio y que oscilaban entre los 443 y los 2943 huevos. Esta relación de mayor número de huevos totales en hembras obtenidas en laboratorio frente a las capturadas en campo, coincide con lo expuesto por García Ruiz (2009), quien describe un menor número total de huevos para hembras capturadas en campo de 197 huevos que la de hembras obtenidas en laboratorio en las que obtiene 244 huevos.

Las hembras procedentes del campo en otro cerambícido, *Oemena hirta* (Coleoptera: Cerambycidae), al contrario que los datos obtenidos para *X. arvicola*, poseen mayores fecundidades, 83,10 huevos totales, que las hembras obtenidas de la cría de larvas en laboratorio a partir de dietas artificiales, con 36,40 y 33,50 huevos, u obtenidas a partir de la emergencia de ramas de álamo en laboratorio, 42,90 huevos. Las hembras de *O. hirta* capturadas en campo también poseían mayor número de huevos eclosionados y no eclosionados, 52,20 y 30,00 huevos respectivamente, que las hacían tener diferencias significativas en cuanto a viabilidades y mortalidades en las puestas, sobre las hembras de *O. hirta* que se habían obtenido en laboratorio (Wang *et al.*, 2002).

Otros datos de fecundidad en hembras para otras especies de cerambícidos son los trabajos realizados por Galford (1985) que describe una fecundidad media de 80 huevos en hembras de *Enaphalodes rufulus* (Coleoptera: Cerambycidae); Visitpanich (1994a), quien describe una fecundidad media de 15 huevos por hembra y una fecundidad total de 103 huevos en *Xylotrechus quadripes* (Coleoptera: Cerambycidae); Mazaheri *et al.* (2007), que describen para las hembras de *Aeolesthes sarta* Solsky 1871 (Coleoptera: Cerambycidae) una fecundidad total de 123 huevos; Lieutier *et al.*, (2008), que describen una media por hembra de 138 huevos en hembras de *Monochamus galloprovincialis* (Coleoptera: Cerambycidae).

Dojnov *et al.* (2012), comparan las puestas realizadas por hembras silvestres y criadas en laboratorio de *Morinus funereus* (Coleoptera: Cerambycidae), obteniendo para las hembras silvestres en el primer y en el segundo ciclo de puestas un total de 477 y 88 huevos, respectivamente, mientras que para las hembras de *M. funereus* criadas en laboratorio el número total de huevos decrece, obteniendo 80 y 56 huevos respectivamente. Este descenso en el número de puestas también es observado en las hembras de *X. arvicola* obtenidas en varias generaciones de nuestro estudio, pues en la cría en laboratorio de la primera generación de hembras de la DOP Ribera del Duero (2010), se obtiene un total de 443 huevos, para pasar a la segunda generación en la que las hembras obtenidas son incapaces de realizar puestas de huevos, debido a la degeneración que se va produciendo en los aparatos reproductores de los adultos obtenidos y en ellos mismos.

El mayor número de huevos totales por hembra de *X. arvicola* procedentes del laboratorio frente a las obtenidas en campo puede deberse a que las hembras en el laboratorio poseen mejores condiciones que en la naturaleza y siempre dispone de machos con los que aparearse. Mientras que en el campo las hembras deben buscar su hospedador adecuado, evitar su depredación y enfrentarse a múltiples factores (alimenticios, insecticidas...) que afectan a su desarrollo lo que explicaría su menor fecundidad, pues al llegar al laboratorio no se tienen datos sobre su edad ni número de puestas realizadas ni de los factores que

han condicionado su desarrollo.

4.3.4.- OTRAS VARIABLES ESTUDIADAS DE ESTADÍOS INMADUROS DE *X. arvicola*.

4.3.4.1.- Viabilidad larvaria de *X. arvicola* por meses.

- Según DOP de procedencia.

El análisis estadístico realizado muestra que existen diferencias significativas en la viabilidad de las larvas obtenidas en función de la procedencia de sus progenitores (Fig. 4.38).

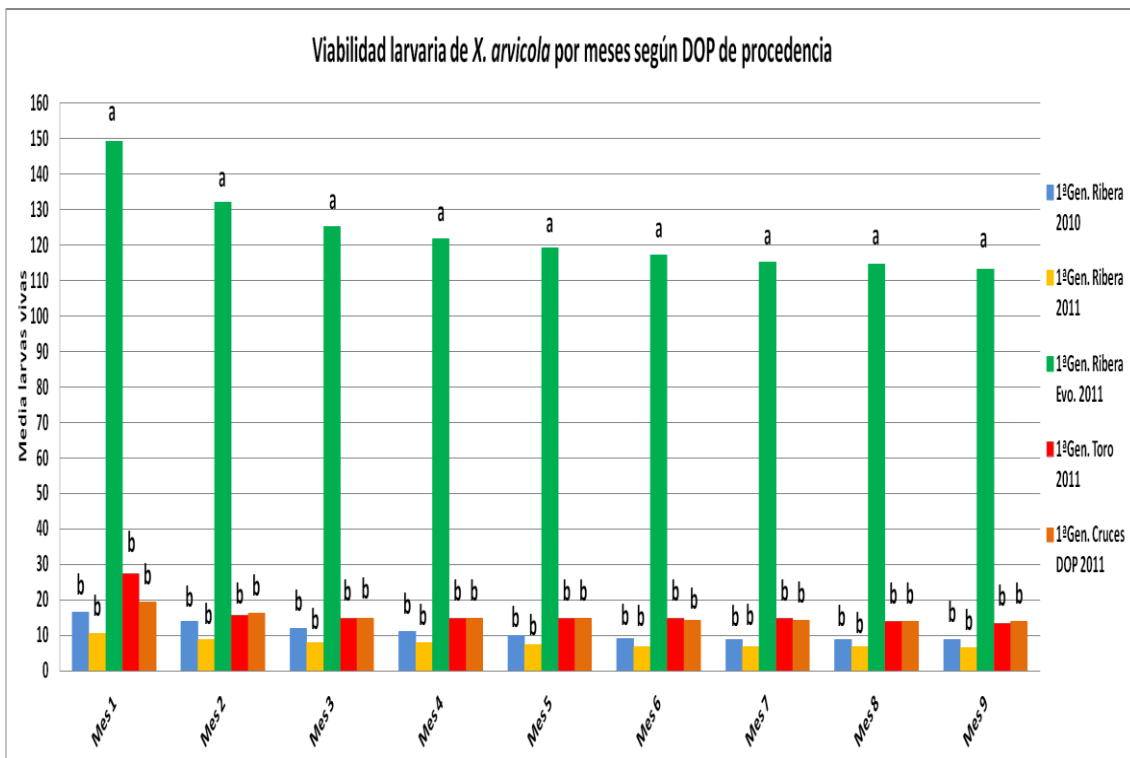


Figura 4.38: Viabilidad de larvas de *X. arvicola* por meses según procedencias. Letras diferentes en los índices indican diferencias significativas entre las distintas procedencias de las larvas para un mismo mes de conteo ($P < 0,05$, test DMS).

La viabilidad de las larvas obtenidas de los evolucionarios de la DOP Ribera del Duero (2011) con 149,00 larvas vivas durante el primer mes (83,94% de viabilidad), es significativamente mayor que la del resto de procedencias. Estas diferencias significativas entre poblaciones larvarias se mantienen hasta el noveno mes de cría, donde las larvas de esta población llegan con una media de 113 larvas vivas de media, que supone un 63,66% de viabilidad. Entre el resto de procedencias evaluadas no existen diferencias significativas.

• Según generaciones en laboratorio y periodos de frío.

El análisis estadístico realizado muestra que existen diferencias significativas en la viabilidad de las larvas obtenidas en distintas generaciones y periodos de frío en el laboratorio (Fig. 4.39).

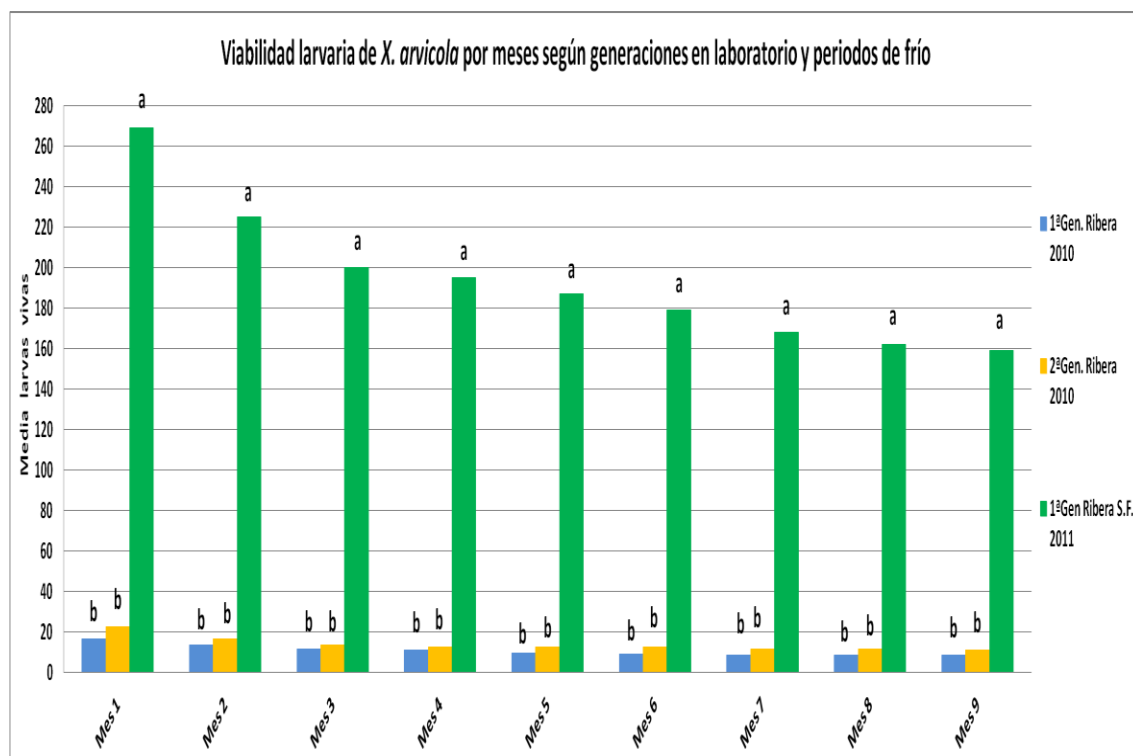


Figura 4.39: Viabilidad de larvas de *X. arvicola* por meses según generaciones y periodos de frío. Letras diferentes en los índices indican diferencias significativas entre las distintas generaciones de las larvas para un mismo mes de conteo ($P < 0,05$, test DMS).

Son las larvas obtenidas en la primera generación en laboratorio, que no han pasado por periodo de frío y que procedían de la DOP Ribera del Duero (2011), quienes, con 269,00 larvas vivas de media durante el primer mes (44,38% de viabilidad), tienen diferencias significativas con las poblaciones larvarias de otras generaciones y periodos de frío. Estas diferencias significativas entre poblaciones larvarias se mantienen hasta el noveno mes de cría, donde las larvas de esta población llegan con una media de 159 larvas vivas de media, que suponen un 26,23% (Fig. 4.39).

Una vez realizadas las labores de cría de las distintas poblaciones larvarias de *X. arvicola* y posterior obtención de adultos, han sido muchas las larvas que no han conseguido completar su desarrollo larvario en los años de cría, muriendo estas según aumentaba su periodo de cría en el laboratorio. En la Tabla 4.19, se muestran la mortalidades de las larvas de *X. arvicola* que se han ido produciendo en las distintas poblaciones estudiadas durante el primer, segundo y tercer año de cría, así como la mortalidad que se han producido hasta la actualidad (con fecha enero de 2014, si aún existen larvas vivas de la población).

Tabla 4.19: Mortalidad en larvas de *X. arvicola* producida en las distintas poblaciones larvarias estudiadas y mantenidas en dieta artificial

EVOLUCIÓN DE LA MORTALIDAD LARVARIA DE <i>X. arvicola</i> EN FUNCIÓN DE SU ORIGEN																
Larvas Día 0	DOP Ribera del Duero 2010 "Primera generación"		DOP Ribera del Duero 2010 "Segunda generación"		DOP Ribera del Duero 2011		DOP Toro 2011		DOP "Evolucionario" 2011		Cruces entre DOP 2011		DOP "Sin periodo de frío" 2011 "Primera generación"		DOP Ribera del Duero "Sin periodo de frío" 2011 "Segunda generación"	
	n = 89	n = 137	n = 124	n = 160	n = 355	n = 125	n = 2	n = 606								
MES	Nº Larvas Muertas	% Mort	Nº Larvas Muertas	% Mort	Nº Larvas Muertas	% Mort	Nº Larvas Muertas	% Mort	Nº Larvas Muertas	% Mort	Nº Larvas Muertas	% Mort	Nº Larvas Muertas	% Mort	Nº Larvas Muertas	% Mort
1	23	25,84	69	50,37	29	23,38	23	14,37	57	16,05	28	22,4	0	0,00	337	55,61
2	11	12,35	19	13,86	16	12,90	59	36,87	34	9,57	16	12,8	0	0,00	44	7,26
3	8	8,98	8	5,83	7	5,64	4	2,50	14	3,94	7	5,60	0	0,00	25	4,12
4	3	3,37	3	2,19	2	1,61	0	0,00	7	1,97	1	0,80	0	0,00	5	0,82
5	5	5,61	0	0,00	3	2,41	0	0,00	5	1,40	0	0,00	0	0,00	8	2,25
6	3	3,37	0	0,00	5	4,03	0	0,00	4	1,13	2	1,60	0	0,00	8	2,25
7	1	1,12	3	2,19	0	0,00	0	0,00	4	1,13	0	0,00	0	0,00	11	1,81
8	0	0,00	0	0,00	1	0,80	4	2,50	1	0,28	1	0,80	0	0,00	6	0,99
9	0	0,00	2	1,46	2	1,61	4	2,50	3	0,84	1	0,80	0	0,00	3	0,49
1	1	1,12	1	0,73	4	3,22	0	0,00	4	1,13	2	1,60	0	0,00	6	0,99
2	0	0,00	0	0,00	1	0,80	1	0,63	6	1,69	0	0,00	0	0,00	4	0,66
3	1	1,12	2	1,46	0	0,00	2	1,25	8	2,25	1	0,80	0	0,00	5	0,82
4	0	0,00	0	0,00	2	1,61	2	1,25	9	2,54	4	3,20	0	0,00	2	0,33
5	0	0,00	3	2,19	0	0,00	2	1,25	8	2,25	3	2,40	0	0,00	4	0,66
6	1	1,12	0	0,00	2	1,61	3	1,88	6	1,69	2	1,60	0	0,00	3	0,49
7	0	0,00	2	1,46	0	0,00	1	0,63	9	2,54	1	0,80	0	0,00	2	0,33
8	0	0,00	3	2,19	2	1,61	0	0,00	5	1,40	1	0,80	0	0,00	2	0,33
9	1	1,12	1	0,73	1	0,80	0	0,00	7	1,97	0	0,00	0	0,00	3	0,49

Tabla 4.19: Mortalidad en larvas de *X. arvicola* producida en las distintas poblaciones larvarias estudiadas y mantenidas en dieta artificial

MES	DOP				DOP				DOP				DOP																			
	Ribera del Duero 2010		Ribera del Duero 2010		Ribera del Duero 2010		Ribera del Duero 2010		Ribera del Duero 2010		Ribera del Duero 2010		Ribera del Duero 2010		Ribera del Duero 2010		Ribera del Duero 2010															
	Nº Larvas Muertas	% Mort.	Nº Larvas Muertas	% Mort.	Nº Larvas Muertas	% Mort.	Nº Larvas Muertas	% Mort.	Nº Larvas Muertas	% Mort.	Nº Larvas Muertas	% Mort.	Nº Larvas Muertas	% Mort.	Nº Larvas Muertas	% Mort.	Nº Larvas Muertas	% Mort.														
Larvas	n = 89				n = 137				n = 124				n = 160				n = 355				n = 125				n = 2				n = 606			
Día 0																																
1	1	1,12	3	2,19	6	4,83	1	0,63	8	2,25	3	2,40	0	0,00	0	0,00	3	2,40	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	3	0,49				
2	0	0,00	2	1,46	4	3,22	1	0,63	3	0,84	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	2	0,33				
3	2	2,24	2	1,46	2	1,61	2	1,25	4	1,13	1	0,80	0	0,00	0	0,00	1	0,80	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00				
4	2	2,24	3	2,19	3	2,41	0	0,00	8	2,25	1	0,80	0	0,00	0	0,00	1	0,80	0	0,00	0	0,00	0	0,00	1	0,17						
5	0	0,00	0	0,00	5	4,03	1	0,63	5	1,40	2	1,60	0	0,00	0	0,00	2	1,60	0	0,00	0	0,00	0	0,00	2	0,33						
6	1	1,12	1	0,73	0	0,00	0	0,00	5	1,40	2	1,60	0	0,00	0	0,00	4	0,66														
7	2	2,24	2	1,46	3	2,41	0	0,00	7	1,97	1	0,80	0	0,00	0	0,00	2	0,33														
8	0	0,00	1	0,73	0	0,00	0	0,00	4	1,13	1	0,80	0	0,00	0	0,00	0	0,00														
9	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	2	0,56	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00														
Larvas Muerta	68	76,40	134	97,81	107	86,29	110	80,00	256	72,12	82	65,60	0	0,00	0	0,00	492	81,18														
Larvas Vivas	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	23	3,80														
Larvas Desarr. Compl.	21	23,60	3	2,19	17	13,71	32	20,00	99	27,88	43	34,40	2	100,00	2	100,00	91	15,02														

La primera generación de la población de la DOP Ribera del Duero (2010) se inició en julio del 2010 con 89 larvas, 21 de estas larvas completaron su desarrollo en el primer año de cría en laboratorio, (23,60% de viabilidad) y 68 larvas murieron durante el segundo y tercer año de cría (Fig. 4.40) (76,40% de mortalidad). Dos larvas murieron en el periodo de prepupa. De las 21 larvas que completaron su desarrollo se obtuvieron 13 machos y 18 hembras, que se emparejaron, dando lugar a la segunda generación larvaria, que se inició en julio de 2011 con 137 larvas, solamente 3 larvas completaron su desarrollo en el primer año de cría (2,19% de viabilidad). Las larvas muertas fueron 134 (97,81% de mortalidad) (Fig. 4.41), murieron 3 de estas larvas en el periodo de prepupa, y no existen ninguna larva viva de esta población en la actualidad.



Figura 4.40: Muerte de larva de *X. arvicola* de la población DOP Ribera del Duero 2010, primera generación.



Figura 4.41: Muerte de larva de *X. arvicola* de la población DOP Ribera del Duero 2010, primera generación.

La población larvaria de la DOP Ribera del Duero (2011), se inició en julio de 2011 con 124 larvas, 15 larvas completaron su desarrollo en el primer año de cría y 2 larvas completaron su desarrollo en el segundo año de cría en el laboratorio. En el primer año de cría 2 larvas puparon directamente sin pasar por periodo de frío. En total fueron 17 larvas que completaron su desarrollo (13,71% de viabilidad) y las larvas muertas fueron 107 (86,29% de mortalidad), muriendo 2 de estas larvas en el periodo de prepupa y 1 larva en el periodo de pupa.

La población larvaria de la DOP Toro (2011), se inició en julio de 2011 con 160 larvas, 30 larvas completaron su desarrollo en el 1^{er} año, y 2 larvas en el segundo año de cría, es decir, 32 larvas completaron su desarrollo (20,00 % de viabilidad), y 128 larvas murieron (80,00% de mortalidad), muriendo 10 de estas larvas en el periodo de prepupa y 2 larvas en el periodo de pupa del 1^{er} año de cría, y 1 larva en el periodo de prepupa del segundo año de cría.

La población larvaria de los evolucionarios de la DOP Ribera del Duero (2011), inició su cría en julio de 2011 con 355 larvas, 91 larvas completaron su desarrollo en el primer año de cría, y 8 larvas en el segundo, en total 99 larvas completaron su desarrollo (27,88 % de viabilidad), y 256 murieron (72,12% de mortalidad), 7 larvas en el periodo de prepupa y 7 larvas en el de pupa del primer año de cría y 3 larvas en el periodo de prepupa y 4 larvas

en el de pupa del segundo año de cría en el laboratorio.

Otra población larvaria fue la que se obtuvo de los emparejamientos de adultos de distintas denominaciones de origen (cruces entre DOP año 2011). Se inició su cría en julio de 2011 con 125 larvas, de las que 40 completaron su desarrollo en el primer año, y 3 larvas en el segundo año de cría. Un total de 43 larvas que completaron su desarrollo (34,40% de viabilidad) y las larvas muertas fueron 82 (65,60% de mortalidad) muriendo solamente 1 larva en el periodo de prepupa del primer año de cría.

Y por último, otra población que se mantuvo en cría artificial en laboratorio, fueron las 2 larvas procedente de la DOP Ribera del Duero (2011) que puparon directamente en la primera generación sin pasar por periodo de frío, 1 macho y 1 hembra que se emparejaron, obteniéndose una segunda generación, que inició su cría con 606 larvas, 91 larvas completaron su desarrollo en el primer año (15,02% de viabilidad), y 462 larvas murieron (81,18% de mortalidad), 4 larvas murieron en el periodo de prepupa y 6 larvas en el de pupa. Es la única población larvaria que aún existen larvas vivas en el laboratorio (enero de 2014), son 23 larvas, que suponen un 3,70% del total de la población.

Según García Ruiz (2009), la supervivencia acumulada durante todo el ciclo de vida de *X. arvicola* en laboratorio, de huevo a adulto fue del 26,09%, una tasa de supervivencia que se asemeja a las obtenidas en nuestras poblaciones evaluadas, que oscilaron desde el 13,71% de supervivencia en la población larvaria de la DOP Ribera del Duero (2011), hasta el 34,40% de supervivencia en la población larvaria obtenida de los cruces entre DOP (2011).

En otro insecto de la misma familia, Wang *et al.* (2002) describen una supervivencia global del 69,50% en larvas de *Oemena hirta* (Coleoptera: Cerambycidae) que habían sido capturadas en campo y transferidas a dieta artificial mientras que en larvas que habían sido mantenidas en dieta artificial desde su eclosión o que habían sido colocadas sobre ramas de álamo impregnadas en agua dulce, obtienen 40 y 46,70%, respectivamente.

Dojnov *et al.* (2012), describen una mortalidad global para *Morinus funereus* (Coleoptera: Cerambycidae) del 9,70% en la primera generación criada en laboratorio, aumentando hasta el 20,60% en la segunda generación, esta tendencia se repite en la cría en varias generaciones de *X. arvicola*, donde la mortalidad pasa a ser del 76,40% en la primera generación, para llegar al 97,81% en la segunda generación, por ejemplo en la DOP Ribera del Duero del año 2010.

Galford (1985) describió porcentajes de supervivencia del 87% para *Enaphalodes rufulus* Handelman 1847 (Coleoptera: Cerambycidae), por otro lado Visitpanich (1994) crío larvas de *Xylotrechus quadripes* sobre ramas de café, obteniendo una supervivencia de larva neonata a adulto del 25%, produciéndose una mayor mortalidad en los primeros estadios larvarios, mientras que Dubois *et al.* (2002) obtuvieron valores de supervivencia de larva a adulto para *Anoplophora glabripennis* Motschulsky 1853 (Coleoptera: Cerambycidae) del 41% de media entre las 3 dietas que evaluaron.

Otros ensayos realizados en los que se han criado larvas de cerambícidos, y en los que se ha descrito la mortalidad o supervivencia durante todo su ciclo de desarrollo en laboratorio son los descritos por Hanks *et al.* (1993), con *Phoracantha semipunctata*

Fabricius 1775 (Coleoptera:Cerambycidae), quienes describen 35% de supervivencia de neonata a adulto o el descrito por Bybbe *et al.* (2004) con las especies *Phoracantha recurva* Newman 1840 y *P. semipunctata*, para las que obtuvieron valores de supervivencia de neonata a adulto del 70% y del 64% respectivamente. Dodds y Stephen (2000), describieron para *Monochamus titillator* Fabricius 1775 (Coleoptera: Cerambycidae) una mortalidad de huevo a adulto que oscilaba entre el 61% y el 99% en campo, donde se producía una mayor mortalidad en el estado de huevo, y en los estadíos larvarios intermedios.

Lee y Lo (1998), describen una supervivencia durante el ciclo de desarrollo de huevo a adulto de *Anoplophora macularia* (Coleoptera: Cerambycidae) del 31%, 34% y 64% en función de la dieta empleada y reflejaron que algunas larvas no se alimentaron de las dietas, y las que lo hicieron llegaron a pupar.

• **Mortalidad y viabilidad en prepupa y pupa de *X. arvicola*.**

Muchas de las larvas que no completaron su desarrollo larvario murieron progresivamente en laboratorio a medida que aumentaban sus años de cría, como se ha descrito en el apartado anterior. Otras comenzaron su periodo de prepupa y pupa, muriendo en alguno de ellos. En la Tabla 4.27, se muestra el número total de larvas y sus mortalidades, así como la viabilidad de los adultos.

Tabla 4.20: Mortalidad de *X. arvicola* en periodo de prepupa, pupa y viabilidades de los adultos obtenidos.

MORTALIDADES DE <i>X. arvicola</i> EN PERIODOS DE PREPUPA, PUPA Y ADULTO									
ORIGEN	PROCEDENCIA	AÑO	n	PREPUPAS		PUPAS		ADULTOS	
				Nº	% Mortalidad	Nº	% Mortalidad	Nº	% Viabilidad
LABORAT.	DOP Ribera del Duero "Primera generación"	2010	23	2	8,69%	0	0,00%	21	91,31%
	DOP Ribera del Duero "Segunda generación"	2010	6	3	50,00%	0	0,00%	3	50,00%
	DOP Ribera del Duero "Sin periodo de frío" "Primera generación"	2011	2	0	0,00%	0	0,00%	2	100,00%
	DOP Ribera del Duero "Sin periodo de frío" "Primera generación"	2011	101	4	3,96%	6	5,94%	91	90,10%

Tabla 4.20: Mortalidad de *X. arvicola* en periodo de prepupa, pupa y viabilidades de los adultos obtenidos. (continuación).

MORTALIDADES DE <i>X. arvicola</i> EN PERIODOS DE PREPUPA, PUPA Y ADULTO									
ORIGEN	PROCEDENCIA	AÑO	n	PREPUPAS		PUPAS		ADULTOS	
				Nº	% Mortalidad	Nº	% Mortalidad	Nº	% Viabilidad
LABORAT.	DOP Ribera del Duero "Primer año de cría"	2011	16	2	12,50%	1	6,25%	13	81,25%
	DOP Ribera del Duero "Segundo año de cría"	2011	2	0	0,00%	0	0,00%	2	100,00%
	DOP Ribera del Duero "Evolucionario" "Primer año de cría"	2011	105	7	6,66%	7	6,66%	91	86,68%
	DOP Ribera del Duero "Evolucionario" "Segundo año de cría"	2011	15	3	20,00%	4	26,66%	8	53,34%
	DOP Toro "Primer año de cría"	2011	42	10	23,80%	2	4,76%	30	71,44%
	DOP Toro "Segundo año de cría"	2011	3	1	33,33%	0	0,00%	2	66,67%
	Cruces entre DOP "Primer año de cría"	2011	41	1	2,44%	0	0,00%	40	97,56%
	Cruces entre DOP "Segundo año de cría"	2011	3	0	0,00%	0	0,00%	3	100,00%
Media mortalidad	Primera generación				4,48%		0,00%	Media Viabilidad	95,52%
	Segunda generación				26,98%		2,97%		70,05%
	Primer año de cría				11,35%		4,42%	84,23%	
	Segundo año de cría				13,33%		6,66%	80,01%	

Según los resultados obtenidos para las mortalidades producidas en el periodo de prepupa, en función de las generaciones en laboratorio, las mortalidades de las larvas de la DOP Ribera del Duero (2010), varían del 8,69 al 50% de la primera a la segunda generación durante el primer año de cría en laboratorio, mientras que en las larvas de la DOP Ribera del Duero (2011) que no pasaron por periodo de frío, solo alcanzan el 3,96%. La mortalidad media en estas poblaciones larvarias en la primera y en la segunda

generación es del 4,48% y 26,98%, respectivamente.

En el periodo de pupa, sólo existen mortalidades, en la segunda generación de la DOP Ribera del Duero (2011) que no pasaron por periodo de frío (5,94% mortalidad), con una mortalidad media en ambas poblaciones del 0% y del 2,97% en la primera y en la segunda generación, respectivamente.

Según los resultados obtenidos para las mortalidades producidas en el **periodo de prepupa**, en función de los años de cría en el laboratorio, en el primer año de cría, las mortalidades varían del 2,44% de mortalidad producida en las larvas de los cruces entre DOP (2011) hasta el 23,80% que se produce en las larvas de la DOP Toro (2011), siendo la mortalidad media para el conjunto de las poblaciones estudiadas del 11,35%. En el segundo año de cría, las mortalidades varían de las nulas mortalidades en las larvas de la DOP Ribera del Duero del y de las larvas de los cruces entre DOP del año 2011, hasta el 33,33% producido en las larvas de la DOP Toro (2011), siendo una mortalidad media para el conjunto de las poblaciones estudiadas del 13,33% (Fig. 4.42).

En el **periodo de pupa**, las mortalidades en el primer año de cría, oscilan entre la nula mortalidad producida en las larvas del cruce entre DOP hasta el 6,66% que se produce en las larvas de los evolucionarios de la DOP Ribera del Duero (2011), con una mortalidad media para el conjunto de las poblaciones estudiadas del 4,42%. En el segundo año de cría, las mortalidades varían de las nulas mortalidades en las larvas de la DOP Ribera del Duero, las larvas de la DOP Toro y de las larvas de los cruces entre DOP del año 2011, hasta el 26,66% producido en las larvas de los evolucionarios de la DOP Ribera del Duero (2011), siendo la mortalidad media para el conjunto de las poblaciones estudiadas del 6,66% (Fig.4.43).



Figura 4.42: Larva de *X. arvicola* muerta en la etapa de prepupa en el primer año de cría en el laboratorio.



Figura 4.43: Larva de *X. arvicola* muerta en la etapa de pupa en el primer año de cría en el laboratorio.

El micelio del hongo observado en las prepupas y pupas se intentó identificar para conocer posibles hongos que tuvieran capacidad entomopatogénica frente a *X. arvicola*. El micelio se aisló en placas Petri de 55 mm de diámetro con medio Patata Dextrosa Agar (PDA) y se dejó crecer durante 7 días a 25°C en condiciones de oscuridad (Fig. 4.44). Posteriormente se hizo una preparación al microscopio y se comprobó que era un aislamiento de *Aspergillus* spp. (Fig.4.45).



Figura 4.44: Aislamiento de *Aspergillus* spp. en placa Petri con medio PDA.



Figura 4.45: Vista al microscopio de aislamiento de *Aspergillus* spp

Aspergillus spp se caracteriza por las conidias de color marrón sobre un micelio de color amarillo pálido. Las cabezas conidicas son globosas y los conidioforos son lisos e hialinos, en ocasiones con un ligero tono marrón. Las conidias son globosas en su superficie y miden 4-5 μm de diámetro.

No se ha descrito hasta la fecha ninguna capacidad entomopatógena de *Aspergillus* spp. frente a coleópteros cerambícidos a fin de introducir este hongo en el control integrado frente a la plaga. Por otra parte, no se puede afirmar que *Aspergillus* spp. haya causado la muerte de la prepupa y pupa de *X. arvicola*, pues no se sabe si el hongo se ha instalado posteriormente a la muerte de la pupa o fue el causante de la misma.

Las mortalidades obtenidas en el primer año de cría de larvas de *X. arvicola* para los periodos de prepupa y pupa (11,35 y 4,42% de mortalidad, respectivamente), coinciden con lo descrito por García Ruiz (2009), quien también describió bajas mortalidades en estos periodos de desarrollo, 10% de mortalidad en ambos periodos de prepupa y pupa. Moreno (2005) también cita una baja mortalidad, del 4,6% en el periodo de pupas de *X. arvicola* de las 43 larvas estudiadas.

En otra especie de la misma familia Rogers *et al.* (2002), describen unos porcentajes de pupación inferiores al 30% para *Prionoplus reticularis* White 1843 (Coleoptera: Cerambycidae). Si observamos la reducción en la viabilidad que se produce en los adultos de *X. arvicola* obtenidos en distintas generaciones en laboratorio, 95,52 y 70,05% en la primera y segunda generación respectivamente, la tendencia coincide con lo descrito por Dojnov *et al.* (2012), quienes describen para *Morinus funereus* (Coleoptera: Cerambycidae) una viabilidad del 52 y del 21% en adultos que procedían de la cría de larvas de la primera y de la segunda generación, respectivamente.

Las larvas de *X. arvicola* entraban en el periodo de prepupa en la 2ª generación de cría, su mortalidad media aumentaba hasta el 26,98%, frente al 4,48% que solamente se alcanzaba en la 1ª generación, al igual que en los periodos de pupa, aunque en menor proporción, siendo nulas las mortalidades en la 1ª generación y del 2,97% si las larvas eran de la 2ª generación.

Si lo analizamos desde el punto de vista de los años de cría en laboratorio, se observa que en las larvas que entran en el periodo de prepupa en el primer año de cría, se produce un 11,35% de mortalidad larvaria, frente a un 13,33% que se produce si dichas larvas lo

hacen en el segundo año de cría, al igual que en el periodo de pupa, aumentando éste del 4,42% al 6,66% de mortalidad si las larvas son del primer o el segundo año de cría, respectivamente.

En cuanto a las viabilidades de los adultos obtenidos en laboratorio en función de las generaciones se puede decir que, su viabilidad se reduce con el aumento de generaciones en laboratorio, de ahí que se obtenga un 95,52% en las primera generaciones, para reducirse estas hasta el 70,05% en las segundas generaciones.

Si se observan las viabilidades de los adultos obtenidos en laboratorio en función de los años de cría, también se observa que estas viabilidades descienden, aunque en menor medida, del 84,23% que se obtiene en el primer año de cría, al 80,01% que se obtiene en el segundo.

4.3.4.2.- Días de larva, prepupa y pupa de *X. arvicola*.

- En el primer año de cría.

El análisis estadístico mostró que no existían diferencias significativas en los días de desarrollo larvario según el sexo de los adultos obtenidos y si existían entre procedencias durante el primer año de cría en el laboratorio (Fig. 4.46).

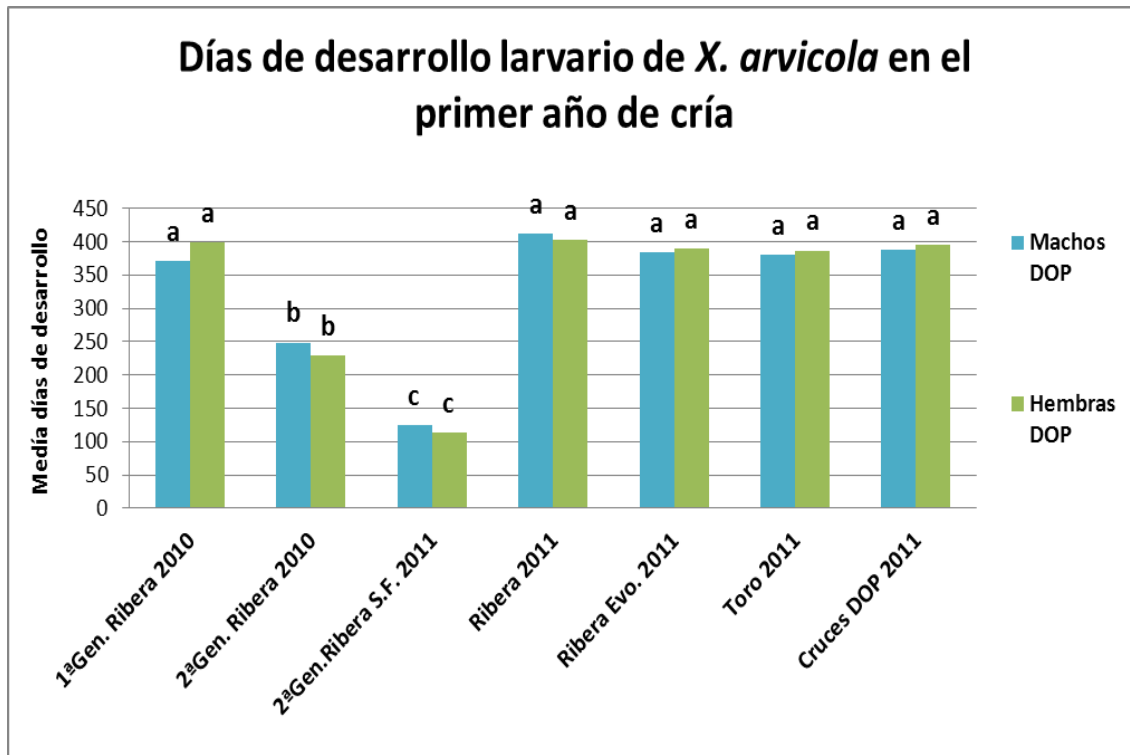


Figura 4.46: Comparación de medias de días de desarrollo larvario entre procedencias y sexos en el primer año de cría en el laboratorio. Letras diferentes para cada sexo evaluado indican diferencias significativas entre procedencias ($P < 0,05$, test DMS).

Los resultados obtenidos muestran que son las larvas que dieron lugar a los 4 machos y a las 9 hembras, procedentes de la DOP Ribera del Duero (2011), con 411,50 y 403,33 días de media respectivamente, las que mayor periodo de desarrollo necesitaron, no existiendo diferencias significativas con el resto de poblaciones larvarias estudiadas, excepto con las larvas de la segunda generación de la DOP Ribera del Duero (2010), (249 días en macho y 228,75 días en hembra) y con las larvas de la segunda generación de la DOP Ribera del Duero del año 2011 (que no pasaron por periodo de frío con 125 días para 28 machos y 114,42 para 63 hembras). Estas dos poblaciones larvarias a su vez tienen diferencias significativas entre ellas (Fig. 4.46).

En cuanto a los días máximos y mínimos de desarrollo larvario de *X. arvicola* en este ensayo, con 228,75 y 411,50 días de media respectivamente, se aproximan a los descritos por Moreno (2005), quien a la hora de reproducir el ciclo completo de *X. arvicola* en laboratorio durante un año, describe un desarrollo larvario mínimo de 243,00 días y máximo de 502 días. Como novedad, aportamos que la segunda generación de larvas que no pasaron por periodo de frío, con un mínimo de 114 días y un máximo de 125 días, reducen significativamente el periodo larvario descrito por Moreno (2005).

Si observamos las diferencias significativas entre los sexos de una misma población, García Ruiz (2009), tampoco obtiene diferencias significativas entre los sexos de los adultos de *X. arvicola* obtenidos y los días de desarrollo larvario que necesitaron hasta su completo desarrollo, fijando para las hembras 293,89 días y para los machos 305,89 días de media de desarrollo larvario, al igual que ocurre en nuestro ensayo, donde en ninguna población larvaria de *X. arvicola* se observan diferencias significativas entre sexos.

Sólo las larvas que dieron lugar a las hembras de la primera generación de la DOP Ribera del Duero (2010), y las hembras de los evolucionarios de la DOP Ribera del Duero, DOP Toro, y cruces entre DOP del año 2011, pese a no tener diferencias significativas entre sexos, necesitaron de un periodo de desarrollo larvario mayor que los machos. Igualmente ocurre en el ensayo realizado por Wang *et al.* (2002), quienes describen para la cría en dieta artificial en laboratorio de larvas de *Oemena hirta* (Coleoptera: Cerambycidae) capturadas en campo un periodo de desarrollo larvario en hembras de 147,2 días y 141,40 días en machos, para larvas mantenidas en dieta artificial desde su eclosión de los huevos, 192 días en hembras y 173,10 días en machos y para larvas colocadas sobre cortes de ramas impregnadas en agua dulce, 49 días en hembras y 45,30 días en machos, no existiendo diferencias significativas entre los sexos en las 3 poblaciones de larvas estudiadas. Estos datos sugieren en ambas especies de coleópteros cerambícidos, que las hembras necesitan más tiempo para completar el desarrollo larvario y puede explicar el por qué los machos generalmente emergen antes que las hembras, tanto en el laboratorio como en el campo. El tiempo de desarrollo de las hembras también es mayor que la de los machos en *Ataxia hubbardi* Fisher (Coleoptera: Cerambycidae), mientras que ocurre todo lo contrario en *Mecas inornata* Say (Coleoptera: Cerambycidae) (Rogers y Serda, 1979).

Dojnov *et al.* (2012) describen para *Morinus funereus* (Coleoptera: Cerambycidae) durante el desarrollo larvario un número de estadios variables, 6 estadios para hembras y 5 para machos, y una media de 218,00 días de media de desarrollo larvario en ambos sexos. El número exacto de estadios larvarios de *X. arvicola*, aún no se conoce con exactitud, pudiendo variar entre 6 y 8, como ocurre en otras especies de la misma familia (Adachi, 1988). Menores tiempos de desarrollo larvario en condiciones de laboratorio son necesitados por otros insectos del mismo género, como *Xylotrechus quadripes* Chevrolat

(Coleoptera: Cerambycidae), que necesitan de una media de 71,30 días, alcanzado un máximo de 90,00 días y un mínimo de 50,00 días de desarrollo larvario (Visitpanich, 1994a).

Los días de desarrollo en las segundas generaciones se reducen significativamente con respecto a las obtenidas en las primera, así obtenemos en la segunda generación de la DOP Ribera del Duero (2010), una media de 249,00 y 228,75 días en machos y hembras respectivamente, muy inferior a la de la primera generación, con 371,69 y 398,75 días. Al igual que ocurre en la segunda generación con respecto a la primera en las larvas de la DOP Ribera del Duero del año 2011 que no pasaron por periodo de frío. Todo lo contrario a los datos obtenido en nuestro ensayo es lo descrito por Dojnov *et al.* (2012) sobre otra especie de la misma familia *Morinus funereus* (Coleoptera: Cerambycidae) en la que se realizó la cría de una segunda generación en laboratorio de larvas de *M. funereus*, llegando a alcanzar 12 estadios larvarios, antes de entrar en el periodo de pupación, al que llegaban después de una media de 226,00 días de desarrollo larvario, frente a los 218,00 días que necesitaban en la primera generación, por lo que se observa que en esta especie de la familia Cerambycidae aumentan ligeramente los días de desarrollo larvario según avanzan las generaciones en laboratorio.

Si analizamos los días de desarrollo de prepupa según el sexo de los adultos obtenidos, se observa que existen diferencias significativas entre las distintas poblaciones larvarias durante el primer año de cría en el laboratorio (Fig. 4.47).

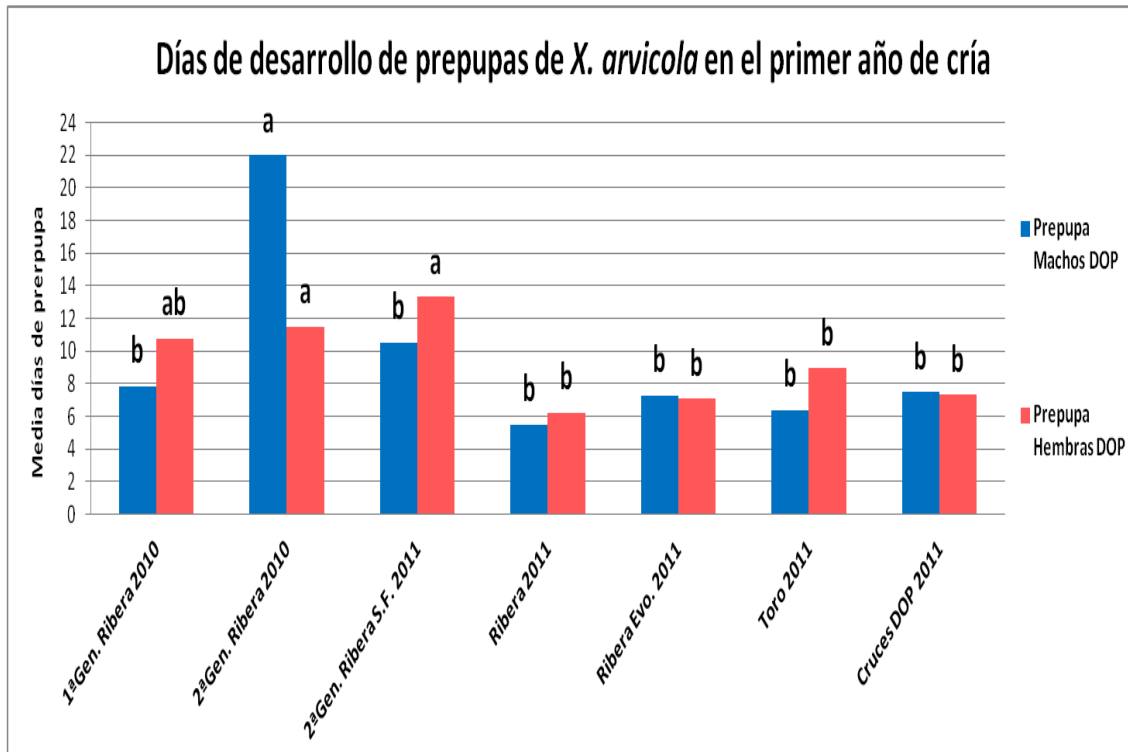


Figura 4.47: Comparación de medias de días de desarrollo de prepupas entre procedencias y sexos en el primer año de cría en el laboratorio. Letras diferentes para cada sexo evaluado indican diferencias significativas entre procedencias ($P < 0,05$, test DMS).

Los resultados obtenidos muestran que fue 1 macho obtenido en la segunda generación de la DOP Ribera del Duero (2010), con una media de 22,00 días, quien necesitó de un periodo más largo de prepupa, existiendo diferencias significativas con el resto de las poblaciones larvarias. En cuanto a las hembras, son las 63 hembras de la DOP Ribera del Duero (2011) que no pasaron por periodo de frío y tuvieron 13,33 días de desarrollo, quienes necesitaron de un periodo más largo de prepupa, no existiendo diferencias significativas con las 2 hembras obtenidas en la segunda generación de la DOP Ribera del Duero (2010) que tuvieron 11,50 días y con las 8 hembras de la primera generación de la DOP Ribera del Duero (2010) que tuvieron 10,75 días, pero si con el resto de poblaciones larvarias. Las larvas de la primera generación de la DOP Ribera del Duero (2010), no tienen diferencias significativas con ninguna población larvaria (Fig. 4.47).

El periodo de prepupa para las 2 larvas que puparon directamente sin pasar por periodo de frío, fue de 9 días en el macho y en la hembra.

García Ruiz (2009) tampoco obtiene diferencias significativas en los días de desarrollo de las prepupas por sexos, obteniendo una media de 5,45 días, siendo el periodo para machos de 5,78 días y para hembras de 5,19 días, al igual que en nuestro ensayo, los machos y hembras de las distintas poblaciones estudiadas no difieren significativamente en cuanto a sexos para el periodo de prepupa, excepto en la segunda generación de las larvas de la DOP Ribera del Duero del año 2010 y 2011 (que no pasaron por periodo de frío).

Si analizamos los días de desarrollo de pupas según el sexo de los adultos obtenidos, se observa que existen diferencias significativas entre las distintas poblaciones larvarias durante el primer año de cría en el laboratorio (Fig. 4.48).

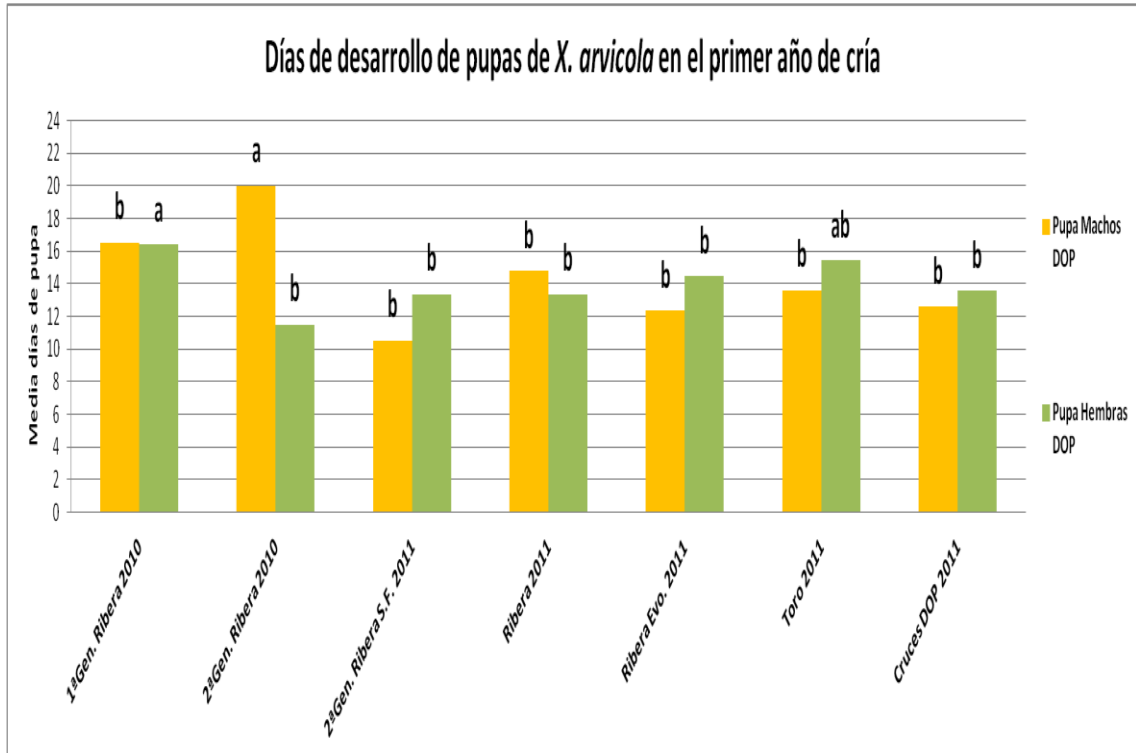


Figura 4.48: Comparación de medias de días de desarrollo de pupas entre procedencias y sexos en el primer año de cría en el laboratorio. Letras diferentes para cada sexo evaluado indican diferencias significativas entre procedencias ($P < 0,05$, test DMS).

Los resultados obtenidos muestran que fue 1 macho de la segunda generación de la DOP Ribera del Duero (2010), con 20,00 días de media de desarrollo, quien necesitó de un periodo de pupa más largo, teniendo diferencias significativas con el resto de las poblaciones. En cuanto a hembras, son las 8 hembras de la primera generación de la DOP Ribera del Duero (2010), quienes con 16,37 días necesitaron de un periodo de pupa mayor, no teniendo diferencias significativas con las 17 hembras de la DOP Toro (2011) que necesitaron de 15,41 días, pero si teniendo diferencias significativas con el resto de poblaciones larvarias estudiadas (Fig. 4.48).

El periodo de pupa para las 2 larvas que puparon directamente sin pasar por periodo de frío, fue de 18 en el macho y 17 días en la hembra.

Nuestros resultados en el periodo de pupa oscilaron entre los 20 días de media para el periodo máximo y 11,50 días de media para el periodo mínimo, que se asemejan a los descritos por Moreno (2005) para el mismo periodo de pupa, con un media de 20 días, siendo 34 días el periodo máximo y 14 el mínimo. Tampoco se observan diferencias significativas, al igual que cita Moreno (2005), entre los días de duración de las pupas que dieron lugar a los machos y a las hembras de las distintas poblaciones larvarias estudiadas, excepto en la segunda generación de la DOP Ribera del Duero (2010).

En los periodos de pupa, García Ruiz (2009), con una media de 17,48 días, si obtiene diferencias significativas entre sexos, siendo mayor para las hembras que para los machos. En nuestro caso, son mayores los periodos de desarrollo de las hembras, pero no

existen diferencias significativas entre sexos, en las hembras de la segunda generación de la DOP Ribera del Duero (2011) que no pasaron por periodo de frío (13,33 días), en las hembras de los evolucionarios de la DOP Ribera del Duero (2011) (14,43 días), en las hembras de la DOP Toro (2011) (15,41 días) y en las hembras de los cruces entre DOP (2011) (13,57 días).

Visitpanich (1994a), describe para otra especie del mismo género, como *Xylotrechus quadripes* Chevlorat (Coleoptera: Cerambycidae), una media de 10,7 días en el periodo de pupa, alcanzando un máximo de 15 días y un mínimo de 9, en condiciones controladas de laboratorio, mediante la cría sobre ramas de café.

Wang *et al.* (2002), describen para *Oemena hirta* (Coleoptera: Cerambycidae) una media en el periodo de desarrollo pupal de 18,90 días en machos y 18,40 días en hembras para larvas que habían sido capturadas en campo y transferidas a dieta artificial, 15,10 días en machos y 16,00 días en hembras en larvas que habían sido mantenidas en dieta artificial desde su eclosión, y 15,70 días en machos y 16,40 en hembras de larvas que habían sido inoculadas sobre ramas de álamo impregnadas en agua dulce, no existiendo diferencias significativas entre sexos para este periodo de desarrollo en las tres líneas de cría de larvas de *O. hirta*.

- **En el segundo año de cría.**

En el segundo año de cría no se obtiene un número suficiente de individuos en ambos sexos de las distintas poblaciones larvarias estudiadas para comparar las medias de los días de desarrollo larvario, los periodos de prepupa y pupa

Los individuos obtenidos y los **días de desarrollo larvario** en la DOP Ribera del Duero (2011) son 2 hembras con 680,50 días de media, en los evolucionarios de la DOP Ribera del Duero (2011) 1 macho con 673 días y 7 hembras con 660,28 días de media, en la DOP Toro (2011) solamente 2 machos con 667 días de media, al igual que en los cruces entre DOP (2011) donde solo se obtienen machos, en este caso 3, con 655,33 días de media.

Los **días de desarrollo de las prepupas** en la DOP Ribera del Duero (2011) son 9 días de media para las hembras, en los evolucionarios de la DOP Ribera del Duero (2011) son 7 días en el macho y 8 días de media en las hembras, en la DOP Toro (2011) necesitan 10,50 días de media en los 2 machos, mientras que en los cruces entre DOP (2011) los 3 machos obtenidos necesitan 7 días de media.

Mientras que los **días de desarrollo de las pupas** en la DOP Ribera del Duero (2011) son también 9 días de media para las hembras, en los evolucionarios de la DOP Ribera del Duero (2011) el macho necesita 13 días y las hembras 8 días de media, en la DOP Toro (2011) los 2 machos necesitaron 10,50 días de media, mientras que en los cruces entre DOP (2011) los 3 machos necesitan 7 días de media.

Aunque la familia *Cerambycidae* está distribuida por todo el mundo y se conocen una gran cantidad de especies hospedadoras (Anbutsu y Togashi, 2002; Shintani *et al.*, 2003; Kim *et al.*, 2006), son pocos los documentos que describen el desarrollo de las larvas de la familia *Cerambycidae* (Yoon y Mah, 1999; Wang *et al.*, 2002), o informan sobre el desarrollo de los cerambícidos adultos en cautividad (Wang *et al.*, 2002; Michaud y

Grant, 2005).

Los cerambícidos pueden tardar en desarrollarse de 2 a 5 años en el campo, (Kimoto y Duthie-Holt, 2004; Keena, 2005; Rogers *et al.*, 2002), pudiéndose reducir este periodo en condiciones de laboratorio mediante el uso de dietas artificiales. Algunos autores, como Gardiner (1970) han demostrado la reducción del ciclo de vida de los insectos mediante el uso de dietas artificiales, reduciendo el tiempo de desarrollo larvario de un gran número de cerambícidos, entre los que se encuentran algunas especies del género *Xylotrechus* Chevrolat 1860. La reducción en el periodo de desarrollo también ha sido demostrada en otros insectos de la familia de los cerambícidos, como *Oemena hirta* (Coleoptera: Cerambycidae), entre 140 y 300 días (Wang *et al.*, 2002) y *Anoplophora macularia* (Coleoptera: Cerambycidae), entre 98 y 287 días, (Lee y Lo, 1998).

La reducción del periodo de desarrollo larvario en condiciones de laboratorio, puede ser debido a que los alimentos que conforman el sustrato-dieta junto con los factores ambientales constantes, tienen un efecto positivo en el desarrollo, o que el hecho de tratar térmicamente la dieta y la posterior conservación evita la presencia de microorganismos que pudieran infectar a las larvas (Dojnov *et al.*, 2012). La complejidad en la metodología que conlleva la cría de especies de cerambícidos xilófagos y los resultados aportados por diferentes autores, que en la que la mayoría de los casos no se supera el 50% de la supervivencia, refleja la dificultad de la cría de esta especie en condiciones controladas de laboratorio (García Ruiz, 2009).

La principal causa de mortalidad en la cría de las larvas neonatas de *X. arvicola* es la aceptación durante los primeros días de la dieta artificial elegida, siendo la que posee mayor cantidad de componente específico del hospedador, la que las larvas reconocen en los primeros momentos de cría, y que es uno de los factores principales que determinan la mortalidad larvaria y la calidad de la dieta empleada (García Ruiz, 2009). Las tasas de mortalidad de los escarabajos cerambícidos y las mariposas criados en cautividad puede ser alto (Linit 1985; Hanks *et al.*, 1993a; Lee y Lo, 1998; Schultz *et al.*, 2009), lo que confirma la alta mortalidad de los adultos de *X. arvicola* obtenidos en laboratorio criados en cautividad.

Las larvas de *X. arvicola* que puparon en el segundo año de cría en laboratorio con un periodo larvario máximo de 680 días y un mínimo de 655,33 días de media, coinciden con lo expuesto por Adachi (1988), quien explica que la fase larvaria de *X. arvicola* tiene una duración media de dos años (≈ 730 días aproximadamente) en condiciones de campo, aunque puede reducirse en condiciones controladas de laboratorio. Esta reducción en la disminución del ciclo de vida de *X. arvicola* mediante la utilización de dietas, también ha sido demostrado por otros autores, como Gardiner (1970), quien redujo el tiempo de vida de muchos coleópteros cerambícidos, entre los que se encuentran muchos del género *Xylotrechus*, como son *X. undulatus*, (Say, 1824), *X. sagittatus* (German, 1821), *X. colonus* (Fabricius, 1775), o *X. quadripes*, descrito anteriormente por Visitpanich (1994a).

En 4 de las poblaciones larvarias estudiadas, las larvas que dieron lugar a hembras de *X. arvicola* necesitaban mayor tiempo de desarrollo que las que dieron lugar a machos, al igual que ocurre con las larvas de *O. hirta* en campo y criadas en laboratorio (Wang *et al.*, 2002). Esta variabilidad en el desarrollo larvario y en el número de etapas de desarrollo observadas también se describe para otras etapas de escarabajos cerambícidos (Lee y Lo,

1998).

Este desarrollo larvario se redujo considerablemente en aquellas larvas de *X. arvicola* que no pasaron por periodo de frío y que puparon directamente, así como en la descendencia que se obtuvo a partir de su emparejamiento, lo que nos hace pensar que esta especie en los inviernos suaves o que no haya grandes periodos de frío, serán capaces de pupar directamente, para asegurar la supervivencia de la especie. Otra idea que nos da este comportamiento anómalo en los estadios inmaduros de desarrollo de *X. arvicola*, es que esta especie puede utilizar esta vía para adaptarse a los inviernos, cada vez más suaves y cortos, que se están produciendo en nuestra latitudes como consecuencia del cambio climático.

4.3.5.- VARIABLES ESTUDIADAS DE ADULTOS DE *X. arvicola*.

4.3.5.1.- Longevidad de los adultos de *X. arvicola* de campo.

- Por denominación de origen de procedencia y sexo.

El análisis estadístico mostró que existen diferencias significativas en los días de vida de los adultos capturados en las distintas procedencias (Fig. 4.49).

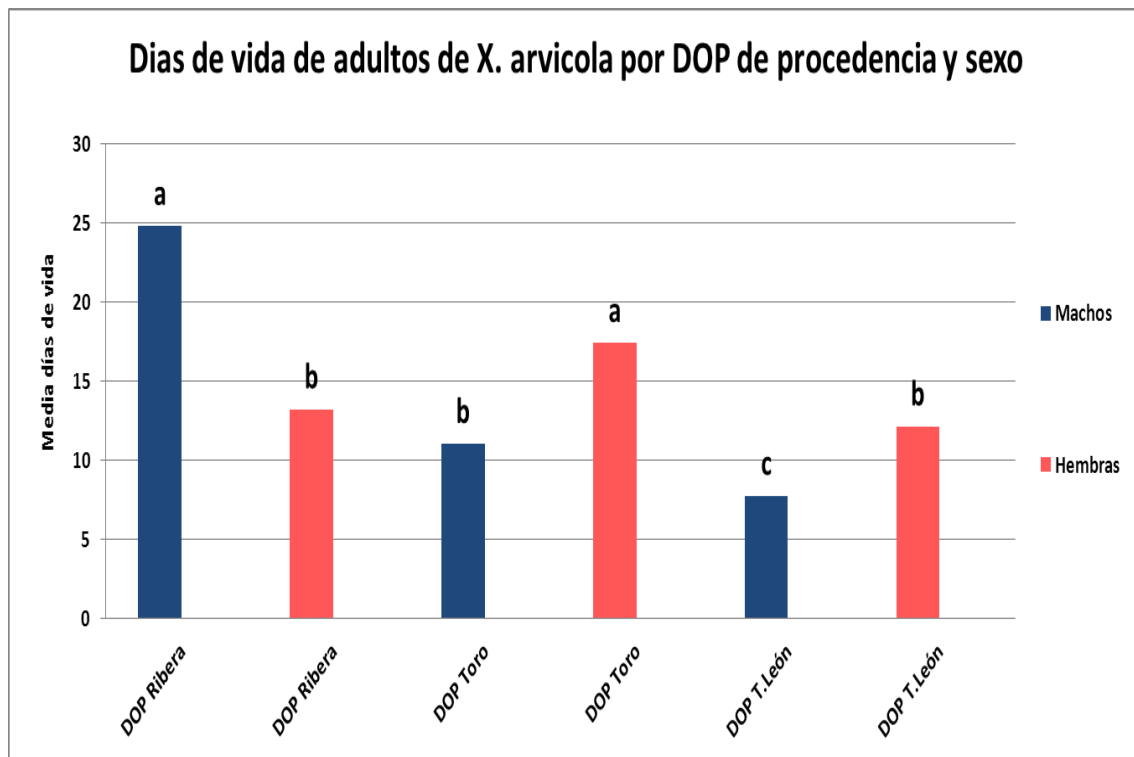


Figura 4.49: Comparación de medias de días de vida de adultos entre procedencias y sexos en las distintas procedencias. Letras diferentes para cada sexo evaluado indican diferencias significativas entre procedencias ($P < 0,05$, test DMS).

Los machos de la DOP Ribera del Duero son los que más días de vida de media tienen, 24,83, con diferencias significativas con los 11,06 días de vida de los machos de la DOP Toro, y los 7,79 días de vida de los machos de la DOP Tierras de León, existiendo

diferencias significativas entre las 3 poblaciones. Son las hembras de la DOP Toro con 17,44 días de vida de media las que mayor longevidad poseen, sobre las hembras de la DOP Ribera del Duero y DOP Tierras de León con 13,25 y 12,17 días de vida respectivamente (Fig. 4.52).

- **Por denominaciones de origen de procedencia, año y sexo.**

El análisis estadístico mostró que existen diferencias significativas en los días de vida de los adultos capturados en las distintas procedencias en función del año en que se produjo (Fig. 4.50).

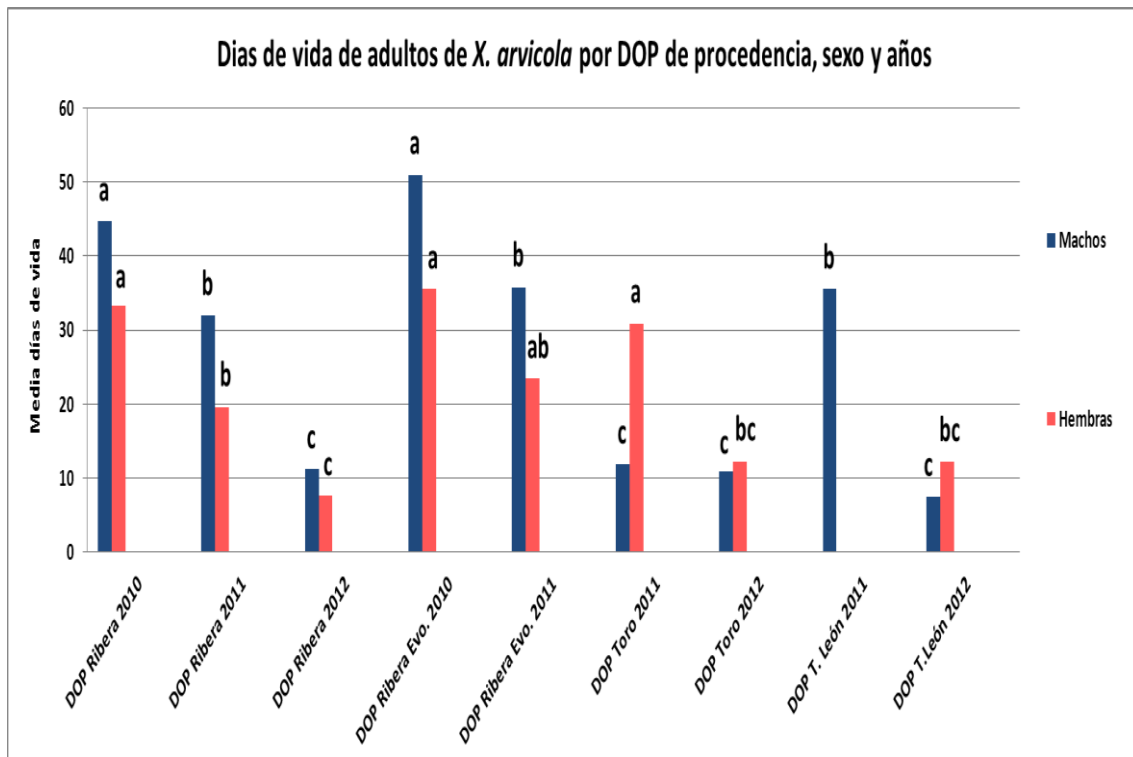


Figura 4.50: Comparación de medias de días de vida de adultos entre procedencias, sexos y años en las distintas procedencias. Letras diferentes para cada sexo evaluado indican diferencias significativas entre procedencias y años ($P < 0,05$, test DMS).

Son los machos capturados en los evolucionarios de la DOP Ribera del Duero (2010) y en la DOP Ribera del Duero (2010) con 51,00 y 35,80 días respectivamente, los que mayor longevidad presentan, existiendo diferencias significativas con el resto de poblaciones de adultos. Los machos de la DOP Ribera del Duero (2012) con 11,21 días, de la DOP Toro en los años 2011 y 2012 con 11,85 y 10,83 días respectivamente y los de la DOP Tierras de León (7,48 días) son los que menor longevidad presentan.

Las hembras de *X. arvicola* capturadas en los evolucionarios de la DOP Ribera del Duero en el año 2010 con 35,50 días, las de la DOP Ribera del Duero en el año 2010 con 33,25 días y con las de la DOP Toro en el año 2011, con 30,90 días, son las que mayor

longevidad poseen, pero no tienen diferencias significativas con las hembras capturadas en los evolucionarios de la DOP Ribera del Duero en el año 2011, con 23,40 días, pero sí con el resto de poblaciones de hembras estudiadas, y capturadas mediante trampa de interceptación en la DOP Ribera del Duero en el año 2011. Por otra parte, las hembras de la DOP Ribera del Duero del año 2012 (7,56 días) son las hembras que menor longevidad tienen de todas las estudiadas (Fig. 4.50).

4.3.5.2.- Longevidad de los adultos de *X. arvicola* de laboratorio.

- Por años de cría en laboratorio y sexos.

El análisis estadístico mostró que existen diferencias significativas en los días de vida de los adultos obtenidos en laboratorio en función de los años de cría y el sexo (Fig.4.51).

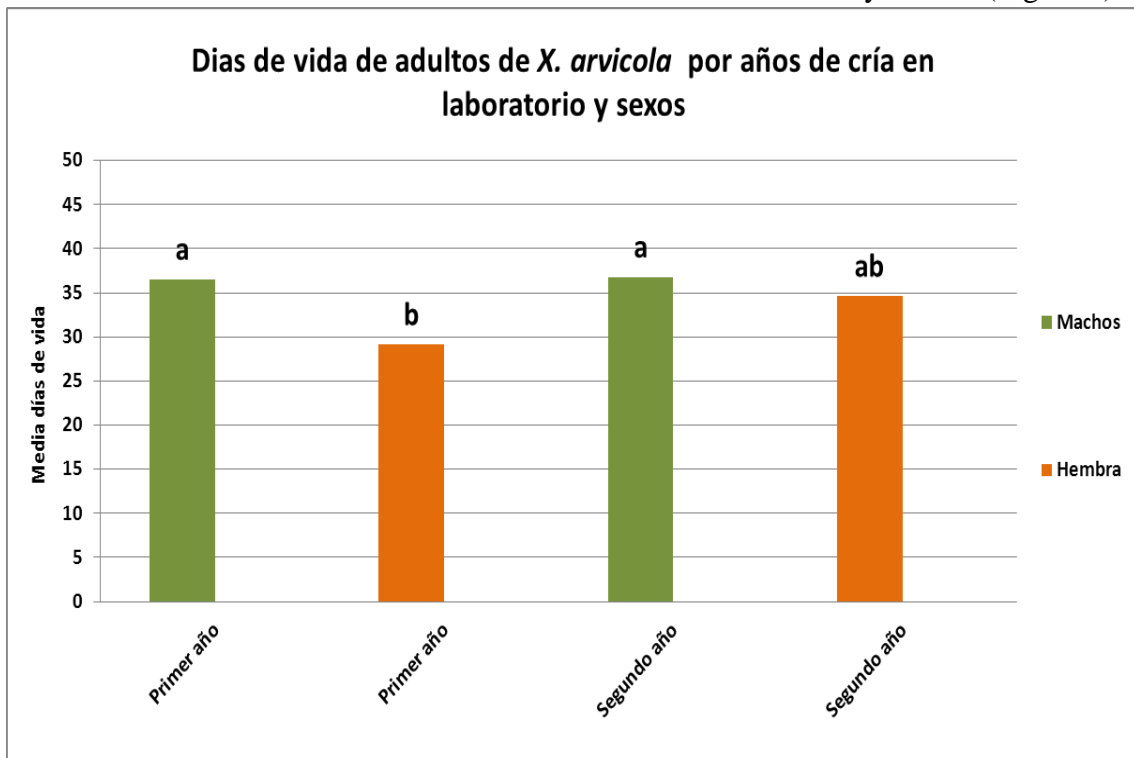


Figura 4.51: Comparación de medias de días de vida de adultos entre años de cría en laboratorio y sexos. Letras diferentes para cada sexo evaluado indican diferencias significativas entre años de cría ($P < 0,05$, test DMS).

Los 35 machos obtenidos en el segundo año de cría son los de mayor longevidad, 36,80 días, no teniendo diferencias significativas con los 97 machos obtenidos en el primer año de cría con 36,54 días. Si observamos los días de vida de las hembras, las 74 hembras del segundo año de cría, con 34,62 días de vida, son las que mayor longevidad poseen, superando a las 100 hembras del primer año de cría, con 29,13 días de vida y entre las que no existen diferencias significativas (Fig. 4.51).

Si observamos los resultados en función de los años de cría en los que se obtuvieron, en el primer año de cría, son los 97 machos los que mayor longevidad poseen, con 36,54 días, mayor que la obtenida en las 100 hembras, donde sólo se alcanzan los 29,13 días de vida

y con las que tienen diferencias significativas. En el segundo año de cría, los 35 machos poseen mayor longevidad que las 74 hembras, 36,80 días de vida, por 34,62 días de vida en hembras, sin que entre ambos sexos no existan diferencias significativas (Fig. 4.51).

• **Por periodos de frío y sexos.**

El análisis estadístico mostró que existen diferencias significativas en los días de vida de los adultos obtenidos en laboratorio en función de haber pasado o no por periodo de frío (Fig. 4.52).

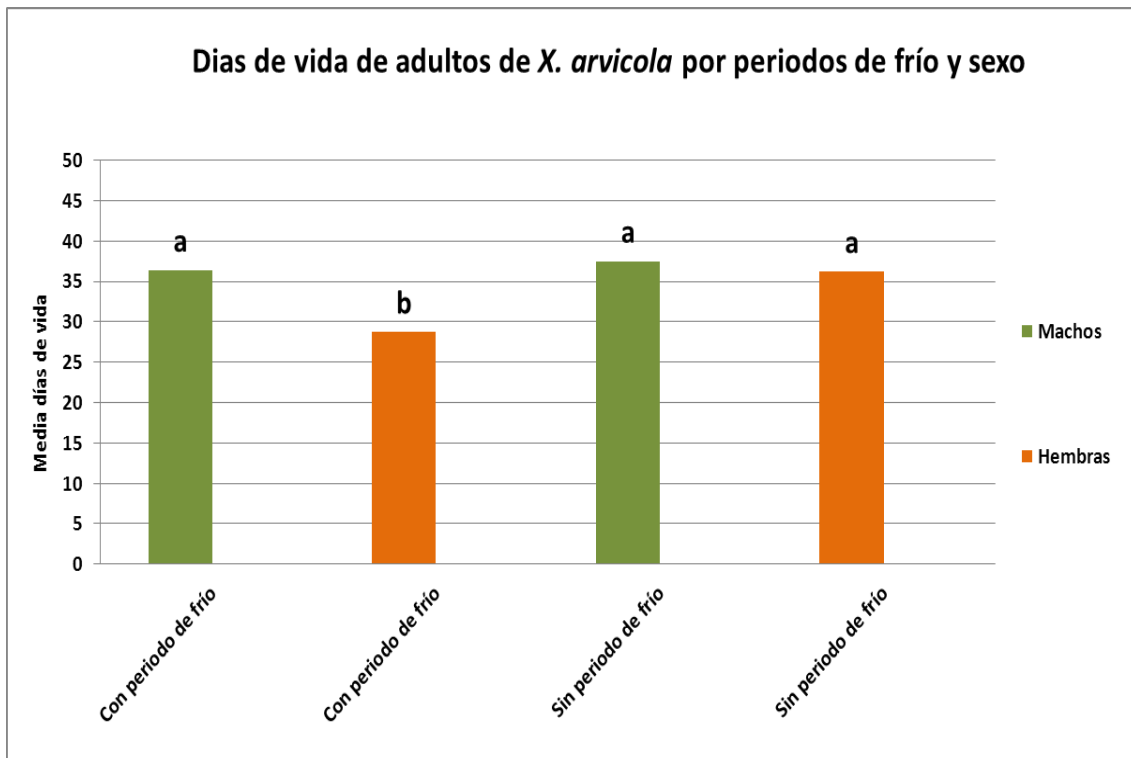


Figura 4.52: Comparación de medias de días de vida de adultos entre periodos de frío y sexos. Letras diferentes para cada sexo evaluado indican diferencias significativas entre años de cría ($P < 0,05$, test DMS).

Son los 29 machos que no han tenido tratamiento de frío los que mayor longevidad tienen, pues con 37,48 días, superan a las 64 hembras que tampoco han sido tratadas con frío, con 36,20 días, y a los 103 machos que si han sido tratados con frío, con 36,36 días. Estas tres poblaciones son las que mayores longevidades presentan, y entre las cuales no hay diferencias significativas. Las 110 hembras que si han pasado por tratamiento de frío, con 28,70 días de vida de media, son las que menor longevidad poseen, y tienen diferencias significativas con las tres poblaciones anteriormente descritas (Fig. 4.52).

• **Por generaciones obtenidas, años de cría en laboratorio, sexo, periodo de frío y año.**

El análisis estadístico mostró que existen diferencias significativas en cuanto a los días de vida de los adultos obtenidos en laboratorio en función del año de cría, periodo de frío, año y sexo (Fig. 4.53).

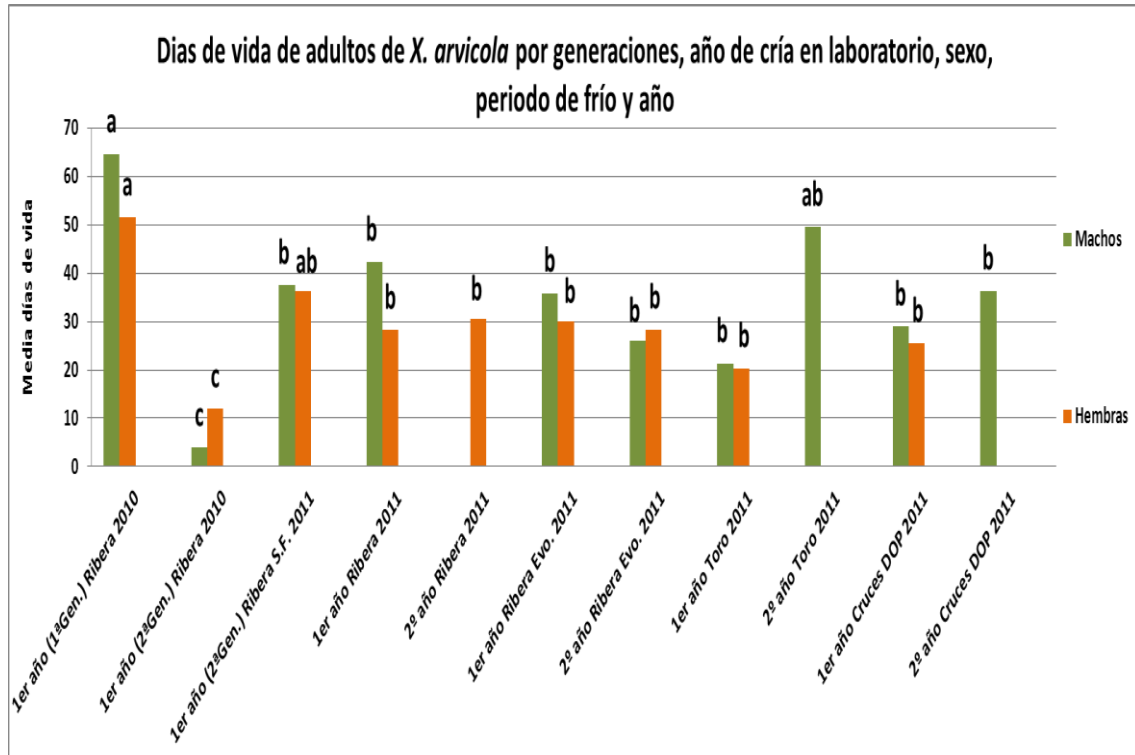


Figura 4.53: Comparación de medias de días de vida de adultos años de cría en laboratorio, periodos de frío, años y sexos. Letras diferentes para cada sexo evaluado indican diferencias significativas entre años de cría ($P < 0,05$, test DMS).

Los resultados obtenidos en función del sexo muestran que son los 13 machos de la primera generación que procedían de la DOP Ribera del Duero del 2010 con 64,69 días de vida los que mayor longevidad presentan, con diferencias significativas con el resto de poblaciones estudiadas, excepto con los machos del segundo año de cría que procedían de la DOP Toro del 2011 y que tienen 49,50 días de vida de media. Con menores longevidades y sin tener diferencias significativas con la población anteriormente descrita tendríamos todas las poblaciones, excepto la procedente del primer año de cría de la segunda generación que procedían de la DOP Ribera del Duero del año 2010 con 4 días de vida de media (Fig. 4.53).

En cuanto a las hembras, son las 8 hembras en el primer año de cría de la primera generación que procedían de la DOP Ribera del Duero del año 2010 con 51,62 días de vida, las que mayor longevidad presentan, le seguirían con menor longevidad y sin tener diferencias significativas las 63 hembras de la segunda generación del primer año de cría que procedían de la DOP Ribera del Duero del año 2011 y que no habían tenido periodo de frío con 36,17 días. Las hembras del primer año de cría de la segunda generación de la DOP Ribera del Duero del año 2010 con 12,00 días de vida, son las que presentan una

menor longevidad de vida de las hembras (Fig. 4.53).

Los días de vida de los 2 adultos del primer año de cría de la primera generación de la DOP Ribera del Duero que no pasaron por periodo de frío fueron 37 días en el macho y 38 días en la hembra

4.3.5.3.- Comparación entre ambas poblaciones de adultos.

El análisis estadístico mostró que existen diferencias significativas en los días de vida de los adultos entre ambientes (capturados en campo y obtenidos en laboratorio) en función del sexo (Fig. 4.54).

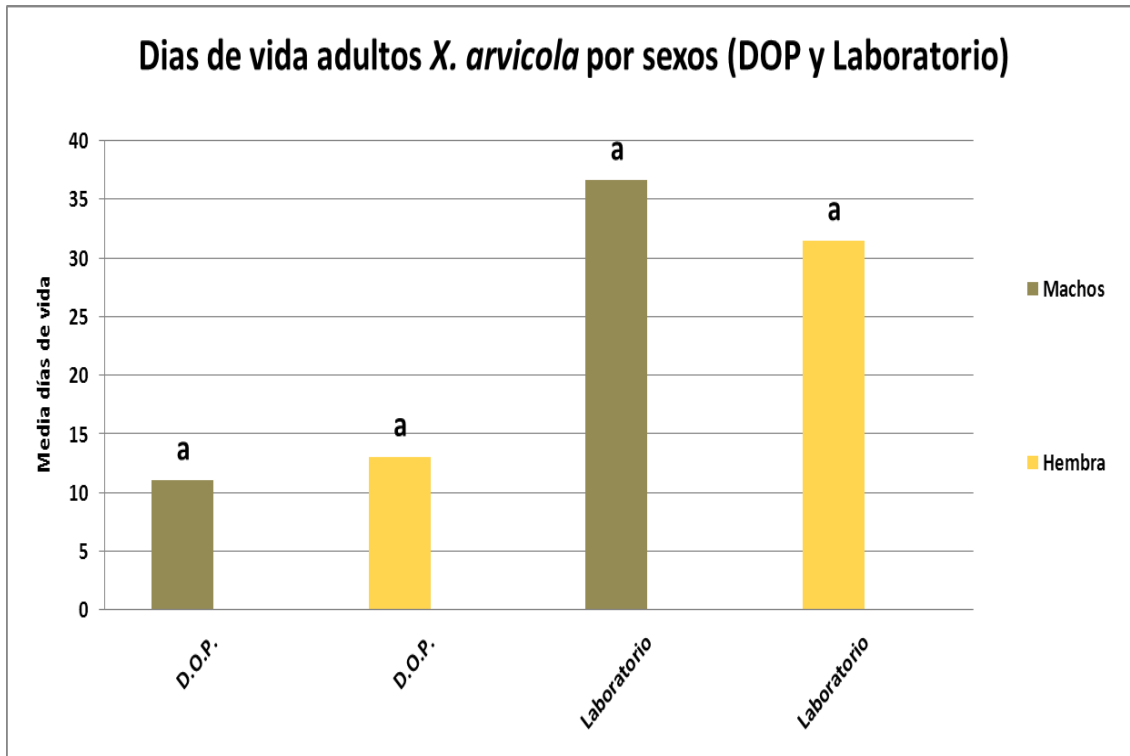


Figura 4.54: Comparación de medias de días de vida de adultos entre ambientes y sexos. Letras diferentes para cada sexo evaluado indican diferencias significativas entre ambientes ($P < 0,05$, test DMS).

El análisis de la longevidad de adultos de *X. arvicola* obtenidos en laboratorio en función de la procedencia y el sexo, muestran que son los machos obtenido en laboratorio, los que mayor longevidad poseen, con 36,61 días de vida de media, teniendo diferencias significativas con las hembras obtenidas también en laboratorio, que tienen 31,46 días de vida, y con los machos y hembras capturados en las denominaciones de origen que tienen 11,03 y 13,05 días de vida de media respectivamente (Fig. 4.54).

Moreno (2005) describe para los 196 adultos de *X. arvicola* obtenidos en laboratorio una longevidad media de 16 días, alcanzándose una longevidad máxima de 30 días y mínima de 11 días, no observando diferencias significativas entre sexos, mientras que García Ruiz (2009), cita una longevidad de 25,83 días de media, siendo de 22,22 días de media en 23 machos, y 23,55 en 27 hembras estudiadas.

Para *Xylotrechus quadripes* Chevlorat (Coleoptera: Cerambycidae), Visitpanich (1994a), expone una longevidad en 65 adultos de cada sexo obtenidos en condiciones de laboratorio, mediante cría en ramas de café, de 23,65 días de media en machos, oscilando desde los 7 días hasta los 46 días, y para hembras una longevidad media de 28,91 días, con un rango de días que van desde los 8 hasta los 53 días.

En otro insecto de la misma familia que *X. arvicola*, Wang *et al.* (2002), describen una longevidad de los adultos de campo de *Oemena hirta* (Coleoptera: Cerambycidae) mayor en machos con 52,10 días, por 33,30 días de vida que presentan las hembras, existiendo diferencias significativas entre ambos sexos, mientras que para los adultos de *Oemena hirta* (Coleoptera: Cerambycidae) obtenidos en laboratorio, existen dos tipos de longevidades en función de la cría que se realizó en laboratorio de sus larvas, siendo una longevidad de 30,20 días en machos y de 35,90 días en hembras en larvas de *O. hirta* que habían sido capturadas en campo y transferidas a dieta artificial en laboratorio, y una longevidad de 50,40 días en machos y 51,90 días en hembras para larvas de *O. hirta* que habían sido mantenidas en dieta artificial desde su eclosión de los huevos, en ambas poblaciones de adultos de *O. hirta*, no existiendo diferencias significativas entre sexos de los adultos en ambas poblaciones para las longevidades de los adultos.

Los adultos cerambícidos que se alimentan, generalmente viven entre 36 y 53 días (Hanks, 1999), aunque su longevidad puede variar en función del sexo, las subfamilias y el sistema de cría (García Ruiz, 2009). En la subfamilia *Cerambycinae* la esperanza de vida puede variar desde los 21 días de los adultos de *Enaphalodes rufulus* Galford 1985 (Coleoptera: Cerambycidae) en dieta y los 29 de *Xylotrechus quadripes* (Coleoptera: Cerambycidae) sobre ramas de café (Visitpanich 1994a). En la subfamilia *Lamiinae* hay documentadas esperanzas de vida mayores (Linsley 1959), como los adultos de *Anoplophora glabripennis* (Coleoptera: Cerambycidae) que pueden llegar a vivir hasta 112 días en dieta (Keena, 2005) o los 113 días que se han descrito para *Monochamus galloprovincialis* (Coleoptera: Cerambycidae) (Lieutier, 2008).

4.3.6.- ESTUDIO BIOMÉTRICO.

Se presentan los resultados obtenidos del estudio biométrico realizado, diferenciando los individuos según procedencia y sexo.

4.3.6.1.- Variables estudiadas según procedencias DOP y laboratorio.

- Longitud del pronoto en su línea media (LP).

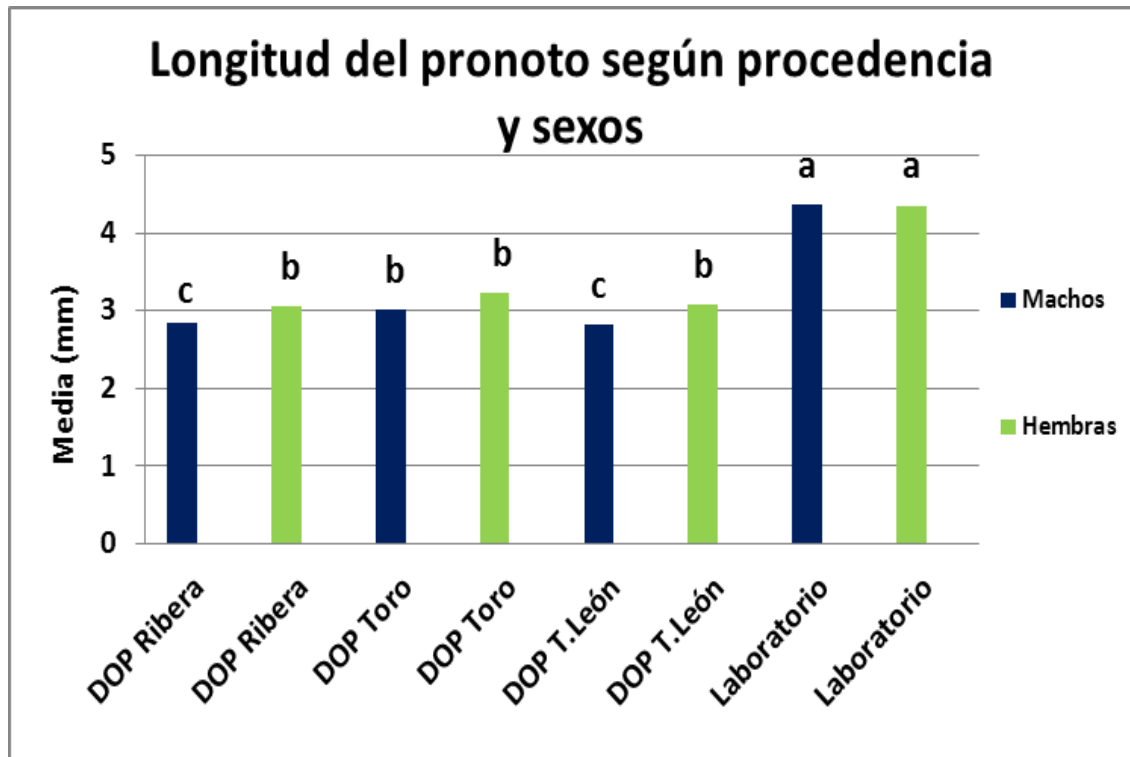


Figura 4.55: Comparación de medias de la longitud del pronoto en individuos de *X. arvicola* entre ambientes y sexos. Letras diferentes para cada sexo evaluado indican diferencias significativas entre ambientes ($P < 0,05$, test DMS).

Los resultados obtenidos, (Fig. 4.55) muestran que existen diferencias significativas en la longitud del pronoto en los adultos de *X. arvicola* estudiados. Si observamos los resultados en **machos**, son los adultos obtenidos en laboratorio, con 4,36 mm quienes mayor longitud del pronoto tienen, existiendo diferencias significativas con los capturados en campo, siendo los adultos de la DOP Toro, con 3,01 mm, los que mayor longitud poseen en el campo, teniendo diferencias significativas con los adultos de la DOP Ribera del Duero y de la DOP Tierra de León, con 2,84 y 2,82 mm respectivamente.

De nuevo, las **hembras** obtenidas en el laboratorio, con 4,35 mm, son las que mayor longitud poseen, teniendo diferencias significativas con las capturadas en el campo, donde las hembras de la DOP Toro, con 3,23 mm, son las que mayor longitud poseen, no existiendo diferencias significativas con las hembras de la DOP Ribera del Duero y de la DOP Tierra de León, con 3,05 y 3,07 mm respectivamente.

Entre los sexos de los individuos obtenidos en laboratorio no hay diferencias

significativas en la longitud del pronoto, mientras que las hembras capturadas en el campo son más grandes que los machos dentro de cada procedencia, existiendo diferencias significativas de las hembras con los machos, en la DOP Ribera del Duero y Tierra de León. En la DOP Toro, pese a ser más grandes los individuos, no existen diferencias significativas entre sexos en la longitud del pronoto (Fig. 4.55).

El mayor tamaño de la longitud del pronoto en las hembras que en los machos de *X. arvicola*, coincide con lo descrito por Moreno (2005), quien también describe mayor tamaño en la longitud del pronoto en las hembras, 3,20 mm, frente a 2,80 mm para los machos de *X. arvicola* capturados en viñedos.

Estas características biométricas también han sido descritas en otros cerambícidos, Bahillo (1997), en *Iberodorcadion fuliginator* Linneo 1758 (Coleoptera: Cerambycidae), también describe una longitud media del pronoto mayor en hembras que en machos, mientras que Vives (1983) describe para esta misma especie una longitud del pronoto en machos ligeramente mayor en machos que en hembras.

- Anchura máxima del pronoto (AP).

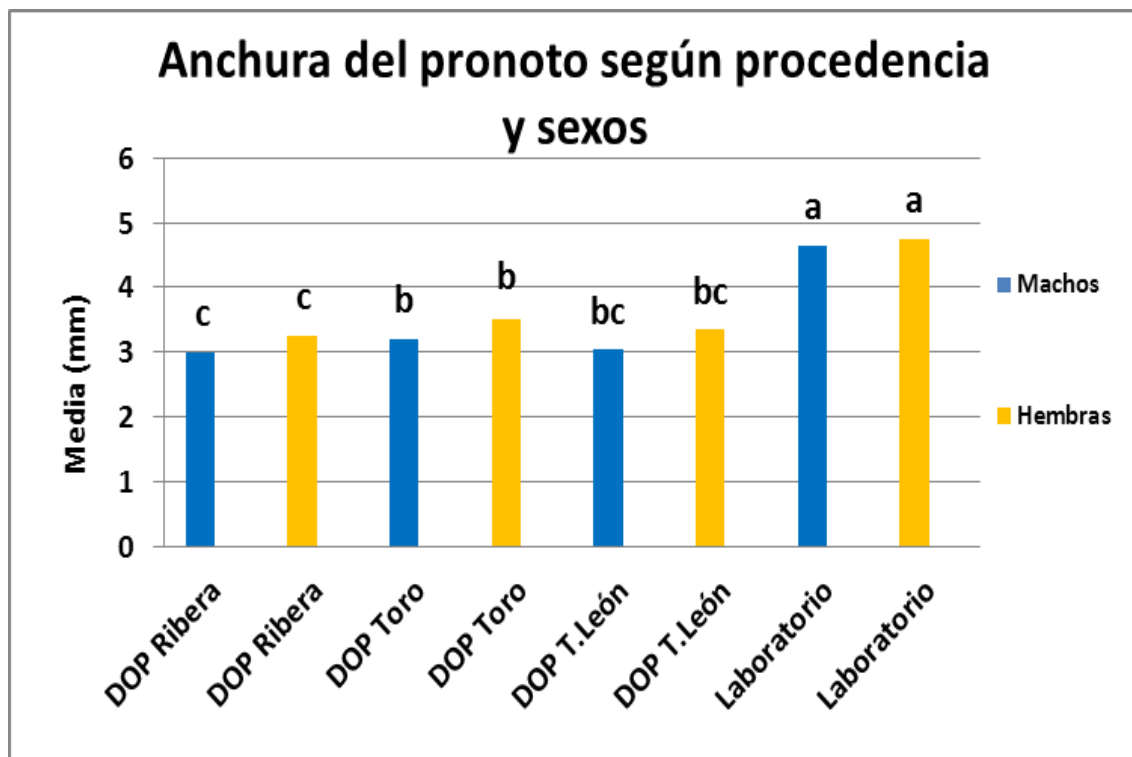


Figura 4.56: Comparación de medias de la anchura del pronoto en individuos de *X. arvicola* entre ambientes y sexos. Letras diferentes para cada sexo evaluado indican diferencias significativas entre ambientes ($P < 0,05$, test DMS).

En la Fig. 4.56 se presentan los resultados obtenidos que muestran que existen diferencias significativas en la anchura del pronoto en los adultos de *X. arvicola* estudiados, los **machos** obtenidos en laboratorio, con 4,64 mm, son los que mayor anchura poseen, teniendo diferencias significativas con los capturados en campo, donde los machos de la DOP Toro son los que mayor anchura del pronoto tienen, 3,20 mm, no existiendo diferencias significativas con los machos de la DOP Tierra de León (3,03 mm) pero si con los machos de la DOP Ribera del Duero, cuya anchura es menor a la de todos los machos con 2,99 mm.

Las **hembras** obtenidas en el laboratorio, con 4,75 mm, son las que mayor anchura del pronoto presentan, teniendo diferencias significativas con todas las hembras capturadas en el campo, en el que las hembras de la DOP Toro, con 3,51 mm, tienen mayor anchura del pronoto, no teniendo diferencias significativas con las hembras de la DOP Tierra de León que tienen menor anchura, 3,34 mm, pero si existiendo diferencias significativas con las hembras de la DOP Ribera del Duero que, de nuevo, son las que menor anchura poseen de todas las hembras capturadas, 3,26 mm.

Por ambientes, todas las hembras obtenidas en laboratorio y capturadas en las denominaciones de origen siempre poseen mayor anchura del pronoto que los machos, no existiendo diferencias entre sexos dentro del mismo ambiente (Fig. 4.56).

Otro cerambícido en los que también se ha medido éste parámetro biométrico y en los que las hembras poseen mayor tamaño que los machos, es el descrito por Bahillo (1997), en *Iberodorcadion fuliginator* Linneo 1758 (Coleoptera: Cerambycidae), mientras que Vives (1983) describe para *Iberodorcadion fuliginator* Linneo 1758 (Coleoptera: Cerambycidae) una anchura media del pronoto mayor en machos que en hembras, al igual que Ciach y Michalcewicz (2013), que describen entre otros aspectos biométricos de *Rosalia alpina* (L.) (Coleoptera: Cerambycidae) la anchura media de su pronoto siendo, de nuevo, mayor en machos que en hembras.

González *et al.*, (2001) describen una anchura del pronoto similar en ambos sexos de adultos de *Iberodorcadion* (*Hispanodorcadion*) *pseudomolitor*, y *Iberodorcadion* (*Hispanodorcadion*) *mosqueruelense*.

- Longitud máxima de élitros (LE).

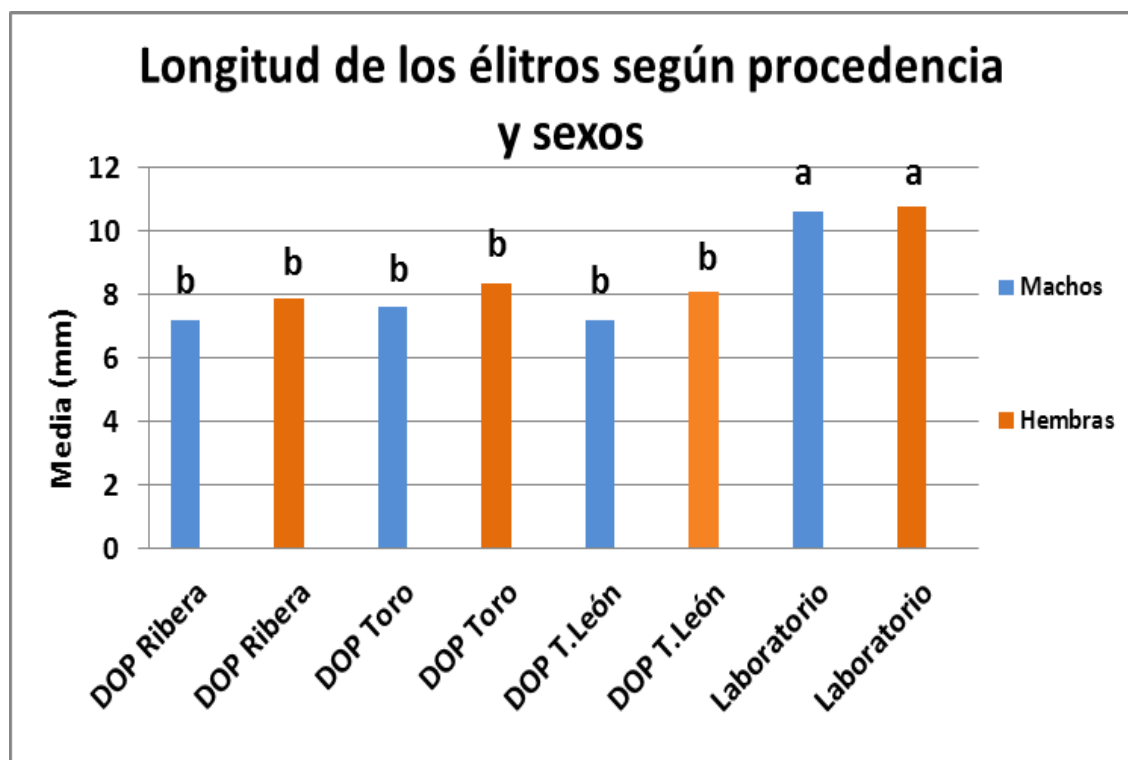


Figura 4.57: Comparación de medias de la longitud de los élitros en individuos de *X. arvicola* entre ambientes y sexos. Letras diferentes para cada sexo evaluado indican diferencias significativas entre ambientes ($P < 0,05$, test DMS).

Los resultados obtenidos (Fig. 4.57) muestran que existen diferencias significativas en la longitud de los élitros de los adultos de *X. arvicola* estudiados, siendo los **machos** obtenidos en laboratorio, con 10,59 mm, los que mayor longitud tienen, diferenciándose significativamente de los machos capturados en las denominaciones de origen. Los machos de la DOP Toro, con 7,57 mm, tienen la longitud tienen con respecto a los machos de la DOP Ribera del Duero y DOP Tierra de León, 7,19 mm en ambas zonas, con los que no tienen diferencias significativas

Las **hembras** obtenidas en el laboratorio con una longitud de 10,74 mm, son las que mayor longitud de los élitros tienen, existiendo diferencias significativas con todas las hembras que se capturaron en las denominaciones de origen, donde de nuevo las hembras de la DOP Toro, con 8,32 mm, tienen una longitud mayor de los élitros, que no las hace tener diferencias significativas con las hembras que tienen una longitud menor en la DOP Tierra de León (8,06 mm) y de la DOP Ribera del Duero (7,87 mm).

Si observamos los resultados por ambientes, tanto las hembras obtenidas en laboratorio como las capturadas en las denominaciones de origen, tienen mayores longitudes de los élitros, no existiendo diferencias significativas con los machos dentro del mismo origen (Fig. 4.57).

Mayores longitudes de los élitros en las hembras que en los machos, de los individuos capturados en el campo, también es descrito por Moreno (2005), que cita para las

hembras una longitud de 9,10 mm para las hembras, por 7,60 mm en machos.

Este parámetro biométrico y su relación entre sexos, mayor en hembras que en machos, también es descrito por Vives (1983) y Bahillo (1997) en *Iberodorcadion fuliginator* Linneo 1758 (Coleoptera: Cerambycidae) y por Ciach y Michalcewicz (2013) en *Rosalia alpina* (L.) (Coleoptera: Cerambycidae).

González *et al.*, (2001) describen una longitud de los élitros similar en ambos sexos de *Iberodorcadion* (*Hispanodorcadion*) *pseudomolitor*, y *Iberodorcadion* (*Hispanodorcadion*) *mosqueruelense*.

• Anchura máxima de élitros (AE).

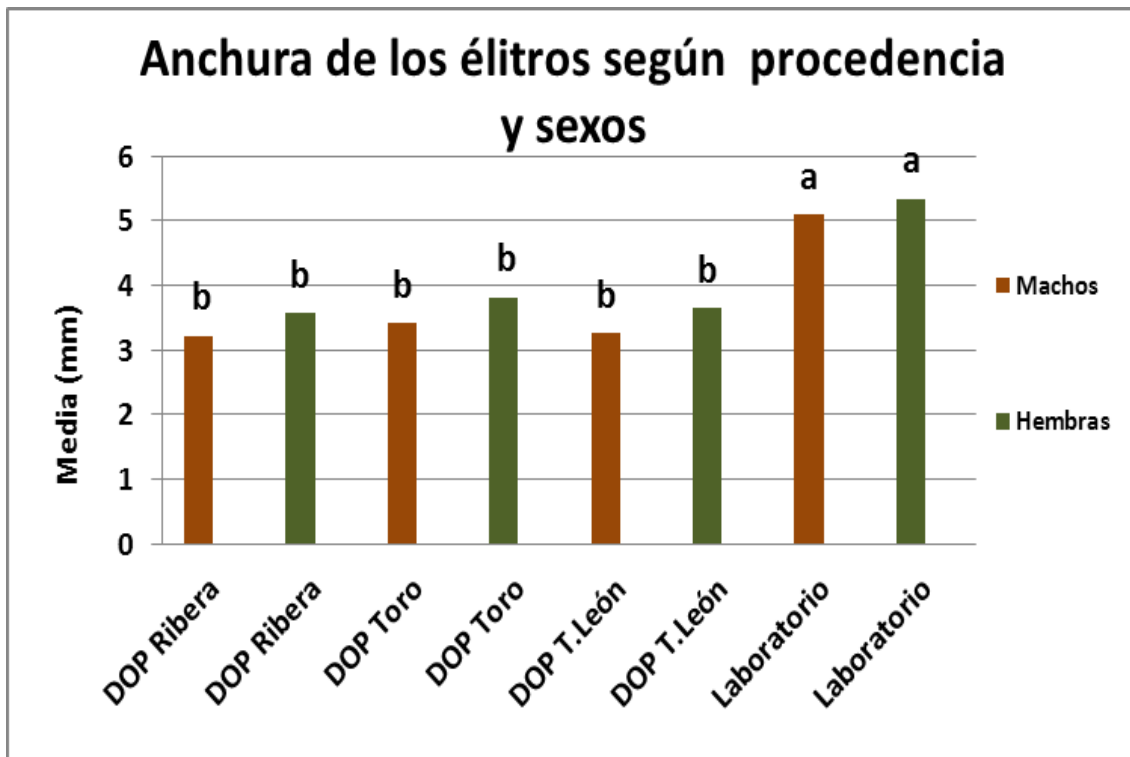


Figura 4.58: Comparación de medias de la anchura de los élitros en individuos de *X. arvicola* entre ambientes y sexos. Letras diferentes para cada sexo evaluado indican diferencias significativas entre ambientes ($P < 0,05$, test DMS).

En la Fig 4.58, los resultados obtenidos muestran que existen diferencias significativas en la anchura de los élitros de los adultos de *X. arvicola* estudiados, en el que los **machos** obtenidos en laboratorio, con una anchura de 5,09 mm, los que una anchura mayor de los élitros tienen, teniendo diferencias significativas con los machos capturados en el campo. Los machos de la DOP Toro, con 3,41 mm, son los que tienen mayor anchura en los élitros de todos los capturados en el campo, no teniendo diferencias significativas con los machos que tienen una menor anchura en la DOP Tierra de León (3,25 mm) y en la DOP Ribera del Duero (3,22 mm).

Son las **hembras** obtenidas en el laboratorio y que tienen una anchura de 5,34 mm, las que mayor anchura tienen de este parámetro biométrico, teniendo diferencias significativas con todas las hembras capturadas en el campo, donde las hembras de la DOP Toro, con 3,81 mm, tienen una anchura mayor, no existiendo diferencias significativas con las hembras de la DOP Tierra de León y Ribera del Duero, que solamente tiene una anchura de 3,64 y 3,57 mm, respectivamente.

La anchura de los élitros entre sexos en el mismo ambiente, muestra que las hembras, bien procedan del laboratorio o del campo, tienen mayor anchura de los élitros que los machos, no existiendo diferencias significativas entre sexos dentro del mismo ambiente (Fig. 4.58).

La anchura de los élitros también es medida en otros cerambícidos, en los que se mantiene la relación mayor tamaño en hembras que en machos, como los trabajos descritos por Vives (1983) y Bahillo (1997) en *Iberodorcadion fuliginator* Linneo 1758 (Coleoptera: Cerambycidae) o los trabajos descritos por Ciach y Michalcewicz (2013) en *Rosalia alpina* (L.) (Coleoptera: Cerambycidae)

González *et al.*, (2001) describen una anchura de los élitros similar en ambos sexos de *Iberodorcadion* (*Hispanodorcadion*) *pseudomolitor*, y *Iberodorcadion* (*Hispanodorcadion*) *mosqueruelense*.

• **Longitud total (LT).**

Desde este apartado se presentan los resultados obtenidos de las relaciones entre las cuatro medidas básicas realizadas a cada individuo, empezando por la longitud que se obtiene de la suma de las longitudes de élitro y pronoto (Fig. 4.59).

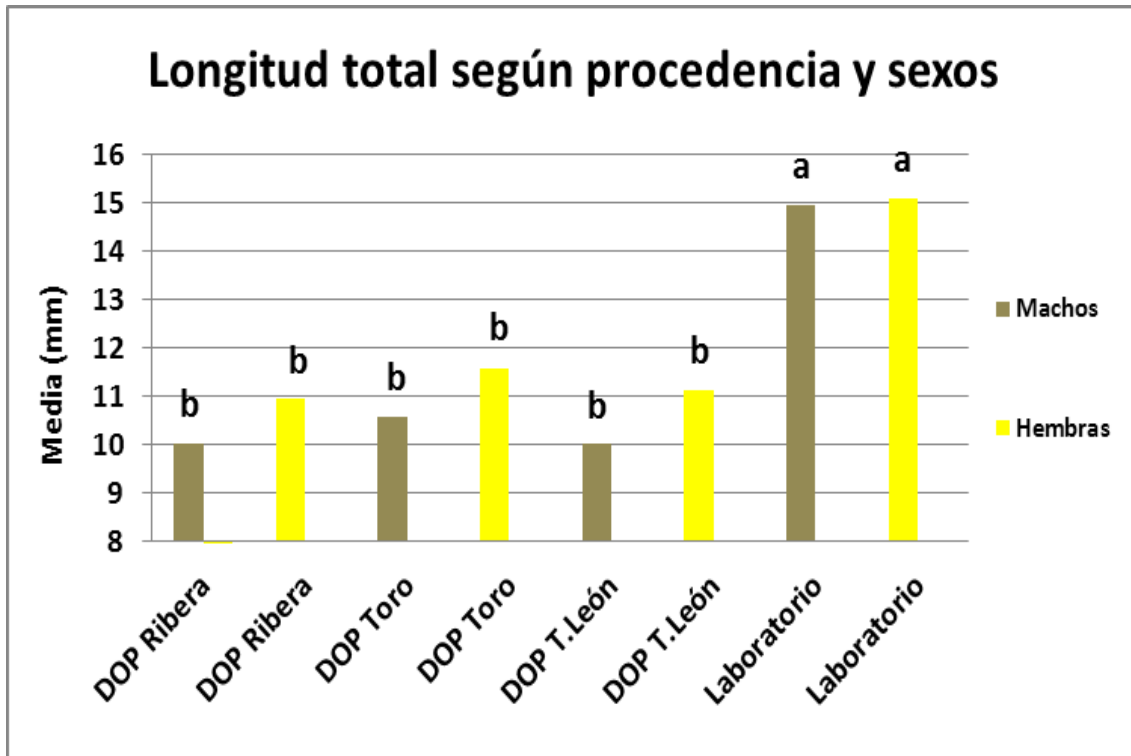


Figura 4.59: Comparación de medias en la longitud total de individuos de *X. arvicola* entre ambientes y sexos. Letras diferentes para cada sexo evaluado indican diferencias significativas entre ambientes ($P < 0,05$, test DMS).

En la figura 4.59 se muestran que existen diferencias significativas en la longitud total de los individuos de *X. arvicola* estudiados, si observamos los resultados en **machos**, son los adultos obtenidos en laboratorio, con 14,94 mm quienes presentan una mayor longitud total, difiriendo significativamente de los adultos macho capturados en las denominaciones de origen, donde los machos de la DOP Toro, con 10,58 mm, son los que mayor longitud tienen, no existiendo diferencias significativas con los capturados machos en la DOP Ribera del Duero y Tierra de León, con 10,03 y 10,01 mm, respectivamente.

De nuevo, las **hembras** obtenidas en el laboratorio, con 15,09 mm, son las que mayor longitud poseen, teniendo diferencias significativas con las hembras capturadas en el campo, donde las hembras de la DOP Toro, con 11,55 mm, son las que mayor longitud poseen, no existiendo diferencias significativas con las hembras de la DOP Ribera del Duero y de la DOP Tierra de León, con 10,94 y 11,13 mm, respectivamente. Similar comportamiento de mayores medidas en las hembras respecto a los machos obtuvo Moreno (2005) en ejemplares procedentes de campo

En cuanto a las diferencias entre sexos en los individuos obtenidos en laboratorio, no hay

diferencias significativas, siendo mayor en las hembras, al igual que ocurre en las poblaciones capturadas en campo, siendo mayor la longitud total de las hembras frente a la de los machos dentro de mismo ambiente. Si se analizan los individuos de campo independientemente si hay diferencias significativas entre sexos

La mayor longitud total obtenida en los adultos de laboratorio, ya era observable visualmente durante los periodos de cría, en los que las condiciones de laboratorio favorecerían mayores tamaños en larvas, prepupas, pupas (Fig. 4.60) y adultos (Fig. 4.61).



Figura 4.60: Comparación del tamaño de pupas de *X. arvicola*. Izda.: laboratorio, dcha.: campo.



Figura 4.61: Comparación del tamaño en adultos de *X. arvicola*. Izda.: campo, dcha.: laboratorio.

La mayor longitud total de las hembras también es descrita en otra especie de cerambícidos, como Bahillo (1997) en *Iberodorcadion fuliginator* Linneo 1758 (Coleoptera: Cerambycidae) ó González *et al.*, (2001) en *Iberodorcadion (Hispanodorcadion) pseudomolitor*, y en *Iberodorcadion (Hispanodorcadion) mosqueruelense*.

• **Anchura pronoto / Longitud pronoto (AP/LP).**

Esta relación, junto a la siguiente relativa a élitros, nos definen el ratio entre las longitud y anchura del pronoto, lo transverso que es un ejemplar respecto a otro, si es más estilizado o menos, en este caso respecto a las medidas del pronoto. Trabajo anteriores (Moreno, 2005) describen a los ejemplares machos como más estilizados que las hembras.

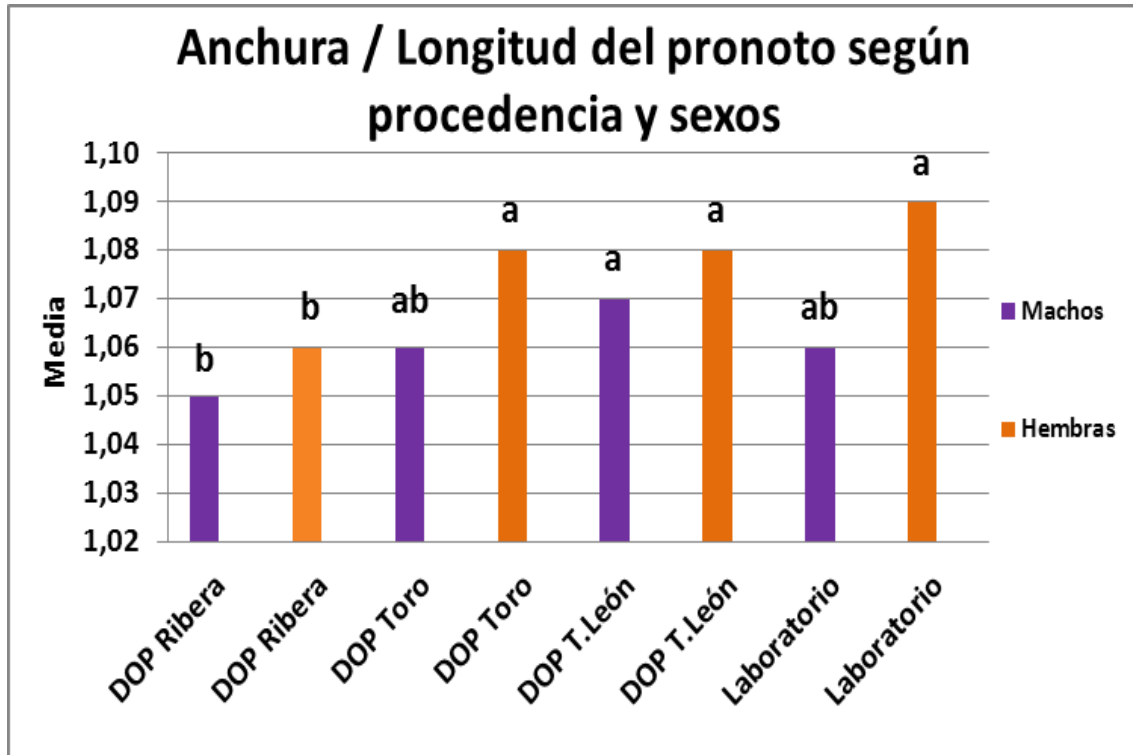


Figura 4.62: Comparación de medias en la relación anchura/longitud del pronoto en individuos de *X. arvicola* entre ambientes y sexos. Letras diferentes para cada sexo evaluado indican diferencias significativas entre ambientes ($P < 0,05$, test DMS).

Los resultados obtenidos (Fig. 4.62) muestran que existen diferencias significativas para la relación anchura/longitud del pronoto de los individuos de *X. arvicola* estudiados. Las hembras en las mismas condiciones, siempre presentan valores mayores que los machos, entre 1,06/1,08 en campo y 1,09 en laboratorio, frente a los 1,05/1,07 en campo y 1,06 en laboratorio de los machos

Al igual que en nuestro datos Moreno (2005) también obtiene en esta relación del pronoto, un valor medio superior en hembras 1,20 mm frente a 1,10 mm que tienen los machos de *X. arvicola*.

- **Anchura élitro /Longitud élitro (AE/LE).**

En esta relación los resultados obtenidos muestran que existen diferencias significativas para la relación anchura/longitud de los élitros, entre los ejemplares obtenidos en laboratorio frente a los capturados en campo.

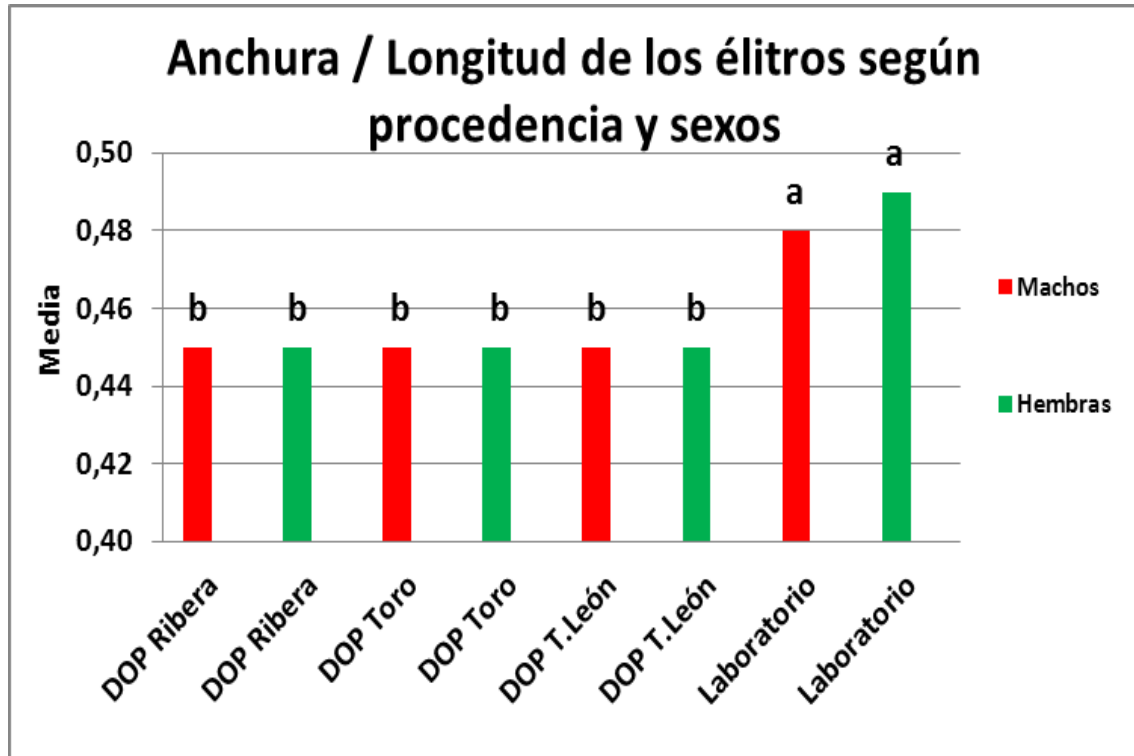


Figura 4.63: Comparación de medias en la relación anchura/longitud de los élitros en individuos de *X. arvicola* entre ambientes y sexos. Letras diferentes para cada sexo evaluado indican diferencias significativas entre ambientes ($P < 0,05$, test DMS).

Los resultados obtenidos (Fig. 4.63) muestran en los ejemplares de campo que estos valores son de 0,45, independientemente del sexo, en cambio en los ejemplares de laboratorio esta relación es de 0,48 en macho y 0,49 en hembras, lo que demuestra otra vez ese mayor tamaño de los individuos cuyo ciclo se desarrolla en condiciones controladas de laboratorio

De estas relaciones obtenidas con los parámetros biométricos medidos, AP/LP y AE/LE, y observando que en ambos ambientes la media es mayor en la hembras que en los machos, se confirma que los machos presentan una apariencia más estilizada con respecto a las hembras, no siendo tan ostensible en los adultos obtenidos en laboratorio. Similar comportamiento en las diferencias según el sexo se obtienen con la longitud total, más notables en los individuos procedentes del campo que entre los machos y las hembras obtenidos en condiciones de cautividad, que no son apreciables.

El tamaño final de los insectos emergidos puede reflejar el volumen del material que ha utilizado como huésped o el estado de conservación del hábitat donde se ha desarrollado,

es por ello, que las condiciones de desarrollo controladas en las que se mantenían o el mayor volumen por larva para él mismo, pueden ser los motivos por los que la media en el tamaño de los cuerpos de los adultos de *X. arvicola* obtenidos en laboratorio es mayor que el de los adultos capturados en campo.

El tamaño del cuerpo del insecto también puede variar dependiendo de los géneros de las plantas de acogida, de las especies e incluso de la variedad. Las longitudes totales medias descritas para *X. arvicola* en árboles del endrino, *Prunus spinosa*, descritas por Biurrun *et al.* (2007), varían entre los 11,15 mm y los 13,00 mm, en machos y hembras respectivamente, mientras que en este estudio los adultos de *X. arvicola* capturados en variedades del género *Vitis*, con una longitudes totales medias de 10,20 mm en machos y 11,20 mm se aproximan más a las descritas por Moreno (2005), que describe 11,52 mm en machos y 13,44 en hembras.

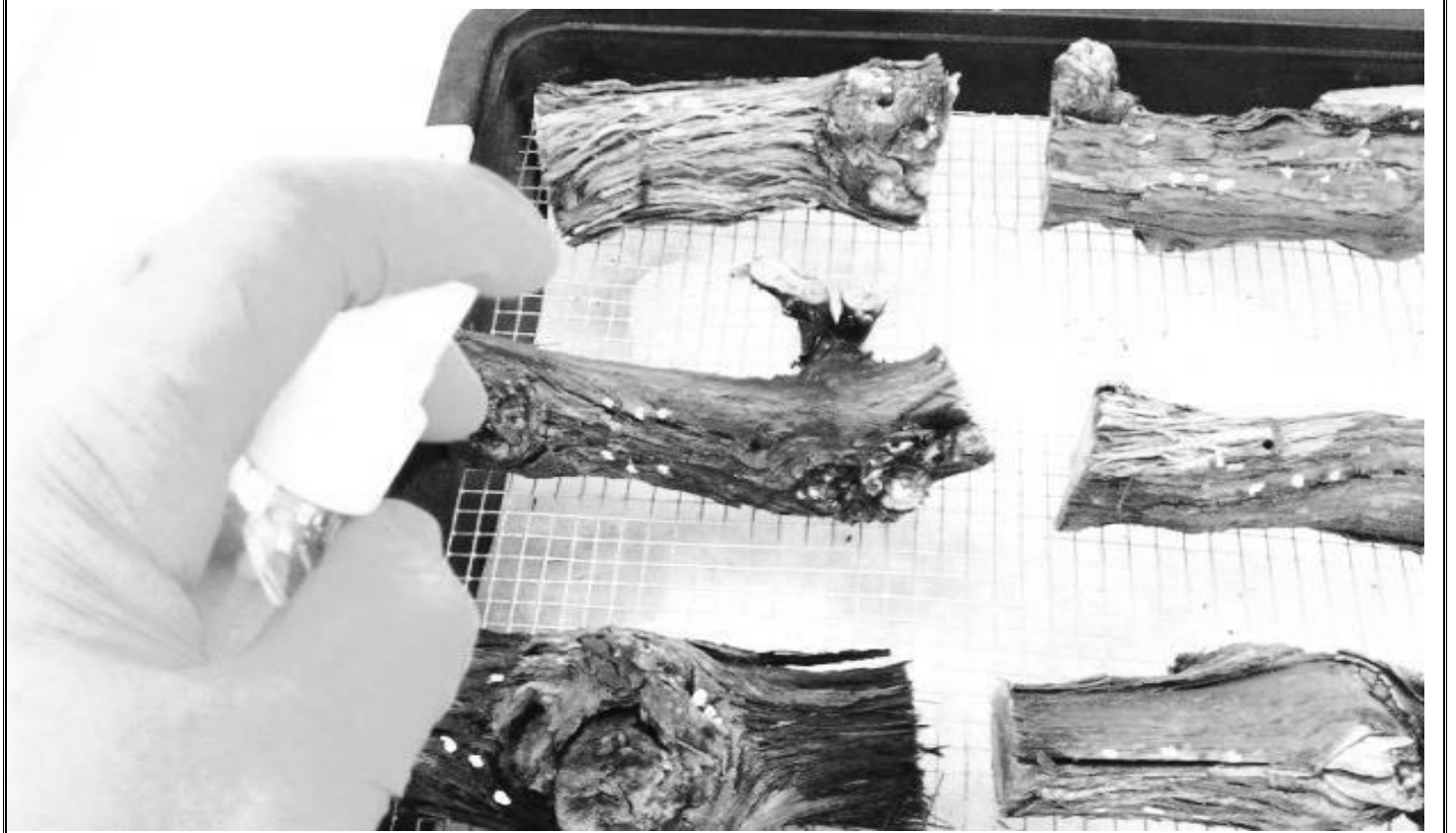
La variación en los distintos parámetros ambientales y alimenticios donde se desarrollen los insectos puede afectar al tamaño del cuerpo de los mismos. Gutowski (1986) describió diferencias en el tamaño del cuerpo de *Alosterna tabacicolor* De Geer (Coleoptera: Cerambycidae) entre insectos recolectados en bosques vírgenes y en bosques gestionados, siendo en los bosque vírgenes donde mayor tamaño poseían. Starzyk y Strojny (1985) describen para *Cerambyx cerdo* L. (Coleoptera: Cerambycidae) que el tamaño del cuerpo y el peso de los insectos adultos recolectados aumentaba en aquellos árboles en los que aumentaba su circunferencia y diámetro, con respecto a los que fueron criados o recogidos en otros más pequeños.

Xylotrechus arvicola presenta variabilidad en el tamaño entre sexos, si son individuos capturados en campo, mayor tamaño en las hembras que en los machos, y entre ambientes, mayor tamaño de los adultos obtenidos en laboratorio frente a los adultos que se capturaron en campo. No hay diferencias entre los individuos procedentes de las diferentes denominaciones de origen estudiadas.

El mayor tamaño de los individuos de *X. arvicola* obtenidos en laboratorio, donde las condiciones de desarrollo del insecto son óptimas, afectan a otra variables de su desarrollo, lo que explicaría la mayor fertilidad de las hembras y la mayor longevidad de vida de los adultos.



Capítulo 5: Estrategias de control fitosanitario.



CAPÍTULO 5: ESTRATEGIAS DE CONTROL FITOSANITARIO.

5.1.- INTRODUCCIÓN.

Xylotrechus arvicola (Coleoptera: Cerambycidae) es una de las plagas más destructivas que existen en vid, y se encuentra asociado, por la acción de las larvas de estos, a la propagación de hongos de la madera hacia el interior de la cepa, existiendo o no un alto grado de asociación entre los daños directos (por *X. arvicola*) e indirectos (por el ataque de hongos) especialmente en algunas variedades (Ocete *et al.*, 2002).

Debido a su gran capacidad de establecimiento en nuevos viñedos y su capacidad para atacar a plantas de vid que aparentemente se muestran sanas, *X. arvicola* tiene el potencial de causar graves daños económicos a la vid, unos de los principales cultivos de nuestro país. Para establecer una estrategia de control que sea lo más eficaz posible, a la hora de controlar *X. arvicola*, primero hay que conocer la biología y aquellos estadios de *X. arvicola* que pueden ser susceptibles, al control de sus poblaciones.

García Ruiz (2009), en su tesis doctoral, con el fin de desarrollar sistemas de control menos contaminantes, costosos y destructivos (rebaje de brazos y troncos de partes afectadas por *X. arvicola*) que los que se habían usado hasta entonces sobre *X. arvicola*, evaluó dos insecticidas *Fenoxicarb* y *Piriproxifen*, sobre huevos de *X. arvicola*, que es uno de los estadios susceptibles para el control de la plaga. Ambos productos imposibilitaban al embrión completar su desarrollo, romper el corion y/o eclosionar.

La inexistencia de estudios sobre el control de *X. arvicola*, más allá de los tratamientos preventivos en los que se elimina el material infestado, que se han venido aplicando hasta ahora (Peláez *et al.* 2002), o de los productos utilizados, como el arsenito sódico, que por sus efectos nocivos para la salud han sido prohibidos, hace que los resultados obtenidos con estos productos sean, si cabe, más importantes, ya que ofrecen una posible herramienta incorporable al control integrado de *X. arvicola* (García Ruiz, 2009). Los ensayos que se realizan en laboratorio, sin embargo, representan la peor situación de los casos en la que se encuentran los insectos, en los que son confinados frente al tratamiento con la materia activa, sin tener la posibilidad de escapar (Longley y Jepson, 1997), y no representan las condiciones reales del campo. Sin embargo, estos ensayos realizados en laboratorio son uno de los métodos más utilizados, para evaluar la eficacia de los insecticidas, en entornos más controlados, que las condiciones variables que nos podemos encontrar en campo.

5.2.- MATERIAL Y MÉTODOS.

5.2.1- FITOSANITARIOS.

Un problema posible/susceptible es a aumentar la resistencia de los insectos plagas a los insecticidas, que se relaciona con la frecuencia en las aplicaciones y con el aumento de las dosis que dan como resultado un aumento de los residuos químicos sobre los hospedadores de los insectos. Una forma de evitar el desarrollo de estas resistencias, es

utilizando estrategias de Manejo Integrado de Plagas (MIP). El Manejo Integrado de Plagas (MIP) aparece como una alternativa sustentable al manejo tradicional de las plagas y se basa en el uso de los insecticidas más seguros y selectivos, control biológico, y otras técnicas de cultivos. Se define como una estrategia económicamente viable en la que se combinan varios métodos de control para reducir las poblaciones de las plagas a niveles tolerables, minimizando los efectos adversos a la salud de las personas y al ambiente (Ripa *et al.*, 2008).

Predecir con fiabilidad la evolución estacional de los insectos es esencial en el MIP. Muchas de las decisiones que van a ser tomadas en los sistemas de MIP dependen del estado de las poblaciones de las plagas. Será clave, por tanto, conocer dicho estado para aumentar las posibilidades de acierto en esa toma de decisiones. Son decisiones clave, dentro del MIP, las relacionadas con la integración racional de los diferentes métodos de control al alcance en cada caso. La integración y aplicación correcta de esos múltiples métodos utilizables (mecánicos, como la destrucción de residuos de cultivos; culturales, como la elección de fechas de siembra; químicos; etc.) depende de un adecuado conocimiento del estado de la población de la plaga (García Ruiz, 2009).

Otro aspecto crucial en el MIP es conocer cuándo la población plaga alcanza el umbral económico, umbral de acción o umbral de tolerancia, ya que dicho valor es la referencia para decidir llevar a cabo determinadas medidas de control de la plaga, por ejemplo, un tratamiento fitosanitario. Por tanto, la toma de decisiones sobre actuar o no en función de este Umbral Económico requiere también de un preciso conocimiento del estado de la población (García Ruiz, 2009).

La Directiva 2009/128/CE del Parlamento Europeo y del Consejo de 21 de octubre de 2009 establece el marco de la actuación comunitaria para conseguir un uso sostenible de los plaguicidas para reducir los riesgos y los efectos negativos/no beneficiosos del uso de los plaguicidas en la salud humana y el medio ambiente.

5.2.1.1.- Materias activas.

Para la elección de las materias activas a testar se ha tenido en cuenta buscar compuestos con distinto modo de acción, mayor selectividad, y menor resistencia para minimizar los efectos secundarios.

Las materias activas utilizadas y las características de cada una, se describen a continuación.

- ***Spinosad.***

Spinosad, subproducto de origen natural, con capacidad insecticida obtenido a partir de la fermentación de la bacteria de la familia de los Actinomyces, *Saccharopolyspora spinosa*, y es una mezcla de los metabolitos espinosin A y espinosin D:

- Espinosin A: (2R,3aR,5aR,5bS,9S,13S,14R,16aS,16bR)-2-(6-deoxi-2,3,4-tri-O-metil- α -L-mannopiranosiloxi)-13-(4-dimetilamino-2,3,4,6-tetraoxi-b-D

erytopiranosiloxy-9-etil-2,3,3a,5a,5b,6,7,9,10,11,12,13,14,15,16a,16b-hexadecahidro 14-metil-1H-8-oxaciclododeca[b]as-indacen-7,15-diona (De Liñan, 2013).

- Espinosin D: (2S,3aR,5aS,5bS,9S,13S,14R,16aS,16bS)-2-(6-deoxi-2,3,4-tri-O-metil-á-L-mannopiranosiloxi)-13-(4-dimetilamino-2,3,4,6-tetraoxi-b-D-erytopiranosiloxi-9-etil-2,3,3a,5a,5b,6,7,9,10,11,12,13,14,15,16a,16b-hexadecahidro-4,14-dimetil-1H-8-oxaciclododeca[b]as-indacen-7,15-diona en la proporción 50-95% a 50-5% (De Liñan, 2013).

Es un compuesto natural, insecticida biológico, que activa los receptores acetilcolina-nicotínicos de las células nerviosas postsinápticas, produciendo temblores y posterior parálisis del insecto. También tiene efectos sobre los receptores del ácido g-aminobutírico pero esta actividad no es insecticida. Su persistencia es de 1 a 2 semanas. En el suelo se degrada rápidamente por la luz solar y por los microorganismos. En condiciones aerobias su vida media oscila entre 9,4 y 17,3 días para espinosin A y 14'5 días para espinosin D. La posibilidad de que alcance las capas profundas del suelo es muy baja. Espinosin A es inmóvil; de espinosin D no se sabe, por ser muy insoluble en agua, pero es lógico que también lo sea. En el agua su vida media es de 161 días para espinosin A y 250 días para espinosin D. La degradación fotolítica en el agua de espinosin A y espinosin D tiene una vida media de 1-2 días. En las plantas se degrada principalmente por fotólisis con una vida media de 1,6 a 16 días (De Liñan, 2013).

Debido a su rápida degradación, baja toxicidad en humanos y bajas dosis de uso, el *spinosad* ha sido clasificado por la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos como un material de reducido riesgo ambiental y toxicológico, destacando su potencial de uso en estrategias de MIP (Sparks *et al.*, 2001).

Según De Liñan (2013) esta materia activa está autorizada para el control de *Thrips meridionalis*, *Cydia pomonella* en el agusanado de las manzanas y peras, *Adoxophyes orana* en la capua de los frutales, *Spodoptera exigua* en gardama, *Agrotis segetum* en gusano gris, *Pectinophora gossypiella* en gusano rosado, *Anarsia lineatella* en minadora de los brotes del melocotonero, *Helicoverpa armigera* en oruga de la mazorca y verde del tomate, *Heliothis peltigera* en oruga del fruto del tomate, *Earias insulana* en oruga espinosa del algodón, *Autographa gamma* en oruga medidora, *Chrysodeixis chalcites* en oruga medidora del tomate, *Ypsolopha persicella* en oruga verde del albaricoque, *Hercinothrips bicinctus* en el piojillo franjeado de los invernaderos, *Sparganothis pilleriana* en el piral de la vid, *Lobesia botrana* y *Eupoecilia ambiguella* en polilla del racimo, *Grapholita molesta* en polilla oriental del melocotonero, *Spodoptera littoralis* en rosquilla negra, *Thrips tabaci* en trips de la cebolla, *Thrips palmi* en trips de la palma y de las hortícolas, *Hercinothrips femoralis* en trips de la platanera, *Drepanothrips reuteri* en trips de la vid, *Frankliniella schultzei* en trips de las yemas del algodón, *Thrips angusticeps* en trips del lino, *Taeniothrips inconsequens* en trips del melocotonero, *Frankliniella occidentalis* en trips occidental de las flores, *Thrips flavus* en trips succionador de néctar y *Tuta absoluta* en tuta o polilla del tomate.

- ***Beauveria bassiana*.**

Beauveria bassiana, cepa GHA (Mycotech Europe), nombre específico: *Beauveria bassiana* GHA, se trata de una suspensión de conidias de diversas cepas del Deuteromiceto entomopatógeno *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin [= *Botrytis bassiana* (Balsamo)] (*Moniliales: Moniliaceae*). Deuteromiceto, hongo imperfecto, entomopatógeno capaz de parasitar a insectos muy diferentes. En general, los productos basados en *Beauveria bassiana* consisten en una suspensión de esporas del hongo con las que se hará el caldo insecticida. Las formulaciones contienen conidias a una concentración de $2,3 \times 10^7$ esporas/ml o $>5 \times 10^8$ esporas/g (De Liñan, 2013).

Al aplicar el caldo las esporas alcanzan al insecto. Cuando entran en contacto con él germinan de forma que el tubo germinativo emite o exuda compuestos capaces de destruir la quitina y demás sustancias que permiten el acceso del micelio del hongo entomopatógeno al hemocele del insecto parasitado. Una vez que el hongo consigue entrar en el interior del insecto crece y se desarrolla con rapidez de forma que el hospedante muere y el hongo se reproduce cubriendo todo o parte del insecto por un tenue fieltro blanquecino y produciendo numerosísimas esporas que de alcanzar a otro insecto hospedante reproducirán el ciclo anterior. Normalmente parasitan al insecto hospedante en todos sus estados, desde huevo hasta adulto, y el tiempo que tardan en surtir su efecto, muerte del insecto, varía con el número de esporas que se adhieren al insecto y con la cepa de que se trate, en general, suele oscilar entre 2 y 15 días (De Liñan, 2013).

Beauveria bassiana, hongo entomopatógeno, es utilizado como agente de biocontrol frente a Hemiptera, Coleoptera y Lepidoptera (Rehner y Buckley, 2003; Zimmermann, 2007; Meyling *et al.*, 2009). Provoca la enfermedad conocida como "muscardina blanca", cuando las esporas del hongo entran en contacto con el cuerpo de un insecto hospedador, germinan, penetran en la cutícula, y crecen en el interior, matando al hospedador (Zimmermann, 2007).

B. bassiana es el hongo más comúnmente utilizado para el control de plagas de insectos, y forma la base de un gran número de plaguicidas disponibles. *B. bassiana* (cepa GHA) se registró en 1995 como bioplaguicida (EPA, 2006a) y ha sido utilizado hasta el día de hoy frente a una gran variedad de insectos.

Según De Liñan (2013) esta materia activa está autorizada para el control de *Gryllotalpa* spp., *Melanoplus sanguinipes*, saltamontes y otros Ortópteros; *Blissus leucopterus*, *Lygus* spp., *Psallus seriatus* y otros Hemípteros; áfidos, *Bemisia argentifolii*, *Bemisia tabaci*, *Empoasca* spp., *Hyperomyzus lactucae* en pulgón de la lechuga), *Nasonovia ribisnigris* en pulgón negro de la lechuga, *Psylla* spp., *Trialeurodes vaporariorum* y otros Homópteros; *Frankliniella occidentalis*, *Thrips* spp. y otros Tisanópteros; *Agrotis* spp., *Earias* spp., *Eoreuma loftini*, *Ostrinia furnacalis*, *Ostrinia nubilalis*, *Plutella xylostella*, *Spodoptera* spp. y otros Lepidópteros; hormigas, *Leptomastix dactylopii*, *Solenopsis invicta* y otros Himenópteros; *Anthonomus grandis*, *Chalcodermus bimaculatus*, *Diaprepes abbreviatus*, *Hypothenemus hampei*, *Leptinotarsa decemlineata*, *Popillia japonica*, *Rhyzopertha dominica*, *Sitophilus oryzae*, *Tribolium castaneum* y otros Coleópteros, así como *Tetranychus turquestani* en araña roja de la fresa y otros ácaros.

- ***Imidacloprid.***

El 1-(6-cloro-3-piridinil)metil-4,5-dihidro-N-nitro-1H-imidazol-2-amina, *Imidacloprid* es un neonicotinoide, cloronicotinilo con actividad insecticida por vía sistémica y residual; actúa por contacto e ingestión y es absorbido tanto por vía radical como por las hojas pudiendo ser aplicado en aspersión foliar, o al suelo al fondo del surco en el momento de la siembra o durante el cultivo (De Liñan, 2013).

Imidacloprid, es altamente eficaz para el control de plagas de homópteros y muchas especies del orden Coleoptera, Diptera y Hymenoptera. Es activo frente a algunas especies de Lepidópteros. Tiene excelentes propiedades translaminares y alta actividad residual. Las abejas, sin embargo, son altamente susceptibles a *Imidacloprid* (Elbert *et al.*, 1991).

Los insectos tratados muestran inmediatamente los síntomas de envenenamiento con excitación y parálisis. Actúa como agonístico sobre el receptor nicotínico de la acetilcolina del sistema central, primero estimulando las membranas postsinápticas y después paralizando la conducción nerviosa. Esta activación y siguiente bloqueo de los impulsos nerviosos en los receptores acetilcolínicos postsinápticos es lo que produce la muerte de los insectos. Muestra actividad antialimentaria paralizando la acción de alimentarse de los insectos. Esta acción evita inmediatamente la transmisión de virus y controla el daño producido por los insectos. También es eficaz en el tratamiento de semillas, siendo rápidamente absorbido por la semilla desde la germinación, y después, por las raíces y por el hipocotilo. Es transportado por la savia bruta y distribuido por las hojas conforme va desarrollándose la planta (De Liñan, 2013).

En el suelo, a pesar de su alta solubilidad en agua, se le considera prácticamente inmóvil. La degradación se efectúa por la luz solar y la acción microbiana. Su efecto residual cuando se aplica al follaje es corto: 15-21 días, mientras que cuando se aplica al suelo es prolongado: 45-65 días. En suelos muy alcalinos y de bajo contenido de carbono orgánico su vida media varía entre 165 y 247 días y, en este caso, hay riesgo de lixiviación. La vida media a la fotodegradación en agua corriente y como formulado 20 SL, es de 126 minutos (De Liñan, 2013).

Según De Liñan (2013) esta materia activa está autorizada para el control de *Nasonovia aquilegiae*, *Hyperomyzus lactucae*, *Aphis frangulae*, *Toxoptera citricidus*, *Aphis* spp. en áfidos y pulgones, *Aleyrodes* spp. en aleiródidos o moscas blancas, *Atomaria linealis* en atomaria de la remolacha, *Sesamia nonagrioides* en el barrenador del maíz, *Cicadellidae titanus* en cicadélidos, *Planococcus citri* en cochinilla algodonosa del naranjo y de la vid, *Tropinota hirta* en conchudos, *Scaphoideus titanus* en escafoideo de la vid, *Leptinotarsa decemlineata* en escarabajo de la patata, *Capnodis tenebrionis* en gusano cabezudo, *Agriotes lineatus* y *Elateridae* en gusano de alambre, *Aubeonimus mariaefranciscae* en maripaca de la remolacha, *Leucoptera malifoliella* en el minador circular de las hojas del manzano y del peral, *Phyllocnistis citrella* en el minador de las hojas de los cítricos, *Cameraria ohridella* en el minador del castaño de indias, *Phyllonorycter blancardella* en el minador punteado de las hojas del peral, *Stigmella malella* en la minadora de galería amplia, *Anarsia lineatella* en la minadora de los brotes del melocotonero, *Phyllonorycter corylifoliella* en la minadora foliar traslúcida del peral, *Callisto guttea* en la minadora replegante, *Lecanoideus floccissimus* en mosca blanca algodonosa, *Parabemisia (Bemisia) myricae* en mosca blanca amarillenta,

Aleyrodes (Aleurodes) proletella en mosca blanca de la col, *Aleurothrixus floccosus*, *Bemisia afer*, *Aleurocanthus woglumi* y *Dialeurodes citri* en mosca blanca de los cítricos, *Trialeurodes vaporariorum* en mosca blanca de los invernaderos, *Aleurotuba jelinikii* en mosca blanca del madroño, *Siphoninus phillyreae* en mosca blanca del peral, *Bemisia tabaci* en mosca blanca del tabaco, *Aleurocanthus spiniferus* en mosca blanca espinosa del naranjo, *Pegomya betae* en mosca blanca de la remolacha, *Oscinella frit* y *Oscinella pusilla* en mosca de los cereales, *Empoasca vitis* en mosquito verde, *Jacobiasca lybica* en mosquito verde de la vid y del algodón, *Asymmetrasca decedens* en mosquito verde del almendro y del melocotonero, *Lyonetia clerkella* en oruga minadora de las hojas de los frutales, *Rhynchophorus ferrugineus* en picudo rojo de las palmeras, *Cacopsylla mali* en psylla del manzano, *Cacopsylla pyri* en psylla del peral, *Myzocallis coryli* en pulgón amarillo del avellano, *Dysaphis plantaginea* en pulgón ceniciento del manzano, *Dysaphis pyri* en pulgón ceniciento del peral, *Hyalopterus amygdali* en pulgón ceroso del almendro y otros frutales de hueso, *Uroleucon sonchi* en pulgón de la cerraja, *Brevicoryne brassicae* en pulgón de la col, *Uroleucon ambrosiae* en pulgón de la lechuga en hidroponía, *Aphis nasturtii* y *Rhopalosiphoninus latysiphon* en pulgón de la patata, *Aulacorthum (Aphis) solani* en pulgón de la patata y otras solanáceas, *Pemphigus bursarius* en pulgón de la raíz de la lechuga, *Cavariella aegopodii* en pulgón de las umbelíferas, *Aphis gossypii* en pulgón del algodón y del melón, *Corylobium avellanae* en pulgón del avellano, *Rhopalosiphum maidis* en pulgón del maíz, *Macrosiphum rosae* en pulgón del rosal, *Myzus nicotianae* en pulgón del tabaco, *Dysaphis tulipae* en pulgón del tulipán, *Eriosoma lanigerum* en pulgón lanífero del manzano, *Aphis fabae* en pulgón negro de las habas y las judías, *Aphis craccivora* en pulgón negro de las leguminosas, *Toxoptera aurantii* en pulgón negro de los cítricos, *Brachycaudus persicae* en pulgón negro del melocotonero, *Melanaphis pyraria* en pulgón pardo del peral, *Macrosiphum euphorbiae* en pulgón verde de la patata, *Aphis (Aphis) spiraecola* en pulgón verde de los cítricos, *Brachycaudus helichrysi* en pulgón verde del ciruelo, *Aphis pomi* en pulgón verde del manzano y del peral, *Myzus persicae* en pulgón verde del melocotonero, *Rhopalosiphum insertum* en pulgón verde migrador del manzano, *Psylliodes chrysocephalus* en pulguilla de la colza y del nabo, *Chaetocnema tibialis* en pulguilla de la remolacha, *Ostrinia nubilalis* y *Sesamia cretica* en taladro del maíz y *Zabrus tenebrioides* en zebro de los cereales.

- **Clorpirifos.**

El tiofosfato de *O,O*-dietilo y de *O*-3,5,6-tricloro-2-piridilo, *Clorpirifos*, es un organofosforado no sistémico con actividad insecticida por ingestión, inhalación y contacto, con gran efecto de choque. Produce fosforilación irreversible de la acetilcolinesterasa de los tejidos causando la acumulación de acetilcolina en las uniones colinérgicas de las neuronas: efecto muscarínico, y en las uniones mioneurales de los músculos y ganglios autónomos. El envenenamiento también altera las funciones del sistema nervioso central (De Liñan, 2013).

Clorpirifos es considerado un riesgo para los sistemas acuáticos, ya que es altamente tóxico para una amplia gama de especies acuáticas y tiene una naturaleza relativamente persistente. En condiciones óptimas (25°C, pH=7), su vida media en agua oscila desde 29 hasta 74 días (Racke, 1993).

La actividad puede reducirse en suelos orgánicos y si la temperatura del suelo es inferior a 5 °C. Los gránulos aplicados en bandas en superficie pueden perder eficacia en condiciones secas. En el suelo se degrada lentamente, por hidrólisis, con una vida media a 25 °C de 92 a 341 días en suelos ácidos, y de 11 a 200 días en alcalinos. También existe degradación microbiana pero en algunos suelos es poco importante. El ritmo de la degradación aproximadamente se duplica por cada 10 °C de aumento de la temperatura. Tanto en suelos ácidos como básicos la hidrólisis del *clorpirifos* se acelera en condiciones de humedad baja. Su estabilidad aumenta con la materia orgánica del suelo así como con el contenido de arcilla; se produce un descenso de la velocidad de hidrólisis del 32% en presencia de 345 mg/l de carbono orgánico disuelto (De Liñan, 2013).

Según De Liñan (2013), esta materia activa está autorizada para el control de *Manduca sexta*, *Toxoptera citricidus*, *Dichomeris lotella*, *Brachycaudus helicrysi*, *Euzophera pinguis* en abichado del olivo o euzófera, *Cydia pomonella* en agusanado de las manzanas y peras, *Yponomeuta padellus* en arañuelo del ciruelo, *Yponomeuta malinellus* en arañuelo del manzano, *Yponomeuta evonymella* en arañuelo del manzano y del peral, *Sesamia nonagrioides* en barrenador del maíz, *Adoxophyes orana* en capua de los frutales, *Casida vitate* en cásida, *Planococcus citri* en cochinilla algodonosa del naranjo y de la vid, *Dysmicoccus grassii* en cochinilla de la platanera, *Colaspidea atrum* en cuca de la alfalfa, *Curculio nucum* en diabló, *Leptinotarsa decemlineata* en escarabajo de la patata, *Gryllotalpa gryllotalpa* en grillotopo, *Spodoptera frugiperda* en gusano cogollero, *Elatéridos postica* en gusano de alambre, *Agriotes* spp. en gusano gris, *Spodoptera litura* en gusano gris del tabaco, *Pectinophora gossypiella* en gusano rosado, *Hypera postica* en gusano verde o gusano verde de la alfalfa, *Melolóntidos postica* en gusanos blancos, *Dociostaurus maroccanus* en langosta, *Pieris rapae* en mariposita blanca de la col, *Dialeurodes citri* y *Aleurothrixus floccosus* en mosca blanca de los cítricos, *Delia antiqua* en mosca de la cebolla, *Delia radicum* en mosca de la col, *Pegomya betae* en mosca de la remolacha, *Chamaepsila rosae* en mosca de la zanahoria, *Platyparea poeciloptera* en mosca del espárrago, *Delia platura* en mosca del maíz y de la judía, *Cnephasia pumicana* en nefasia o polilla tronchaespigas, *Helicoverpa armigera* en oruga de las mazorcas y verde del tomate, *Earias insulana* en oruga espinosa del algodón, *Autographa gamma* en oruga medidora, *Chrysodeixis chalcites* en oruga medidora del tomate, *Loxostege sticticalis* en oruga verde de la alfalfa o palomilla grande de la alfalfa, *Pieris brassicae* en oruga verde o mariposa blanca de la col, *Pandemis heparana* en pandemis del peral y del manzano, *Parlatoria pergandii* en piojo gris o poll gris, *Aonidiella aurantii* en piojo rojo de california, *Sparganothis pilleriana* en piral de la vid, *Plutella xylostella* en polilla de la col y otras crucíferas, *Phthorimaea operculella* en polilla de la patata, *Scrobipalpa ocellatella* en polilla de la remolacha, *Prays citri* en polilla de las flores de los cítricos, *Acrolepiopsis assectella* en polilla del puerro, *Eupoecilia ambiguella* y *Lobesia botrana* en polilla del racimo, *Prays oleae* en prays del olivo, *Dysaphis plantaginea* en pulgón ceniciento del manzano, *Dysaphis pyri* en pulgón ceniciento del peral, *Hyalopterus pruni* en pulgón ceroso del ciruelo, *Brevicoryne brassicae* en pulgón de la col, *Aulacorthum (Aphis) solani* en pulgón de la patata y otras solanáceas, *Aphis gossypii* en pulgón del algodón y del melón, *Aphis rumicis* en pulgón negro de la remolacha, *Aphis fabae* en pulgón negro de las habas y judías, *Toxoptera aurantii* en pulgón negro de los cítricos, *Brachycaudus persicae* en pulgón cegro del melocotonero, *Brachycaudus schwartzi* en pulgón pardo del melocotonero, *Melanaphis pyraria* en pulgón pardo del peral, *Aphis pomi* en pulgón verde del manzano y del peral, *Myzus persicae* en pulgón verde del melocotonero,

Euxoa nigricans en rosquilla de la corona de la remolacha, *Spodoptera littoralis* en rosquilla negra, *Lepidosaphes ulmi* en serpeta del manzano, *Lepidosaphes gloverii* en serpeta fina, *Cornuaspis beckii* en serpeta gruesa, *Liriomyza trifolii* en submarino o minador de la hoja del tomate, *Gortyna xanthenes* en taladro de la alcachofa, *Ostrinia nubilalis* en taladro del maíz, *Tortrix viridana* en tortrix o lagarta verde de la encina, *Hercinothrips* spp. en trips de las ornamentales, *Thrips angusticeps* en trips del lino, *Tuta absoluta* en tuta o polilla del tomate, *Vanessa cardui* en vanesa de la alcachofa y del cardo y *Zabrus tenebrioides* en zabro de los cereales.

En consecuencia, con los grandes problemas ocasionados con los insecticidas neurotóxicos tradicionales, que son poco selectivos frente a insectos no diana, las estrategias del control frente a estos insectos barrenadores plaga debe tender a la utilización de productos químicos más seguros para el ambiente, sin embargo, la actividad de estos insecticidas alternativos frente a *X. arvicola* ha sido poco investigada hasta la fecha, motivo por el se evalúan sus capacidades en esta tesis. La parte positiva que tiene la utilización de organofosforados, es que ante explosiones de grandes poblaciones de insectos plaga, una aplicación en el momento exacto, resultará muy eficaz, al no necesitar grandes periodos de exposición ante la materia activa.

- ***Piriproxifen.***

El 2-1-metil-2-4-fenoxi-fenoxi-etoxi-piridina, *piriproxifen*, es un derivado de la piridina con actividad insecticida por contacto e ingestión; se comporta como una hormona juvenil actuando sobre el crecimiento de los insectos. Afecta a la fisiología de la morfogénesis, reproducción y embriogénesis de los insectos. Las hembras adultas tratadas ponen huevos con tan alto contenido de hormona juvenil que los embriones no serán viables (De Liñan, 2013).

Piriproxifen, a bajas concentraciones, interfiere con el genoma de las células del insecto (Sláma, 1995), Causa la muerte de estados inmaduros del insecto de 2 a 10 días después de aplicación (Nauen *et al.*, 2008).

En las larvas y pupas tratadas interfiere la metamorfosis normal adquiriendo los individuos afectados características intermedias entre larva y pupa o entre pupa y adulto que les llevan, con mayor o menor rapidez, a la muerte. Los adultos se ven afectados en aspectos que se relacionan con la reproducción, así, en algunos casos, se producen malformaciones de los órganos genitales y fallos del apareamiento, en otros. Las hembras quedan estériles o, al menos, disminuye la viabilidad de los huevos que ponen. Además de los efectos anteriores, también se producen interferencias con la fisiología endocrina de la diapausa con lo que los insectos se ven expuestos a condiciones ambientales desfavorables. Posee elevada persistencia lo que aumenta la posibilidad de que entre en contacto con el insecto o de que sea ingerido por él. En el suelo es prácticamente inmóvil; no contamina las aguas subterráneas. Se degrada completamente con una vida media de 3,5-15,6 días, y ni él ni sus metabolitos se acumulan en el medio natural (De Liñan, 2013).

Según De Liñan (2013), esta materia activa está autorizada para el control de *Quadraspidiotus perniciosus*, *Lecanoides floccisimus*, *Ceroplastes sinensis* en

caparreta blanca de los cítricos, *Planococcus citri* en cochinilla algodonosa del naranjo y de la vid, *Saissetia oleae* en cochinilla de la tizne, *Parthenolecanium corni* en cochinilla de la vid, *Chrysomphalus dictyospermi* en cochinilla roja de los cítricos o piojo rojo de los cítricos, *Dialeurodes citri* y *Aleurothrixus floccosus* en mosca blanca de los cítricos, *Trialeurodes vaporariorum* en mosca blanca de los invernaderos, *Aleurotuba jelinikii* en mosca blanca del madroño, *Bemisia tabacci* en mosca blanca del tabaco, *Aspidiotus nerii* en piojo blanco, *Parlatoria pergandii* en piojo gris o poll gris, *Lepidosaphes gloverii* en serpeta fina y *Lepidosaphes beckii* en serpeta gruesa.

- ***Flufenoxuron.***

El 1-[4-(2-cloro- α,α,α -trifluoro-p-tolioxo) – 2 - fluorofenil] – 3 - (2,6difluorobenzoil) urea, *flufenoxuron*, es una acilurea reguladora del crecimiento, no sistémica pero con cierta capacidad traslaminar y actividad insecticida y acaricida por contacto e ingestión sobre insectos y ácaros (De Liñan, 2013).

Flufenoxuron, insecticida basado en la alteración de procesos hormonales, reguladores del crecimiento de insectos (“Insect growth regulators”, IGRs), que interfieren en la deposición de la quitina en huevos o larvas (Siddall, 1976). *Flufenoxuron* es conocido por ser tóxico frente a larvas del escarabajo de hocico *Gonipterus scutellatus* (*Coleoptera: Curculionidae*) en ensayos realizados en laboratorio y en el campo (Pérez-Otero *et al.*, 2003), aunque también se ha mostrado un alto potencial como adulticida (Santolamazza-Carbone y Fernández de Ana Magán, 2004).

Interfiere el proceso de la síntesis de la quitina afectando a la muda al no disponer la nueva cutícula de suficiente quitina, en consecuencia, las larvas afectadas mueren en la mayoría de los casos. Igualmente afecta a la robustez de las mandíbulas y puntos de apoyo de los músculos que las mueven: las larvas afectadas dejan de alimentarse y mueren por inanición; y a la puesta, ya que los huevos puestos por hembras tratadas resultan infértiles debido a que los músculos de las larvas neonatas no responden con la suficiente efectividad como para romper el corión. La muerte no ocurre de forma inmediata, 24 horas después de la aplicación, las larvas tienen poca movilidad, dejan de alimentarse y pocos días después mueren (De Liñan, 2013).

Para obtener un control óptimo, las aplicaciones deberán hacerse durante las etapas iniciales del ciclo biológico. Su persistencia, según condiciones climáticas, es de 9 a 12 semanas. Se adsorbe fuertemente en el suelo, con una vida media de 42 días. Se ha observado que, incluso a dosis altas, deja pocos residuos los cuales no afectan a los microorganismos del suelo. Puede ser utilizada en programas de manejo integrado de plagas, MIP (De Liñan, 2013).

Según De Liñan (2013), esta materia activa está autorizada para el control de *Cydia pomonella* en agusanado de las manzanas y peras, *Altica quercetorum* en altica del roble, *Spodoptera exigua* en gardama, *Gonipterus scutellatus* en goníptero de eucalipto, *Lymantria monacha* en lagarta monaca, *Lymantria dispar* en lagarta peluda, *Dociostaurus maroccanus* en langosta, *Leucoptera malifoliella* en minador circular de las hojas del manzano y del peral, *Phyllocnistis citrella* en minador de las hojas de los cítricos, *Cameraria ohridella* en minador del castaño de indias, *Trialeurodes*

vaporariorum en mosca blanca de los invernaderos, *Empoasca vitis* en mosquito verde, *Lyonetia clerkella* en oruga minadora de las hojas de los frutales, *Sparganothis pilleriana* en piral de la vid, *Eupoecilia ambiguella* y *Lobesia botrana* en polilla del racimo, *Thaumetopoea pityocampa* en procesionaria del pino, *Spodoptera littoralis* en rosquilla negra y *Tortrix viridana* en tortrix o lagarta verde de la encina. Y en ácaros esta materia activa está autorizada para *Tetranychus turkestanii* en araña amarilla de la fresa y otros cultivos herbáceos, *Eotetranychus carpini* en araña amarilla de la vid o araña amarilla del parral de vid, *Tetranychus urticae* en araña roja de las hortícolas y de los frutales o araña roja del tomate, *Panonychus citri* en araña roja de los cítricos, *Panonychus ulmi* en araña roja de los frutales y de la vid.

En la Tabla 5.1., se muestra un resumen de las materias activas utilizadas sobre de *X. arvicola*, grupo al que pertenecen, modo de acción, y referencias bibliográficas.

Tabla 5.1.: Resumen de las materias activas elegidas, grupo, modo de acción y referencias.

MATERIA ACTIVA	GRUPO	MODO DE ACCION	REFERENCIA
<i>Spinosad</i>	Insecticida de origen natural	Activa receptores acetilcolina-nicotínicos de las células nerviosas postsinápticas de los insectos	Sparks <i>et al.</i> , 2001
<i>Beauveria bassiana</i>	Hongo entomopatógeno	Parasitan al insecto hospedante en todos sus estados	Zimmermann, 2007.
<i>Imidacloprid</i>	Cloronicotilínicos	Insecticida sistémico y de contacto.	Elbert <i>et al.</i> , 1991
<i>Clorpirifos</i>	Organofosforado	Actividad por contacto, ingestión e inhalación.	Lozano <i>et al.</i> , 2001
<i>Flufenoxuron</i>	Benzoilurea	Contacto, ingestión. Fisiológico, interfiere en la formación de la quitina.	Siddall, 1976
<i>Piriproxifen</i>	Hormona Juvenil, piridina	Sobre huevos inhibe la embriogénesis y la eclosión; sobre larvas, altera la metamorfosis, e inhibe la emergencia de adultos.	Dhadialla <i>et al.</i> , 1998; Nauen <i>et al.</i> , 2008

5.2.2.- CONDICIONES DE LABORATORIO: TORRE DE POTTER.

Para el control de *X. arvicola* en el cultivo de la vid se han testado materias activas con diferente modo de acción sobre distintos estadios de *X. arvicola*: huevos, larvas neonatas (<24h) y adultos, que son los estadios más susceptibles de la plaga que se pueden observar en campo, porque tanto las larvas durante la mayor parte de su ciclo, como las pupas, se desarrollan dentro de la madera y el acceso a las mismas conllevaría la destrucción de la planta.

5.2.2.1.- Material de partida.

- **Insecticidas.**

Todas las materias activas fueron diluidas o suspendidas en agua destilada. Las materias activas evaluadas en los ensayos, el nombre comercial, formulación, casa comercial y máxima y mínima dosis comercial, se describen en la Tabla 5.2.

Tabla 5.2: Materias activas evaluadas, nombre comercial, formulación, casa comercial, y máxima y mínima dosis comercial.

MATERIA ACTIVA	NOMBRE COMERCIAL	FORMULACIÓN (% i.a.)	CASA COMERCIAL	MÁXIMA DOSIS COMERCIAL	MÍNIMA DOSIS COMERCIAL
<i>Spinosad</i>	SPINTOR® 480 CC	48% (p/v),	Dow Science Ibérica S.A.	25 ml/hl	20 ml/hl
<i>Beauveria bassiana</i>	BASSI® WP	22% (p/p)	Massó S.A.	125 g/hl	62,5 g/hl
<i>Imidacloprid</i>	CONFIDOR® 20 LS	20% (p/v)	Bayer Crop Science S.L.)	0,10 %	0,05 %
<i>Clorpirifos</i>	CÚSPIDE® 48	48% (p/v)	Massó S.A.	0,20 %	0,15 %
<i>Flufenoxuron</i>	KIMLUX®	10% (p/v)	Saptec Agro S.A.U.	0,10 %	0,05 %
<i>Piriproxifen</i>	ATOMINAL® 10 EC	10% (p/v)	Massó S.A.	75 cm ³ /hl	50 cm ³ /hl

i.a.: Ingrediente Activo

En todos los ensayos se utilizó agua destilada como tratamiento de control.

- **Insectos: adultos, huevos y larvas neonatas de *X. arvicola*.**

Todos los estadios de *X. arvicola*, (adultos, larvas neonatas y huevos) previo a los ensayos, se mantuvieron en una cámara (Fitotron) con condiciones ambientales controladas de temperatura ($24 \pm 1^\circ\text{C}$), humedad ($60 \pm 5\%$), y sometidos a un fotoperiodo de 16 horas de luz y 8 horas de oscuridad, con una intensidad luminosa de 1000 lux.

- **Adultos.**

Todos los adultos de *X. arvicola* empleados en los ensayos, procedían de las capturas realizadas con trampas de interceptación en las parcelas donde se ubicaron durante el año 2012 (Figs. 5.1 y 5.2) en las DOP Ribera del Duero, DOP Tierra de León y DOP Toro.

Los adultos provenientes del campo se mantenían en botes cilíndricos de cristal, de 80 mm de diámetro y 10 cm de altura, con la tapa perforada para una correcta ventilación, cubriendo con papel de filtro el fondo, sobre el que se colocaban bebederos que consistían en algodón impregnado en una solución de miel ecológica al 10% en agua destilada (Fig. 5.3).



Figura 5.1: Trampa de interceptación en campo.



Figura 5.2: Captura de adultos de *X.arvicola* en bote colector de la trampa de interceptación.



Figura 5.3: Adultos capturados en campo y mantenidos en condiciones controladas previo a ensayos en Torre Potter.

Las procedencias de los adultos de *X. arvicola*, y el número total de ellos utilizados en ensayos de Torre Potter, se muestran en la Tabla 5.3.

Tabla 5.3: Procedencias, tipo de ensayo realizado y número de adultos de *X. arvicola* utilizados.

ESTADÍO DE <i>X. arvicola</i>	FIGURA DE CALIDAD (DOP)	CÓDIGO PARCELA PROCEDENCIA	TIPO DE ENSAYO	Nº ADULTOS UTILIZADOS EN ENSAYOS
Adultos	Ribera del Duero	PEÑA-P5	Torre Potter	80
	Tierras de León	GORD-P1		
	Toro	TORO-P3		

Se realizaron, dos tratamientos, a la máxima y a la mínima dosis comercial, con 4 materias activas (*Spinosad*, *Beauveria bassiana*, *Imidacloprid*, *Clorpirifos*) de las 6 descritas en el punto 5.2.2.1 (apartado 1). Se descartó la utilización de *Flufenoxuron* y *Piriproxifen* por ser materias activas que han demostrado mejores resultados en estadios

inmaduros del insecto (Siddall, 1976; Dhadialla *et al.*, 1998).

En cada tratamiento hubo un testigo que fue tratado con agua destilada. Cada materia activa se evaluó con 2 repeticiones, con 4 adultos por repetición, es decir, 8 adultos de *X. arvicola* por cada materia activa.

La supervivencia de los adultos se evaluó hasta 7 días después del tratamiento, ya que la mayoría de las materias activas utilizadas en otros ensayos sobre coleópteros adultos tenían una mortalidad del 100% o valores muy similares en los 7 días tras la aplicación (Rodríguez *et al.*, 2003; Eken *et al.*, 2006; Poland *et al.*, 2006; Saeed *et al.*, 2011).

○ Huevos.

Los huevos de *X. arvicola* que se iban a utilizar en los ensayos, se obtenían de los sustratos de puesta (tiras de cartón ondulado de 12 x 4 cm largo-ancho) (Fig. 5.4), introducidos en los botes de cristal, de 80 mm de diámetro y 10 cm de altura, donde se mantenían emparejados los adultos capturados en campo. Los sustratos de puesta se revisaban diariamente y de las puestas de huevos se extraían los huevos que se colocaban con la ayuda de un pincel en placas Petri de 55 mm de diámetro, (Fig. 5.5) de forma que estos quedasen expuestos para aplicación sobre ellos de las materias activas utilizadas. Las placas se cubrían con papel de aluminio para asegurar una oscuridad total y se anotaban las fechas para saber las edades de cada colección de huevos. Las colecciones de huevos de *X. arvicola* de varios días de edad, se mantenían en las condiciones controladas anteriormente descritas hasta su utilización en los ensayos de Torre Potter.



Figura 5.4: Extracción de huevos de sustratos de puesta.



Figura 5.5: Huevos de *X. arvicola* de distintos días de edad mantenidos en condiciones controladas, previo a ensayos en Torre Potter.

La procedencia de los huevos de *X. arvicola*, y el número total de ellos utilizados en ensayos de Torre Potter, se muestran en la Tabla 5.4.

Tabla 5.4: Procedencias, tipo de ensayo realizado y número de huevos de *X. arvicola* utilizados.

ESTADÍO DE <i>X.arvicola</i>	PROCEDENCIA	TIPO DE ENSAYO	Nº HUEVOS UTILIZADOS EN ENSAYOS
Huevos	Puestas de huevos obtenidas en laboratorio a partir de adultos capturados en campo	Torre Potter	2.800

Se realizaron dos tratamientos, a la máxima y a la mínima dosis comercial, de las 6 materias activas descritas en el punto 5.2.2.1 (apartado 1). En cada tratamiento hubo un testigo que fue tratado con agua destilada.

La supervivencia de los adultos se evaluó hasta 7 días después del tratamiento, debido a que la mayoría de las materias activas utilizadas en otros ensayos sobre puestas de huevos de otros coleópteros inhibían la embriogénesis y la eclosión de los huevos en los 7 días siguientes a la aplicación (Santolamazza-Carbone y Fernández de Ana-Magan, 2004; Eken *et al.*, 2006; Poland *et al.*, 2006).

○ Larvas Neonatas.

La metodología para la obtención de larvas neonatas de *X. arvicola* es similar a la descrita anteriormente para la obtención de huevos de *X. arvicola* a partir de las puestas recogidas en placas petri de 55 mm de diámetro, cubiertas con papel de aluminio y anotadas las fechas de la puesta (Fig. 5.6). Tras 7 y 8 días tras haberse recogido las puestas, que son los días en los que se producen el mayor porcentaje de eclosión de huevos de *X. arvicola*, se extraían las larvas neonatas con la ayuda de una lupa, (Fig. 5.7) para colocarlas en placas petri de 55 mm de diámetro, de forma que quedasen expuestas para la aplicación sobre ellas de las materias activas utilizadas.



Figura 5.6: Mantenimiento de colecciones de huevos en condiciones controladas para posterior extracción de larvas neonatas.



Figura 5.7: Paso de larvas neonatas de *X. arvicola* a placa Petri para ensayo en Torre Potter.

La procedencia de las larvas neonatas de *X. arvicola*, y el número total de ellas utilizadas en ensayos de Torre Potter, se muestran en la Tabla 5.5.

Tabla 5.5: Procedencias, tipo de ensayo realizado y número de larvas neonatas de *X. arvicola* utilizadas.

ESTADÍO DE <i>X. arvicola</i>	PROCEDENCIA	TIPO DE ENSAYO	Nº LARVAS UTILIZADAS EN ENSAYOS
Larvas neonatas (< 24 h)	Eclosiones de puestas de huevos obtenidas en laboratorio a partir de adultos capturados en campo	Torre Potter	700

Se realizaron dos tratamientos, a la máxima y a la mínima dosis comercial, de las 6 materias activas descritas en el punto 5.2.2.1 (apartado 1). En cada tratamiento hubo un testigo que fue tratado con agua destilada.

Cada materia activa se evaluó con 5 repeticiones, con 10 larvas neonatas por repetición. Un total de 50 larvas neonatas de *X. arvicola* por cada materia activa.

La supervivencia de los adultos se evaluó hasta 7 días después del tratamiento, debido a que la mayoría de las materias activas utilizadas en otros ensayos sobre larvas de coleópteros habían alterado el desarrollo larvario y su metamorfosis en los 7 días tras la aplicación (Eken *et al.*, 2006; Poland *et al.*, 2006, Planes *et al.*, 2013).

5.2.2.2.- Diseño de los tratamientos.

Para las aplicaciones de los tratamientos se utilizó una Torre Potter de carga manual (Burkard Scientific Limited, Po Box 55 Uxbridge, Middx, UB8 2RT, U.K.) (Potter, 1952) con compresor de aire. El volumen de disolución de insecticida empleado en cada pulverización fue de 1 ml y se aplicó sobre placas de Petri de 90 mm de diámetro a una presión de 40 kPa, lo que produce un depósito de $0,004 \pm 0,0004$ ml de caldo/cm², que es equivalente a 400 l de caldo por hectárea (Fig. 5.8).

Antes de comenzar los tratamientos se calibraba la Torre Potter mediante 10 repeticiones para comprobar que el residuo medio (X) estuviese comprendido entre:

$$1,5 \text{ mg/cm}^2 \leq (X) \leq 2,0 \text{ mg/cm}^2$$

Si el residuo medio fuera menor de $1,5 \pm 0,2$ mg/cm², no sería suficiente el volumen de caldo/cm². Si el residuo medio fuera mayor de $2,0 \pm 0,2$ mg/cm², tendríamos problemas de pérdidas de líquido por goteo (Mead-Briggs *et al.*, 2000).

Es por eso que el residuo del volumen de la disolución de insecticida se ajustó de manera que se mantuviese la proporción de materia activa máxima recomendada, calculada para un gasto de 400 l de caldo por hectárea. Para todos los insecticidas, se utilizó como líquido transportador agua destilada. (Fig. 5.9).



Figura 5.8: Carga manual en Torre Potter.



Figura 5.9: Pulverización de insecticida sobre placa Petri.

Las condiciones controladas posteriores a todos los tratamientos en Torre Potter sobre los distintos estadios de *X. arvicola* (adultos, huevos y larvas neonatas), durante el periodo de exposición de los insectos a las materias activas fueron temperatura ambiente ($24 \pm 1^\circ\text{C}$), humedad relativa ($60 \pm 5\%$), fotoperiodo 16:8 h (Luz : Oscuridad) y una intensidad luminosa superior a 1000 lux.

- **Tratamientos sobre adultos de *X. arvicola*.**

De los adultos de *X. arvicola* capturados en las "DOP Ribera del Duero", "DOP Tierra de León" y "DOP Toro" durante el año 2012, se utilizaron indistintamente machos y hembras para el ensayo con las materias activas. De cada adulto, se tenían anotadas sus fechas de captura en campo y de llegada al laboratorio.

Los datos con las fechas de captura en campo de los adultos, se utilizaron a la hora de seleccionarlos para el ensayo. La fecha de captura en campo puede ser similar a la fecha de emergencia en campo, por lo que se eligieron adultos de similar fecha para el ensayo, y de esta forma se procuró evitar la selección de adultos de diferentes días de vida.

En primer lugar, se hicieron en las tapas de las placas Petri de 55 mm de diámetro, 4 agujeros de 5 mm de diámetro (20 mm^2), para evitar el efecto de cámara letal (Figs. 5.10).

A continuación, se trataron las placas Petri de 55 mm de diámetro, con las materias activas, realizándose 2 repeticiones por cada tratamiento. Una vez tratadas las placas, se dejaban secar al aire libre durante un periodo de 1 hora, para más tarde colocar los insectos (Figs. 5.11).

Se realizaban conteos diarios, hasta el séptimo día después de la aplicación, anotando la mortalidad que se iba produciendo.



Figura 5.10: Adultos colocados en placas Petri tras en el ensayo.



Figura 5.11: Repeticiones tras ensayo para anotación de mortalidad de adultos de *X. arvicola*.

○ **Máxima dosis comercial.**

Los ensayos sobre adultos de *X. arvicola* realizados a la máxima dosis comercial de las materias activas descritas en el punto 5.2.2.1 (apartado 1), repeticiones, residuos por placa, materias activas y dosis aplicadas, se detallan en la Tabla 5.6:

Tabla 5.6: Ensayos realizados sobre adultos de *X. arvicola*, repeticiones, residuos, materias activas y dosis comerciales.

ESTADÍO	Nº ADULTOS POR PLACA	RESIDUO POR PLACA (mg/cm ²)	Nº REPETICIONES	MATERIA ACTIVA	MÁXIMA DOSIS COMERCIAL
Adultos	4	1,5283	2	<i>Spinosad</i>	25 ml/hl
				<i>Beauveria bassiana</i>	125 g/hl
				<i>Imidacloprid</i>	0,10 %
				<i>Clorpirifos</i>	0,20 %
				Agua destilada	----

○ **Mínima dosis comercial.**

Los ensayos sobre adultos de *X. arvicola* realizados a la mínima dosis comercial de las materias activas descritas en el punto 5.2.2.1 (apartado 1), repeticiones, residuos por placa, materias activas y dosis aplicadas, se detallan en la Tabla 5.7.

Tabla 5.7: Ensayos realizados sobre adultos de *X. arvicola*, repeticiones, residuos, materias activas y dosis comerciales.

ESTADÍO	Nº ADULTOS POR PLACA	RESIDUO POR PLACA (mg/cm ²)	Nº REPETICIONES	MATERIA ACTIVA	MÍNIMA DOSIS COMERCIAL
Adultos	4	1,7429	2	<i>Spinosad</i>	20 ml/hl
				<i>Beauveria bassiana</i>	62,5 g/hl
				<i>Imidacloprid</i>	0,05 %
				<i>Clorpirifos</i>	0,15 %
				<i>Agua destilada</i>	-----

En total, se utilizaron para los ensayos 80 adultos de *X. arvicola*:

- 40 adultos de *X. arvicola* para el ensayo con materias activas a la máxima dosis comercial.
- 40 adultos de *X. arvicola* para el ensayo con materias activas a la mínima dosis comercial.

Nuestros ensayos son los primeros en evaluar las materias activas *Spinosad*, *B. bassiana*, *Imidacloprid* y *Clorpirifos*, aplicadas a las máximas y mínimas dosis comerciales, frente a adultos de *X. arvicola*.

- **Tratamientos sobre huevos de *X. arvicola*.**

Los huevos de *X. arvicola* que se iban a utilizar en los ensayos, se obtenían a partir de los emparejamientos de los adultos capturados en campo, cuya metodología, se ha descrito en el punto 5.2.2.1 (apartado 2). De cada placa petri, donde se mantenían las colecciones de huevos de *X. arvicola*, se tenían anotadas las fechas de puesta, lo que se utilizó para ir agrupando los huevos, dentro de los rangos de días que se habían decidido tratar (huevos de 1 a 2 días, huevos de 3 a 4 días, huevos de 5 a 6 días, huevos de 7 a 8 días).

Al igual que en el tratamiento sobre adultos de *X. arvicola*, se hicieron en las tapas de las placas Petri de 55 mm de diámetro, 4 agujeros de 5 mm de diámetro (20 mm²), para evitar el efecto de cámara letal. A continuación, se trataron las placas Petri de 55 mm de diámetro, que contenían los huevos de distintas edades de *X. arvicola*, con las materias activas, realizándose 5 repeticiones por cada tratamiento. Una vez tratadas las placas con los huevos de *X. arvicola*, se realizaban conteos diarios, hasta el séptimo día después de la aplicación, anotando la no emergencia de larvas que se iba produciendo (Fig. 5.12).



Figura 5.12: Placas tratadas posterior a ensayo realizado.

○ **Máxima dosis comercial.**

Los ensayos sobre huevos de *X. arvicola* de distintas edades realizados a la máxima dosis comercial de las materias activas descritas en el punto 5.2.2.1 (apartado 1), repeticiones, residuos por placa, materias activas y dosis aplicadas, se detallan en la Tabla 5.8.

Tabla 5.8: Ensayos realizados sobre huevos de *X. arvicola* de distintas edades, repeticiones, residuos, materias activas y dosis comerciales.

ESTADÍO	Nº HUEVOS POR PLACA	RESIDUO POR PLACA (mg/cm ²)	Nº REPETICIONES	MATERIA ACTIVA	MÁXIMA DOSIS COMERCIAL
Huevos de 1 a 2 días	20	1,5394	5	<i>Spinosad</i>	25 ml/hl
				<i>Beauveria bassiana</i>	125 g/hl
				<i>Imidacloprid</i>	0,10 %
				<i>Clorpirifos</i>	0,20 %
				<i>Flufenoxuron</i>	0,10 %
				<i>Piriproxifen</i>	75 cm ³ /hl
				Agua destilada	-----
Huevos de 3 a 4 días	10	1,5283	5	<i>Spinosad</i>	25 ml/hl
				<i>Beauveria bassiana</i>	125 g/hl
				<i>Imidacloprid</i>	0,10 %
				<i>Clorpirifos</i>	0,20 %
				<i>Flufenoxuron</i>	0,10 %
				<i>Piriproxifen</i>	75 cm ³ /hl
				Agua destilada	-----
Huevos de 5 a 6 días	10	1,5283	5	<i>Spinosad</i>	25 ml/hl
				<i>Beauveria bassiana</i>	125 g/hl
				<i>Imidacloprid</i>	0,10 %
				<i>Clorpirifos</i>	0,20 %
				<i>Flufenoxuron</i>	0,10 %
				<i>Piriproxifen</i>	75 cm ³ /hl
				Agua destilada	-----

Tabla 5.8: Ensayos realizados sobre huevos de *X. arvicola* de distintas edades, repeticiones, residuos, materias activas y dosis comerciales. (continuación).

ESTADÍO	Nº HUEVOS POR PLACA	RESIDUO POR PLACA (mg/cm ²)	Nº REPETICIONES	MATERIA ACTIVA	MÁXIMA DOSIS COMERCIAL
Huevos de 7 a 8 días	20	1,6599	5	<i>Spinosad</i>	25 ml/hl
				<i>Beauveria bassiana</i>	125 g/hl
				<i>Imidacloprid</i>	0,10 %
				<i>Clorpirifos</i>	0,20 %
				<i>Flufenoxuron</i>	0,10 %
				<i>Piriproxifen</i>	75 cm ³ /hl
				Agua destilada	-----

○ **Mínima dosis comercial.**

Los ensayos sobre huevos de *X. arvicola* de distintas edades realizadas a la mínima dosis comercial de las materias activas descritas en el punto 5.2.2.1 (apartado 1), repeticiones, residuos por placa, materias activas y dosis aplicadas, se detallan en la Tabla 5.9.

Tabla 5.9: Ensayos realizados sobre huevos de *X. arvicola* de distintas edades, repeticiones, residuos, materias activas y dosis comerciales.

ESTADÍO	Nº HUEVOS POR PLACA	RESIDUO POR PLACA (mg/cm ²)	Nº REPETICIONES	MATERIA ACTIVA	MÍNIMA DOSIS COMERCIAL
Huevos de 7 a 8 días	20	1,5769	5	<i>Spinosad</i>	20 ml/hl
				<i>Beauveria bassiana</i>	62,5 g/hl
				<i>Imidacloprid</i>	0,05 %
				<i>Clorpirifos</i>	0,15 %
				<i>Flufenoxuron</i>	0,05 %
				<i>Piriproxifen</i>	50 cm ³ /hl
				Agua destilada	-----

En total, se utilizaron para los ensayos 2.800 huevos de *X. arvicola* de distintos rangos de edades de vida:

- 2.100 huevos de *X. arvicola* para el ensayo con materias activas a la máxima dosis comercial.
- 700 huevos de *X. arvicola* para el ensayo con materias activas a la mínima dosis comercial.

Nuestros ensayos son los primeros en evaluar las materias activas *Spinosad*, *B. bassiana*, *Imidacloprid*, *Clorpirifos* y *Flufenoxuron*, aplicadas a las máximas y mínimas

dosis comerciales, frente a huevos de varios rangos de edad de *X. arvicola*.

- **Tratamientos sobre larvas neonatas (<24h) de *X. arvicola*.**

La metodología para la obtención de larvas neonatas (<24h) de *X. arvicola* es similar a la descrita anteriormente en el punto 5.2.2.1 (apartado 2).

Al igual que en el tratamiento sobre adultos y huevos de distintas edades de *X. arvicola*, se hicieron en las tapas de las placas Petri de 55 mm de diámetro, 4 agujeros de 5 mm de diámetro (20 mm²), para evitar el efecto de cámara letal.

A continuación, se trataron las placas Petri de 55 mm de diámetro, que contenían las larvas neonatas (<24h) de *X. arvicola*, con las materias activas, realizándose 5 repeticiones por cada tratamiento (Fig. 5.13).

Una vez tratadas las placas con las larvas neonatas (<24h) de *X. arvicola*, se realizaban conteos diarios, hasta el séptimo día después de la aplicación, anotando la mortalidad que se iba produciendo (Fig. 5.14).



Figura 5.13: Larvas de *X. arvicola* puestas en placas Petri para ensayo.



Figura 5.14: Placas tratadas posterior a ensayo realizado.

- **Máxima dosis comercial.**

Los ensayos sobre larvas neonatas (<24h) de *X. arvicola* de distintas edades realizados a la máxima dosis comercial de las materias activas descritas en el punto 5.2.2.1 (apartado 1), repeticiones, residuos por placa, materias activas y dosis aplicadas, se detallan en la Tabla 5.10.

Tabla 5.10: Ensayos realizados sobre larvas neonatas (<24h) de *X. arvicola* de distintas edades, repeticiones, residuos, materias activas y dosis comerciales.

ESTADÍO	Nº LARVAS POR PLACA	RESIDUO POR PLACA (mg/cm ²)	Nº REPETICIONES	MATERIA ACTIVA	MÁXIMA DOSIS COMERCIAL
Larvas neonatas (<24h)	10	1,6599	5	<i>Spinosad</i>	25 ml/hl
				<i>Beauveria bassiana</i>	125 g/hl
				<i>Imidacloprid</i>	0,10 %
				<i>Clorpirifos</i>	0,20 %
				<i>Flufenoxuron</i>	0,10 %
				<i>Piriproxifen</i>	75 cm ³ /hl
				<i>Agua destilada</i>	-----

○ **Mínima dosis comercial.**

Los ensayos sobre larvas neonatas (<24h) de *X. arvicola* de distintas edades realizados a la mínima dosis comercial de las materias activas descritas en el punto 5.2.2.1 (apartado 1), repeticiones, residuos por placa, materias activas y dosis aplicadas, se detallan en la Tabla 5.11.

Tabla 5.11: Ensayos realizados sobre larvas neonatas (<24h) de *X. arvicola* de distintas edades, repeticiones, residuos, materias activas y dosis comerciales.

ESTADÍO	Nº LARVAS POR PLACA	RESIDUO POR PLACA (mg/cm ²)	Nº REPETICIONES	MATERIA ACTIVA	MÍNIMA DOSIS COMERCIAL
Larvas neonatas (<24h)	10	1,5394	5	<i>Spinosad</i>	20 ml/hl
				<i>Beauveria bassiana</i>	62,5 g/hl
				<i>Imidacloprid</i>	0,05 %
				<i>Clorpirifos</i>	0,15 %
				<i>Flufenoxuron</i>	0,05 %
				<i>Piriproxifen</i>	50 cm ³ /hl
				<i>Agua destilada</i>	-----

En total, se utilizaron para los ensayos 700 larvas neonatas (<24h) de *X. arvicola* de distintas edades:

- 350 larvas neonatas de *X. arvicola* para el ensayo con materias activas a la máxima dosis comercial.
- 350 larvas neonatas de *X. arvicola* para el ensayo con materias activas a la mínima dosis comercial.

Nuestros ensayos son los primeros en evaluar las materias activas *Spinosad*, *B. bassiana*, *Imidacloprid*, *Clorpirifos*, *Piriproxifen* y *Flufenoxuron*, aplicadas a las máximas y mínimas dosis comerciales, frente a larvas neonatas (<24h) de *X. arvicola*.

5.2.2.3.- Análisis estadístico.

Las comparaciones de medias realizadas en el presente trabajo se llevaron a cabo mediante el análisis de la varianza (ANOVA) y para determinar entre qué medias existían diferencias significativas se utilizó la prueba de comparaciones múltiples DMS (Diferencia Mínima Significativa).

Todas las pruebas señaladas se llevaron a cabo utilizando el programa SPSS 19.0. (SPSS Inc. 1999) empleándose un nivel de significación del 5%.

5.2.3.- CONDICIONES SIMILARES AL CULTIVO EN CAMPO.

Otro campo de estudio en el que se intentó avanzar en el conocimiento, fue poder evaluar la eficacia de retirar el ritidoma (descortezado de cepas) como una de las medidas preventivas aconsejables para un control indirecto sobre la plaga. El descortezado de las cepas, supone una mayor dificultad en la hembra a la hora de realizar la puesta de huevos (Peláez *et al.*, 2006).

El lugar de oviposición de huevos, por parte de la hembra y la supervivencia de las larvas, fue evaluado sobre troncos y brazos de cepas recolectadas en las parcelas de la DOP Tierra de León durante el año 2012. Las cuales se trocearon y sobre ellas se colocaron huevos obtenidos de una población de hembras de *X. arvicola* obtenidas en laboratorio. La eclosión o no de los huevos tras la aplicación de los productos fitosanitarios, y la posterior incorporación de las larvas en la madera, determinaría la ubicación, ritidoma o grietas, más sensible, y que materia activa, realizaría un mejor control sobre dicha plaga en viñedo. Para lo cual se evaluó el efecto de las materias activas sobre los huevos y su ubicación a lo largo de un periodo de conteo, las eclosiones larvales, y su posterior incorporación dentro de la madera, para avanzar en el estudio y fomentar la gestión integrada de dicha plaga.

5.2.3.1.- Material de partida.

- **Material vegetal.**

Para la realización de este ensayo, se partió de cepas recogidas en campo, en parcelas ubicadas en la DOP Tierra de León, formadas en espaldera a Doble Cordón o Royat (Fig. 5.15).



Figura 5.15: Cepas formadas en espaldera a Doble Cordón o Royat recogidas en viñedo para ensayo.



Figura 5.16: Corte de cepas mediante sierra circular.

Estas cepas se trocearon (Fig. 5.16), habían mostrado síntomas externos por ataque de *X. arvicola* durante las prospecciones realizadas en las parcelas de esta denominación. Los trozos obtenidos, (Figs. 5.17 y 5.18) se separaron, agrupándolos en tamaños y secciones similares, por un lado la madera del tronco (15 cm de longitud y 5 cm diámetro) y por otro la de brazos (15 cm de longitud y 3 cm diámetro). Se desechó la parte de unión de los brazos (cruz), y la parte del porta-injerto, debido a que poseen distinto diámetro, distinta disposición..., y de esta forma se conseguía que los trozos obtenidos tanto para el tratamiento sobre brazo como sobre el tronco tuvieran longitudes y secciones similares, para que las condiciones fueran las mismas en cada repetición con cada tratamiento.



Figura 5.17: Troceado de las divisiones en la planta.



Figura 5.18: Agrupación de tamaños y secciones de cepas troceadas.

Los trozos de madera se colocaron sobre una malla metálica, (10 x 10 mm), separada 40 mm de papel absorbente que cubría el fondo, cuya finalidad era para poder comprobar si tras la aplicación de los fitosanitarios, el huevo se desprendía, o si la larva en el momento de insertarse en la madera, expulsaba serrín (Fig.5.19).



Figura 5.19: Preparación del ensayo simulando condiciones de campo.

A continuación, se eligieron los dos posibles lugares de oviposición de las hembras, ritidoma y grieta de la madera. Se descartó un tercer posible lugar de puesta, como son las heridas de poda, debido a distintas variables, profundidad y longitud en el corte, morfología...

- **Insecticidas.**

Se utilizaron las mismas materias activas utilizadas que en los ensayos de Torre Potter en condiciones de laboratorio y descritas en el apartado 5.2.2.1.

Todas las materias activas fueron diluidas o suspendidas en agua destilada a la máxima dosis comercial, mediante pulverización manual y hasta el punto de goteo.

En todos los ensayos se utilizó agua destilada como tratamiento de control.

- **Huevos de *X. arvicola*.**

La metodología utilizada para la obtención de huevos de *X. arvicola* a partir de adultos de *X. arvicola* obtenidos en laboratorio mediante Dieta (SSI) (Iglesias *et al.*, 1989) y que se utilizaron en el ensayo de condiciones de campo, es la misma, que la descrita en el apartado 5.2.2.1 (apartado 2) para la obtención de huevos de *X. arvicola* a partir de adultos capturados en campo.

Se extraían de las placas Petri de 55 mm de diámetro, donde se ubicaban las colecciones de huevos guardadas, con la ayuda de una lupa, únicamente los huevos de *X. arvicola* de varios días en los que se observaba en su interior que se estaba desarrollando la larva (Fig. 5.20). El motivo era conocer el poder de inhibición de las materias activas sobre huevos, y si éste no fuera suficiente para evitar la eclosión de los huevos y la emergencia de las larvas, que poder tenía el producto aplicado para controlar posteriormente larvas neonatas (<24h) de *X. arvicola*, simulando lo máximo posible, las

condiciones de puesta en ritidoma y grieta, que tendrían las hembras de *X. arvicola* en campo.



Figura 5.20: Huevos de *X. arvicola* con larvas formándose utilizados en el ensayo.

La procedencia de los huevos de *X. arvicola*, y el número total de ellos utilizados en los ensayos de ritidoma y grieta, condiciones de campo, se muestran en la Tabla 5.12.

Tabla 5.12: Procedencias, tipo de ensayo realizado y número de huevos de *X. arvicola* utilizados.

ESTADÍO DE <i>X. arvicola</i>	PROCEDENCIA	TIPO DE ENSAYO	Nº HUEVOS UTILIZADOS EN ENSAYOS
Huevos	Huevos de adultos obtenidos con Cría en Laboratorio (Dieta artificial)	Ritidoma y Grieta (Condiciones de Campo)	336

Se realizaron, dos tratamientos, unos sobre brazos y otro sobre tronco, a la máxima dosis comercial, de las 6 materias activas descritas en el punto 5.2.2.1. En cada tratamiento hubo un testigo que fue tratado con agua destilada.

Para el tratamiento a la máxima dosis comercial de las 6 materias activas sobre madera de brazos de cepas, en las que se colocaron huevos de *X. arvicola*, se evaluaron:

- Huevos de *X. arvicola* de varios días de vida ubicados en el ritidoma, con 4 repeticiones (4 trozos de brazos), con 3 huevos cada una. Un total de 84 huevos de *X. arvicola*.
- Huevos de *X. arvicola* de varios días de vida ubicados en la grieta, con 4 repeticiones (4 trozos de brazos), con 3 huevos cada una. Un total de 84 huevos de *X. arvicola*.

Para el tratamiento en máxima dosis comercial de las 6 materias activas sobre madera de troncos de cepas, en las que se colocaron huevos de *X. arvicola*, se evaluaron:

- Huevos de *X. arvicola* de varios días de vida ubicados en el ritidoma, con 4 repeticiones (4 trozos de troncos), con 3 huevos cada una. Un total de 84 huevos

de *X. arvicola*.

- Huevos de *X. arvicola* de varios días de vida ubicados en la grieta, con 4 repeticiones (4 trozos de troncos), con 3 huevos cada una. Un total de 84 huevos de *X. arvicola*.

Al igual que en el ensayo de las materias activas mediante pulverización directa con Torre Potter en laboratorio, se evaluó durante 7 días después del tratamiento, la inhibición de la eclosión de huevos y la mortalidad larvaria que se iba produciendo, pues la actividad toxicológica de las materias activas se produce principalmente en 7 días tras la aplicación (Santolamazza-Carbone y Fernández de Ana-Magan, 2004; Eken *et al.*, 2006; Poland *et al.*, 2006; Planes *et al.*, 2013).

5.2.3.2.- Diseños de los tratamientos.

Sobre los trozos de madera de tronco y de brazo de las cepas, se colocaban los huevos de *X. arvicola* descritos en el apartado 5.2.3.1., con la ayuda de un pincel (Fig. 5.21). A la vez que se iban colocando los huevos en los distintos lugares elegidos, ritidoma y grieta, se marcaba su posición con la ayuda de un marcador (Fig. 5.22), para facilitar la localización de los huevos a la hora de realizar el conteo durante los días siguientes en los que se realizó el seguimiento.

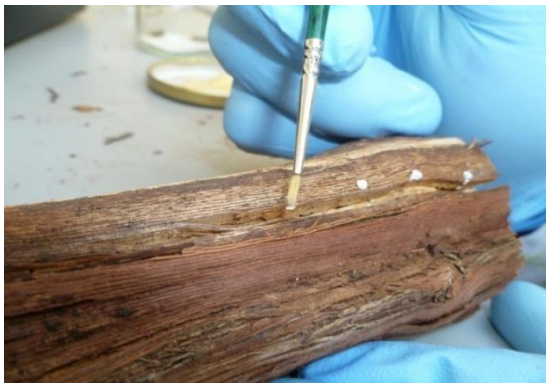


Figura 5.21: Colocación de huevos sobre grietas.



Figura 5.22: Marcado de la ubicación de los huevos.

A continuación se hacía el tratamiento mediante la pulverización de las 6 materias activas más el agua destilada (control), a la máxima dosis comercial, con un difusor manual de volumen 0,10 litros (Fig. 5.23) hasta el punto de goteo (Fig. 5.24).



Figura 5.23: Pulverización con difusor manual de las materias activas.



Figura 5.24: Vista general del ensayo realizado.

Se hizo un seguimiento diario contabilizando la inhibición de la eclosión de huevos y la mortalidad larvaria que se iba produciendo hasta el séptimo día de conteo.

- **Ritidoma.**

Se colocaban 6 huevos bajo el ritidoma, 3 huevos por trozo de madera de tronco y 3 huevos por trozo de madera de brazo, con 4 repeticiones, para los 7 tratamientos evaluados, que suponían un total 168 huevos para el ensayo.

Los datos del ensayo sobre el grado de control de las materias activas sobre huevos *X. arvicola* ubicación en ritidoma se detallan en la Tabla 5.13.

Tabla 5.13: Ensayo sobre grado de inhibición de materias activas sobre huevos de *X. arvicola* ubicados en ritidoma.

UBICACIÓN MADERA EN CEPA	Nº DE HUEVOS TOTALES	Nº HUEVOS POR REPETICIÓN	Nº REPETICIONES	MATERIA ACTIVA	MÁXIMA DOSIS COMERCIAL
Brazo	84	3	4	<i>Spinosad</i>	20 ml/hl
				<i>Beauveria bassiana</i>	62,5 g/hl
				<i>Imidacloprid</i>	0,05 %
				<i>Clorpirifos</i>	0,15 %
				<i>Flufenoxuron</i>	0,05 %
				<i>Piriproxifen</i>	50 cm ³ /hl
				<i>Agua destilada</i>	-----
Tronco	84	3	4	<i>Spinosad</i>	20 ml/hl
				<i>Beauveria bassiana</i>	62,5 g/hl
				<i>Imidacloprid</i>	0,05 %
				<i>Clorpirifos</i>	0,15 %
				<i>Flufenoxuron</i>	0,05 %
				<i>Piriproxifen</i>	50 cm ³ /hl
				<i>Agua destilada</i>	-----

- **Grieta.**

Se colocaban 6 huevos bajo la grieta, 3 huevos por trozo de madera de tronco y 3 huevos por trozo de madera de brazo, con 4 repeticiones, para los 7 tratamientos evaluados, que suponían un total 168 huevos para el ensayo.

Los datos del ensayo sobre el grado de control de las materias activas sobre huevos *X. arvicola* ubicación en grieta, se detallan en la Tabla 5.14.

Tabla 5.14: Ensayo sobre grado de inhibición de materias activas sobre huevos de *X. arvicola* ubicados en grieta.

UBICACIÓN MADERA EN CEPA	Nº DE HUEVOS TOTALES	Nº HUEVOS POR REPETICIÓN	Nº REPETICIONES	MATERIA ACTIVA	MÁXIMA DOSIS COMERCIAL
Tronco	84	3	4	<i>Spinosad</i>	20 ml/hl
				<i>Beauveria bassiana</i>	62,5 g/hl
				<i>Imidacloprid</i>	0,05 %
				<i>Clorpirifos</i>	0,15 %
				<i>Flufenoxuron</i>	0,05 %
				<i>Piriproxifen</i>	50 cm ³ /hl
				<i>Agua destilada</i>	-----
Brazo	84	3	4	<i>Spinosad</i>	20 ml/hl
				<i>Beauveria bassiana</i>	62,5 g/hl
				<i>Imidacloprid</i>	0,05 %
				<i>Clorpirifos</i>	0,15 %
				<i>Flufenoxuron</i>	0,05 %
				<i>Piriproxifen</i>	50 cm ³ /hl
				<i>Agua destilada</i>	-----

5.2.3.3.- Análisis estadístico.

Las comparaciones de medias realizadas en el presente trabajo se llevaron a cabo mediante el análisis de la varianza (ANOVA) y para determinar entre qué medias existían diferencias significativas se utilizó la prueba de comparaciones múltiples DMS (Diferencia Mínima Significativa).

Todas las pruebas señaladas se llevaron a cabo utilizando el programa SPSS 19.0. (SPSS Inc. 1999) empleándose un nivel de significación del 5%.

5.3.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

5.3.1.- CONDICIONES DE LABORATORIO: TORRE DE POTTER.

La eficacia de las materias activas ha sido diferente según el estadio de desarrollo (huevos, larvas neonatas y adultos) de *X. arvicola*, si bien la variabilidad observada prácticamente en todos los casos se puede explicar en función del tipo de materia activa utilizada y sobre el tipo de estadio en el que se ha aplicado.

5.3.1.1.- Ensayo sobre huevos de *X. arvicola*.

Una vez realizado el análisis estadístico se comprueba que existen diferencias significativas entre las distintas materias activas cuando son aplicadas a la máxima dosis comercial sobre huevos de *X. arvicola* de 7 a 8 días (Fig. 5.25), de 5 a 6 días (Fig. 5.27), de 3 a 4 días (Fig. 5.28) y de 1 a 2 días de edad (Fig. 5.29).

También se comprueba que existen diferencias significativas entre las distintas materias activas cuando son aplicadas a la mínima dosis comercial sobre huevos de *X. arvicola* de de 7 a 8 días (Fig. 5.26).

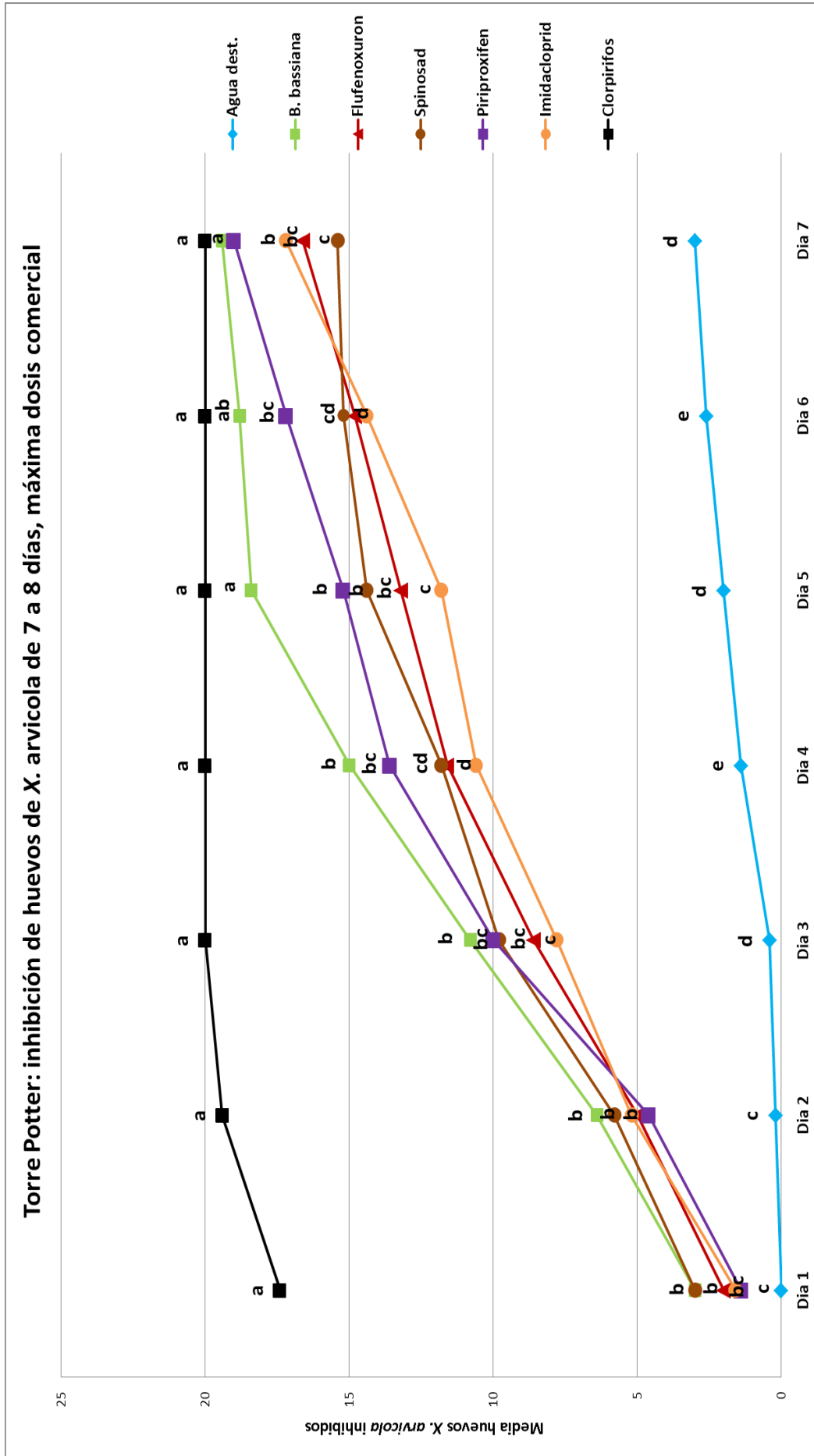


Figura 5.25: Evolución de la inhibición de huevos de *X. arvicola* de 7 a 8 días de edad tras la aplicación de distintas materias activas a la máxima dosis comercial. Letras diferentes en los índices muestran diferencias significativas entre las distintas materias activas para un mismo día de conteo ($P < 0,05$, test DMS).

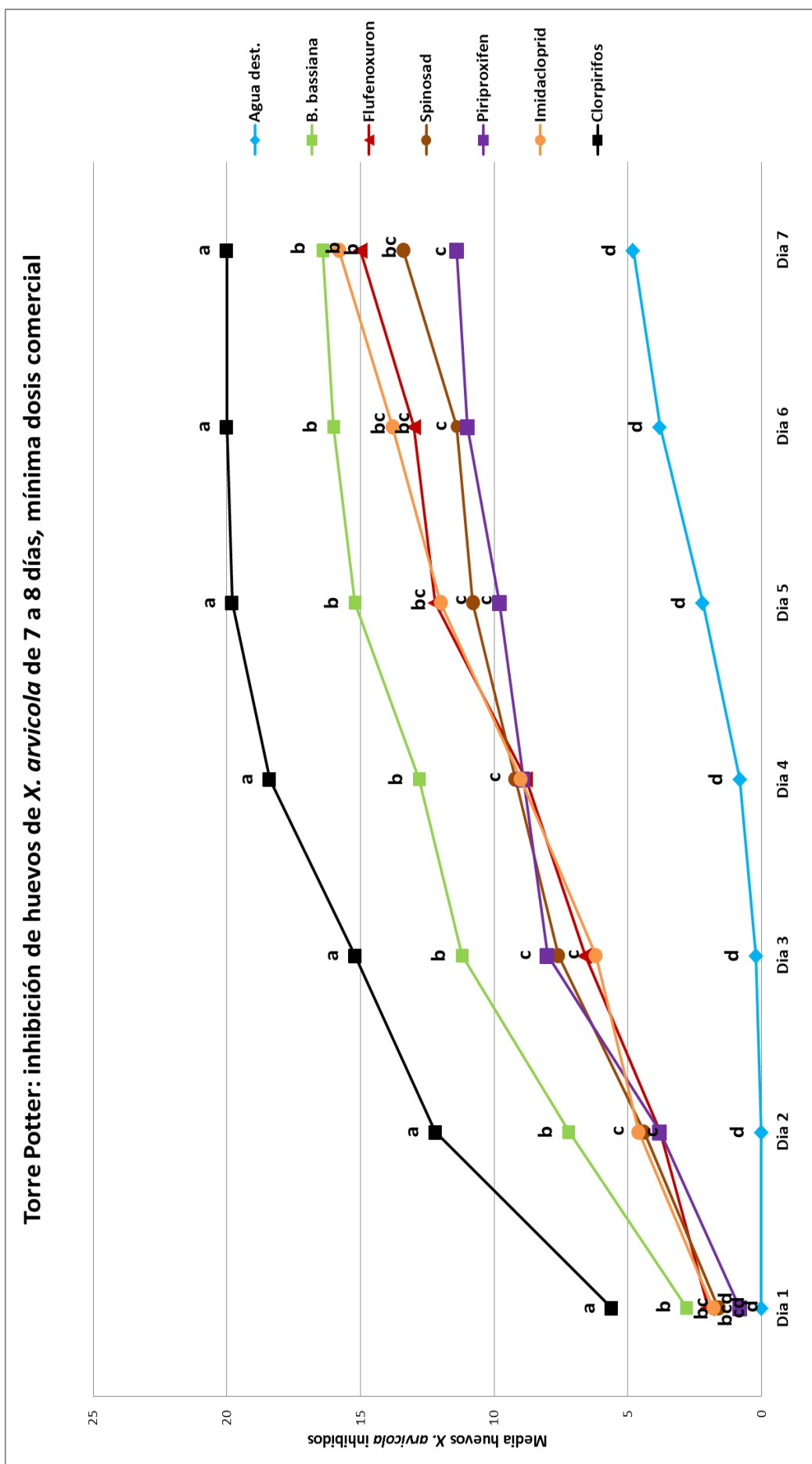


Figura 5.26: Evolución de la inhibición de huevos de *X. arvicola* de 7 a 8 días de edad tras la aplicación de distintas materias activas a la mínima dosis comercial. Letras diferentes en los índices muestran diferencias significativas entre las distintas materias activas para un mismo día de conteo ($P < 0,05$, test DMS).

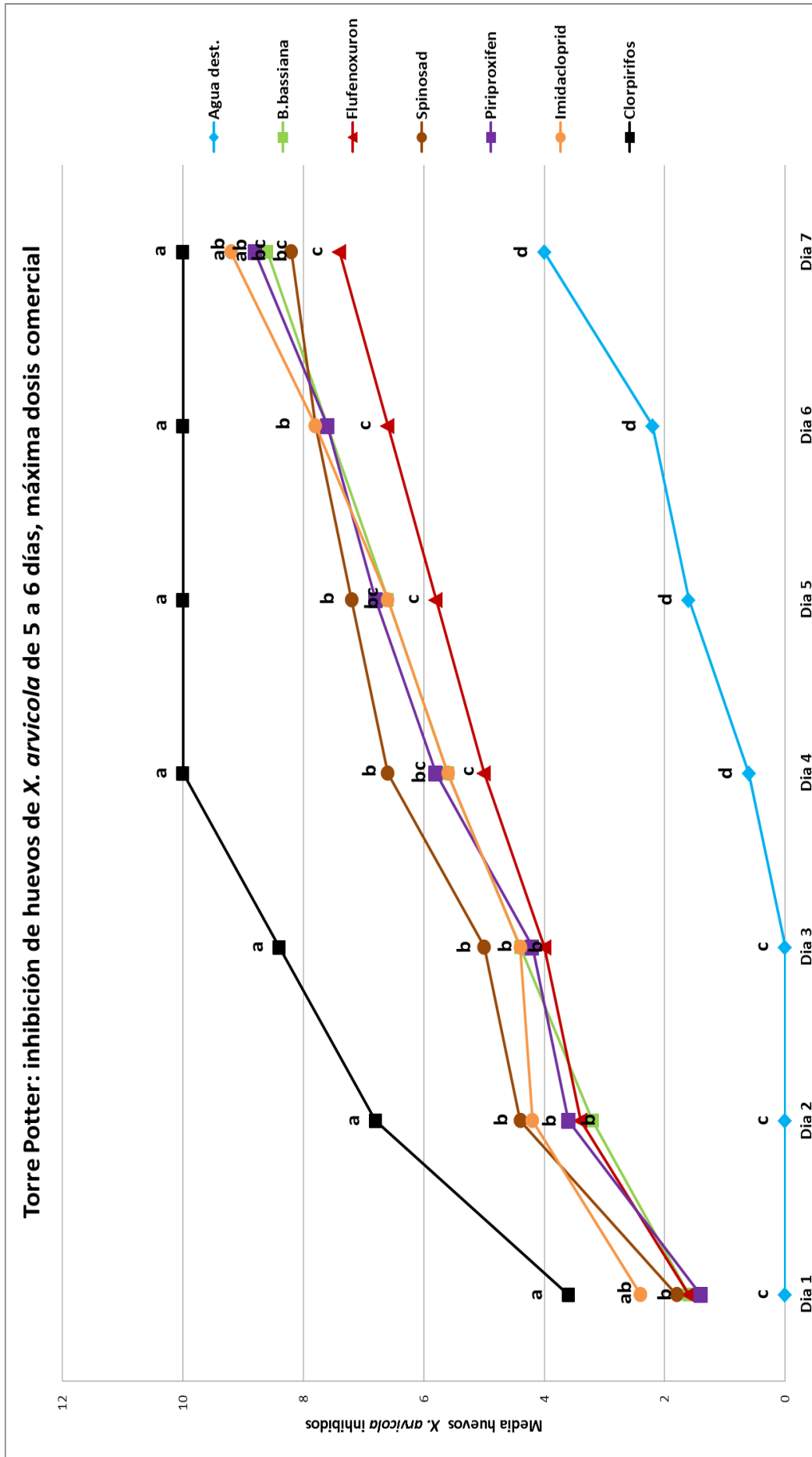


Figura 5.27: Evolución de la inhibición de huevos de *X. arvicola* de 5 a 6 días de edad tras la aplicación de distintas materias activas a la máxima dosis comercial. Letras diferentes en los índices muestran diferencias significativas entre las distintas materias activas para un mismo día de conteo ($P < 0,05$, test DMS).

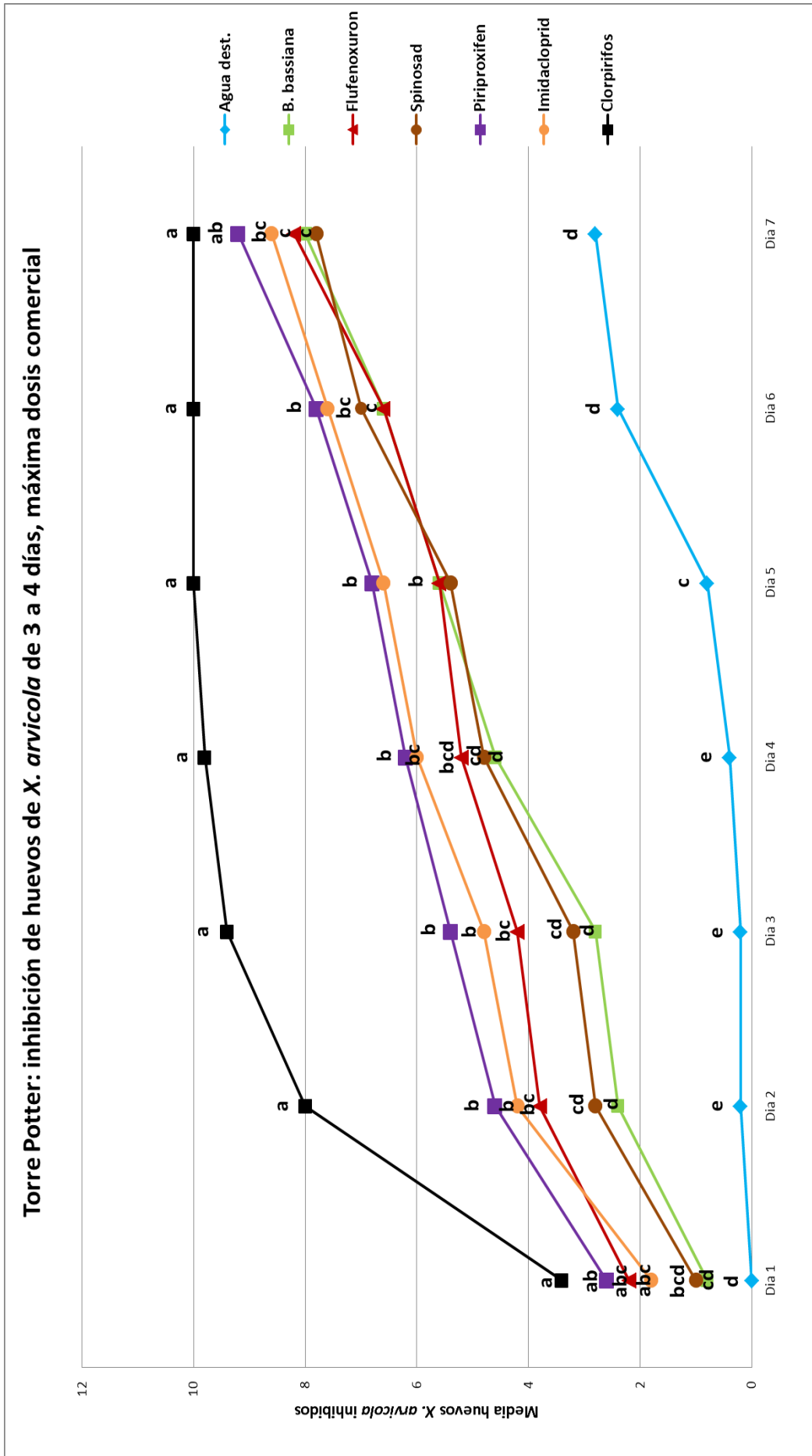


Figura 5.28: Evolución de la inhibición de huevos de *X. arvicola* de 3 a 4 días de edad tras la aplicación de distintas materias activas a la máxima dosis comercial. Letras diferentes en los índices muestran diferencias significativas entre las distintas materias activas para un mismo día de conteo ($P < 0.05$, test DMS)..

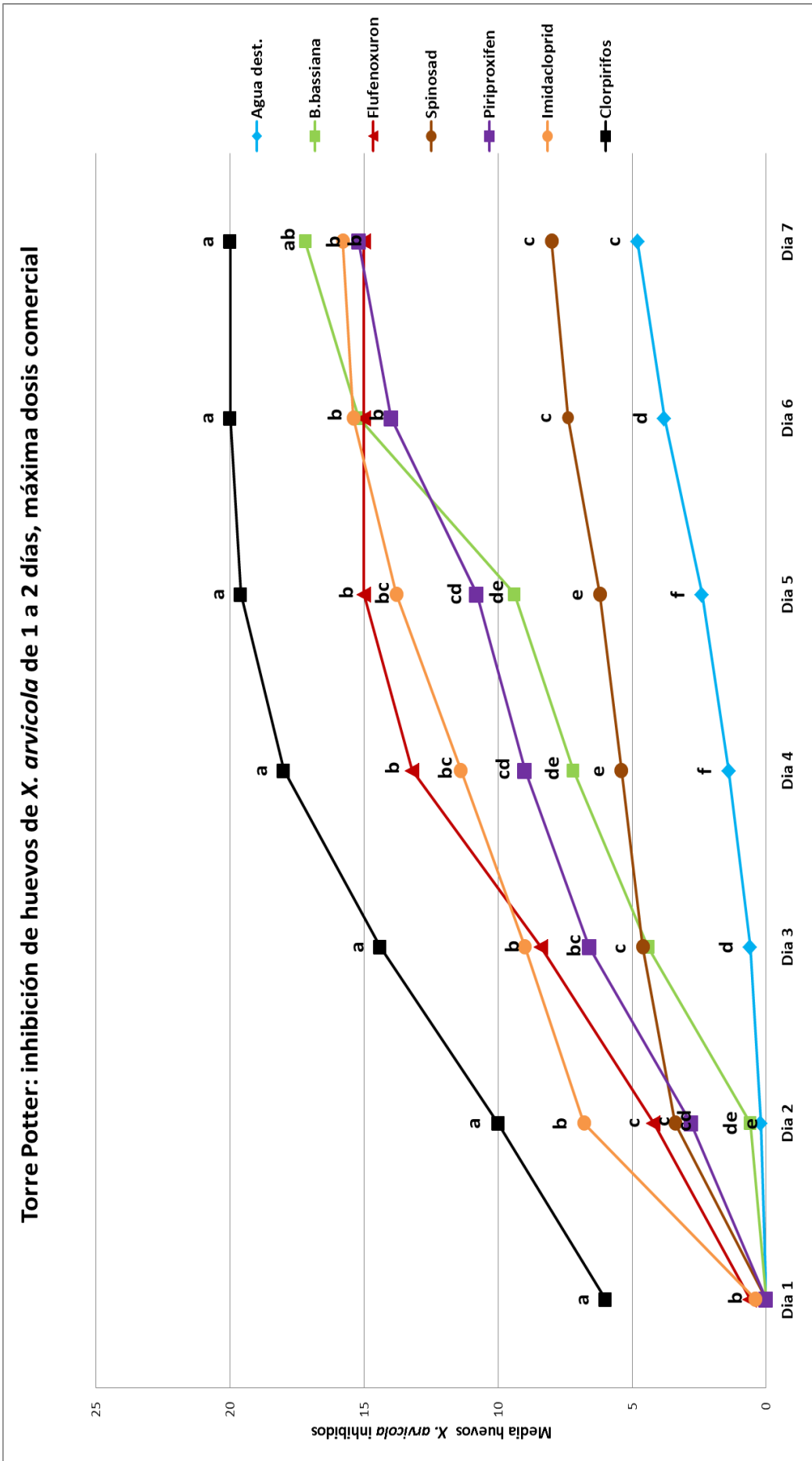


Figura 5.29: Evolución de la inhibición de huevos de *X. arvicola* de 1 a 2 días de edad tras la aplicación de distintas materias activas a la máxima dosis comercial. Letras diferentes en los índices muestran diferencias significativas entre las distintas materias activas para un mismo día de conteo ($P < 0,05$, test DMS).

En relación a los resultados obtenidos por cada materia activa aplicada tanto a la máxima como a la mínima dosis comercial, durante los 7 días de evaluación, sobre huevos de varios rangos de edad de *X. arvicola* se puede decir:

- ***Spinosad*.**

Los tratamientos realizados con *Spinosad* a la máxima dosis comercial sobre huevos de varios rangos de edad, muestran valores ovicidas inferiores a los obtenidos por las distintas materias activas testadas sobre huevos de *X. arvicola*. El valor máximo obtenido por *Spinosad* en cuanto a la inhibición de la embriogénesis y la no eclosión, se da huevos de 5 a 6 días, 82% (Fig. 5.27), seguido por huevos de 3 a 4 días, 78% (Fig. 5.28) y huevos de 7 a 8 días, con un 77% (Fig. 5.26), para finalizar con un valor muy bajo, obtenido en huevos de 1 a 2 días, donde solamente se alcanza el 40% de inhibición (Fig. 5.29).

Inhibición de la embriogénesis y no eclosión de los huevos de *X. arvicola* tras la aplicación de *Spinosad* a la máxima dosis comercial (Figs. 5.30 y 5.31).

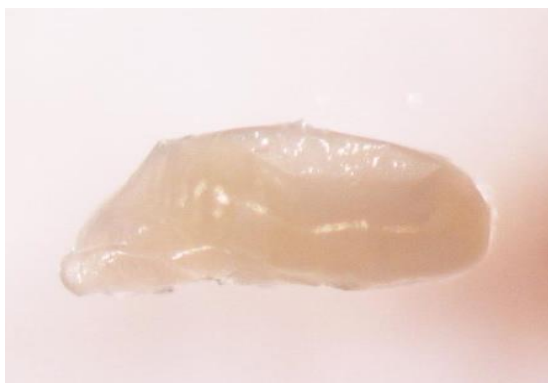


Figura 5.30: Aspecto de los huevos de *X. arvicola* de 5 a 6 días de edad, tras 3 días desde la aplicación de *Spinosad*, a la máxima dosis comercial.



Figura 5.31: Aspecto de los huevos de *X. arvicola* de 5 a 6 días de edad, tras 7 días desde la aplicación de *Spinosad*, a la máxima dosis comercial.

Los tratamientos realizados con *Spinosad* a la mínima dosis comercial sobre huevos de 7 a 8 días de edad de *X. arvicola* muestran unos bajos valores en cuanto a la inhibición de la embriogénesis, alcanzándose una inhibición acumulada en el séptimo día de evaluación del 67%, superando solamente a *Piriproxifen*, que obtiene un 57% y el control realizado con agua destilada, 24%.

Esto coincide con los datos expuestos por Adán *et al.* (1996), sobre la aplicación de *Spinosad* sobre huevos de la mosca de la fruta, *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae), donde *Spinosad* no presentó ninguna actividad ovicida, incluso a la dosis más alta probada (1 g I.A. litro⁻¹), alcanzando máximos en la inhibición embrionaria del 79%. Valores muy similares a los obtenidos en el ensayo realizado sobre huevos de 7 a 8, de 5 a 6 y de 3 a 4 días de edad de *X. arvicola*, en los que obtuvimos inhibiciones

embrionarias del 77%, 82% y 78%, respectivamente.

Boiteau y Noronha (2007) comprueban la eficacia de *Spinosad* (0,718 g litro⁻¹), frente a huevos del barrenador europeo del maíz *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera: Crambidae), mostrando una capacidad ovicida muy baja del 12,78% y 11,60% a las 24 y 48 horas, respectivamente que no difirió significativamente del control tratado solamente con agua destilada, pero a destacar que el 92% de las larvas murieron, tras eclosionar desde los huevos tratados con *Spinosad*.

El bajo porcentaje de inhibición obtenido por *Spinosad* sobre huevos de 1 a 2 días de *X. arvicola*, coincide con el obtenido por Bostanian *et al.*, (2010), donde la aplicación de *Spinosad*, con dosis de 0,08 g I.A. litro⁻¹, junto con otros 5 insecticidas (*Imidacloprid*, *Tiacloprid*, *Tiametoxam*, *Acetamiprid*, *Methoxyfenozide*), en condiciones de laboratorio, causa una inhibición del 38,9% sobre huevos de *Neoseiulus fallacis* (Acari: Phytoseiidae), inhibición que es menor que la causada por *Imidacloprid* (100%), *Tiametoxam* (67,2%) y *Acetamiprid* (48,9%). La inhibición causada por *Spinosad* sólo es superior a la obtenida por *Methoxyfenozide* (18%) y *Tiacloprid* (2,2%).

Campos y Phillips (2010) demostraron que el contacto de *Spinosad* frente a adultos macho de la polilla India de la harina *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae) durante 3 días inhibía la fertilidad al emparejarse con hembras que no habían sido tratadas, observándose en la oviposición de estas hembras, que la tasa de oviposición se inhibía hasta un 31,9% y producía una no eclosión del 65,9% del total de huevos puestos. Otros efectos letales y subletales de *Spinosad* también han sido descritos por Galván *et al.*, (2005a) sobre hembras de *Harmonia axyridis* Pallas (Coleoptera: Coccinellidae) quienes observaron que *Spinosad* reducía la fertilidad femenina tras haber sido tratadas 14 días después de que se produjese la emergencia del adulto, registrándose un 85% y un 75% en la tasa de fertilidad de la hembras cuando *Spinosad* es aplicado al 50% (55 g I.A./ha) y al 100% (110 g I.A./ha).

Nuestros resultados obtenidos por *Spinosad* en cuanto a la inhibición de la embriogénesis y la no eclosión de huevos de varios rangos de edad de *X. arvicola* cuando *Spinosad* es aplicado tanto a la máxima como a la mínima dosis comercial en pulverización directa, hace que ignoremos los posibles efectos subletales que pueda tener *Spinosad* sobre cléridos depredadores (Peláez *et al.*, 2012), enemigos naturales de *X. arvicola*, descubiertos hasta el momento. La Organización Internacional de Control Biológico (OICB) recomienda a la hora de evaluar el potencial que puedan tener los insecticidas sobre los enemigos naturales, realizar un enfoque por etapas, con ensayos de laboratorio, seguidos de ensayos en semi-campo y campo (Hassan, 1998).

Se ha observado que *Spinosad* no afecta a la supervivencia de los adultos de *Harmonia axyridis* Pallas (Coleoptera: Coccinellidae) pero redujo la fertilidad femenina (Galván *et al.*, 2005a). *Spinosad* ha demostrado una alta toxicidad residual para plagas de lepidópteros (Campos y Phillips, 2010), y baja toxicidad aguda para los enemigos naturales (Galván *et al.*, 2005a; Michaud y Grant, 2003; Tillman y Mulrooney, 2000). *Spinosad* fue clasificado toxicológicamente para su uso en el medio ambiente como un insecticida de riesgo reducido por la Agencia de Protección Ambiental (EPA, 1997) de los Estados Unidos, y es utilizado dentro de programas MIP frente a muchas familias de insectos plaga, como insecticida biorracional (Williams *et al.*, 2003).

Otros ensayos realizados con *Spinosad* frente a insectos, muchos de ellos depredadores de insectos, tales como *Chrysoperla carnea* Stephens (Neuroptera: Chrysopidae) (Medina *et al.*, 2003; Viñuela *et al.*, 2001) y *Orius insidiosus* Say (Hemiptera: Anthocoridae) (Elzen, 2001) no mostraron cambios en la reproducción y en los tiempos de desarrollo después de la exposición a *Spinosad*. Sin embargo, Medina *et al.*, (2003) observaron que *Spinosad* acortaba la duración de la vida de *C. carnea*, y Yoo y Kim (2000) observó una reducción en la fecundidad de ácaros depredadores.

En el otro extremo, tenemos varias especies de avispas parasitarias que mostraron cierta sensibilidad a *Spinosad* (Williams *et al.*, 2003), al igual que Schneider *et al.*, (2004) que describieron la disminución de la emergencia de adultos y la longevidad del endoparásito *Hyposoter didymator* Thunberg (Hymenoptera: Ichneumonidae) tratados con *Spinosad*. Es sabido que los estadios iniciales de los enemigos naturales son más sensibles a los insecticidas que las etapas posteriores de sus vidas (Youn *et al.*, 2003), esto puede ser debido a la diferente susceptibilidad ocasionada por cambios en la actividad enzimática o por la sensibilidad mostrada en el lugar donde se desarrolla (Cho *et al.*, 2002).

Nuestros resultados muestran que *Spinosad* disminuyó la supervivencia de huevos de varios rangos de edad de *X. arvicola*, pero no alcanzando valores deseados, pues la mayor inhibición embrionaria registrada se dió sobre huevos de 5 a 6 días de edad con un 82%, inhibición embrionaria casi siempre superada para el mismo estadio inmaduro por otras materias activas. Aunque en nuestro ensayo *Spinosad* inhibió en menor proporción que otras materias activas evaluadas, la inhibición embrionaria de *X. arvicola* aun siendo menor, puede disminuir las densidades de huevos que completen su desarrollo y posterior eclosión de larvas neonatas en el viñedo, aumentando la capacidad de control de la plaga, teniendo en cuenta los efectos letales y subletales de *Spinosad*, hace que sean mayores los beneficios de incorporarlo a un programa de MIP frente a *X. arvicola* en viñedo.

Nuestros resultados también se centran en lo obtenido en laboratorio, que representan las peores condiciones en las que se encuentran las oviposiciones, que son confinadas frente al tratamiento con la materia activa y no representan las condiciones reales del campo. Sin embargo, estos ensayos realizados en laboratorio son uno de los métodos más utilizados, para evaluar la eficacia de los insecticidas, en entornos más controlados, que las condiciones variables que nos podemos encontrar en campo. Es necesario seguir trabajando para evaluar la toxicidad de *Spinosad* utilizando otras etapas de desarrollo de *X. arvicola* susceptibles de la plaga de ser tratados.

- ***Beauveria bassiana.***

Los tratamientos realizados con *B. bassiana* a la máxima dosis comercial sobre huevos de varios rangos de edad de *X. arvicola*, destaca el buen control realizado sobre huevos de 7 a 8 días de edad, en el que se alcanzó una inhibición en la embriogénesis del 97% (Fig. 5.25), le seguirían huevos de 5 a 6 días (Fig. 5.27) y huevos de 1 a 2 días (Fig. 5.29) con un 86%, y concluiría con huevos de 3 a 4 días, donde sólo se alcanza un 80% de inhibición embrionaria (Fig. 5.28). El porcentaje de eficacia alcanzado en huevos de 1 a 2 días de *X. arvicola*, con un 86%, es el que mejor resultado presenta sobre el resto

de materias activas, solamente superado por *Clorpirifos*, que posee un control total, con 100% de inhibición embrionaria y no eclosión de huevos de *X. arvicola*.

Inhibición de la embriogénesis y no eclosión de los huevos de *X. arvicola* tras la aplicación de *Beauveria bassiana* a la máxima dosis comercial (Figs. 5.32 y 5.33).



Figura 5.32: Aspecto de los huevos de *X. arvicola* de 5 a 6 días de edad, tras 3 días desde la aplicación de *B. bassiana*, a la máxima dosis comercial.

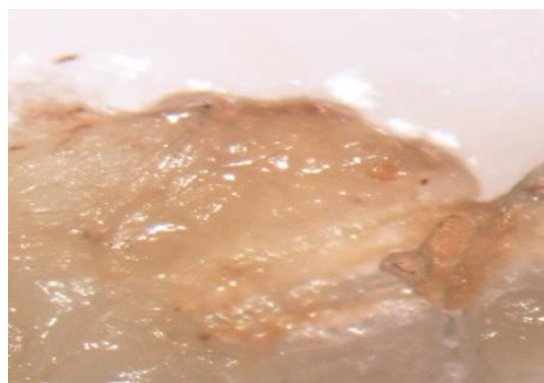


Figura 5.33: Aspecto de los huevos de *X. arvicola* de 5 a 6 días de edad, tras 3 días desde la aplicación de *B. bassiana*, a la máxima dosis comercial.

Los tratamientos realizados con *B. bassiana* a la mínima dosis comercial, sobre huevos de 7 a 8 días de edad de *X. arvicola* realizan un control aceptable sobre esta fase de desarrollo del insecto, alcanzando una inhibición embrionaria en el séptimo día de evaluación del 82% (Fig. 5.26), no muy inferior a la ocasionada por la misma materia activa, cuando se aplica a la máxima dosis comercial (Fig. 5.25) sobre el mismo rango de edad de huevos de *X. arvicola*, donde alcanza un 97% de mortalidad embrionaria. Conviene destacar que la evaluación de este hongo entomopatógeno frente a huevos de 7 a 8 días de *X. arvicola*, produce una reducción en la población embrionaria superior al 50% en el tercer día desde la aplicación, concretamente un 56%, para en los últimos días de evaluación, días 5, 6 y 7, alcanzar valores óptimos de control, con 76%, 80% y 82%, respectivamente.

Otra forma indirecta de evaluar la actividad inhibidora de *Beauveria bassiana* fue descrita por Maniania *et al.*, (2008), en la que un aislado de *B. bassiana*, obtenido en el Centro Internacional de Fisiología y Ecología de Insectos (ICIPE), y evaluado en ensayos de alimentación frente a adultos de *Cylas puncticollis* (Coleoptera: Curculionidae), y aplicado en una concentración de $1,0 \times 10^8$ conidias ml^{-1} , producía en hembras de *C. puncticollis* una reducción de la fecundidad y de la viabilidad de las hembras tratadas.

Esto coincide con lo señalado por Ren *et al.* (2009), donde los huevos y ninfas de *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae) tratados con *B. bassiana* se vieron afectados por el hongo, incrementándose su inhibición con el aumento de las dosis aplicadas (10^6 , 10^7 y 10^8 conidias ml^{-1}). Para la mayor concentración utilizada (10^8 conidias ml^{-1}), se consigue una inhibición a los 7 días del 72,89%, sobre huevos y ninfas, lo que supuso que la inhibición embrionaria difiriese significativamente de la

inhibición lograda (34,81%) con la mínima concentración aplicada (10^6 conidias ml^{-1}).

Meyers *et al.* (2013), comprobaron que los huevos del barrenador del roble rojo *Enaphalodes rufulus* (Coleoptera: Cerambycidae) eran susceptibles a *B. bassiana*, obtenida a través de asilados naturales (ARSEF 7404) y a través de su producto comercial (cepa GHA), sobre todo en altas tasas de inoculación y después de 6 días desde la exposición. Se obtuvieron inhibiciones embrionarias del 100%, tanto con ARSEF 7404 (concentración de $6,2 \times 10^4$ conidias ml^{-1}) como con la cepa GHA (concentraciones de $6,2 \times 10^3$ y de $6,2 \times 10^4$ conidias ml^{-1}). Con concentraciones menores de ARSEF 7404 (6, 62, 620 y $6,2 \times 10^3$ conidias ml^{-1} , se conseguían inhibiciones del 18%, 0%, 0% y 45% respectivamente, al igual que con la aplicación de la cepa GHA, a concentraciones de 6, 62 y 620 conidias ml^{-1} , se conseguían inhibiciones del 55%, 27% y 91%, respectivamente.

- ***Imidacloprid.***

Los tratamientos realizados con *Imidacloprid* a la máxima dosis comercial sobre huevos de varios rangos de edad de *X. arvicola* realizan un buen control sobre esta fase de desarrollo del insecto, más concretamente con los huevos de los rangos de mayor edad, huevos de 7 a 8 días, de 5 a 6 días y de 3 a 4 días, con inhibiciones embrionarias del 86%, 92% y 86% (Figs. 5.25, 5.27 y 5.28), respectivamente. Con menor control sobre el desarrollo embrionario, tendríamos los huevos de 1 a 2 días de edad (Fig. 5.29), en la que sólo se alcanza una inhibición del 77%.

Inhibición de la embriogénesis y no eclosión de los huevos de *X. arvicola* tras la aplicación de *Imidacloprid* a la máxima dosis comercial (Figs. 5.34 y 5.35).



Figura 5.34: Aspecto de los huevos de *X. arvicola* de 1 a 2 días de edad, tras 3 días desde la aplicación de *Imidacloprid*, a la máxima dosis comercial.



Figura 5.35: Aspecto de los huevos de *X. arvicola* de 1 a 2 días de edad, tras 7 días desde la aplicación de *Imidacloprid*, a la máxima dosis comercial.

Los tratamientos realizados con *Imidacloprid* a la mínima dosis comercial sobre huevos de *X. arvicola* de 7 a 8 días de edad, realizan un control aceptable sobre esta fase de desarrollo embrionario del insecto, alcanzando una inhibición de la embriogénesis del 79% (Fig. 5.26), solamente superado por *B. bassiana*, con un 82%, (Fig. 5.26) que ya hemos descrito anteriormente que tiene un buen control sobre este estadio en los días

finales de la evaluación, y *Clorpirifos* con un 100%, (Fig. 5.26) que tiene un control total sobre el desarrollo embrionario, incluso cuando es aplicado a mínima dosis.

Mejores resultados muestran Bostanian *et al.*, (2010) en la aplicación de *Imidacloprid* a una concentración de 0,178g I.A. litro⁻¹ sobre huevos de *Neoseiulus fallacis* (Acari: Phytoseiidae), en la que consigue un 100% de eficacia en el control sobre los huevos tratados, muy superior al resto de materias activas tratadas, con los que tiene diferencias significativas, *Spinosad* (38,9%), *Tiacloprid* (2,2%), *Tiametoxam* (67,2%), *Acetamiprid*, (48,9%) y *Methoxyfenozide* (18%).

Otra forma indirecta de evaluar la actividad inhibidora de *Imidacloprid* en el desarrollo embrionario, es la detallada por Campos y Phillips (2010) quienes durante 3 días ponen en contacto en placas de Petri tratadas con *imidacloprid* a machos de la polilla India de la harina *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae), que tras la exposición a la materia activa son emparejados con hembras de *P. interpunctella*, a la que se le colocan granos de trigo, para que realice la oviposición, donde se observa que las hembras emparejadas con machos que habían sido expuestos a *Imidacloprid* redujeron la tasa de oviposición hasta un 22,7%, y se produjo una inhibición total de huevos del 66,8% (huevos no eclosionados).

Imidacloprid en el ensayo realizado demostró tener una buena capacidad de inhibición en estadios inmaduros de *X. arvicola*, sin embargo a la dosis comercial más alta aplicada no se consiguió el control total de dicho estadio (100%), únicamente los huevos de 5 a 6 días de edad, se aproximaron con un 92% de inhibición embrionaria acumulada tras 7 días de evaluación, cuando *Imidacloprid* se aplicó al 0,10%. La viabilidad de los huevos de *X. arvicola* de varias edades evaluados frente a *Imidacloprid*, varían en función de las dosis aplicadas, ya que la dosis mayor indujeron la disminución de la embriogénesis y la viabilidad del huevo, es decir, el porcentaje de eclosión del huevo.

Tan *et al.*, (2012) describen que dosis subletales (DL₅ y DL₂₅) de *Imidacloprid* en hembras de *Apolygus lucorum* Meyer-Dür (Hemiptera: Miridae) provocaban un periodo de pre-oviposición más corto, mientras que otras hembras tratadas con otra dosis subletal (DL₄₀) mostraban una reducción de la viabilidad de los huevos (el porcentaje de eclosión de los huevos era reducido), debido a la reducción del embrión durante la génesis (sólo citado para *Imidacloprid*).

Por lo tanto, se comprueba que los efectos inducidos de la exposición de distintas familias de insectos a bajas exposiciones de agentes tóxicos, que son normalmente perjudiciales o letales a altos niveles de exposición, inducen en los insectos distintas actuaciones en sus organismos (Calabrese y Baldwin, 1998, 2003; Forbes, 2000).

Antes de sacar una conclusión definitiva, sobre la capacidad de control de *Imidacloprid* sobre este estadio inmaduro de *X. arvicola*, otros ensayos deberían llevarse a cabo en otras etapas de desarrollo, que pueden mostrar otras respuestas tóxicas del insecto plaga frente a *Imidacloprid* (Terriere, 1984). Sin embargo, la forma en la que esta mortalidad embrionaria es acumulada en condiciones de laboratorio, no representan las condiciones reales del campo, sería necesario seguir trabajando en evaluar la forma en que esos efectos registrados por *Imidacloprid* pueden afectar en el campo a *X. arvicola*.

Estos ensayos realizados en laboratorio son uno de los métodos más utilizados, para evaluar la eficacia de los insecticidas, en entornos más controlados, que las condiciones variables que nos podemos encontrar en campo. Es necesario seguir trabajando para evaluar la toxicidad de *Imidacloprid* utilizando otros estadios de *X. arvicola* susceptibles de la plaga de ser tratados.

- ***Clorpirifos*.**

Los tratamientos realizados con *Clorpirifos* a la máxima dosis comercial sobre huevos de varios rangos de edad de *X. arvicola* demuestran que existen diferencias significativas entre *Clorpirifos* y el resto de materias de las materias activas utilizadas, resultando ser moderadamente tóxico, con mortalidades a los 3 días del tratamiento del 72% (Fig. 5.29), 94% (Fig. 5.28), 84% (Fig. 5.27) y 100% (Fig. 5.25), en huevos de *X. arvicola* de 1 a 2 días, de 3 a 4 días, de 5 a 6 días y de 7 a 8 días, respectivamente. En el día 6 y 7 se obtiene una mortalidad del 100% en todos los rangos de edad de los huevos de *X. arvicola* utilizados (Figs. 5.29, 5.28, 5.27 y 5.26).

Inhibición de la embriogénesis y no eclosión de los huevos de *X. arvicola* tras la aplicación de *Clorpirifos* a la máxima dosis comercial (Figs. 5.36 y 5.37).

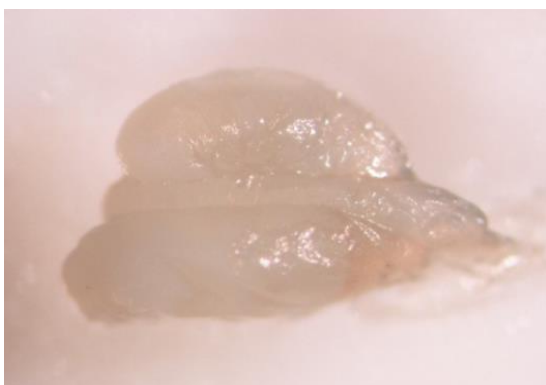


Figura 5.36: Aspecto de los huevos de *X. arvicola* de 1 a 2 días de edad, tras 3 días desde la aplicación de *Clorpirifos*, a la máxima dosis comercial.

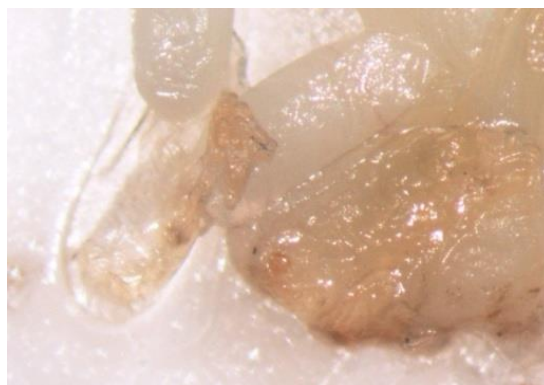


Figura 5.37: Aspecto de los huevos de *X. arvicola* de 1 a 2 días de edad, tras 7 días desde la aplicación de *Clorpirifos*, a la máxima dosis comercial.

Los tratamientos realizados con *Clorpirifos* a la mínima dosis comercial sobre huevos de 7 a 8 días de edad de *X. arvicola* demuestran de nuevo que *Clorpirifos* vuelve a tener diferencias significativas frente al resto de materias activas evaluadas a la mínima dosis comercial, pues es la única materia activa que consigue una mortalidad total del desarrollo embrionario, prácticamente desde el día 5 de evaluación, ya con un 99% de mortalidad, para ser el total en los días 6 y 7, donde ya alcanza un control total del desarrollo embrionario con un 100% de mortalidad (Fig. 5.26).

Planes *et al.* (2013) describieron los efectos de *Clorpirifos* sobre huevos de *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant (Coleoptera: Coccinellidae), obteniendo una mortalidad del 62,8%, valores muy inferiores a los obtenidos en el ensayo frente a

huevos de varios rangos de edad de *X. arvicola*.

Clorpirifos diferencias significativas con el resto de materias activas, desde las 24 h desde la aplicación, como ocurre en el ensayo a la máxima dosis comercial sobre huevos de 1 a 2 días (Fig. 5.29) y huevos de 7 a 8 días (Fig. 5.25) de edad de *X. arvicola*, o en el ensayo a la mínima dosis comercial sobre huevos de 7 a 8 días de edad (Fig. 5.26) de *X. arvicola*.

- ***Flufenoxuron*.**

En los tratamientos realizados con *Flufenoxuron* a la máxima dosis comercial sobre huevos de varios rangos de edad de *X. arvicola*, alcanza su mayor control de este estadio sobre huevos de 7 a 8 días de edad, en el que se demostró mayor porcentaje de eficacia con un 83% de inhibición embrionaria (Fig.5.25), le seguirían con un valor muy próximo los huevos de 3 a 4 días (Fig. 5.28), para concluir con huevos de 1 a 2 días (Fig. 5.29) y con huevos de 5 a 6 días (Fig. 5.27), con un 75 y un 74% % de inhibición, respectivamente.

Inhibición de la embriogénesis y no eclosión de los huevos de *X. arvicola* tras la aplicación de *Flufenoxuron* a la máxima dosis comercial (Figs. 5.38 y 5.39).



Figura 5.38: Aspecto de los huevos de *X. arvicola* de 1 a 2 días de edad, tras 3 días desde la aplicación de *Flufenoxuron*, a la máxima dosis comercial.

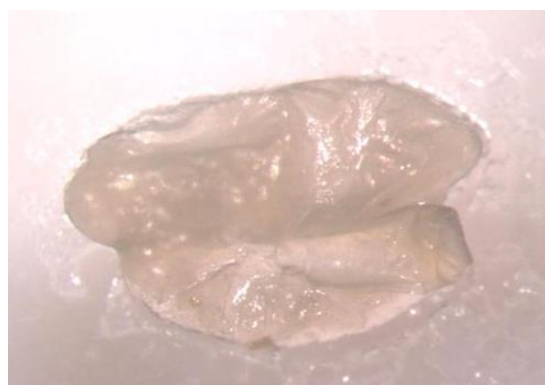


Figura 5.36: Aspecto de los huevos de *X. arvicola* de 1 a 2 días de edad, tras 7 días desde la aplicación de *Flufenoxuron*, a la máxima dosis comercial.

En los tratamientos realizados con *Flufenoxuron* a la mínima dosis comercial sobre huevos de 7 a 8 días de edad de *X. arvicola*, se obtiene una eficacia en el control de dicho estadio 75% (Fig. 5.26), que no difiere significativamente cuando dicha materia es aplicada a la máxima dosis comercial sobre huevos de distintos rangos de edad de *X. arvicola*. De hecho, la mortalidad alcanzada a los 7 días desde la evaluación (75%), es la misma que la que se obtiene con la misma materia activa cuando es aplicada a la máxima dosis comercial sobre huevos de 1 a 2 días de edad de *X. arvicola* (Fig. 5.29), y no difiere significativamente de la obtenida para huevos de 7 a 8 días de edad (83%) (Fig. 5.25), en el ensayo a máxima dosis comercial.

Similares resultados a los obtenidos en los ensayos sobre huevos de 1 a 2 días y de 5 a

6 días (máxima dosis comercial) y huevos de 7 a 8 días (mínima dosis comercial) de *X. arvicola*, son los aportados por Santolamazza-Carbone y Fernández de Ana-Magán (2004), quienes evalúan la capacidad inhibidora de *Flufenoxuron* frente a huevos de 1 a 2 días de edad de *Gonipterus scutellatus* Gyllenhal (Coleoptera: Curculionidae), en condiciones de laboratorio, obteniendo una mortalidad del 74,5%, pero durante 15 días de evaluación.

Otra forma de evaluar la capacidad de *Flufenoxuron* frente a la inhibición de huevos, es la descrita por Pascual *et al.*, (2012), en la que alimentaron durante 3 días a hembras de la mosca del olivo, *Bactrocera oleae* Rossi (Diptera: Tephritidae), con dietas en las que diluían diferentes insecticidas reguladores del crecimiento, entre los que se encontraba *Flufenoxuron*. En cuanto a la tasa de fecundidad no se vió alterada, pasando de un 6,9% en el primer día al 19,3% en el día séptimo, pero en cuanto a la mortalidad de los huevos que se recogieron durante los 7 días de la evaluación, se produjo una mortalidad embrionaria del 66,0% y 73,1% en las puestas de recogidas en los dos primeros días, para concluir con un 39,9% en las puestas del séptimo día.

Flufenoxuron, un insecticida de segunda generación de benzoilureas, sólo afectan a la fase final de la embriogénesis, afectando a la quitina que forma la boca del embrión, impidiendo que esta adquiera rigidez para poder permitirle la eclosión del huevo (Wilson y Cryan, 1997).

- ***Piriproxifen.***

En los tratamientos realizados con *Piriproxifen* a la máxima dosis comercial sobre huevos de varios rangos de edad de *X. arvicola*, se obtienen buenos resultados frente a huevos de 3 a 4 días, 92% (Fig. 5.28) y huevos de 7 a 8 días, 95% (Fig. 5.25), superando en ambos casos el 90% de inhibición embrionaria. Menor control se observa con huevos de 1 a 2 días, 76% (Fig. 5.29) y huevos de 5 a 6 días, 88% (Fig. 5.27). En todos los rangos de edad de huevos evaluados, se supera el 50% de inhibición de la embriogénesis en el día 4 de la evaluación, para acabar con valores superiores al 76% como hemos descrito anteriormente. Inhibición de la embriogénesis y no eclosión de los huevos de *X. arvicola* tras la aplicación de *Piriproxifen* a la máxima dosis comercial (Figs. 5.40 y 5.41).

En los tratamientos realizados con *piriproxifen* a la mínima dosis comercial sobre huevos de 7 a 8 días de edad de *X. arvicola*, se obtienen peores resultados que los obtenidos cuando *Piriproxifen* es aplicado a la máxima dosis comercial, pues tras 7 días de evaluación se consigue inhibir poco más del 50% de la población embrionaria, concretamente un 57% (Fig. 5.26) de los huevos de 7 a 8 días de edad tratados.

Mejores resultados son los expuestos por Abo-Elghar *et al.* (2003) que al tratar los huevos (0 a 24 h de edad) de *Callosobruchus maculatus* Fabricius 1775 (Coleoptera: Bruchidae) puestos sobre semillas de frijol, y tratados con *Piriproxifen* (100g/l⁻¹ EC) en concentraciones del 50% durante 9 días de tratamiento obtenían una inhibición del 91,9%, valor muy superior al obtenido en el ensayo (76% inhibición) frente a huevos de 1 a 2 días de *X. arvicola*.



Figura 5.40: Aspecto de los huevos de *X. arvicola* de 3 a 4 días de edad, tras 4 días desde la aplicación de *Piriproxifen*, a la máxima dosis comercial.



Figura 5.41: Aspecto de los huevos de *X. arvicola* de 3 a 4 días de edad, tras 7 días desde la aplicación de *Piriproxifen*, a la máxima dosis comercial.

García Ruiz (2009), en su tesis doctoral, aplica *Piriproxifen* a huevos (0 a 24 h de vida) de *X. arvicola*, a los 3 días de realizar el ensayo alcanza el 50% de inhibición, datos que coinciden con los obtenidos en nuestro ensayo pues a los 3 días de la aplicación de *Piriproxifen* se obtienen inhibiciones del 50% y del 54% en huevos de 7 a 8 y de 3 a 4 días de edad de *X. arvicola*, para concluir con una inhibición embrionaria del 90%, valor muy superior al obtenido en nuestro ensayo cuando *Piriproxifen* era aplicado a la máxima dosis comercial obre huevos de 1 a 2 días, obteniendo solamente una inhibición del 76%.

Piriproxifen posee un amplio rango de acción y buenos resultados obtenidos frente a varias familias de insectos, pues Mendel *et al.*, (1994) describe que la aplicación de *Piriproxifen* sobre acículas de pino, antes o después de la oviposición de 6 especies diferentes de insectos (entre las que se incluyen dos especies de coleópteros), inhibían totalmente la eclosión de los huevos. A todo esto hay que sumar que *Piriproxifen* tiene efectos residuales cortos en el tiempo, y su aplicación debe ser muy precisa en el tiempo, debido a su escasa estabilidad en campo y siempre dirigida a los lugares en los que la posibilidad de alcanzar al estado de desarrollo susceptible de la plaga sea máxima (García Ruiz, 2009).

Silhacek *et al.* (1994) demostraron que las aplicaciones de *Piriproxifen* durante unos segundos sobre huevos de *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae) impedían la eclosión de los huevos, el desarrollo inicial larvario o completar el desarrollo embrionario, dependiendo de la hora de aplicación y de la concentración aplicada. Resultados similares fueron aportados por Mkhize (1993) que demostró que el tratamiento sobre huevos de corta edad del falso gorgojo de la harina *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae) impedían el desarrollo embrionario, no así con los huevos de más edad, que eran insensibles al tratamiento, al igual que lo obtenido en el ensayo sobre huevos de 7 a 8 días de edad de *X. arvicola*, cuando *Piriproxifen* era aplicado a la mínima dosis comercial, alcanzando un 57% de la inhibición de la embriogénesis.

Los resultados en cuanto al control embrionario demostrado por los insecticidas reguladores del crecimiento de insectos frente a huevos de varios rangos de edad de *X. arvicola*, hacen de estos insecticidas una herramienta a la hora de diseñar una nueva

estrategia de control integrado contra aquellas especies plaga de insectos barrenadores que se desarrollan en el interior de las plantas huésped durante la mayor parte de su ciclo de vida, a los que es imposible acceder sin destruir la planta, y en la que uno de sus estadios más sensibles como es el del huevo se da en el exterior de las plantas atacadas, donde la aplicación de *Piriproxifen*, durante los 10 días posteriores a las emergencias de adultos de *X. arvicola* en viñedo, pueden tener gran efectividad sobre los estadios inmaduros de dicha especie, ya que García Ruiz (2009) describe que el 80% de las hembras que se crían en la madera de vid, realizaban sus puestas en los 10 primeros días desde la emergencia.

- **Agua destilada (testigo).**

La aplicación de agua destilada sobre huevos de varios rangos de edad de *X. arvicola*, como testigo en el ensayo en el que se evaluaron el resto de materias activas a la máxima dosis comercial, no produjo ningún efecto nocivo, las inhibiciones obtenidas 15% (Fig. 5.25), 40% (Fig. 5.27), 28% (5.28) y 24% (Fig. 5.29), sobre huevos de 7 a 8 días, de 5 a 6 días, de 3 a 4 días y de 1 a 2 días respectivamente, son poco significativas, comparadas con el resto de las materias activas testadas. Las bajas inhibiciones obtenidas se pueden deber a factores genéticos de la hembra, fecundación, viabilidad, inanición de las larvas... Por el contrario, la inocuidad del agua destilada sobre huevos de *X. arvicola*, no interfiere en la eclosión de las larvas neonatas, produciéndose una eclosión de los huevos y una viabilidad larvaria del 85% en huevos de 7 a 8 días (Fig. 5.25), 60% en huevos de 5 a 6 días (Fig. 5.27), 72% en huevos de 3 a 4 días (Fig. 5.28) y 76% en huevos de 1 a 2 días (Fig. 5.29).

Eclosión de los huevos de *X. arvicola* tras la aplicación del tratamiento de control con agua destilada (Figs. 5.42 y 5.43).



Figura 5.42: Aspecto de los huevos de *X. arvicola* de 3 a 4 días de edad, tras 3 días desde la aplicación de agua destilada.



Figura 5.43: Aspecto de los huevos de *X. arvicola* de 3 a 4 días de edad, tras 7 días desde la aplicación de agua destilada.

La aplicación de agua destilada sobre huevos de 7 a 8 días de edad de *X. arvicola*, como testigo en el ensayo en el que se evaluaron el resto de materias activas a la mínima dosis comercial, no produjo ningún efecto nocivo alguno sobre ellos, inhibición obtenida del 24% (Fig. 5.26), es poco significativa, comparada con el resto de las materias activas testadas. La inocuidad del agua destilada sobre huevos de *X. arvicola*, produce una viabilidad del 76% en huevos de 7 a 8 días (Fig. 5.26).

5.3.1.2.- Ensayo sobre larvas neonatas (<24h) de *X. arvicola*.

Una vez realizado el análisis estadístico se comprueba que existen diferencias significativas entre las distintas materias activas cuando son aplicadas a la máxima dosis comercial (Fig. 5.44) y a la mínima dosis comercial (Fig. 5.45) sobre larvas neonatas (<24h) de *X. arvicola*.

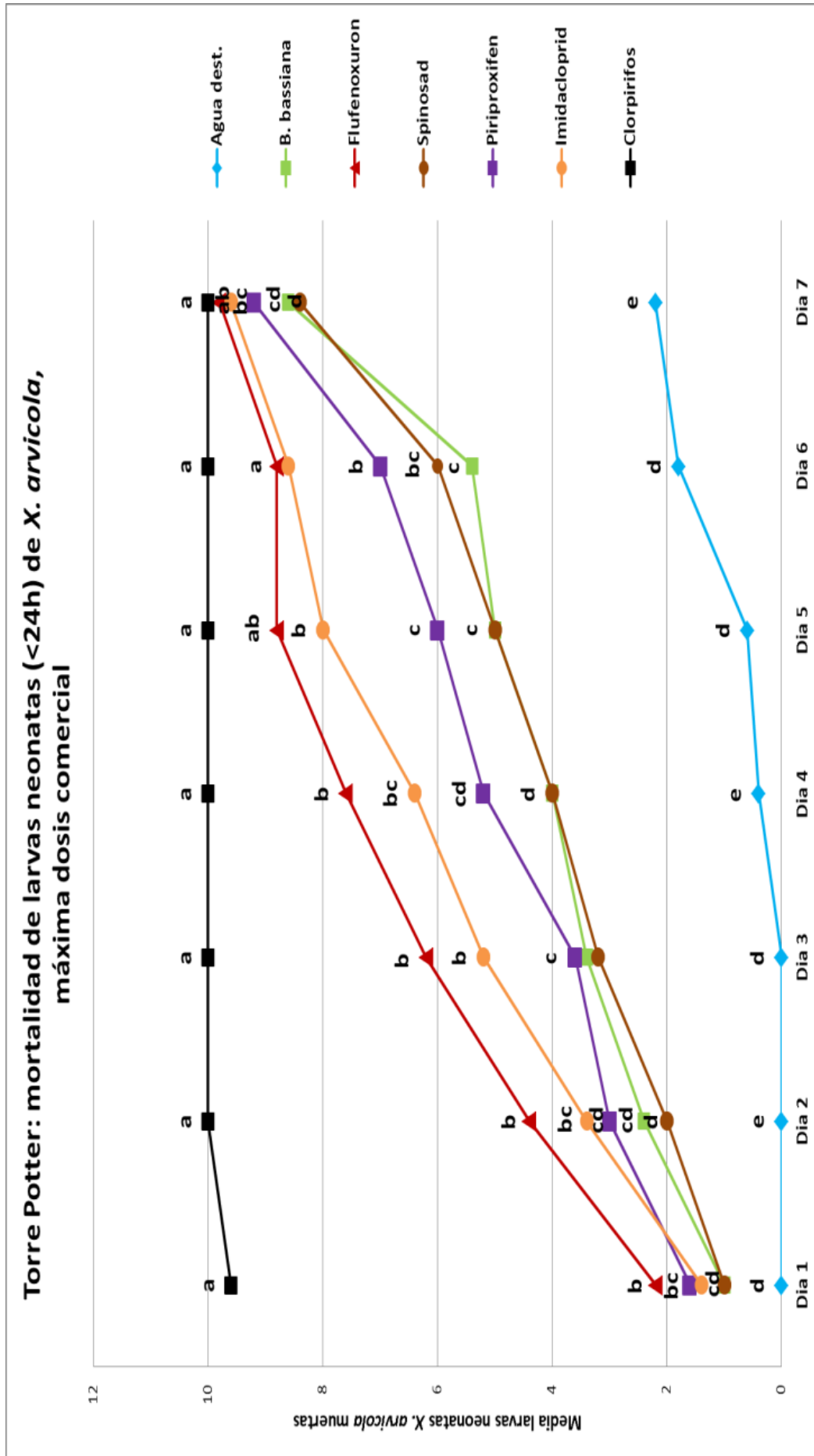


Figura 5.44: Evolución de la mortalidad de larvas neonatas (<24h) de *X. arvicola* tras la aplicación de distintas materias activas a la máxima dosis comercial. Letras diferentes en los índices muestran diferencias significativas entre las distintas materias activas para un mismo día de conteo ($P < 0,05$, test DMS).

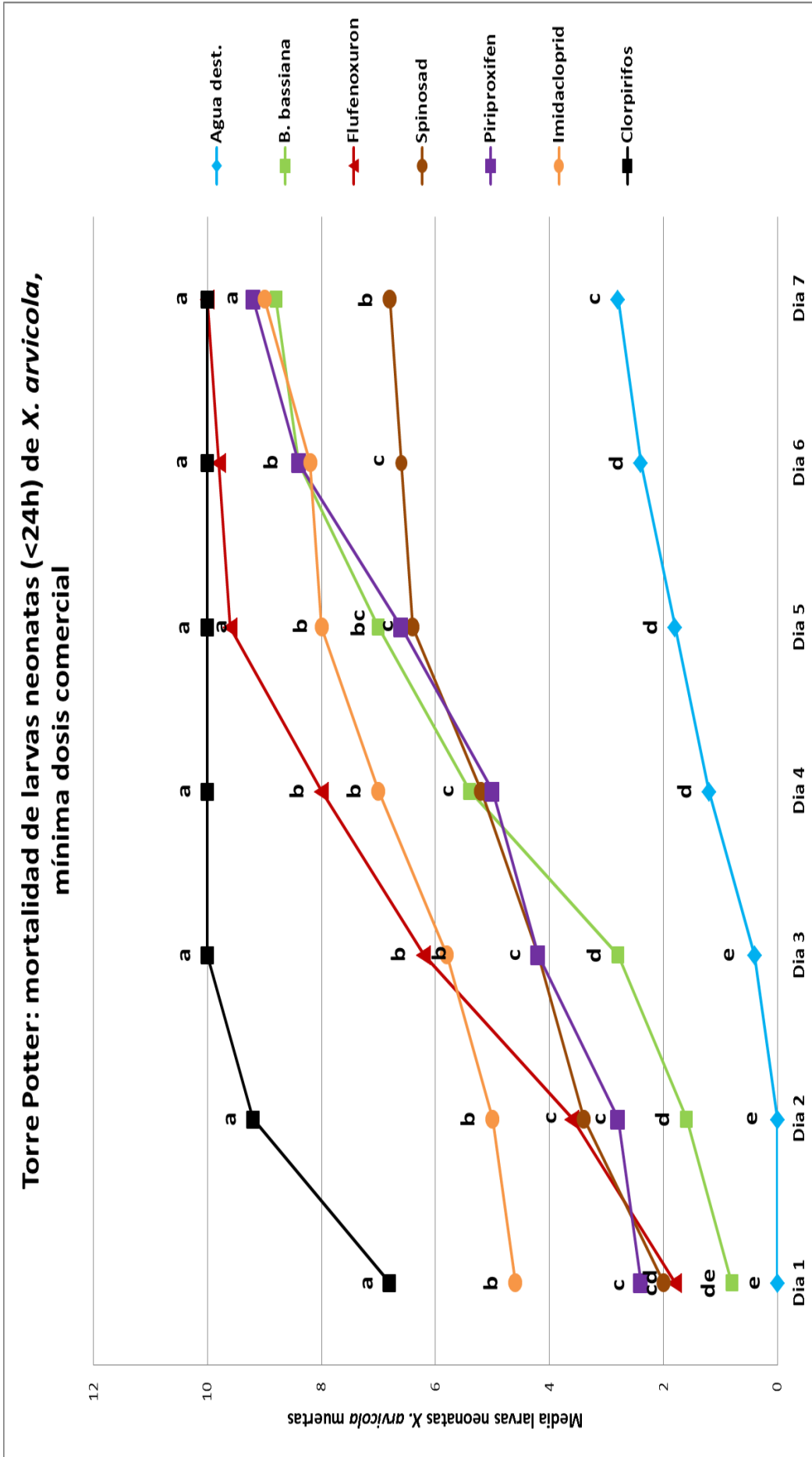


Figura 5.45: Evolución de la mortalidad de larvas neonatas (<24h) de *X. arvicola* tras la aplicación de distintas materias activas a la mínima dosis comercial. Letras diferentes en los índices muestran diferencias significativas entre las distintas materias activas para un mismo día de conteo ($P < 0,05$, test DMS)

En relación a los resultados obtenidos por cada materia activa aplicada tanto a la máxima como a la mínima dosis comercial, durante los 7 días de evaluación, sobre larvas neonatas (<24h) de *X. arvicola* se puede decir:

- ***Spinosad*.**

Los tratamientos realizados con *Spinosad*, a la máxima dosis comercial, sobre larvas neonatas de *X. arvicola*, mostraron buenos resultados en cuanto a la mortalidad alcanzada sobre larvas neonatas de *X. arvicola*, en el día 5 (Fig. 5.44) se consigue una reducción de la población larvaria del 50%, llegando a una mortalidad larvaria final en el día 7 de evaluación del 84% (Fig. 5.44). Dentro de las materias activas evaluadas a máxima dosis comercial, *Spinosad* es la que peores datos muestra en cuanto a mortalidad larvaria, superado por *B. bassiana* (86%), *Piriproxifen* (92%), *Imidacloprid* (94%), *Flufenoxuron* (98%), y *Clorpirifos* (100%).

Mortalidad de larvas neonatas de *X. arvicola* tras la aplicación de *Spinosad* a la máxima dosis comercial (Figs. 5.46 y 5.47).



Figura 5.46: Aspecto de las larvas neonatas de *X. arvicola*, tras 4 días desde la aplicación de *Spinosad*, a la máxima dosis comercial.



Figura 5.47: Aspecto de las larvas neonatas de *X. arvicola*, tras 7 días desde la aplicación de *spinosad*, a la máxima dosis comercial.

Los tratamientos realizados con *Spinosad*, a la mínima dosis comercial, sobre larvas neonatas de *X. arvicola*, mostraron baja mortalidad, si bien en el día 4 (Fig. 5.45) se consigue una reducción de la población larvaria del 52%, posteriormente, en los 3 días restantes, solamente se llega a un 68% de mortalidad larvaria en el día 7 de evaluación (Fig. 5.45). De nuevo, *Spinosad* es la materia activa que peores resultados muestra, *B. bassiana* (88%), *Imidacloprid* (90%), *Piriproxifen* (92%), *Flufenoxuron* (100%), y *Clorpirifos* (100%).

Mortalidad de larvas neonatas de *X. arvicola* tras la aplicación de *Spinosad* a la mínima dosis comercial (Figs. 5.48 y 5.49).



Figura 5.48: Aspecto de las larvas neonatas de *X. arvicola*, tras 4 días desde la aplicación de *Spinosad*, a la mínima dosis comercial.



Figura 5.49: Aspecto de las larvas neonatas de *X. arvicola*, tras 7 días desde la aplicación de *Spinosad*, a la mínima dosis comercial.

Los resultados obtenidos coincide con los datos expuestos por Adán *et al.* (1996), donde describen que *Spinosad*, tiene una mejor eficacia larvaria sobre *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae), que la eficacia ovicida descrita frente a la misma especie, consiguiendo una reducción en la población larvaria del 84% en larvas que eran mantenidas en dietas artificiales, en las que se había añadido *Spinosad*. *Spinosad* añadido en la dieta o pulverizado directamente sobre larvas de *C. capitata*, obtienen un 84% de mortalidad larvaria, similar resultado al obtenido por *Spinosad* cuando es aplicado a la máxima dosis comercial sobre larvas neonatas de *X. arvicola*.

Cutler *et al.* (2005) obtienen valores del 50% de mortalidad en larvas de segundo estadio de *Leptinotarsa decemlineata* (Coleoptera: Chrysomelidae) tras 5 días desde la aplicación de *Spinosad*, con una concentración de $9,4 \times 10^{-5}$ g litro^{-1} , misma mortalidad pero en nuestro caso sobre larvas neonatas de *X. arvicola* es obtenido para el mismo periodo de evaluación cuando *spinosad* es aplicado a la máxima dosis comercial, no así cuando se aplica a la mínima dosis comercial, en el que se obtiene una mortalidad superior, del 64% para el quinto día de evaluación, que significa una mayor mortalidad conseguida con menor cantidad de materia utilizada. En el mismo ensayo realizado por Cutler *et al.* (2005) sobre otra población de larvas de segundo estadio de *L. decemlineata*, logra alcanzar una mortalidad acumulada del 95% en el cuarto y quinto día desde la aplicación de *Spinosad*, con una concentración de $2,9 \times 10^{-4}$ g litro^{-1} , valores muy superiores a los obtenidos en el quinto día tras la aplicación de *Spinosad* en el ensayo sobre larvas neonatas de *X. arvicola*, mientras que si los comparamos con Podizi-Metaxa y Athanassiou (2013) que evalúan la capacidad de *Spinosad*, concentraciones de 0,5 y 1 ppm, frente a larvas de *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae) y obtienen mortalidades del 84,5% y 89,4%, respectivamente, tras 21 días desde la aplicación del tratamiento, observamos que en nuestros resultados con *Spinosad* frente a larvas neonatas de *X. arvicola*, aun siendo menores, tanto a máxima como a mínima dosis comercial, se pueden considerar satisfactorios, pues en 7 días de evaluación (que son un tercio de los 21 días en los que Podizi-Metaxa y Athanassiou (2013) evalúan la materia activa), se alcanzan valores muy próximos en mortalidad (84%) cuando *Spinosad* es aplicado a la máxima dosis comercial, y valores altos (68%) cuando es aplicado a la mínima dosis comercial.

Los datos obtenidos sugieren que *Spinosad* es un insecticida moderadamente tóxico frente a larvas neonatas de *X. arvicola*, y la toxicidad mostrada por *Spinosad* se ha descrito como menor que la de los insecticidas convencionales (Galvan *et al.*, 2005b). Los resultados obtenidos sobre larvas de *X. arvicola*, sugieren que *Spinosad* no es del todo efectivo para el control de esta etapa inmadura de desarrollo del insecto, no así en su etapa adulta, donde se han observado los efectos letales. Si valoramos la posibilidad de introducir *Spinosad* en un MIP sobre *X. arvicola* en viñedo, hay que destacar que *Spinosad*, ha mostrado actividad insecticida frente a parasitoides de otras plagas (Williams *et al.*, 2003) mientras que son sólo unos pocos los estudios que han documentado el efecto dañino frente a depredadores de otras plagas (Tillman y Mulrooney, 2000; Mori y Gotoh, 2001).

Spinosad es un insecticida relativamente nuevo, en comparación con los insecticidas tradicionales, que ha mostrado baja toxicidad para los enemigos naturales de plagas de insectos. La selectividad de este insecticida se atribuye a cambios en la alimentación, comportamientos de los depredadores, modo de acción único y a su bioactivación.

- ***Beauveria bassiana*.**

Los tratamientos realizados con *B. bassiana*, a la máxima dosis comercial y concentración, sobre larvas neonatas de *X. arvicola*, pueden considerarse como satisfactorios para el control de larvas neonatas de *X. arvicola*, si bien, en los tres primeros días de evaluación presenta valores muy bajos de mortalidad larvaria, del 10% al 34% (Fig. 5.44), los valores finales que muestra, llegando al 86% (Fig.5.44) de mortalidad en el séptimo día de la evaluación, hacen de *B. bassiana* una buena herramienta a utilizar en el control integrado sobre larvas neonatas de *X. arvicola*.

Mortalidad de larvas neonatas de *X. arvicola* tras la aplicación de *B. bassiana* a la máxima dosis comercial (Figs. 5.50 y 5.51).



Figura 5.50: Aspecto de las larvas neonatas de *X. arvicola*, tras 3 días desde la aplicación de *B. bassiana*, a la máxima dosis comercial.



Figura 5.51: Aspecto de las larvas neonatas de *X. arvicola*, tras 7 días desde la aplicación de *B. bassiana*, a la máxima dosis comercial.

Los tratamientos realizados con *B. bassiana*, a la mínima dosis comercial, muestran baja mortalidad de la población larvaria en los tres primeros días, (8%, 16% y 28%) (Fig.5.45). En el día 4 de evaluación la mortalidad larvaria es del 54%, llegando al último día de evaluación, día 7, con un 88% de mortalidad, valor muy similar al

obtenido con la máxima dosis comercial (86%).

Mortalidad de larvas neonatas de *X. arvicola* tras la aplicación de *B. bassiana* a la mínima dosis comercial (Figs. 5.52 y 5.53).



Figura 5.52: Aspecto de las larvas neonatas de *X. arvicola*, tras 3 días desde la aplicación de *B. bassiana*, a la mínima dosis comercial.



Figura 5.53: Aspecto de las larvas neonatas de *X. arvicola*, tras 3 días desde la aplicación de *B. bassiana*, a la mínima dosis comercial.

Las larvas infectadas y muertas, en los tratamientos a máxima y a mínima dosis comercial, se volvieron de color rosa, rígidas al tacto (Figs. 5.51 y 5.53), al igual que las larvas neonatas (<24h) de *Enaphalodes rufulus* (Coleoptera: Cerambycidae), descritas por Meyers *et al.* (2013). En general, las larvas son más susceptibles a los hongos que los adultos, ya que tienen cutículas más finas que los adultos.

Peores resultados son los obtenidos por Mitsuaki *et al.* (2002), en el que describe a *B. bassiana* para el control de larvas de otros coleopteros cerambícidos, consiguiendo un control medio sobre larvas de *Anoplophora glabripennis* (Coleoptera: Cerambycidae), que tratadas con *B. bassiana* F-263 (aislamiento realizado en Japón), a mayor concentración (10^7 conidias/ml), sólo consigue una mortalidad de larvas de *A. glabripennis*, en torno al 50%. Menores concentraciones de *B. bassiana* F-263 (10^6 , 10^5 , 10^4 y 10^3 conidias/ml) muestran una mortalidad larvaria del 40%, 35%, 10% y 5%, respectivamente. Al igual que en nuestro ensayo sobre larvas neonatas de *X. arvicola*, las larvas de *A. glabripennis*, no mueren en el momento de la aplicación de la materia activa, sino que mueren varios días después de entrar en contacto con la materia activa, en el momento en el que las hifas del hongo penetran en el interior del hemocele de la larva.

Los resultados obtenidos, son bastante aceptables respecto al control de larvas neonatas de *X. arvicola*, pero son inferiores a los expuestos por Jia-Ning y Rong-Ping (2002) sobre el control que ejerció *B. bassiana*, sobre larvas neonatas de *Xylotrechus quadripes* (Coleoptera: Cerambycidae), en condiciones de laboratorio. Una menor concentración aplicada de *B. bassiana* ($1,5 \times 10^{10}$ conidias/g), provocó mayores mortalidades larvarias acumuladas (98,7%), registradas a los 15 días de evaluación.

Otro de los ensayos en los que *B. bassiana* ha demostrado un efecto patogénico más violento y rápido, que el obtenido para larvas de *X. arvicola* (86% de mortalidad en 7 días), ha sido sobre larvas de *Saperda populnea* (Coleoptera: Cerambycidae), en el que concentraciones de 10^8 y 10^7 conidias/ml, tienen un control total de la plaga,

ocasionando el 100% de mortalidad larvaria en 4,4 y 4,6 días, respectivamente. Si por el contrario, la concentración aplicada es menor, 10^6 conidias/ml, disminuye su eficacia en el control larvario de *S. populnea* hasta el 55,6%, prolongándose en el tiempo hasta 6 días, con una dosis letal del 50% (Eken *et al.*, 2006).

Los resultados obtenidos son muy similares a los obtenidos por Jia-Ning y Rong-Ping (2002) sobre el control que ejerció *B. bassiana*, sobre larvas neonatas de *Acalolepta cervinus* (Coleoptera: Cerambycidae), en condiciones de laboratorio, en donde con una menor concentración aplicada de *B. bassiana*, $1,5 \times 10^{10}$ conidias/g, provoca una mortalidad larvaria mayor a la obtenida en este trabajo (93% en larvas de *A. cervinus* frente al 88% en larvas de *X. arvicola*), durante más días de tratamiento (15 días, frente a 7 días).

Liu y Bauer (2006), describen la gran eficacia de tres aislados de *B. bassiana* (ARSEF 7152, ARSEF 6393 y GHA) frente a adultos de *Agrilus planipennis* (Coleoptera: Buprestidae). Aplicando cada aislado en dos concentraciones distintas (10^6 y 10^7 conidias/ml), observan mejores resultados en la mayor concentración de esporas de cada aislado, con tiempos letales en la especie de 4,2; 4,7 y 4,2 días, respectivamente.

Mayor eficacia sobre el control de larvas neonatas de coleópteros cerambícidos es la obtenida por Meyers *et al.* (2013), sobre el barrenador del roble rojo *Enaphalodes rufulus* (Coleoptera: Cerambycidae), en donde la susceptibilidad de *B. bassiana* (cepa GHA) sobre dichas larvas alcanza mortalidades del 100%, en la concentración de $5,9 \times 10^3$ conidias ml^{-1} . Cuando las concentraciones son 6, 59 y 590 conidias ml^{-1} , muestran una mortalidad del 70%, 50% y 70%, respectivamente, 4 días desde el tratamiento. Similares resultados son los obtenidos en nuestro trabajo, donde el cuarto día tras la aplicación de *B. bassian*, aplicada a la máxima dosis comercial, a larvas neonatas de *X. arvicola*, a una concentración de $4,4 \times 10^{10}$ conidias/g, se consigue una mortalidad del 54% y 88%, en el cuarto y en el séptimo día, respectivamente.

Dubois *et al.* (2008) describen que la presencia de *B. bassiana* en las plantas tratadas de banano *Musa* spp. (*Musaceae*), redujo el daño de larvas del picudo del banano, *Cosmopolites sordidus* (Coleoptera: Curculionidae), debido a que se ralentizó el desarrollo de las larvas, causada por la infección del hongo. *B. bassiana* sobre maíz (*Zea mays* L.), reducen la colonización y ataque producido en la planta por las larvas de *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera: Crambidae) (Bing y Lewis, 1991) y *Sesamia calamistis* Hampson (Lepidoptera: Noctuidae) (Cherry *et al.*, 2004).

Los resultados presentados, demuestran un efecto patogénico alto de *B. bassiana* sobre larvas de coleópteros cerambícidos, bajo condiciones de laboratorio, por lo que habría que llevar a campo estos ensayos, para evaluar la patogeneicidad del hongo en condiciones naturales.

Aunque este hongo entomopatógeno ha demostrado un buen control de *X. arvicola* cuando es aplicado a la máxima dosis comercial (125g/hl) y a la mínima dosis comercial (62,5 g/hl), sobre larvas de *X. arvicola* (86% y 88% de mortalidad, respectivamente a cada dosis comercial descrita), el hecho de no lograr el control total de los estadios (100% de mortalidad), demuestra que *B. bassiana* no realizará un control biológico total frente a larvas neonatas de *X. arvicola*. Es por ello, que se evaluará también el comportamiento de *B. bassiana* sobre adultos de *X. arvicola*, para lograr un control total

de la especie, ya que será necesario que el hongo pueda matar a los adultos antes de que completen la oviposición. Es muy importante determinar cuándo y cómo esta materia activa es utilizada para que se produzca un efecto de biocontrol correcto, a partir de que se inicie la emergencia de adultos de *X. arvicola* en viñedo, y evitar las oviposiciones por parte de la hembra.

Un mal uso de los insecticidas biológicos, y el hecho de no tener un definido un periodo en las emergencias de las poblaciones plaga de los coleóptero barrenadores de la madera a tratar, pueden dar como resultado, un control no satisfactorio, un alto costo en la aplicación de los mismos y una posible resistencia desarrollada hacia insecticidas de origen biológico, dando lugar a graves problemas ambientales hacia el ecosistema local y hacia la salud de los agricultores. El hecho de introducir un insecticida biológico frente a *X. arvicola*, es parte del MIP que se intenta desarrollar sobre dicho coleóptero cerambícido, con el fin de proteger los enemigos naturales, la salud humana y el medio ambiente de las denominaciones de origen donde incide la plaga.

- ***Imidacloprid.***

Los tratamientos realizados con *Imidacloprid*, a la máxima dosis comercial sobre larvas neonatas (<24h) de *X. arvicola* muestran tener una menor efectividad que *Clorpirifos* y *Flufenoxuron*, en los primeros días de tratamiento, se observa que no es hasta el 3^{er} día de evaluación en el que se alcanza el 52% de reducción en la población larvaria (Fig. 5.44), e incluso al final de la evaluación (séptimo día), donde sólo se alcanza el 96% de la mortalidad larvaria (Fig. 5.44), de nuevo es superado por *Clorpirifos* y *Flufenoxuron* 100% y 98% de mortalidad respectivamente.

Mortalidad de larvas neonatas de *X. arvicola* tras la aplicación de *Imidacloprid* a la máxima dosis comercial (Figs. 5.54 y 5.55).



Figura 5.54: Aspecto de las larvas neonatas de *X. arvicola*, tras 3 días desde la aplicación de *Imidacloprid*, a la máxima dosis comercial.

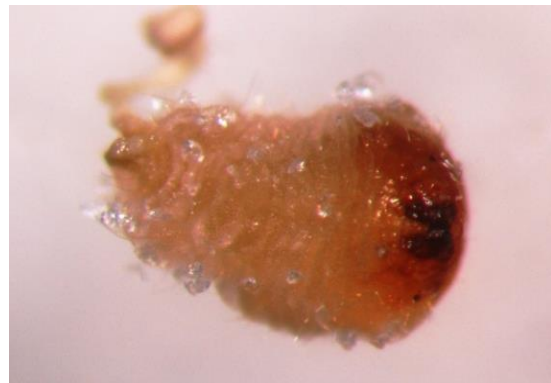


Figura 5.55: Aspecto de las larvas neonatas de *X. arvicola*, tras 7 días desde la aplicación de *Imidacloprid*, a la máxima dosis comercial.

Los tratamientos realizados con *Imidacloprid*, a la mínima dosis comercial, sobre larvas neonatas de *X. arvicola*, producen una mortalidad larvaria inicialmente alta (reducción de la población larvaria al 50% tras 2 días desde la aplicación) (Fig. 5.45), en los días posteriores, la mortalidad acumulada continua incrementándose, pero lo hace a menor

ritmo que el resto de materias activas testadas, hasta llegar al día séptimo de evaluación al 90% de mortalidad larvaria (Fig. 5.57), que sólo supera en mortalidad larvaria a el control (28%) y a *B. bassiana* (88%).

Mortalidad de larvas neonatas de *X. arvicola* tras la aplicación de *Imidacloprid* a la mínima dosis comercial (Figs. 5.56 y 5.57).



Figura 5.56: Aspecto de las larvas neonatas de *X. arvicola*, tras 3 días desde la aplicación de *Imidacloprid*, a la mínima dosis comercial.



Figura 5.57: Aspecto de las larvas neonatas de *X. arvicola*, tras 7 días desde la aplicación de *Imidacloprid*, a la mínima dosis comercial.

Diferentes resultados son los mostrados por Cutler *et al.* (2005), pues no consiguen hasta el quinto día tras la aplicación de *Imidacloprid*, con una concentración de 0,11 mg/l, una mortalidad del 50% de la población de larvas de segundo estadio de *Leptinotarsa decemlineata* (Coleoptera: Chrysomelidae), mientras que para el mismo periodo de tiempo de evaluación, *Imidacloprid* con una concentración del 48% p/v, a la máxima y a la mínima dosis comercial en esta tesis se consigue una mortalidad del 80% sobre larvas neonatas (<24h) de *X. arvicola* en ambos tratamientos. No así cuando Cutler *et al.* (2005) aplican *Imidacloprid* con una concentración de 0,76 mg/l sobre el mismo estadio larvario de *L. decemlineata*, pues obtiene mortalidades del 95% de la población, valores muy superiores a los obtenidos en el quinto día tras la aplicación con *Imidacloprid* en el ensayo frente a larvas neonatas (<24h) de *X. arvicola*.

Otra forma de evaluar la toxicidad sistémica de *imidacloprid* sobre larvas de coleópteros cerambícidos, es la descrita por Poland *et al.* (2006), en la que diluyen *Imidacloprid* en concentraciones de 1,6 y 160 ppm en dietas artificiales donde se alimentaban las larvas de *Anoplophora glabripennis* Motschulsky (Coleoptera: Cerambycidae) y *Plectrodera scalator* (F.) (Coleoptera: Cerambycidae), consiguiendo una mortalidad de larvaria del 60% en *A. glabripennis* y del 100% en *P. scalator*, tras 14 semanas, en las que las larvas de ambos insectos se estuvieron alimentando de la dieta en la que se diluyó *Imidacloprid*.

Los resultados obtenidos demuestran que *Imidacloprid* es tóxico frente a larvas neonatas de *X. arvicola*, puesto que en ambos tratamiento (máxima y mínima dosis comercial), se consigue una mortalidad del 90% o superior. Las larvas de estos coleópteros cerambícidos, precisan de periodos prolongados frente a los insecticidas, para que estas mueran antes de que se introduzcan en la madera (Poland *et al.*, 2006), en

nuestro ensayo frente a larvas neonatas de *X. arvicola*, el mejor de los resultados obtenidos, alcanza un 94% de mortalidad tras 7 días desde la aplicación de *Imidacloprid*. Algunas larvas de *X. arvicola*, siguieron sin alimentarse y estando expuestas a la materia activa, no muriendo tras los 7 días en los que finalizaba el ensayo, esto es típico de muchas larvas barrenadoras de madera, que son capaces de mantenerse con vida habiendo dispuesto de poca o ninguna comida durante prolongados periodos de tiempo (Linsley, 1943; Smith, 1962; Haack y Slánsky, 1986).

La mortalidad de las larvas neonatas de *X. arvicola* era probablemente por una combinación de hambre y los efectos tóxicos acumulados mediante el discurrir de las larvas sobre el residuo aplicado sobre las placas Petri. Elbert *et al.* (1991) demostraron que el *Imidacloprid* es tanto una toxina, como una sustancia anti alimentaria. Puede que sea necesario completar los ensayos realizados con una concentración más alta a la empleada, 48% p/v, y más tiempo de evaluación del tratamiento para experimentar mayores niveles de mortalidad sobre larvas neonatas de *X. arvicola*. La máxima dosis aplicada de *Imidacloprid*, 0,10%, parece tener un mayor efecto tóxico y anti alimentario, que el que produjo la misma materia activa, con similar concentración, cuando es aplicada a la mínima dosis, 0,05%).

Para llevar a cabo con éxito una gestión integrada sobre larvas neonatas de *X. arvicola* se precisará de un insecticida sistémico, como puede ser *Imidacloprid*, para el cual necesitaremos, una concentración superior a la empleada, 48% p/v, una máxima dosis comercial, 0,10%, y con mayor persistencia en el tiempo, pues las larvas pueden sobrevivir en el exterior de la madera, sin comer durante periodos prolongados y estando en contacto con la materia activa. Si los insecticidas no son persistentes, es posible que las larvas neonatas de *X. arvicola* puedan reanudar de nuevo la alimentación hacia el interior de la madera y de esa forma completar el ciclo de desarrollo completo, con el consiguiente daño para la planta.

- ***Clorpirifos.***

Los tratamientos realizados con *Clorpirifos*, a la máxima dosis comercial, sobre larvas neonatas de *X. arvicola* demostraron ser los más efectivos para su control, obteniendo un 100% de mortalidad a los 2 días desde la aplicación (Fig. 5.44). Destaca la eficacia que muestra en la primera evaluación (24 horas tras la aplicación), con una mortalidad del 96%. A partir del día 2, la mortalidad larvaria es del 100% (Fig. 5.44).

Mortalidad de larvas neonatas de *X. arvicola* tras la aplicación de *Clorpirifos* a la máxima dosis comercial (Figs. 5.58 y 5.59).

Los tratamientos realizados con *Clorpirifos*, a la mínima dosis comercial, sobre larvas neonatas ocasionan que la mortalidad larvaria del 100% se alcance en el día 3 (Fig. 5.45), desde la aplicación.

Mortalidad de larvas neonatas de *X. arvicola* tras la aplicación de *Clorpirifos* a la mínima dosis comercial (Figs. 5.60 y 5.61).



Figura 5.58: Aspecto de las larvas neonatas de *X. arvicola*, tras 2 días desde la aplicación de *Clorpirifos*, a la máxima dosis comercial.



Figura 5.59: Aspecto de las larvas neonatas de *X. arvicola*, tras 7 días desde la aplicación de *Clorpirifos*, a la máxima dosis comercial.



Figura 5.60: Aspecto de las larvas neonatas de *X. arvicola*, tras 3 días desde la aplicación de *Clorpirifos*, a la mínima dosis comercial.



Figura 5.61: Aspecto de las larvas neonatas de *X. arvicola*, tras 7 días desde la aplicación de *Clorpirifos*, a la mínima dosis comercial.

Similares resultados son los aportados por Angeli *et al.*, (2009) cuando evalúan la capacidad de *Clorpirifos* aplicado a una concentración. 52,5 g I.A. hl⁻¹) frente a larvas de *Cacopsylla melanoneura* Forster (Hemiptera: Psyllidae), pues en el primer día de evaluación alcanza un 98,3% de mortalidad larvaria, por un 96% que muestra sobre larvas neonatas de *X. arvicola* cuando *Clorpirifos* es aplicado a la máxima dosis comercial, en los días 7 y 14 de evaluación, la mortalidad larvaria alcanzada es del 100%, similar a nuestro ensayo.

Peores resultados son los aportados por Planes *et al.* (2013) que describen los efectos que *Clorpirifos* ejerce sobre larvas de *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant (Coleoptera: Coccinellidae) en los que consiguen una reducción del 50 % de la población larvaria, mortalidad acumulada tras 40 días de exposición a *Clorpirifos*, en condiciones de laboratorio y mediante pulverización directa.

Los resultados de nuestro ensayo demuestran la gran capacidad que posee *Clorpirifos* para el control total de la población larvaria de *X. arvicola*, tanto cuando es aplicado a la

máxima como a la mínima dosis comercial.

Las rápidas mortalidades totales alcanzadas se pueden atribuir al modo de acción de *Clorpirifos*, pues es una materia activa compuesta de toxinas nerviosas y por lo tanto se dan relativamente rápidas (Tomlin, 1994). La actividad residual de las materias activas depende de su persistencia y distribución en las condiciones similares al cultivo (condiciones de campo).

La mortalidad de un organismo está en función de la susceptibilidad y la dosis recibida (Jepson, 1988). La mortalidad total de larvas neonatas de *X. arvicola* registrada en nuestro ensayo, está influenciada no solo por la materia activa y la dosis aplicada (mortalidad larvaria del 100% con la máxima y la mínima dosis comercial), sino también por la susceptibilidad de la etapa de desarrollo.

En términos de MIP, los efectos secundarios que provoca *Clorpirifos* frente a poblaciones de insectos no diana, son importantes. Por lo tanto, aunque *Clorpirifos* muestra niveles muy altos de eficacia, también se sabe que causa mortalidades en poblaciones beneficiosas (Curso, 1988). La sustitución de los productos químicos tradicionales como los piretroides y los organoforforados, permitirán el aumento de enemigos naturales, como los cléridos descritos Peláez *et al.* (2012) frente a larvas neonatas y adultos de *X. arvicola*.

- ***Flufenoxuron.***

Los tratamientos realizados con *Flufenoxuron*, a la máxima dosis comercial, sobre larvas neonatas de *X. arvicola* fueron muy eficaces, con una reducción de la población larvaria del 62% en el 3^{er} día tras la aplicación de la materia activa, alcanzando en el último día del ensayo (séptimo día), un 98% de mortalidad larvaria.

Mortalidad de larvas neonatas de *X. arvicola* tras la aplicación de *Flufenoxuron* a la máxima dosis comercial (Figs. 5.62 y 5.63).



Figura 5.62: Aspecto de las larvas neonatas de *X. arvicola*, tras 3 días desde la aplicación de *Flufenoxuron*, a la máxima dosis comercial.



Figura 5.63: Aspecto de las larvas neonatas de *X. arvicola*, tras 7 días desde la aplicación de *Flufenoxuron*, a la máxima dosis comercial.

En los tratamientos realizados con *Flufenoxuron*, a la mínima dosis comercial, sobre larvas neonatas, son iguales a los obtenidos con la máxima dosis comercial en el día 3 de la evaluación (Fig. 5.44) con una mortalidad larvaria del 62%, pero llegando a un control total de la población larvaria en el día 7 de la evaluación con un 100% de mortalidad (Fig. 5.44).

Mortalidad de larvas neonatas de *X. arvicola* tras la aplicación de *Flufenoxuron* a la mínima dosis comercial (Figs. 5.64 y 5.65).



Figura 5.64: Aspecto de las larvas neonatas de *X. arvicola*, tras 3 días desde la aplicación de *Flufenoxuron*, a la mínima dosis comercial.



Figura 5.65: Aspecto de las larvas neonatas de *X. arvicola*, tras 7 días desde la aplicación de *Flufenoxuron*, a la mínima dosis comercial.

La gran susceptibilidad de las larvas neonatas frente a *Flufenoxuron* (98% y 100%, en la máxima y la mínima dosis comercial, respectivamente), coincide con lo descrito por Santolamazza-Carbone y Fernández de Ana-Magán (2004), quienes al tratar en laboratorio con *Flufenoxuron* (200 ml I.A./ha) larvas y adultos de *Gonipterus scutellatus* Gyllenhal (Coleoptera: Curculionidae), obtienen una mortalidad del 100% en larvas, desde las 24 horas posteriores al tratamiento, y en adultos una mortalidad del 90%, tras 7 días de exposición. Santolamazza-Carbone y Fernández de Ana-Magán (2004), también resaltan la gran capacidad que posee *Flufenoxuron*, como adulticida frente a *G. scutellatus*, en valores tan buenos como los obtenidos con *Etofenprox* (Insecticida con actividad por contacto e ingestión, con buen efecto residual, utilizado frente a *Ceratitits capitata* y pulgones).

De igual modo, Echeverri y Santolamazza (2010) comprueban nuevamente la capacidad adulticida de *Flufenoxuron* frente a adultos de *G. scutellatus*, pero esta vez mediante ensayos de ingestión y de contacto, consiguiendo solamente una mortalidad inferior al 16% en ambos ensayos, tras 7 días desde la aplicación.

Flufenoxuron fue evaluado frente a larvas neonatas (<24h) de *X. arvicola* para identificar un producto que se pudiera incluir dentro de programas de MIP frente a este coleóptero cerambícido en áreas vitivinícolas donde está provocando grandes daños en las parcelas que se han visto afectadas.

Los insecticidas reguladores de crecimiento o IGR's, se sabe que son más tóxicos para los estados inmaduros de los insectos, en vez de los estadios adultos de insectos, entre

los que se incluyen los coleópteros (Staal, 1975; Peleg, 1983; Parrella y Murphy, 1998).

- ***Piriproxifen.***

Los tratamientos realizados con *Piriproxifen*, a la máxima dosis comercial, sobre larvas neonatas de *X. arvicola*, muestran una menor eficacia en los primeros días del tratamiento, la población larvaria se reduce al 52% el cuarto día desde la aplicación del tratamiento (Fig. 5.44), llegando al séptimo día con una mortalidad total acumulada del 92% (Fig. 5.44), siendo sólo significativamente inferior a *Clorpirifos* y superando significativamente a *Spinosad* (84%) y al testigo (28%).

Mortalidad de larvas neonatas de *X. arvicola* tras la aplicación de *Piriproxifen* a la máxima dosis comercial (Figs. 5.66 y 5.67).



Figura 5.66: Aspecto de las larvas neonatas de *X. arvicola*, tras 4 días desde la aplicación de *Piriproxifen*, a la máxima dosis comercial.



Figura 5.67: Aspecto de las larvas neonatas de *X. arvicola*, tras 7 días desde la aplicación de *Piriproxifen*, a la máxima dosis comercial.

En los tratamientos realizados con *Piriproxifen*, sobre larvas neonatas, se obtiene una eficacia similar a la obtenida a la máxima dosis comercial (75 cm³/hl). En el cuarto día de evaluación, se reduce la población larvaria al 50% (Fig. 5.45), frente al 52% que se obtenía con máxima dosis, y se concluye igualmente en el séptimo día con una mortalidad acumulada del 92% (Fig. 5.45), en este caso, solamente se obtienen mejores resultados que el testigo tratado con agua destilada (28%) y *Spinosad* (68%).

Mortalidad de larvas neonatas de *X. arvicola* tras la aplicación de *Piriproxifen* a la mínima dosis comercial (Figs. 5.68 y 5.69).



Figura 5.68: Aspecto de las larvas neonatas de *X. arvicola*, tras 4 días desde la aplicación de *Piriproxifen*, a la mínima dosis comercial.



Figura 5.69: Aspecto de las larvas neonatas de *X. arvicola*, tras 7 días desde la aplicación de *Piriproxifen*, a la mínima dosis comercial.

Abo-Elghar *et al.* (2003) evalúan la actividad residual de *Piriproxifen* mediante el tratamiento de semillas de alubias ($200 \text{ mg I.A. kg}^{-1}$), con las cuales alimentan adultos de *Callosobruchus maculatus* Fabricius 1775 (Coleoptera: Bruchidae), y a partir de los cuales evalúan su actividad residual sobre distintos parámetros biológicos de *C. maculatus* y su descendencia. Observan que los adultos alimentados con las alubias tratadas reducían un 17,1% la tasa de oviposición antes de que se cumpliera el primer mes de tratamiento, a partir del cual se disminuía del 7,3% al 0,8% en el octavo mes. La eclosión de los huevos fue suprimida por *Piriproxifen* antes de que se cumpliera el primer mes con un 27,3%, a partir del cual aumentaba desde el 56,4% hasta un 68,4% que se obtenía en el octavo mes desde el tratamiento. Con respecto a la emergencia de adultos de *C. maculatus*, produjo una supresión total de la emergencia de adultos (100% de la mortalidad larvaria), desde el primer hasta el octavo mes de tratamiento, datos que mejoran los resultados obtenidos por *Piriproxifen* frente al control de larvas neonatas de *X. arvicola*.

Resultados menos alentadores son los expuestos por Planes *et al.* (2013) si nos referimos a la pulverización directa de *Piriproxifen* sobre larvas de *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant (Coleoptera: Coccinellidae), pues en dicho ensayo, no se tiene prácticamente ningún efecto letal sobre las larvas tratadas a corto plazo, consiguiendo sólo un 6% de mortalidad, tras 10 días desde la aplicación, no así a largo plazo, pues las larvas que sobrevivieron al tratamiento, cuando comenzaron a pupar, se produjo una mortalidad del 89,9%. Otra forma de evaluar la toxicidad de *Piriproxifen* descrita por Planes *et al.* (2013), fue tratar con *Piriproxifen* presas de *Planococcus citri* Risso (Hemiptera: Pseudococcidae), para ponerlas en contacto con adultos de *C. montrouzieri*, consiguiendo una mortalidad del 66,9% en adultos que se alimentaron de *P.citri* tratados.

Los resultados obtenidos muestran que *piriproxifen* podría ser utilizado como un producto altamente efectivo sobre larvas neonatas de *X. arvicola*, pues prácticamente se obtiene un control total en los ensayos realizados en condiciones de laboratorio. Estos resultados se basan en las toxicidades letales observadas sobre estadios inmaduros de *X. arvicola* (toxicidad sobre huevos de varios rangos de edad y larvas neonatas de *X. arvicola*).

El hecho de ser una materia activa que posee buena actividad sobre estadíos inmaduros de muchas familias de insectos, hace que pueda ser utilizado como una herramienta eficaz en programas de MIP debido a la baja toxicidad para los mamíferos y alta especificidad.

- **Agua destilada (Testigo).**

La aplicación de agua destilada como tratamiento testigo sobre larvas neonatas de *X. arvicola*, en los ensayos en los que se evaluaron el resto de materias activas a la máxima dosis comercial, no produjeron efecto nocivo alguno sobre ellas, las mortalidades del 4% y del 6% en los días 4 y 5 respectivamente, para concluir en el día 7 con un 22%, son poco significativas, comparadas con el resto de las materias activas testadas (Fig. 5.44). El ensayo en el que el resto de materias activas son evaluadas a la mínima dosis comercial, la mortalidad larvaria en el día 3, es del 4% concluyendo en el séptimo día con un 28% de mortalidad (Fig. 5.45), si bien esta mortalidad no es producida por la aplicación inocua del agua destilada, es achacado a la inanición (la larva no puede alimentarse).

Supervivencia de las larvas neonatas de *X. arvicola* tras la aplicación del tratamiento de control con agua destilada en los ensayos en el que el resto de materias activas fueron evaluadas a la máxima dosis comercial (Figs. 5.70 y 5.71) y a la mínima dosis comercial (Fig. 5.72 y 5.73).



Figura 5.70: Aspecto de las larvas neonatas de *X. arvicola*, tras 3 días desde la aplicación de agua destilada.



Figura 5.71: Aspecto de las larvas neonatas de *X. arvicola*, tras 7 días desde la aplicación de agua destilada.



Figura 5.72: Aspecto de las larvas neonatas de *X. arvicola*, tras 3 días desde la aplicación de agua destilada. Figura 5.73: Evolución de la



mortalidad de larvas neonatas (<24) de *X. arvicola*, tras 7 días desde la aplicación de agua destilada.

5.3.1.3.- Ensayo sobre adultos de *X. arvicola*.

Una vez realizado el análisis estadístico se comprueba que existen diferencias significativas entre las distintas materias activas cuando son aplicadas a la máxima dosis comercial (Fig. 5.74) y a la mínima dosis comercial (Fig. 5.75) sobre adultos de *X. arvicola*.

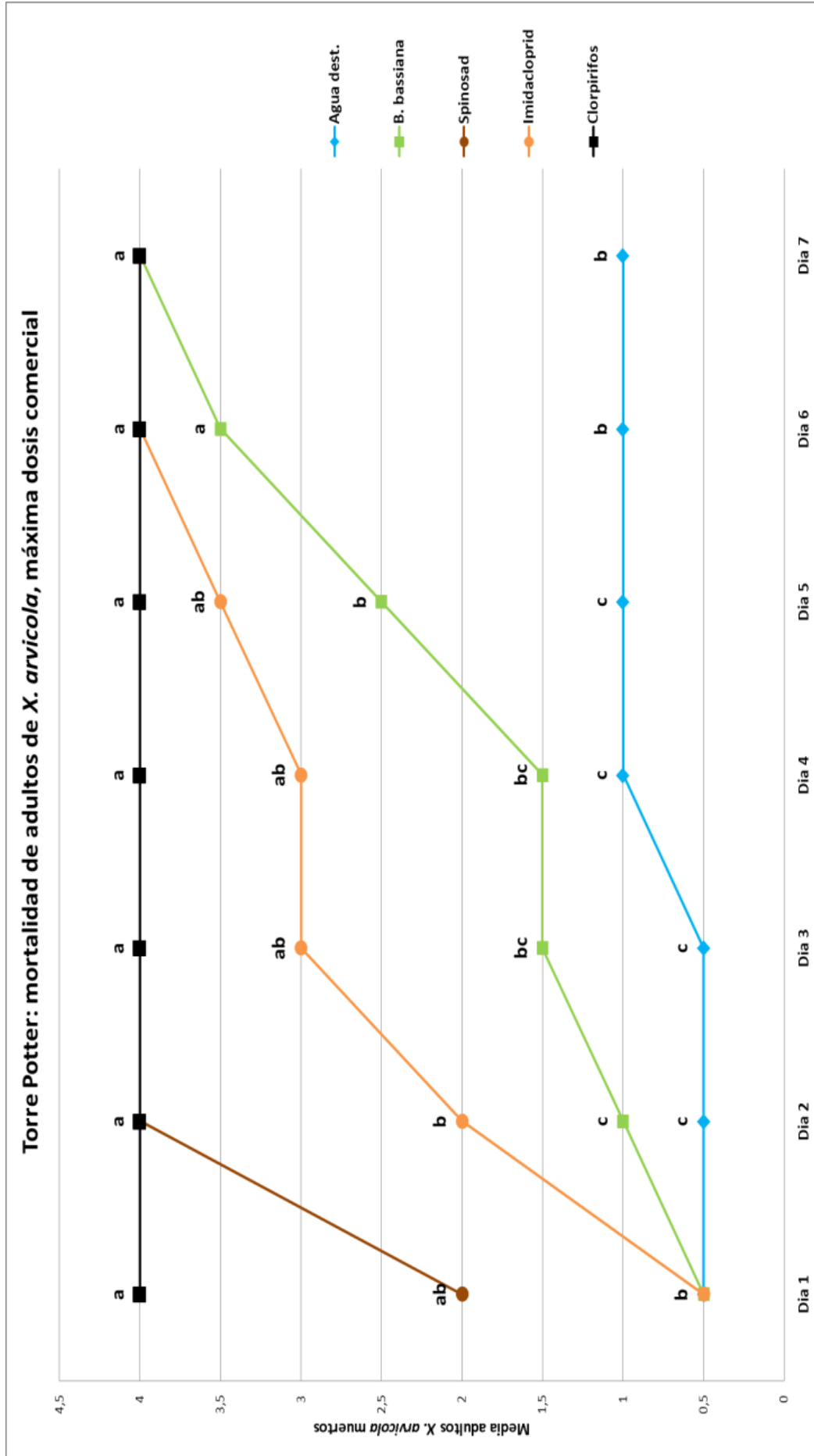


Figura 5.74: Evolución de la mortalidad de adultos de *X. arvicola* tras la aplicación de distintas materias activas a la máxima dosis comercial. Letras diferentes en los índices muestran diferencias significativas entre las distintas materias activas para un mismo día de conteo ($P < 0,05$, test DMS).

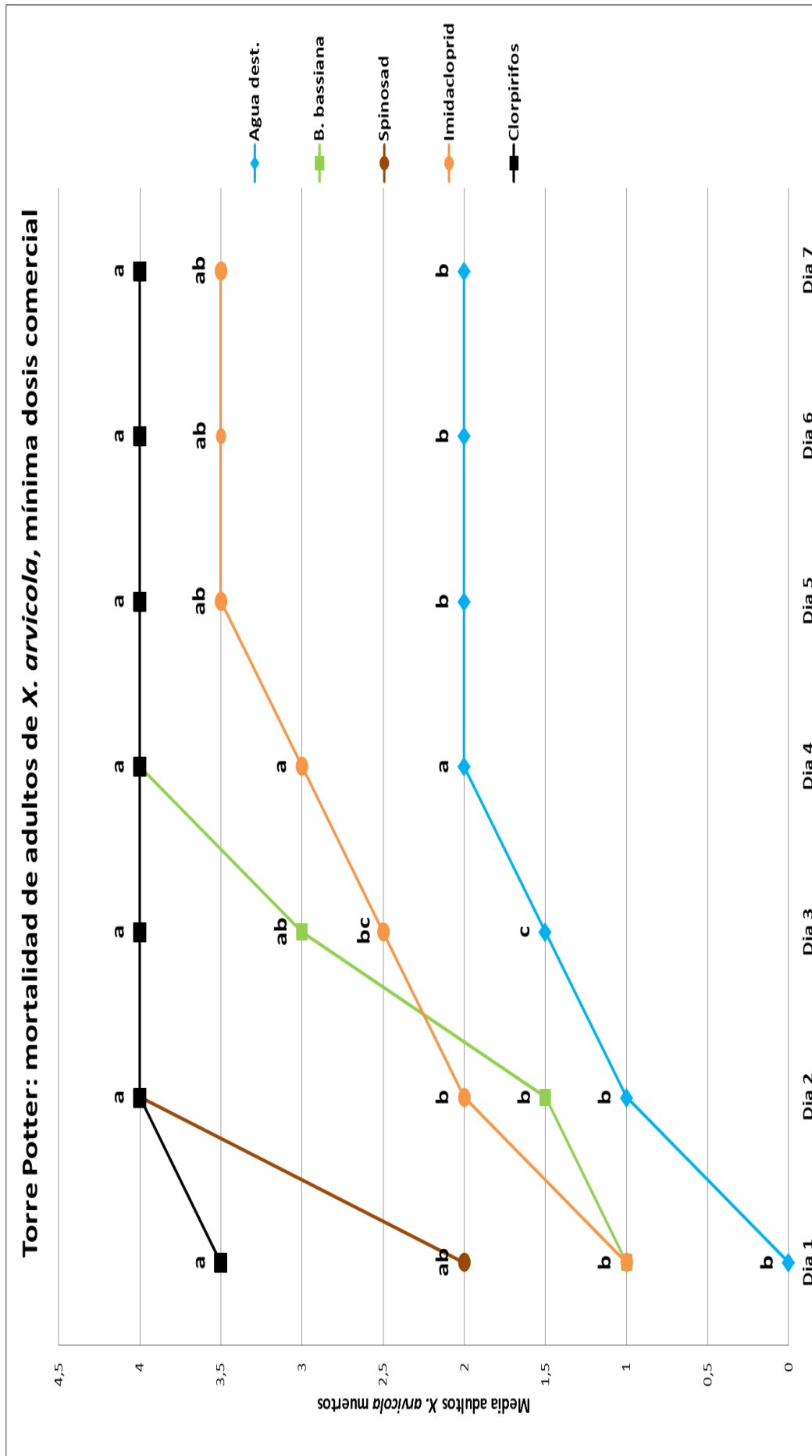


Figura 5.75: Evolución de la mortalidad de adultos de *X. arvicola* tras la aplicación de distintas materias activas a la mínima dosis comercial. Letras diferentes en los índices muestran diferencias significativas entre las distintas materias activas para un mismo día de conteo ($P < 0,05$, test DMS).

En relación a los resultados obtenidos por cada materia activa aplicada a la máxima y a la mínima dosis comercial, durante los 7 días de evaluación, sobre adultos de *X. arvicola* se puede decir:

- ***Spinosad*.**

Los tratamientos realizados con *Spinosad*, a la máxima dosis comercial, muestran un control total de adultos de *X. arvicola* (100% mortalidad) a partir de las 48 horas del tratamiento (Fig. 5.74), consiguiendo en el 1^{er} día del tratamiento, consiguiendo una mortalidad del 50% de la población. La mortalidad producida por *Spinosad*, un 100% de mortalidad a las 48 horas, es más rápida que la proporcionada por *Imidacloprid*, que no alcanza dicha eficacia hasta el sexto día desde el tratamiento (Fig. 5.74). Los adultos de *X. arvicola* tratados con *Spinosad*, fueron progresivamente perdiendo movilidad, a la vez que mostraban movimientos incontrolados, para poco después morir.

Los tratamientos realizados con *Spinosad*, a la mínima dosis comercial, coinciden con los resultados obtenidos cuando *Spinosad* es aplicado a la máxima dosis comercial, pues de nuevo vuelve a producir una reducción del 50% en adultos de *X. arvicola* en las 24 horas posteriores al tratamiento. El control total sobre adultos de *X. arvicola* (100% de mortalidad) se alcanza a las 48 horas desde la aplicación del tratamiento. Los adultos de *X. arvicola* tratados con *Spinosad*, a la mínima dosis comercial, también mostraron movimientos incontrolados, y pérdida de movilidad, hasta que se produjo la mortalidad total de los individuos a las 48 horas desde el tratamiento.

Esto coincide con los datos expuestos por Adán *et al.*, (1996), en los que describen que los adultos de *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae), son altamente sensibles a *Spinosad*, cuando dicha materia activa, es aplicada mediante ingestión, y contacto residual para que actúe, donde su eficacia era dependiente de la concentración y del tiempo de exposición a *Spinosad*. Concentraciones de *Spinosad* de 10 mg I.A./l, causaron mortalidades del 100% de adultos de *C. capitata* a las 48 horas tras el tratamiento, y si la concentración aplicada era superior (100 mg I.A./l), la mortalidad total de *C. capitata*, se adelantaba a las 24 horas, observándose a las 5 horas desde el tratamiento, una mortalidad del 32,5%.

Resultados muy similares a los obtenidos por *Spinosad* en el ensayo frente a adultos de *X. arvicola*, son los descritos por Saeed *et al.*, (2011), que demostraron la potencialidad de *Spinosad* frente a *Hypocryphalus mangiferae* Stebbing (Coleóptera: Scolytidae), una de las plagas de coleópteros más destructivas frente a los árboles de mango, donde *Spinosad*, produce una reducción del 50% de la población de insectos evaluada durante las 35 horas siguientes desde la aplicación. Para lograr una mortalidad del 90% en la población de *H. mangiferae*, se tiene que esperar hasta el cuarto día de evaluación.

Athanassiou *et al.* (2011), aplican *Spinosad* en concentración 0,5 ppm sobre adultos de *Rhyzopertha dominica* L. (Coleoptera: Bostrychidae) y adultos de *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae) causando el 100% de mortalidad. También obtienen buenos resultados en la combinación de *Spinosad* (concentraciones de 0,1 y 0,5 ppm) con

Metopreno (concentraciones de 1 ppm y 5 ppm) sobre adultos de *Rhyzopertha dominica* L. (Coleoptera: Bostrychidae), causando nuevamente, un 100% de mortalidad. Pero obtienen peores resultados que los descritos en las dos especies de coleópteros anteriormente citadas y que los resultados obtenidos por nosotros sobre adultos de *X. arvicola*, cuando *Spinosad* es aplicado sobre otros coleópteros, descritos como insectos plaga de almacén, como son *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae), *Cryptolestes ferrugineus* Stephens (Coleoptera: Laemophloeidae), y *Oryzaephilus surinamensis* L. (Coleoptera: Silvanidae) donde obtienen mortalidades del 57,8%, 97,8% y 24,4%, respectivamente. Mientras que Podizi-Metaxa y Athanassiou (2013) al evaluar la capacidad de *Spinosad* y otros tres protectores tradicionales de grano (*Deltametrina*, *Pirimifos-Metil* y *Clorpirifos*) sobre adultos de *Prostephanus truncatus* Horn (Coleoptera: Bostrychidae), sólo conseguían con concentraciones de *Spinosad* de 0,5 ppm y 1 ppm, mortalidades del 85% y 91,4% respectivamente, tras 7 días desde el tratamiento (en condiciones de laboratorio muy similares a nuestro ensayo, 25°C y 65% H.R.), no obteniendo el control total de la especie (100% de mortalidad) hasta el día 14 y 21 de tratamiento, valores que si son alcanzados a los 7 días en el tratamiento realizado con *Spinosad* (concentración 48% p/v) sobre adultos de *X. arvicola* cuando es aplicado a la mínima (20 ml/hl) y a la máxima (25 ml/hl) dosis comercial.

El control total sobre adultos de *X. arvicola* (100% de mortalidad) que se alcanza a las 48 horas desde la aplicación del tratamiento a la mínima dosis comercial (Fig. 5.75), es superior a la obtenida por *Imidacloprid*, en el mismo tratamiento y mínima dosis aplicada, sobre adultos de *X. arvicola*, en la que sólo se llega al 87,50% de mortalidad.

Spinosad, un insecticida de origen biológico que controla algunas plagas que han presentado resistencia a organofosforados y piretroides en condiciones de campo, podría ser utilizado en estrategias para el control integrado de *X. arvicola*, donde los depredadores potenciales descritos por Peláez *et al.* (2012) juegan un papel significativo. El modo de acción de *Spinosad* podría proporcionar un margen de seguridad para estas especies beneficiosas y/o depredadoras limitando el impacto sobre las mismas, pudiendo incluirse como componente de un MIP.

- ***Beauveria bassiana*.**

Los tratamientos realizados con *B. bassiana*, a la máxima dosis comercial, muestran los primeros días de evaluación unos valores bajos de mortalidad, que van desde el 12,5% obtenidos a las 24 horas desde la aplicación hasta el 37,5%, obtenido en el día cuarto de evaluación (Fig. 5.74). Los mejores resultados sobre la eficacia de *B. bassiana* sobre adultos de *X. arvicola*, se observan en los días 6 y 7 de tratamiento, con valores del 87,5% y el 100%, respectivamente (Fig. 5.74).

Mortalidad de adultos de *X. arvicola* tras la aplicación de *B. bassiana* a la máxima dosis comercial (Figs. 5.76 y 5.77).



Figura 5.76: Aspecto de los adultos de *X. arvicola*, tras 4 días desde la aplicación de *B. bassiana*, a la máxima dosis comercial.



Figura 5.77: Aspecto de los adultos de *X. arvicola*, tras 4 días desde la aplicación de *B. bassiana*, a la máxima dosis comercial.

Los resultados obtenidos con *B. bassiana*, a la mínima dosis aplicada, parecen mejores, que los obtenidos para el mismo ensayo con máxima dosis comercial, pues con menor dosis se alcanza un control total sobre adultos de *X. arvicola*. La supervivencia de adultos se reduce al 25% en el 3^{er} día del tratamiento (Fig. 5.74). A partir del cuarto día, se alcanza la mortalidad de todos los adultos introducidos en el ensayo, mortalidad del 100%, que es mantenida hasta el séptimo día de evaluación (Fig. 5.74).

Mortalidad de larvas neonatas de *X. arvicola* tras la aplicación de *Piriproxifen* a la mínima dosis comercial (Figs. 5.78 y 5.79).



Figura 5.78: Aspecto de los adultos de *X. arvicola*, tras 3 días desde la aplicación de *B. bassiana*, a la mínima dosis comercial.

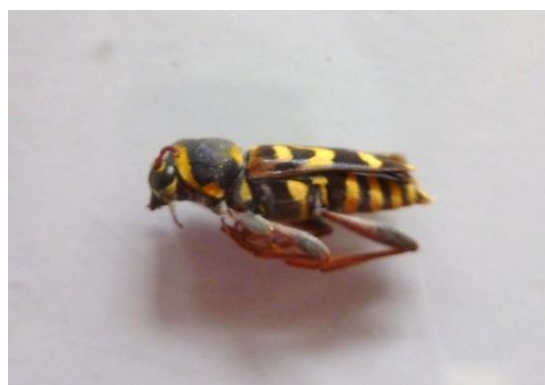


Figura 5.79: Aspecto de los adultos de *X. arvicola*, tras 7 días desde la aplicación de *B. bassiana*, a la mínima dosis comercial.

Los adultos muertos, en los tratamientos a máxima (Figs. 5.76 y 5.77) y a mínima dosis comercial (Figs. 5.78 y 5.79), no mostraron crecimiento externo del hongo, al igual que los adultos de *Enaphalodes rufulus* (Coleoptera: Cerambycidae), descritas por Meyers *et al.* (2013). No es raro que los hongos entomopatógenos no proliferen en el hemocele de los insectos y no muestren crecimiento externo del hongo, pero sí los contaminantes que conllevan las materias activas, como las bacterias entéricas, que pueden propagarse

por la hemolinfa del insecto, provocando la muerte de este, incluso si el insecto ha sido inoculado con un hongo patógeno (Shimazu, 1994).

Los resultados obtenidos son muy similares a los expuestos por Jia-Ning y Rong-Ping (2002) sobre el efecto de control que ejerce *B. bassiana*, sobre adultos de *Xylotrechus quadripes* (Coleoptera: Cerambycidae). La concentración de *B. bassiana* aplicada es menor que la utilizada en este ensayo, $1,5 \times 10^{10}$ conidias/g, la evaluación se lleva a cabo durante más tiempo, 15 días desde la aplicación, observando las mayores mortalidades acumuladas en los días finales de evaluación, día 10 y día 15, con mortalidades del 74% y del 90%, respectivamente.

La concentración de *B. bassiana* utilizada en nuestro ensayo consigue mejores resultados que los descritos por Mitsuaki *et al.* (2002), donde la aplicación de *B. bassiana* F-263 (aislamiento del hongo realizado en Japón) a concentración 10^7 conidias/ml, sólo consigue la mortalidad del 50% de la población. Concentraciones menores de *B. bassiana* F-263 de 10^6 , 10^5 , 10^4 y 10^3 conidias/ml, proporcionaron peores resultados (mortalidades del 40%, 35%, 10% y 5% respectivamente), en el control de adultos de *Anoplophora glabripennis* (Coleoptera: Cerambycidae), tras 19 días desde la aplicación.

Kreutz *et al.* (2004a) probaron en condiciones de laboratorio la eficacia de *B. bassiana* (aislado 138) en el control frente al escarabajo de la corteza del abeto *Ips typographus* (Coleoptera: Scolytidae). Las concentraciones aplicadas de $1,0 \times 10^8$ y $1,0 \times 10^7$ conidias/ml, son las que muestran una eficacia total sobre adultos de *Ips typographus* (100% de mortalidad), la concentración de $1,0 \times 10^6$ conidias/ml alcanza una mortalidad del 93%, 7 días desde la aplicación del tratamiento, en condiciones controladas de temperatura (25°C) y humedad relativa (70%) demostrando que *B. bassiana* (aislado 138) es un entomopatógeno muy eficaz contra *I. typographus* bajo diversas condiciones controladas, pero que posee menor eficacia, que la descrita por *B. bassiana* frente a adultos de *X. arvicola*. La mortalidad de *I. typographus* causada por *B. bassiana* podría llegar al 88-100% (Vaupel y Zimmermann, 1996; Kreutz *et al.*, 2004a,b; Kunca *et al.*, 2009). En condiciones de alta humedad, la mortalidad depende fuertemente de la temperatura y de la dosis de *B. bassiana* (Wegensteiner, 1992).

Batta (2007) evalúa dos cepas (cepa 149 y cepa Medea) y formas distintas de *B. bassiana* sobre adultos del pequeño escarabajo de la corteza del almendro *Scolytus amygdali* Geurin-Meneville (Coleoptera: Scolytidae), consiguiendo una mortalidad del 100% a los 10 días de la aplicación, al igual que la obtenida en el ensayo de adultos de *X. arvicola*, en el séptimo día desde el tratamiento. Cuando estas dos cepas descritas, son disueltas en agua desionizada y esterilizada, su mortalidad se ve reducida al 60% y 66,7%, respectivamente.

Otra forma directa de evaluar la actividad patogénica de *B. bassiana* fue descrita por Maniania *et al.* (2008), pulverizando aislados de *B. bassiana* ($1,0 \times 10^7$ conidias ml⁻¹) sobre adultos de *Cylas puncticollis* (Coleoptera: Curculionidae) variando la mortalidad entre 77,5% y 84,2% a los 26 días del tratamiento. El tiempo letal en un 50% de la población varió entre los 12,5 y 17,1 días.

Echeverri y Santolamazza, (2010), evaluaron tres formas y cepas distintas de *B. bassiana* frente al gorgojo defoliador del eucalipto, *Gonipterus scullatus* Gyllenhal (Coleoptera:

Curculionidae), 7 días después de los tratamientos, sólo sufrieron una mortalidad del 100% los adultos de *G. scullatus* que fueron tratados con *B. bassiana* EC (Emulsionable Concentrado) (PPRI 5339). Peores resultados mostraron *B. bassiana* WP, que sólo consigue un 55% y *B. bassiana* WG con un 32,5% de mortalidad.

La mortalidad del 100% sobre adultos de *X. arvicola* a la máxima y a la mínima dosis comercial, supera la obtenida por Meyers *et al.* (2013), que solamente alcanza un 80% y un 33% de mortalidad en adultos del barrenador del roble rojo *Enaphalodes rufulus* (Coleoptera: Cerambycidae), con la aplicación de *B. bassiana* (cepa GHA), en concentraciones de $4,7 \times 10^6$ y $4,7 \times 10^3$ conidias ml^{-1} , respectivamente.

Los resultados obtenidos por *B. bassiana* aplicado a la mínima dosis comercial sobre adultos de *X. arvicola* a las 48 horas desde el tratamiento (37,5% de mortalidad) son mejores que los descritos por Wakil *et al.* (2012), donde *B. bassiana* es utilizada frente a adultos del barrenador de granos, *Rhyzopertha dominica* F. (Coleoptera: Bostrychidae), consiguiendo con concentraciones de $1,5 \times 10^6$ y $1,5 \times 10^8$ conidias/kg, bajas mortalidades, del 5,16%. Por el contrario, si *B. bassiana* es combinada con *Diatomycetes de Tierra* (insecticida alternativo para el control de plagas de productos almacenados) y *Tiametoxam*, se alcanza una mortalidad del 71,37%. Otros ensayos describen también los sinergismos producidos por *Diatomycetes de Tierra* con *B. bassiana* en el control de especies de escarabajos plaga de productos de almacén (Lord, 2001; Akbar *et al.*, 2004), como los descritos por Lord (2001), que describió este efecto contra dos especies de escarabajo plaga de productos de almacén, como son *Rhyzopertha dominica* (F.) (Coleoptera: Bostrychidae) y *Oryzaephilus surinamensis* (L.) (Coleoptera: Silvanidae). Similares resultados fueron también descritos por Akbar *et al.* (2004) para *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae).

Maehara y Kanzaki (2013) citaron que adultos de *Monochamus alternatus* Hope (Coleoptera: Cerambycidae), fueron inoculados con *B. bassiana* en una concentración de $8,5 \times 10^5$ conidias/ml en los días 0, 3, 7, 14, y 28 después de la emergencia, obteniéndose un periodo de vida entre el día de inoculación y la muerte del insecto de 8, 13, 14,4, 24 y 10 días, respectivamente, lo que demuestra que los primeros y los últimos días de vida desde la emergencia de los adultos de *M. alternatus* son los que muestran mayor susceptibilidad a *B. bassiana*.

Con los resultados obtenidos en el ensayo, se muestra que los hongos entomopatógenos como *B. bassiana* son un potencial agente de control biológico eficaz sobre adultos de *X. arvicola* si es puesto en contacto durante esta etapa de desarrollo del insecto, tanto a la máxima dosis comercial (125 g/hl), como a la mínima dosis comercial (62,5 g/hl). Los mejores resultados mostrados cuando *B. bassiana* es aplicado a la mínima dosis comercial (100% de mortalidad, al cuarto día desde el tratamiento), hace mejorar los resultados obtenidos por la misma materia activa cuando era aplicada a la máxima dosis comercial (125g/hl). Este comportamiento, puede deberse a que los contaminantes que conllevan las materias activas, bacterias entéricas, en exceso en el hemocele de los insectos, provoquen la inactivación de un gran número de ellas, de ahí que se obtengan mejores resultados cuando es aplicada a la mínima dosis comercial. Dicha reducción de materia activa a aplicar frente al insecto, en el medio ambiente, lo hace ser el mismo potencial agente, con la misma efectividad, pero con menos residuo a dejar en el entorno, para así entrar a formar parte de un MIP.

La aplicación de hongos entomopatógenos en el control de plagas de coleópteros cerambícidos, es uno de los principales métodos introducidos en el MIP, con el fin de proteger los enemigos naturales de las especies contra las que se ataca, la salud humana y el medio ambiente.

Otros estudios realizados han demostrado el control de los hongos entomopatógenos frente a otros coleópteros barrenadores de madera, mediante la aplicación sobre los troncos de madera de *B. bassiana*, dirigidos al estadio adulto del insecto, ya que durante la mayor parte de su ciclo de vida se encuentran dentro de la madera, y son inaccesibles a los mismos. Liu y Bauer (2008) encontraron que los adultos de *Agrilus planipennis* (Coleoptera: Buprestidae) eran susceptibles a *B. bassiana* (cepa GHA), logrando unas mortalidades entre el 8% y el 32% mediante la aplicación con pulverizador sobre una banda envuelta alrededor de los árboles, mortalidades que se vieron aumentadas, si los árboles que eran envueltos por las bandas, eran sauces, *Salix* spp (Hajek *et al.*, 2006).

En general, los insectos barrenadores, como es el caso de las larvas de *X. arvicola*, están protegidos dentro de ella durante gran parte de su ciclo de vida. Sin embargo la etapa adulta está expuesta y puede ser vulnerable, como hemos observado, a distintas materias activas, en este caso, frente a hongos entomopatógenos, como *B. bassiana*. Los adultos de otras familias de coleópteros también son susceptibles cuando se aplicaron los insecticidas al tronco, antes de que se produjese la emergencia (Liu, 1966). Hongos entomopatógenos como *B. bassiana* y *Metarhizium anisopliae* son conocidos para cientos de especies de insectos, incluidos los barrenadores de madera (Humber, 2005).

La capacidad de los hongos para invadir activamente insectos vivos a través de su cutícula y proliferar en el interior de ellos, los hacen herramientas únicas y muy eficaces, para la gestión de plagas de insectos. *Agrilus auriventris* Saunders (Coleoptera: Buprestidae), es controlado mediante la aplicación en los troncos de los árboles de esporas de *Metarhizium anisopliae*, consiguiendo un 70% de la mortalidad de larvas y adultos de *A. auriventris* (Fan *et al.* 1990).

Otros ensayos realizados sobre coleópteros (Ekesi, 2001), tras la aplicación de *B. bassiana* describen una reducción en la alimentación de adultos de *Ootheca mutabilis* Shalberg (Coleoptera: Chrysomelidae) y de *Cylas puncticollis* Boheman (Coleoptera: Curculionidae). La reducción en la alimentación de los insectos ha sido atribuida a la producción de sustancias tóxicas del hongo entomopatógeno *B. bassiana* y/o a la rotura mecánica de la estructura interna de los insectos por el crecimiento de las hifas del hongo. La reducción en la alimentación de los adultos, podría retrasar la velocidad, relativamente lenta, que tienen de matar los hongos entomopatógenos, en comparación con los insecticidas convencionales (Ondiaka *et al.*, 2008). Sikura *et al.*, (1972) informaron de la baja capacidad de sobrevivir de las hembras del escarabajo rojo de la patata, *Leptinotarsa decemlineata* (Coleoptera: Chrysomelidae), después de la infección por *B. bassiana*, debido a las lesiones histológicas y citológicas producidas en los ovarios, lo que impide el desarrollo de los folículos, o causando su degeneración y reduciendo de este modo su fecundidad.

- ***Imidacloprid***.

Los tratamientos realizados con *Imidacloprid*, a la máxima dosis comercial (Fig. 5.74), sobre adultos de *X. arvicola* consiguen un control total control (100% de mortalidad en el sexto día de evaluación). Durante los días iniciales del ensayo, *Imidacloprid*, muestra una reducción del 50% de la población en el segundo día desde la aplicación, para finalizar en los últimos días de evaluación de la materia activa, (día 6 y día 7 de evaluación), con una eficacia total en el control sobre adultos de *X. arvicola*.

Los tratamientos realizados con *Imidacloprid*, a la mínima dosis comercial (Fig. 5.75), sobre adultos de *X. arvicola*, en el séptimo día de evaluación (87,5%), no son significativamente diferentes de los obtenidos con *Clorpirifos*, *Spinosad* y *B. bassiana* del 100%, ni del agua destilada (50%). En los primeros días del ensayo, *Imidacloprid* muestra buenos valores en cuanto al control frente a adultos de *X. arvicola*, alcanzando una mortalidad del 75% en el cuarto día del tratamiento, pero del quinto al séptimo día, se mantiene constante la mortalidad alcanzada (87,5%), con la que finaliza el ensayo (Fig. 5.87).

Machado y Raga (1999), también describen la buena eficacia de *Imidacloprid* sobre adultos del barrenador cerambícido *Macropophora accentifer* Olivier (Coleoptera: Cerambycidae) en cítricos. Contra *Acalolepta vastator* (Coleoptera: Cerambycidae), *Imidacloprid* y *Lambda-cyhalotrina* fueron altamente efectivos en la eliminación de la población de la especie plaga y significativamente mejor que otros insecticidas probados, siendo la dosis aplicada de *Imidacloprid*, la mínima dosis comercial recomendada en la formulación (200g/l), tratándose de un tipo de insecticida desarrollado comercialmente para el control de insectos barrenadores en Australia (Goodwin, 2005).

Poland *et al.* (2006) trataron ramas de arce, sumergiéndolas en una disolución de agua destilada con concentraciones de 15 ppm y 150 ppm de *Imidacloprid*, para posteriormente ponerlo en contacto frente a adultos de *Anoplophora glabripennis* (Coleoptera: Cerambycidae), consiguiendo en ambos ensayos una mortalidad del 100%, a los 13 días desde el tratamiento en concentración 150 ppm, y a los 20 días desde el tratamiento en concentración de 15 ppm.

Mejores resultados son los descritos por Saeed *et. al.* (2011), que evaluaron *Imidacloprid* frente a adultos de *Hypocryphalus mangiferae* Stebbing (Coleóptera: Scolytidae), reduciendo el 50% de la población de insectos testados, durante las 32 horas primeras horas desde la aplicación del tratamiento, frente a las 48 horas que se tardó en alcanzar similar reducción (50% de mortalidad) en la población de adultos de *X. arvicola* testados en nuestro ensayo tanto a la máxima como a la mínima dosis comercial. De igual modo, también es menor, aunque con poca diferencia, el tiempo que *Imidacloprid* necesita para alcanzar el 90% de la mortalidad de la población de *H. mangiferae*, produciéndose en 4,26 días, mientras que valores muy próximos de mortalidad en nuestro ensayo (87,50% de mortalidad de adultos de *X. arvicola*) son alcanzados en el quinto día desde la aplicación en ambas dosis comerciales aplicadas.

Nuestros resultados demuestran que *Imidacloprid* es tóxico frente a adultos de *X. arvicola*, al igual que lo es para otros adultos de coleópteros cerambícidos, como por

ejemplo *A. glabripennis* (Poland *et al.*, 2006). Para este tipo de insectos plaga, se requieren de insecticidas que tengan periodos de exposición prolongados, para coincidir con el periodo en el que se produce el pico de emergencia de los adultos, y antes de que sus larvas se introduzcan en la madera. *Imidacloprid* mostró un buen control sobre los adultos de *X. arvicola*, pues con la concentración aplicada, 0,10%, se producen mortalidades del 100% a la máxima dosis comercial, y del 87,5% a la mínima dosis aplicada. Elbert *et al.* (1991) demostraron que *Imidacloprid* es tanto una toxina, como una sustancia que produce un efecto anti-alimentario en los insectos tratados. Los adultos de *X. arvicola* murieron rápidamente, pues en el segundo día de la evaluación, tras la aplicación de *Imidacloprid* en ambas dosis comerciales, ya se había producido una mortalidad del 50% de la población de *X. arvicola* tratada.

Sería necesario profundizar en los efectos de *Imidacloprid* en las ramas o troncos de las cepas, para conocer los efectos sobre la emergencia de adultos, el apareamiento y el comportamiento de las hembras de *X. arvicola* durante la oviposición, pues el estudio de Goodwin (2005) describe la capacidad de *Imidacloprid* de controlar la emergencia de adultos de *Acalolepta vastator* Newman (Coleoptera: Cerambycidae).

- ***Clorpirifos*.**

Los tratamientos realizados con *Clorpirifos*, a la máxima dosis comercial (Fig. 5.74), para el control de adultos de *X. arvicola* mostraron ser los de mayor eficacia (100% de mortalidad) siendo significativamente diferente del resto de materias activa desde las 24 primeras horas tras la aplicación, excepto con *Spinosad* (50% de mortalidad).

Clorpirifos a la mínima dosis comercial (Fig. 5.75), para el control de adultos de *X. arvicola*, de nuevo se diferenció significativamente del resto de materias activas en los primeros días tras la aplicación, no obstante, su efecto nocivo con mínima dosis de materia activa sobre adultos de *X. arvicola*, pasar a ser de 87,50% de mortalidad, durante las primeras 24 horas, en vez del 100% como se conseguía con máximas dosis comerciales (0,20%). Su mortalidad es del 100%, desde el segundo hasta el séptimo día del seguimiento.

Esto coincide con lo descrito por Marco y Castañera (1996), donde la aplicación de *Clorpirifos* con dosis de 1,50 l/ha, en condiciones de laboratorio, consiguen una mortalidad total desde los 3, 7 y 14 días desde el tratamiento sobre adultos de *Aubeonymus mariaefranciscae* Roudier (Coleóptera: Curculionidae). Shin y Chung (1987), también describieron la alta mortalidad que producía la aplicación de *Clorpirifos* frente a adultos de *Saperda populnea* (Coleoptera: Cerambycidae). *Clorpirifos* también produce una toxicidad superior al 90% cuando es aplicado en contacto directo sobre adultos de *Moechotypa diphysis* Pascoe (Coleoptera: Cerambycidae) (Kim *et al.* 2000).

Peores resultados mediante la aplicación de *Clorpirifos* son los aportados por Peña *et al.* (2003), para el escarabajo de la corteza del olivo *Phloeotribus scarabaeoides* Bern (Coleoptera, Scolytidae) mediante el uso de tres concentraciones de insecticidas (0,4; 0,8 y 1,25 $\mu\text{g g}^{-1}$). Las combinaciones de *Dimetoato* y *Clorpirifos* causaban solamente el 80% de la mortalidad de adultos de *P. scarabaeoides* desde la primera fecha y a la

concentración más alta testada (concentración tres veces superior a la recomendada), para posteriormente ninguna de las dosis testadas, alcanzar más del 50% de mortalidad. En general, el efecto de los insecticidas organofosforados sobre *P. scarabaeoides* era limitado.

El control descrito de *Clorpirifos* frente a adultos de *X. arvicola* en las primeras 24 horas (100% y 87,5% en las aplicaciones a la máxima y a la mínima dosis comercial, respectivamente), es mejor que el descrito por Saeed *et. al.* (2011), en los que evaluó *Clorpirifos* frente a adultos de *Hypocryphalus mangiferae* Stebbing (Coleoptera: Scolytidae), alcanzando una mortalidad del 50% en las primeras 24 horas, y del 90% de la población al 3^{er} día de la evaluación, concretamente en 3,64 días.

Mientras que Planes *et al.* (2013) describen los efectos de *Clorpirifos* frente a adultos de *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant (Coleoptera: Coccinellidae) en los que consiguen una menor reducción de los adultos (71,6% de mortalidad), las hembras supervivientes tenían una fecundidad del 64,4%, tras 40 días desde la aplicación.

Nielsen (1981) destaca la escasa vulnerabilidad que poseen los insecticidas frente a los insectos barrenadores. Esto es visible en ciertas especies de insectos de coleópteros cerambícidos como pueden ser *Acalolepta vastator* (Coleoptera: Cerambycidae) o *X. arvicola* (Coleoptera: Cerambycidae), atacando ambas especies a árboles y a viñedo, y que pasan gran parte de su ciclo de vida en el interior de las especies hospedante.

Las poblaciones larvarias de *X. arvicola* dentro de la cepa pueden traducirse desde una a varias larvas por planta. Antes del ensayo realizado con *Clorpirifos* en condiciones de laboratorio, no se había descrito ningún estudio sobre el control químico de esta materia activa sobre *X. arvicola*. Los ensayos realizados demostraron que *Clorpirifos* aplicados tanto a la máxima como a la mínima dosis comercial, durante el periodo del año en el que se produce la emergencia de adultos de *X. arvicola*, podría controlar la plaga incluso en caso de grandes poblaciones, al no necesitar grandes exposiciones de tiempo frente a los insectos, pero tendríamos el problema del gran impacto negativo sobre los enemigos naturales de *X. arvicola*, pues *Clorpirifos* es uno de los mayores insecticidas no selectivos, y en aquellas zonas o parcelas vitivinícolas estudiadas que abarcan una gran cantidad de uva de distintas variedades de diferentes periodos de maduración, si se aplicase dicha materia activa, no se podría en muchos de los casos cumplirse los plazos de seguridad establecidos.

Tras la realización de varios ensayos, *Clorpirifos* se recomendó como tratamiento preventivo para viñedo en el valle de Hunter (Australia) frente a ataques de *A. vastator* (Coleoptera: Cerambycidae), reduciéndose la incidencia de la plaga del 39,7% en 1990 al 7,7% en 1991, y se había situado por debajo del 5,8% en 1992 a partir de la introducción generalizada de la pulverización de *Clorpirifos* sobre el viñedo (Goodwin y Pettit, 1994).

La diferencia de toxicidad entre los organofosforados (*Clorpirifos*) y los nuevos insecticidas evaluados en laboratorio, sugiere que los insecticidas sistémicos (*Imidacloprid*), de origen biológico (*Spinosad*) u hongos entomopatógenos (*B. bassiana*), son menos eficaces en la gestión de *X. arvicola* durante los primeros días, pero alcanzando valores finales similares a los descritos por organofosforados, siendo

insecticidas alternativos para el control de *X. arvicola*, por cuestiones de seguridad y medio ambiente.

- **Agua destilada (Testigo).**

La aplicación de agua destilada como tratamiento testigo sobre adultos de *X. arvicola*, en los ensayos en los que se evaluaron el resto de materias activas a la máxima dosis comercial (Fig. 5.74), aunque se producía una pequeña mortalidad en el día 1 y que era mantenida hasta el día 3 (12,5%), esta mortalidad no sería debida a la aplicación de agua destilada, que es inocua para adultos de *X. arvicola*, sino a la falta de comida o senescencia de los propios individuos introducidos al ensayo. La mortalidad alcanzada en el último día de evaluación fué del 25%. El ensayo en el que el resto de materias activas son evaluadas a la mínima dosis comercial (Fig. 5.75), se llegó al cuarto día de la evaluación con una mortalidad acumulada del 50% de la población, esta mortalidad podía deberse a la falta de comida o la senescencia de los individuos, como hemos descrito en el tratamiento anterior. El 50% de población que sobrevive en el día 4, se mantienen constantes hasta el día séptimo de evaluación del ensayo.

Supervivencia de adultos de *X. arvicola* tras la aplicación del tratamiento de control con agua destilada en los ensayos en el que el resto de materias activas fueron evaluadas a la máxima dosis comercial (Figs. 5.80 y 5.81) y a la mínima dosis comercial (Fig. 5.82 y 5.83).



Figura 5.80: Aspecto de los adultos de *X. arvicola*, tras 3 días desde la aplicación de agua destilada.



Figura 5.81: Aspecto de los adultos de *X. arvicola*, tras 7 días desde la aplicación de agua destilada.



Figura 5.82: Aspecto de los adultos de *X. arvicola*, tras 3 días desde la aplicación de agua destilada.



Figura 5.83: Aspecto de los adultos de *X. arvicola*, tras 7 días desde la aplicación de agua destilada.

5.3.2.- CONDICIONES SIMILARES AL CULTIVO EN CAMPO.

Se han observado que existen diferencias significativas en la eclosión o no eclosión de los huevos, tras la aplicación de las distintas materias activas, y la posterior inserción de las larvas en la madera, frente a puestas de huevos de *X. arvicola*, lo que nos ha permitido determinar cuál es la parte de la planta, brazo o tronco y la ubicación en la madera, ritidoma o grietas, más sensible, sobre la que se podría realizar un control sobre dicha plaga en viñedo con las materias activas que han mostrado mejores resultados.

5.3.2.1.- Huevos de *X. arvicola* no eclosionados ubicados en distintas partes de la cepa.

Se presentan los resultados de la comparación de medias entre las distintas materias activas sobre el lugar de oviposición de huevos, por parte de la hembra de *X. arvicola* y la supervivencia de las larvas, cuando estas se realizan sobre los brazos (Fig.5.84) y troncos (Fig. 5.85) de las cepas.

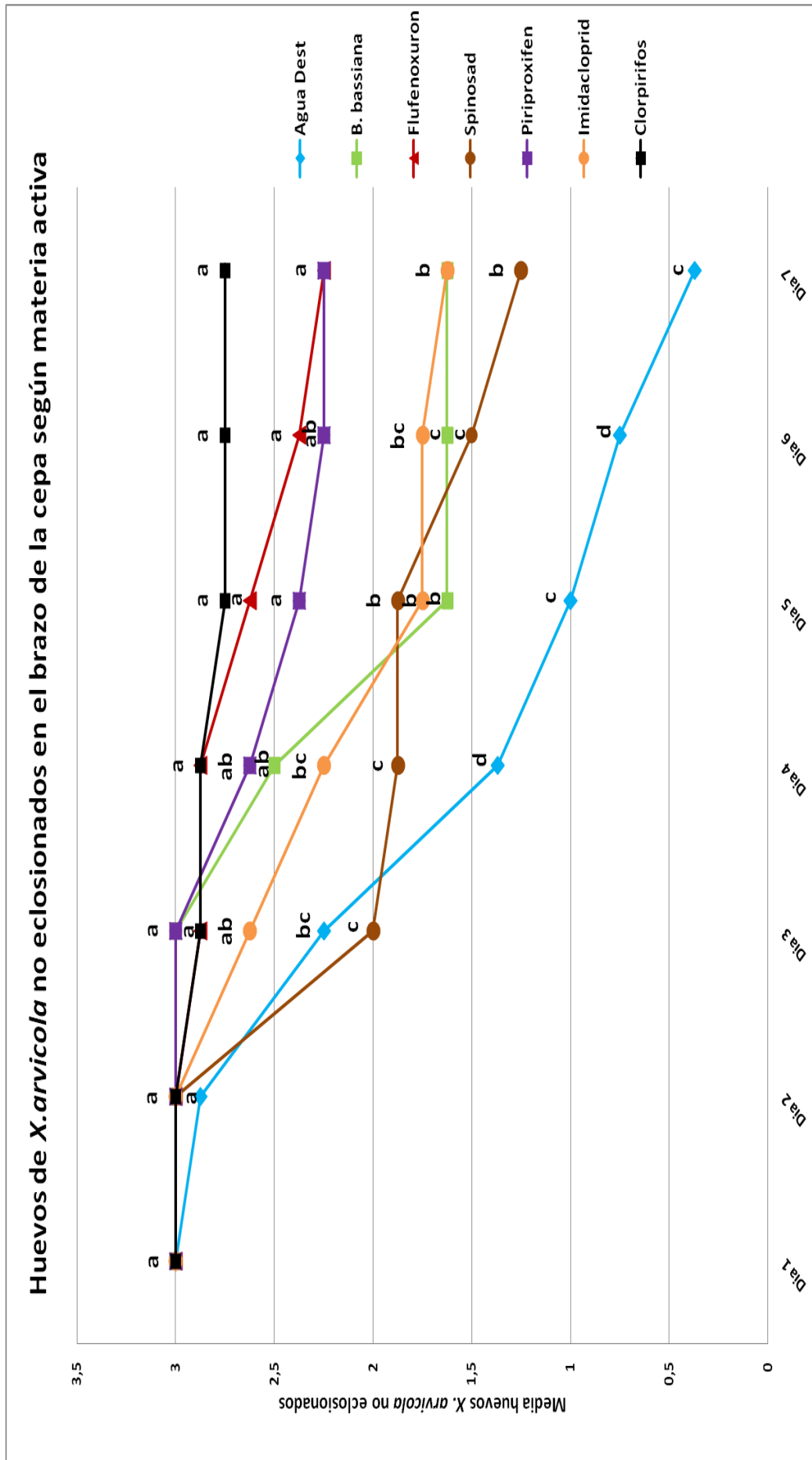


Figura 5.84: Evolución de huevos no eclosionados de *X. arvicola* no eclosionados, tras la aplicación de distintas materias activas, cuando la puesta se ubica en el brazo de las cepas. Letras diferentes en los índices muestran diferencias significativas entre las distintas materias activas para un mismo día de conteo ($P < 0,05$, test DMS)

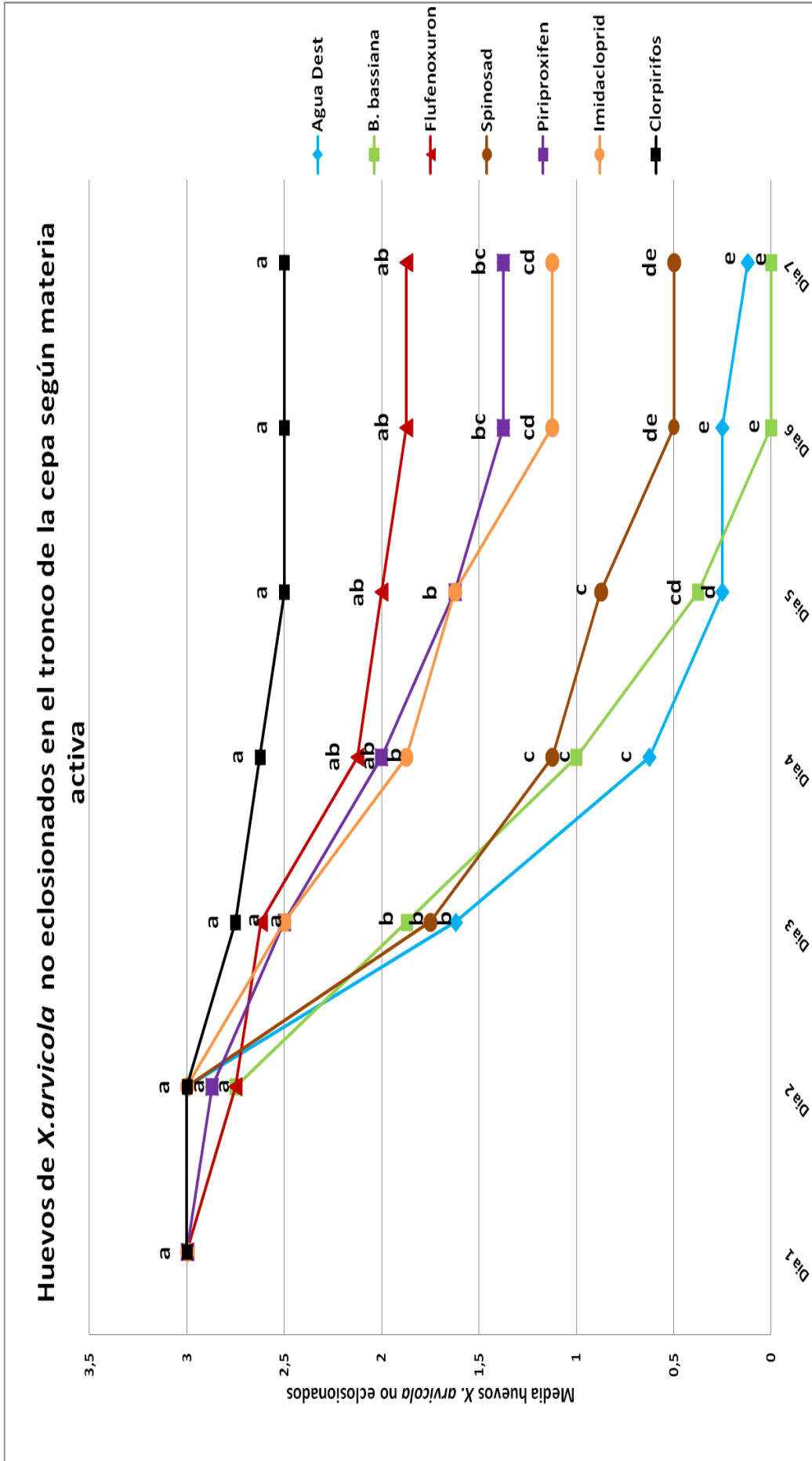


Figura 5.85: Evolución de huevos no eclosionados de *X. arvicola* no eclosionados, tras la aplicación de distintas materias activas, cuando la puesta se ubica en el tronco de las cepas. Letras diferentes en los índices muestran diferencias significativas entre las distintas materias activas para un mismo día de conteo ($P < 0,05$, test DMS).

El análisis estadístico realizado para la aplicación de las materias activas sobre *huevos de X. arvicola* no eclosionados en el brazo (Fig. 5.84) y en el tronco de las cepas (Fig. 5.85) revela que existen diferencias significativas entre las distintas materias activas cuando son aplicadas a la máxima dosis comercial.

En relación a los resultados obtenidos por cada materia activa aplicada a la máxima dosis comercial, durante los siete días de evaluación, sobre huevos de *X. arvicola* ubicados en el brazo (Fig. 5.84) y en el tronco (Fig. 5.85) de las cepas, se puede decir:

- ***Spinosad*.**

Los tratamientos realizados con *Spinosad*, a la máxima dosis comercial sobre huevos ubicados en el brazo de las cepas, muestran unos valores ovicidas bajos, 41,66% huevos no eclosionados, siendo significativamente menores que *Clorpirifos*, *Flunofexuron* y *Piriproxifen*, con 91,66, 75% y 75%, respectivamente y no significativamente diferentes de *B. bassiana* e *Imidacloprid*, con 54,16% ambos, tras 7 días desde la aplicación. Por el contrario, hay un 58,34% de los huevos que eclosionan, dando lugar a larvas neonatas, con el consecuente peligro potencial para el viñedo.

Los tratamientos realizados con *Spinosad*, a la máxima dosis comercial sobre huevos ubicados en el tronco de las cepas, muestran unos valores ovicidas bajos, alcanzándose solamente una inhibición de los huevos del 16,66% en el séptimo día de evaluación, no significativamente diferente de *B. bassiana*, que no tiene ningún efecto ovicida, ni el testigo con agua destilada, con un 4% de inhibición. Un 83,34% de huevos completan su desarrollo embrionario, es decir, un total de 20 larvas neonatas de *X. arvicola* consiguen completar su desarrollo.

El efecto ovicida demostrado por *Spinosad* al aplicarse sobre huevos de *X. arvicola* que fueron ubicados en los brazos y los tronco de las cepas fue menor que el de los insecticidas convencionales. Los resultados del ensayo indican el efecto ovicida de *Spinosad*, cuando es aplicado a la máxima dosis comercial, varía en función del medio en el que se realiza el tratamiento, pues los huevos de este coleóptero eran más susceptibles a *Spinosad* cuando éste era aplicado mediante pulverización directa en Torre Potter, logrando una inhibición embrionaria del 77%, 82%, 78% y 40% en huevos de 7 a 8, de 5 a 6, de 3 a 4 y de 1 a 2 días de edad frente al 41,66% que se obtiene en brazo o el 16,66% que se obtiene en tronco.

El efecto ovicida demostrado por *Spinosad* al aplicarse sobre brazos y troncos donde habíamos colocado huevos de *X. arvicola* fueron mas bajas que las demostradas por otras materias activas. En brazo es aceptable el 41,66% de huevos que inhibe en brazos, pudiendo ser aconsejable utilizar *Spinosad* para disminuir las densidades de poblaciones huevos que puedan completar su desarrollo embrionario y posterior eclosión de larvas neonatas en el viñedo, aumentando la capacidad de control de la plaga y teniendo en cuenta los efectos beneficiosos de *Spinosad* sobre otros organismos no diana.

- ***Beauveria bassiana*.**

Los tratamientos realizados con *B. bassiana*, a la máxima dosis comercial, sobre huevos ubicados en el brazo de las cepas, muestran unos resultados ovicidas medios, con una inhibición de los huevos del 54,16%. Los datos obtenidos con *B. bassiana*, son similares a los obtenidos con *Imidacloprid*, lo que supondría la misma efectividad, pero sin la necesidad de introducir insecticidas convencionales en el viñedo.

Los tratamientos realizados con *B. bassiana*, a la máxima dosis comercial, sobre huevos ubicados en el tronco de las cepas, arrojan unos datos nulos en cuanto a efectividad ovicida se refiere, pues son capaces de eclosionar el 100% de los huevos ubicados en el tronco, tanto en ritidoma como en grieta, de las cepas evaluadas en el ensayo.

Reay *et al.* (2007) encontraron que las soluciones acuosas de *B. bassiana* cuando fueron aplicadas al haya roja de Nueva Zelanda *Nothofagus fusca* (Hook.f.) Oerst., presistieron en el campo durante un máximo de siete meses, y las conídias penetraron satisfactoriamente en el interior de los túneles creados por los adultos de los barrenadores del agujero de alfiler (Curculionidae: Platypodinae), sin embargo las micosis y las tasas de mortalidad de los barrenadores eran demasiado bajas como para ser considerado como una herramienta para el control del barrenador del agujero de alfiler.

Los tratamiento realizados con Torre Potter para la aplicación de *B. bassiana*, a la máxima dosis comercial, arrojan mejores resultados en cuanto a la capacidad ovicida de *B. bassiana*, pues se alcanza el 97%, 86%, 80% y 86% en huevos de 7 a 8, de 5 a 6, de 3 a 4 y de 1 a 2 días de edad sobre el 54,14% que se obtiene en brazo o la nula inhibición que se produce en tronco frente a huevos de *X. arvicola*. Son destacables los valores obtenidos sobre la susceptibilidad de huevos de varias días de edad a *B. bassiana* cuando esta se aplica a los brazos de las cepas, logrando inhibir más de la mitad de la población embrionaria evaluada, que confirman la capacidad de control de *B. bassiana* sobre huevos de *X. arvicola* cuando estos se ubiquen en los brazos de las cepas, inhibiendo el desarrollo embrionario en el interior de los huevos, reduciendo la eclosión, posterior aparición de larvas y emergencia de adultos de *X. arvicola* en el viñedo, logrando de esta forma un control de la población, sin interferir sobre organismos no objetivo y no acumulando residuos en el campo, como ocurre con otros insecticidas sintéticos (Zimmermann, 2007).

- ***Imidacloprid*.**

Los tratamientos realizados con *Imidacloprid*, a la máxima dosis comercial, sobre huevos ubicados en el brazo de las cepas, muestran al igual que el tratamiento realizado con *B. bassiana*, unos resultados ovicidas medios, pues se consigue reducir más del 50% de la población embrionaria de *X. arvicola* evaluada, concretamente un 54,16% de los huevos de *X. arvicola* no consiguen eclosionar.

En los tratamientos realizados con *Imidacloprid*, a la máxima dosis comercial, sobre huevos ubicados en el tronco de las cepas, se obtiene una inhibición de la embriogénesis del 37,50%, valor bastante pequeño y solo significativamente superior a *B. bassiana*,

Spinosad y al testigo tratado con agua destilada, con 8,33, 16,67 y 8,33%, respectivamente.

Wang *et al.* (2002) expusieron que la persistencia de *Imidacloprid* en hojas, ramas y corteza o xilema, podía durar hasta 2 años, y sugirieron que la inyección en árboles con insecticidas sistémicos podría ser útil en la gestión integrada de escarabajos, al reducir las poblaciones de adultos y las larvas dentro de árboles infestados.

En otros ensayos realizados, la técnica de inyección de estos insecticidas sistémicos en árboles, ha resultado eficaz para la prevención de ataques de otros coleópteros como por ejemplo *Hypocryphalus mangiferae* (Coleoptera: Scolytidae) (Saeed *et al.*, 2011). Otros estudios como los descritos por Poland *et al.*, (2006) también sugieren la inyección de insecticidas sistémicos en árboles como una herramienta a utilizar en un programa integrado para la gestión de las poblaciones de *H. mangiferae*.

Imidacloprid posee un efecto ovicida medio-bajo sobre huevos de *X. arvicola* cuando estos se ubican en brazo donde el 54,16% de los huevos no eclosionan, o en tronco donde lo es el 37,50%, si lo comparamos con los resultados ovicidas altos que se obtuvieron cuando la misma materia activa, a la máxima dosis comercial, fue aplicada mediante pulverización directa sobre huevos de *X. arvicola* con Torre Potter, obteniéndose inhibiciones que iban desde el 77 al 92%.

Imidacloprid es utilizado sobre muchas etapas de desarrollo, entre las que se encuentra el huevo, de muchas familias de insectos plaga que ocasionan daños por todo el mundo, sus efectos por contacto queda confirmado sobre los huevos que se ubicaban en el brazo de las cepas, tanto en ritidoma como en grieta que actúan como protectores frente al insecticida, donde es capaz de inhibir el 54,16% de los huevos, o en tronco, donde pese a tener mayor profundidad las grietas o mayor grosor el ritidoma, es capaz de alcanzar un 37,50% en la inhibición de los huevos. Los resultados sugieren que *Imidacloprid* podría ser eficaz en el control de esta etapa de desarrollo de *X. arvicola*, para la aplicación de un uso racional de esta materia activa en el viñedo en el MIP de la plaga.

- ***Clorpirifos.***

Los tratamientos realizados con *Clorpirifos*, a la máxima dosis comercial, sobre huevos ubicados en el brazo de las cepas, son eficaces, pues aunque no se alcanza un control total de los huevos evaluados, se consigue una inhibición del 91,66%, lo que la convierte en la materia activa que posee mejores resultados en cuanto al control embrionario de los huevos de *X. arvicola* evaluados sobre los brazos de las cepas.

Los tratamientos realizados con *Clorpirifos*, a la máxima dosis comercial, sobre huevos ubicados en el tronco de las cepas, muestran los mejores resultados, con un 83,33% de efectividad ovicida.

Clorpirifos aplicado a la máxima dosis comercial, es la materia activa que menos difiere entre los tratamientos realizados sobre huevos de *X. arvicola* aplicados con Torre Potter y los realizados mediante pulverización manual sobre huevos ubicados en ritidoma y grieta de brazos y troncos de cepas. Se consigue una inhibición total, 100% de huevos

no eclosionados, sobre todos los rangos de edad de huevos de *X. arvicola* cuando se aplican directamente con Torre Potter, frente al 91,66% que se obtiene sobre brazos o el 83,33% que se obtiene sobre troncos de cepas evaluados. Estas altas inhibiciones de los huevos producidas en las distintas partes de la cepa, confirman la alta susceptibilidad que tiene *Clorpirifos* frente a huevos de *X. arvicola* y el alto grado de control que tiene esta materia activa sobre esta etapa de desarrollo del insecto, a lo que hay que unir que el modo de acción de *Clorpirifos*, que es relativamente rápido debido a las toxinas nerviosas que lo componen, hace que las mayores inhibiciones se mantengan desde los primeros días de la aplicación. La gran eficacia que ofrece *Clorpirifos* a la hora de controlar esta etapa de desarrollo de *X. arvicola* choca con los graves efectos secundarios que provoca frente a poblaciones de insectos no diana. Aunque *Clorpirifos* muestra niveles muy altos de eficacia en un gran número de especies, también se sabe que causa mortalidades en poblaciones beneficiosas (Corso, 1988), es por ello que cada vez se optimiza más la búsqueda de insecticidas de origen natural, que no provoquen problemas en poblaciones beneficiosas, para seguir con la sustitución de los productos químicos tradicionales como los piretroides y los organofosforados.

- ***Flufenoxuron.***

Los tratamientos realizados con *Flufenoxuron*, a la máxima dosis comercial, sobre huevos ubicados en el brazo de las cepas, muestran una alta mortalidad embrionaria, del 75%, al igual que la otra materia activa IGR, *Piriproxifen* con un 75%, y no significativamente diferente de *Clorpirifos*.

Los tratamientos realizados con *Flufenoxuron*, a la máxima dosis comercial, sobre huevos ubicados en el tronco de las cepas, poseen buenos valores inhibidores con un 62,50% de huevos no eclosionados, significativamente diferente de *Imidacloprid*, *Spinosad*, *B. bassiana* y el testigo tratado con agua destilada, con 37,50, 16,66, 0 y 4%, respectivamente.

Flufenoxuron, al aplicarse sobre huevos de *X. arvicola* que fueron ubicados en los brazos de las cepas, obtiene unos resultados, 75% de inhibición, similares a la obtenida en el ensayo con Torre Potter sobre huevos de 1 a 2 y de 5 a 6 días de edad, con un 75% y 74% respectivamente. Peores resultados son los obtenidos, sobre huevos que se ubicaban en el tronco de las cepas, donde sólo se alcanzó un 62,50% de inhibición de los huevos evaluados.

Aun siendo más bajas las inhibiciones de los huevos obtenidas en brazo y en tronco, los valores alcanzados demuestran la gran susceptibilidad de los huevos de *X. arvicola* a estos tipos de insecticidas de 2ª generación, que afectan a la fase final de la embriogénesis (Wilson y Cryan, 1997). Debido a la gran actividad inhibidora de huevos y la aparente ausencia de efectos secundarios en el campo, deja pocos residuos los cuales no afectan a los microorganismos del suelo, por lo que podría considerarse la utilización de esta materia activa dentro de un MIP frente a este coleóptero.

- ***Piriproxifen.***

Los tratamientos realizados con *Piriproxifen*, a la máxima dosis comercial, sobre huevos ubicados en el brazo de las cepas, al igual que los descritos para *Flufenoxuron*, son buenos, obteniéndose un 75% de inhibición, no siendo significativamente diferente de *Clorpirifos*.

Los tratamientos realizados con *Piriproxifen*, a la máxima dosis comercial, sobre huevos ubicados en el tronco de las cepas, muestran un aceptable control ovicida inhibiendo el desarrollo del 45,83% de los huevos, no teniendo diferencias significativas con *Flufenoxuron* y *Clorpirifos*, con un 62,50% y 83,33%, respectivamente.

Los efectos ovicidas de *Piriproxifen*, al aplicarse sobre huevos de *X. arvicola* ubicados en brazos y en troncos de las cepas, 75 y 45,83% de mortalidad respectivamente, fueron menores que los obtenidos mediante pulverización directa mediante Torre Potter sobre varios rangos de edad de huevos de *X. arvicola* (huevos de 1 a 2, de 3 a 4, de 5 a 6 y de 7 a 8 días de edad con inhibiciones del 76 %, 92%, 88% y 95%, respectivamente).

El efecto ovicida demostrado por *Piriproxifen* al aplicarse sobre brazos y troncos, con un 75% y un 43,85% respectivamente, muestra la susceptibilidad de esta etapa de desarrollo a los insecticidas reguladores del crecimiento de insectos, y sitúan a estos insecticidas como una herramienta destacable a la hora de realizar un control integrado sobre aquellas especies de insectos barrenadores que se desarrollan en el interior de las plantas huésped durante la mayor parte de su ciclo de vida y en la que uno de sus estadios más sensibles, como es el del huevo, se da en el exterior de las plantas atacadas.

- **Agua destilada (testigo).**

El control realizado con *Agua destilada* sobre huevos ubicados en el brazo de las cepas, muestra una mortalidad embrionaria del 12,33% y una supervivencia del 87,67%, mientras que si los huevos se ubican en el tronco de las cepas, muestra una mortalidad embrionaria del 4% y una supervivencia del 96%.

Los motivos por los que se producen en ambos ensayos la inhibición de algunos de los huevos de *X. arvicola* evaluados, puede deberse a factores genéticos de la hembra, fecundación, viabilidad, inanición de las larvas... Por el contrario, la inocuidad del agua destilada sobre huevos de *X. arvicola*, no interfiere en la eclosión de las larvas neonatas.

De los resultados se deriva que algunas materias activas evaluadas (*B. bassiana*, *Imidacloprid*, *Piriproxifen*), podrían ser utilizadas como insecticida alternativo para el control integrado de *X. arvicola*, a la hora de inhibir las puestas de huevos realizadas por los adultos tanto en brazos como en troncos de viñedo, pues en los ensayos realizados se observa que inhiben más de la mitad de la población embrionaria evaluada.

En la actualidad la única técnica de los insecticidas para la protección de los árboles sensibles de ser atacado por plagas, es el tratamiento de las ramas, antes de ser colonizados, evitando la dispersión de las plagas y evitando cualquier riesgo de los seres

humanos y el medio ambiente (Grosman y Upton, 2006). En nuestro caso, para un control integrado sostenible frente a *X. arvicola*, se sugiere que los insecticidas sistémicos sean aplicados sólo sobre las cepas afectadas, para no causar modificaciones del comportamiento de otras especies depredadoras o parasitoides que pueda pose, como si ha ocurrido con otros parasitoides en el control de escarabajos de la corteza (Ruano *et al.*, 2008).

En el caso de utilizar hongos entomopatógenos frente a oviposiciones de *X. arvicola* en distintas partes de la planta, debemos tener en cuenta que si tras la aplicación de *B. bassiana*, como es nuestro caso, en los huevos a tratar la mortalidad embrionaria no se produce en los primeros días por la micosis del hongo hacia el embrión, existe la posibilidad de la supervivencia del mismo debido a que el control efectivo de *B. bassiana* disminuye con el tiempo, con lo que se ve favorecida la larva neonata de *X. arvicola* para seguir introduciéndose en la madera durante las primeras horas de vida.

Lo que puede explicar los nulos datos obtenidos por el hongo cuando los tratamientos se realizaron sobre el tronco. Pues la mayor cantidad de madera en los troncos de las cepas, hace peor el contacto entre el hongo entomopatógeno y el huevo, provocando que cuanto mas tiempo pasa desde su aplicación, el desarrollo embrionario del huevo avanza, reduciéndose el control efectivo de *B. bassiana* sobre el mismo.

La aplicación de medidas de control eficaces frente a adultos de *X. arvicola*, reduciría el daño estructural que son capaces de realizar las larvas de estos en el interior de la madera de las cepas. A raíz de los resultados obtenidos en cuanto a la baja tasa de inhibición de huevos de *X. arvicola* producida en el tronco de la planta, y los buenos resultados obtenidos en los brazos de las mismas, hace de la aplicación de *B. bassiana*, una buena herramienta para el control integrado de *X. arvicola*, siempre que el hongo sea capaz de llegar a ponerse en contacto con los estadios inmaduros de desarrollo de insecto.

En un MIP frente a *X. arvicola*, *Spinosad* podría potencialmente interferir sobre el desarrollo de la embriogénesis de algunas de las puestas ubicadas en distintas parte de la planta, disminuyendo en menor medida a como lo harían otros insecticidas las poblaciones de huevos para controlar la plaga, pero con la salvedad que *Spinosad* posee mejores resultados a la hora de poder integrar un control químico y biológico de la plaga sobre el entorno donde se desarrolla.

Por lo tanto, la eficacia de los insecticidas elegidos que se apliquen sobre un determinado cultivo, debe ser monitoreada para las plagas, así como para los enemigos naturales, con el único fin de la conservación de la biodiversidad natural.

En todos los tratamientos realizados, en general, las inhibiciones producidas sobre los huevos de *X. arvicola* que se ubicaban sobre los brazos y los troncos de las cepas evaluadas, son menores que las obtenidas cuando las pulverizaciones se realizaban directamente sobre ellos mediante la utilización de Torre Potter, los motivos pueden deberse a la protección que ejerce sobre los huevos, el ritidoma o la grieta donde se ubican las puestas, impidiendo el contacto entre la materia activa y el estadio inmaduro del insecto, no así en el tratamiento con Torre Potter, donde la pulverización se realizaba directamente sobre el huevo

○ **Ritidoma y grieta, brazo.**

El análisis estadístico muestra que no existen diferencias significativas entre las ubicaciones de huevos de *X. arvicola* en el brazo de las cepas cuando son aplicadas distintas materias activas a la máxima dosis comercial. (Fig. 5.86).

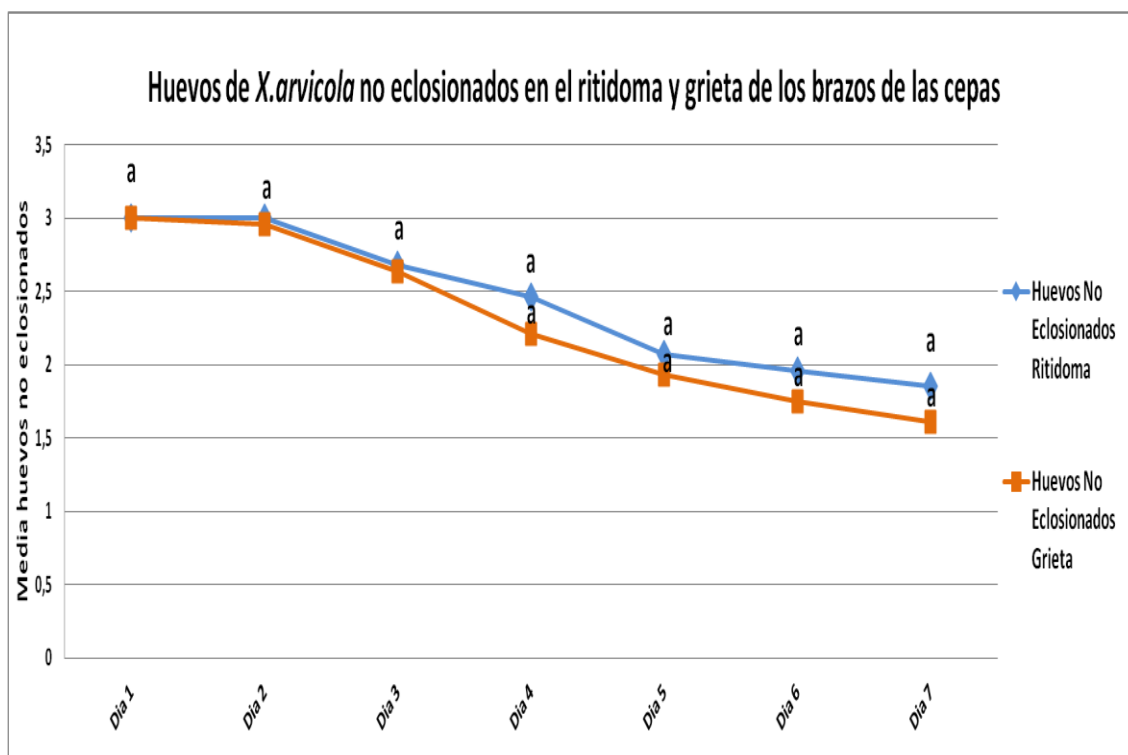


Figura 5.86: Evolución de huevos no eclosionados de *X. arvicola*, cuando la puesta del huevo se ubica en el ritidoma y en la grieta de los brazos de las cepas. Letras diferentes en los superíndices muestran diferencias significativas entre las distintas ubicaciones para un mismo día de conteo ($P < 0,05$, test DMS).

Cuando los huevos de *X. arvicola* se ubican sobre los brazos de las cepas, se observa que no existen diferencias significativas entre ambas ubicaciones de la madera, ritidoma y grieta.

En la grieta de los brazos comienzan a inhibirse la eclosión de los huevos desde el segundo día desde la aplicación de las materias activas, con un 98,66% de los huevos no eclosionados y un 100% en ritidoma (Fig. 5.86). En el cuarto día de evaluación, se produce la mayor diferencia, 82% de los huevos están inhibidos en el ritidoma de los brazos, mientras que en la grieta sólo se han inhibido el 73,66%, no existiendo diferencias significativas entre las ubicaciones. En el séptimo día, los huevos no eclosionados en el ritidoma son el 61,66% (Fig. 5.87), mientras que en la grieta sólo se consigue un 53,66% (Fig.5.88). En cuanto a huevos eclosionados, un 38,34% en el ritidoma y 46,34% en la grieta consiguen completar su desarrollo embrionario y eclosionar dando lugar a las larvas neonatas de *X. arvicola*.

Los huevos de *X. arvicola* que no consiguen eclosionar en los brazos es mayor en el

ritidoma, un 61,66%, frente al 53,66% que sólo se obtiene en la grieta, esta mayor eclosión de los huevos en la grieta es debida a la mayor protección que ejerce la madera frente a los insecticidas, impidiendo que las pulverizaciones de los insecticidas lleguen a entrar en contacto con el huevo y produzca su efecto letal sobre el mismo.



Figura 5.87: Huevo de *X. arvicola* no eclosionado ubicado en el ritidoma de los brazos de las cepas, tras la aplicación de distintas materias activas.



Figura 5.88: Huevo de *X. arvicola* no eclosionado ubicado en la grieta de los brazos de las cepas, tras la aplicación de distintas materias activas.

○ **Ritidoma y grieta, tronco.**

El análisis estadístico muestra que existen diferencias significativas entre las ubicaciones de huevos de *X. arvicola* en el tronco de las cepas cuando son aplicadas distintas materias activas a la máxima dosis comercial (Fig. 5.89).

Cuando los huevos de *X. arvicola* se ubican sobre los troncos de las cepas, se observa que existen diferencias significativas entre ambas ubicaciones de la madera, ritidoma y grieta, pues se produce una reducción mayor en el número de huevos no eclosionados a partir del quinto día desde la aplicación de las materias activas.

En el ritidoma y en la grieta de los troncos comienza a inhibirse la eclosión de los huevos desde el segundo día desde la aplicación de las materias activas, con un 98,66% y un 95,33% (Fig. 5.89). En el quinto día de evaluación, comienzan las diferencias significativas entre ubicaciones que se mantendrán hasta el final del ensayo, produciéndose una inhibición del 51% en ritidoma, mientras que en grieta solo se inhiben el 36,66% de los huevos. En el séptimo día, los huevos inhibidos en el ritidoma son el 46,33% (Fig. 5.90), mientras que en la grieta sólo se consigue un 25% (Fig. 5.91), existiendo diferencias significativas entre las ubicaciones para este día. En cuanto a huevos eclosionados, un 53,67% en el ritidoma y un 75% en la grieta consiguen completar su desarrollo embrionario y eclosionar dando lugar a las larvas neonatas de *X. arvicola*.

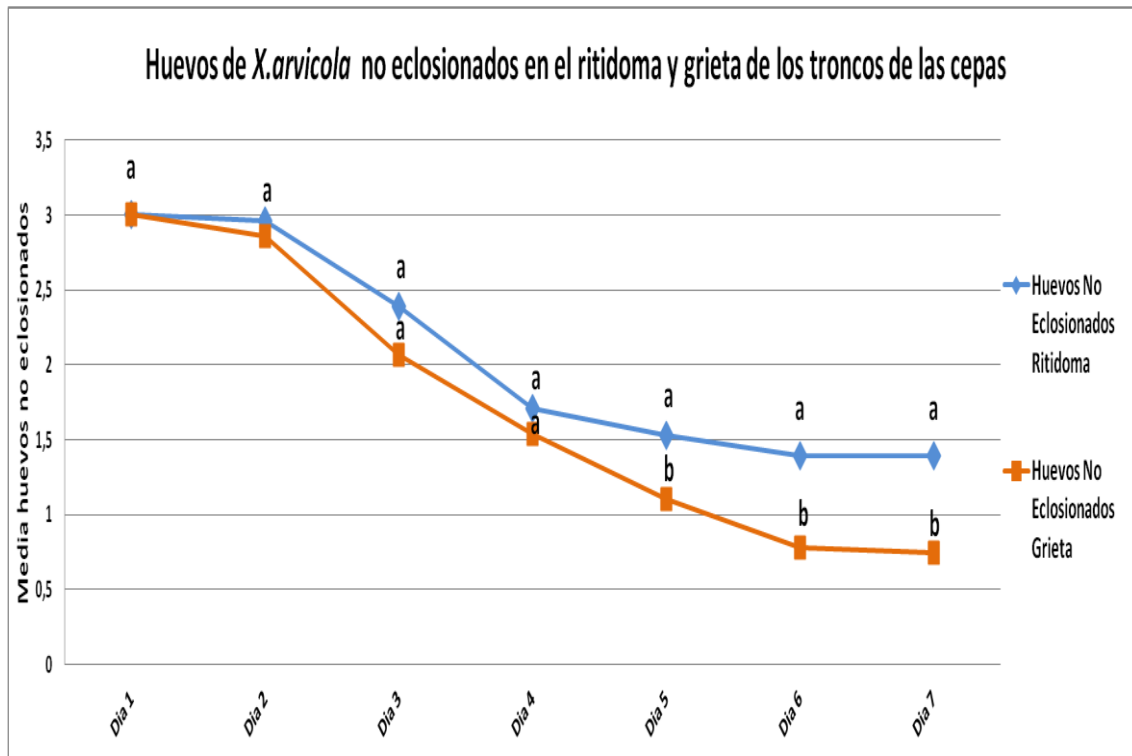


Figura 5.89: Evolución de huevos no eclosionados de *X. arvicola*, cuando la puesta del huevo se ubica en el ritidoma y en la grieta de los troncos de las cepas. Letras diferentes en los superíndices muestran diferencias significativas entre las distintas ubicaciones para un mismo día de conteo ($P < 0,05$, test DMS).

En el tronco también son los huevos ubicados en el ritidoma, con un 46,33% los que mayores inhibiciones presentan, frente al 25% que sólo se alcanza en la grieta de los troncos, al igual que pasaba en el ensayo sobre brazos, tanto el ritidoma como la grieta evitan que las gotas del insecticida se pongan en contacto con los huevos de *X. arvicola*, pero el hecho que las inhibiciones de los huevos sean menores en ambas ubicaciones con respecto a las obtenidas en brazo, se debe al mayor grosor que presenta el ritidoma y la mayor profundidad de las grietas en el tronco, aumentando de esta manera la capacidad de llegar la materia activa hasta el huevo.



Figura 5.90: Huevo de *X. arvicola* no eclosionado ubicado en el ritidoma de los troncos de las cepas, tras la aplicación de distintas materias activas.



Figura 5.91: Huevo de *X. arvicola* no eclosionado ubicado en la grieta de los troncos de la cepa, tras la aplicación de distintas materias activas.

5.3.2.2.- Larvas neonatas de *X. arvicola* previa aplicación de materias activas sobre huevos en distintas partes de la cepa.

Se observa que existen diferencias significativas entre las distintas materias activas cuando fueron aplicadas a la máxima dosis comercial sobre huevos de *X. arvicola*, la eclosión de los mismos, y la posterior supervivencia larvaria que produjeron con dichas materias activas aplicadas sobre el brazo (Fig. 5.92) y el tronco (Fig. 5.93) de las cepas.

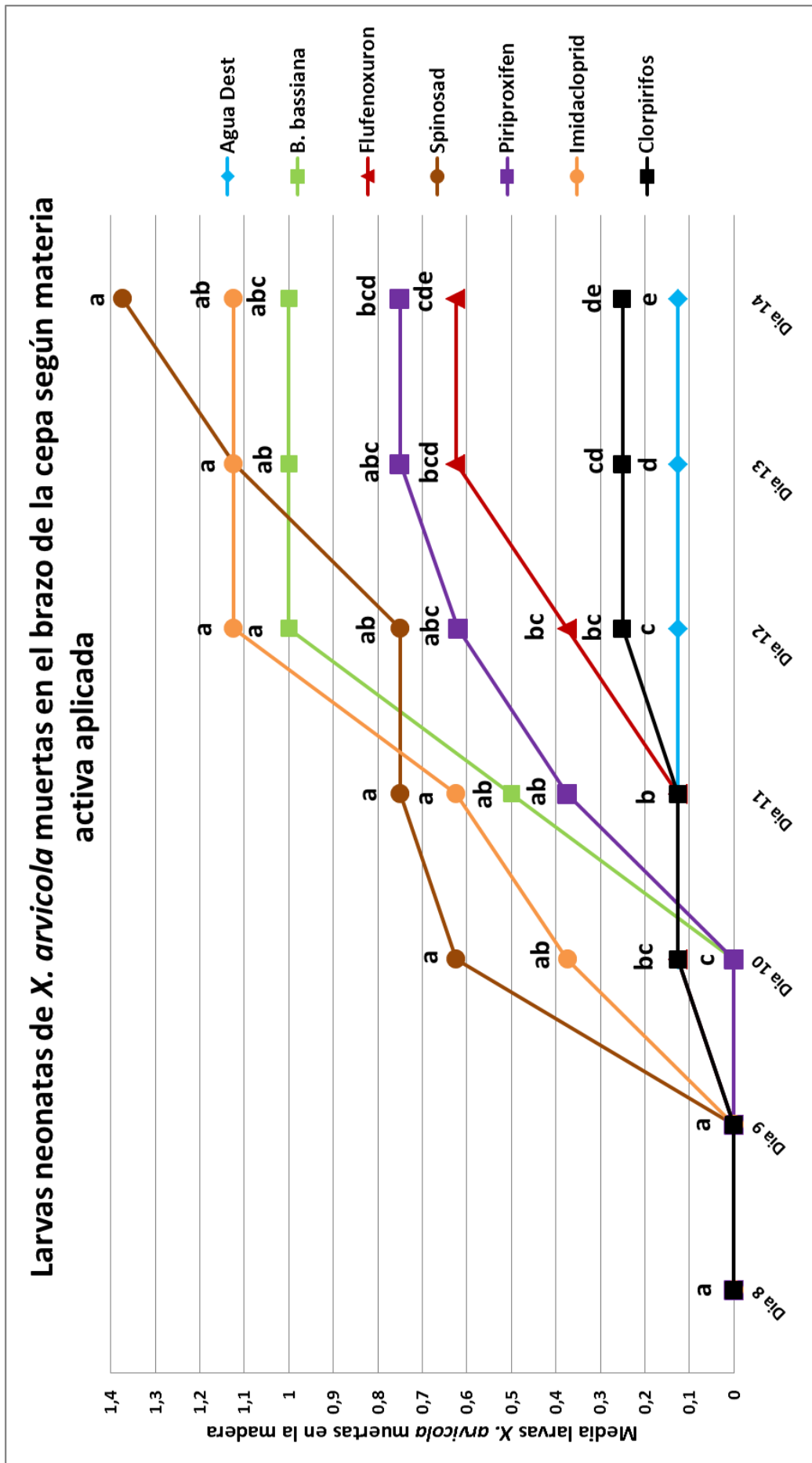


Figura 5.92: Evolución de larvas neonatas de *X. arvicola* introducidas en el brazo de las cepas, tras la aplicación de distintas materias activas, después de 7 días desde el tratamiento. Letras diferentes en los índices muestran diferencias significativas entre las distintas materias activas para un mismo día de conteo ($P < 0,05$, test DMS)

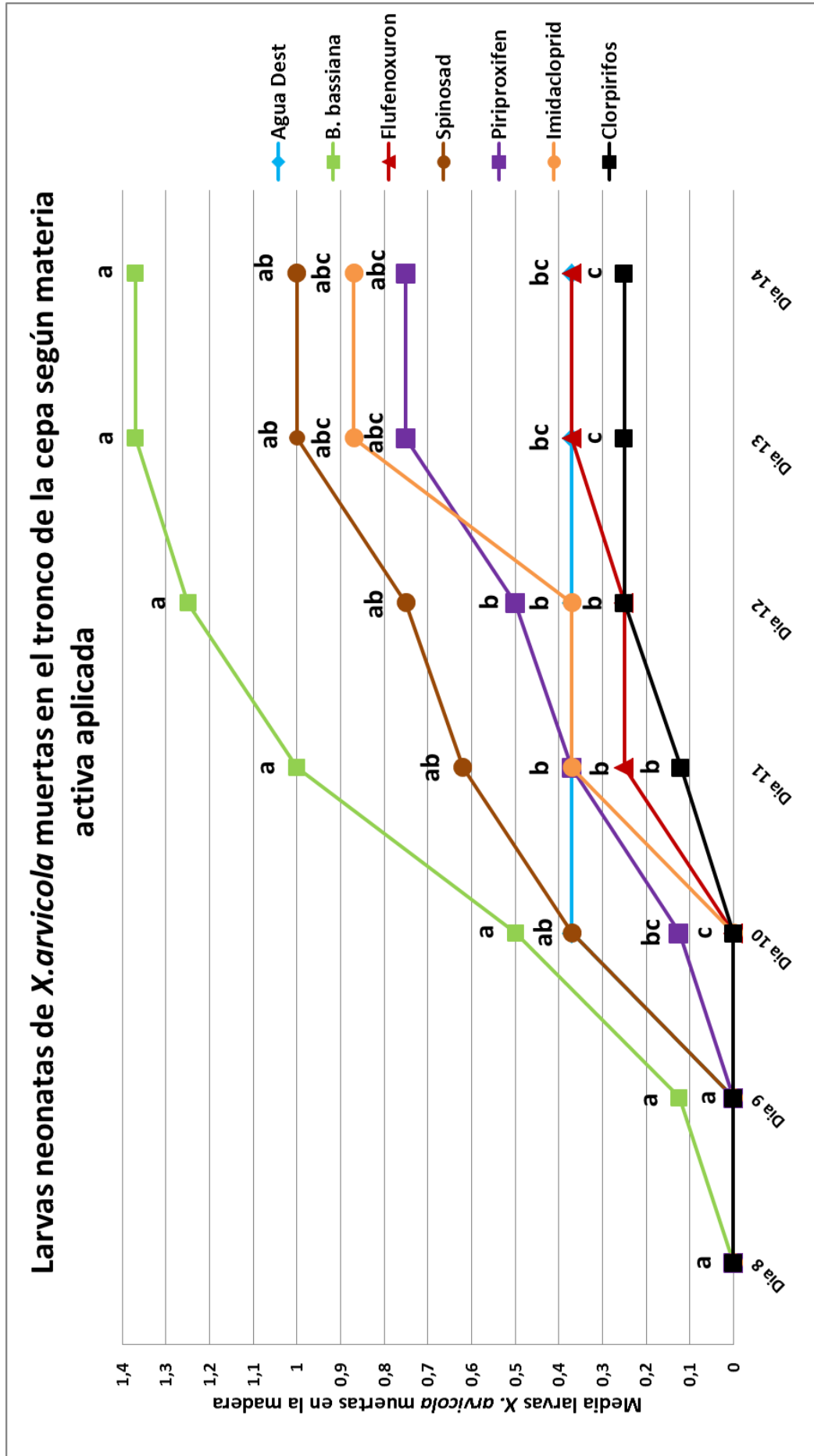


Figura 5.93: Evolución de larvas neonatas de *X. arvicola* introducidas en el tronco de las cepas, tras la aplicación de distintas materias activas, después de 7 días desde el tratamiento. Letras diferentes en los índices muestran diferencias significativas entre las distintas materias activas para un mismo día de conteo ($P < 0,05$, test DMS).

El análisis estadístico realizado para la aplicación de las materias activas sobre huevos de *X. arvicola* que eclosionaron y la posterior supervivencia de larvas neonatas en el brazo (Fig. 5.92) y en el tronco (Fig. 5.93) de las cepas, revela que existen diferencias significativas entre las distintas materias activas cuando son aplicadas a la máxima dosis comercial.

En relación a los resultados obtenidos por cada materia activa aplicada a la máxima dosis comercial, durante los siete días de evaluación, sobre huevos de *X. arvicola*, su eclosión y posterior supervivencia de larvas neonatas de *X. arvicola* cuando se ubican en el brazo y en el tronco de las cepas, se puede decir:

- ***Spinosad***.

Los tratamientos realizados con *Spinosad*, a la máxima dosis comercial, sobre huevos de *X. arvicola* que consiguieron eclosionar y dar lugar a la aparición de larvas neonatas de *X. arvicola* ubicadas en el brazo de las cepas, muestran unos resultados larvicidas altos, pues el 45,83% de las larvas mueren siendo la materia activa que mejores resultados obtiene y no difiere significativamente de *Imidacloprid* y *B. bassiana*, 37,50 y 33,33% de mortalidad acumulada (Fig. 5.92). Las larvas neonatas que se ubicaban en el tronco de las cepas, acumulan una mortalidad del 33,33%, siendo en este caso la materia activa con el segundo mejor resultado obtenido, y no teniendo diferencias significativas con *B. bassiana*, que con un 45,66%, es la materia activa con mejores mortalidades (Fig. 5.93).

En el lado opuesto tenemos las larvas que sobreviven una vez que entraron en contacto con las materias activas, a partir del octavo día y hasta el día 14 desde la aplicación de la materia activa, lográndose una supervivencia larvaria del 54,17% en los brazos, y del 66,67% en los troncos.

El efecto larvicida demostrado por *Spinosad* al aplicarse sobre brazos y troncos donde se encontraban larvas neonatas de *X. arvicola* fueron mas bajas que las demostradas en el ensayo realizado mediante en laboratorio mediante Torre Potter, con pulverizaciones directas sobre larvas neonatas de *X. arvicola* de *Spinosad*, aplicado a la máxima dosis comercial, en el que se alcanzó una mortalidad larvaria del 84%.

El ritidoma y la grieta donde se ubicaron los huevos de *X. arvicola*, hacen de protección del huevo frente a la materia activa, logrando de esta forma que *Spinosad* no impacte directamente sobre el huevo, pero la posterior eclosión de la larva y contacto con la madera que había sido aplicada sobre la madera, produce la bioactivación de la materia activa, logrando cambios en la alimentación de la larva, y provocando días más tarde la muerte de ella, de ahí que se alcancen los mejores resultados en los últimos días de evaluación, con un 45,83 y 33,33% en brazos y troncos, respectivamente.

Ioriatti *et al.* (2006) evalúan la capacidad de 7 insecticidas sobre un población de 60 larvas de *Pandemis heparana* (Lepidoptera: Tortricidae) sobre manzanos, en condiciones de campo, entre los que se encuentra *Spinosad*, (44.2% I.A.), consiguiendo una mortalidad larvaria del 97,7% y 93,7% a los 3 días y 8 días, respectivamente desde el tratamiento, a partir del octavo día de evaluación, la mortalidad desciende al 58,6% en el día 15, y al 53,7% en el día 22, valores no muy superiores al 45,83% logrado en

nuestro ensayo sobre brazos en el día 15 de evaluación frente a huevos y posteriormente larvas neonatas de *X. arvicola*.

- ***Beauveria bassiana*.**

Los tratamientos realizados con *B. bassiana*, a la máxima dosis comercial, sobre huevos de *X. arvicola*, que consiguieron completar su desarrollo embrionario y dieron lugar a la aparición de larvas neonatas de *X. arvicola* ubicadas en el brazo de las cepas, muestran unos resultados larvicidas buenos, pues el 33,33% que se obtiene, no difiere significativamente de *Spinosad* e *Imidacloprid*, que con un 45,83 y 37,50%, son las materias ativas que mejores resultados presentan en el brazo de las cepas (Fig. 5.92). Las larvas neonatas que se ubicaban en el tronco de las cepas, acumulan una mortalidad con *B. bassiana* del 45,66%, siendo la materia activa con mejores resultados de mortalidad larvaria en los troncos de las cepas (Fig. 5.93).

Las larvas que sobreviven a las materias activas, en los brazos, representan un 66,67% en los brazos, y un 54,34% en los troncos.

Cuando *B. bassiana* se ha pulverizado directamente sobre larvas neonatas, a la máxima dosis comercial, se han obtenido mortalidades del 86% a los 7 días desde el tratamiento. En este ensayo, se evalúa la capacidad residual de *B. bassiana* sobre las larvas que sobrevivieron al tratamiento sobre huevos, lográndose una mortalidad acumulada del 33% en brazos y del 45,66% en troncos tras 14 días desde que se aplicó la materia activa. Estos valores confirman la capacidad de control de *B. bassiana* sobre larvas neonatas de *X. arvicola* a largo plazo, es decir, *B. bassiana* tiene la capacidad de infectar la larva al discurrir esta por zonas de la madera, tanto brazo como tronco, donde se había aplicado anteriormente, y que las hifas del hongo comiencen a desarrollarse en el interior de la larva, para ocasionarle la muerte días despues de la infección, no siendo tan rápida como ocurre con otros insecticidas, como el organofosforado *Clorpirifos*.

- ***Imidacloprid*.**

Los tratamientos realizados con *Imidacloprid*, a la máxima dosis comercial, sobre huevos y larvas neonatas de *X. arvicola* ubicadas en el brazo de las cepas, muestran unos resultados buenos, pues *Imidacloprid* con un 37,50% de mortalidad, no tiene diferencias significativas con *Spinosad*, que con un 45,83%, es la materia activa que mejores resultados ofrece (Fig. 5.92). Si observamos los resultados obtenidos en tronco, *Imidacloprid*, con un 29% de mortalidad, es la materia activa que obtiene el 3er mejor resultado, y no difiere significativamente de *B. bassiana*, que con un 45,66% de mortalidad, es la que mejores resultados ofrece en los troncos de las cepas en cuanto a mortalidad larvaria de *X. arvicola* (Fig. 5.93).

Por el contrario, tendríamos un 62,50% en brazo y un 71% en tronco de larvas neonatas de *X. arvicola* que sobreviven a la previa aplicación de *Imidacloprid*, consiguiendo de esta forma introducirse en la madera de las cepas evaluadas.

Saeed *et. al.* (2011), describen otro ensayo en el que se evaluó la aplicación de un

insecticida sobre una parte, en lugar del total de una especie afectada por un insecto plaga, concretamente evaluó la capacidad de *Imidacloprid* frente larvas de *Hypocryphalus mangiferae* Stebbing (Coleoptera: Scolytidae) que se encontraban en el interior de la madera de árboles del mango *Mangifera indica*. Las ramas se pulverizaron con *Imidacloprid*, en una concentración de 11,06 ppm, emergiendo posteriormente un 36% de adultos menos, que el control que se había realizado solamente con agua.

La pulverización directa con Torre Potter de *Imidacloprid*, similar dosis y concentración, sobre huevos de *X. arvicola* en condiciones de laboratorio, obtuvo un 94% de mortalidad, en los 7 días posteriores al tratamiento. *Imidacloprid* al aplicarse sobre brazos y troncos donde se encontraban huevos y larvas neonatas de *X. arvicola*, obtiene menores mortalidades, aun así, alcanzar una mortalidad del 37,50% en brazo y 29% en tronco después de 14 días desde que se realizó el tratamiento, demuestran que *Imidacloprid* es tóxico sobre las larvas neonatas de *X. arvicola* que discurren por la madera de las cepas, y que estas larvas necesitan periodos prolongados frente a los insecticidas que que estos actúen, y las larvas mueran antes de que se introduzcan en la madera (Poland *et al.*, 2006). Tanto la toxina, como la sustancia anti alimentaria demostrada para *Imidacloprid* por Elbert *et al.* (1991), no parecen ser suficiente, incluso cuando la materia activa es aplicada a la máxima dosis comercial, para inhibir el apetito de las larvas en contacto con la madera, y evitar la inserción en la misma, de ahí la supervivencia del 62,50% en brazo y del 71% en tronco.

- ***Clorpirifos*.**

Los tratamientos realizados con el insecticida organofosforado *Clorpirifos*, a la máxima dosis comercial, sobre larvas neonatas de *X. arvicola* que habían eclosionado de huevos en los brazos de las cepas, muestran unos valores bajos, 8,33% de mortalidad, pues junto con el testigo tratado con agua destilada, 4,16% de mortalidad, es la materia activa que peores resultados ofrece, quien difiere significativamente con las tres materias activas que mejores resultados ofrecen, *Spinosad*, *Imidacloprid* y *B. bassiana*, con 45,83%, 37,50% y 33,33% respectivamente (Fig. 5.92).

Las larvas neonatas que se ubicaban en el tronco de las cepas, acumulan de nuevo una mortalidad del 8,33%, siendo con el testigo tratado con agua destilada y Flufenoxuron, 12,33% en ambos tratamientos, la materia activa que peores resultados ofrece, y que la hace tener diferencias significativas con *B. bassiana* y *Spinosad* que son las materias activas que mejores resultados ofrecen en los troncos de las cepas, con un 45,66 y 33,33%, respectivamente (Fig. 5.93).

Las larvas que sobreviven en brazo y en tronco, representan un 91,67% en ambos casos, de la población embrionaria que habían completado su desarrollo y eclosionado de los huevos.

Saeed *et al.*, (2011), aplican *Clorpirifos* sobre ramas de árboles afectados por larvas de *Hypocryphalus mangiferae* Stebbing (Coleoptera: Scolytidae) que se encontraban en el interior de la madera de árboles del mango *Mangifera indica*. Las ramas se pulverizaron con *Clorpirifos*, en una concentración de 14,96 ppm, emergiendo posteriormente un 49

% de adultos menos, que el control que se había realizado solamente con agua.

Clorpirifos al aplicarse mediante Torre Potter sobre larvas neonatas de *X. arvicola* demuestra un control total de dicho estadio, 100% de mortalidad. Las bajas mortalidades obtenidas por *Clorpirifos* en este ensayo sobre los brazos y troncos de las cepas, parten de la base que esta materia activa ya había inhibido prácticamente por completo el estado de huevo en los 1^{os} días del ensayo, inhibiendo el 91,66% y el 83,33% de los huevos en brazo y tronco, por lo que la posterior presencia de larvas neonatas, 8,34% y 16,67%, en la madera era testimonial, a lo que hay que unir que el modo de acción de *Clorpirifos*, que es relativamente rápido debido a las toxinas nerviosas que lo componen, hace que las mayores mortalidades se den en los 1^{os} días de la aplicación disminuyendo la actividad residual con el tiempo que es cuando aparecen las larvas neonatas en la madera.

- ***Flufenoxuron.***

Los tratamientos realizados con *Flufenoxuron*, a la máxima dosis comercial, sobre huevos de *X. arvicola* que consiguieron eclosionar y dar lugar a la aparición de larvas neonatas de *X. arvicola* ubicadas en el brazo de las cepas, muestran unos resultados larvicidas medios, pues el 20,83% de las larvas mueren, teniendo diferencias significativas con spinosad que es la materia activa que tiene mejores resultados, y no teniendo diferencias significativas con *Clorpirifos* y el testigo tratado con agua destilada, 8,33% y 4,16% respectivamente, que son los que peores resultados presentan (Fig. 5.92). Mientras que las larvas neonatas que se ubicaban en el tronco de las cepas, acumulan una mortalidad del 12,33%, siendo en este caso la materia activa con el segundo peor resultado obtenido y teniendo los mismos resultados que el tratamiento testigo, y no teniendo diferencias significativas con *Clorpirifos*, que con un 8,33%, es la materia activa con peores mortalidades (Fig. 5.93).

Las larvas neonatas que consiguen sobrevivir de esta materia activa suponen un 79,17% en los brazos, y 87,67% en los troncos.

Ioriatti *et al.*, (2006) evalúan la capacidad de siete insecticidas sobre una población de 60 larvas de *Pandemis heparana* (Lepidoptera: Tortricidae) sobre manzanos, en condiciones de campo. Entre los insecticidas IGR's que utilizan está *Flufenoxuron* (4.7% I.A.), obteniéndose una mortalidad larvaria del 68,2% a los 3 días y del 91,7% a los 8 días desde el tratamiento. Es a partir del octavo día de evaluación, cuando la mortalidad desciende, concretamente al 86,2% en el día 15, y al 83,3% en el día 22.

Flufenoxuron, a la máxima dosis comercial, muestra una mortalidad alta cuando se aplica con pulverización directa con Torre Potter, 98% de mortalidad larvaria a los 7 días. *Flufenoxuron*, sólo afecta a la fase final de la embriogénesis, afectando a la quitina que forma la boca del embrión, impidiendo que esta adquiera rigidez para poder permitirle la eclosión del huevo (Wilson y Cryan, 1997), de ahí los buenos valores obtenidos en los 1^{os} días del ensayo, cuando se ubicaban en los brazos y troncos los huevos de *X. arvicola*, 62,50 y 75% respectivamente, pero el 20,83% y 12,33% obtenido en los brazos y troncos de las cepas, es aceptable, pues las larvas comienzan a estar expuestas a partir del séptimo día desde que se aplicó la materia activa y logrando

las mortalidades acumuladas que se han descrito a los 24 días.

- ***Piriproxifen.***

Los tratamientos realizados con *Piriproxifen*, a la máxima dosis comercial, sobre huevos de *X. arvicola*, que consiguieron completar su desarrollo embrionario y dieron lugar a la aparición de larvas neonatas de *X. arvicola* ubicadas en el brazo de las cepas, muestran unos resultados larvicidas aceptables, pues el 25% que se obtiene, no difiere significativamente de *Imidacloprid* y *B. bassiana*, que con un 37,50% y 33,33%, son las materias ativas presentan los 2^{os} y 3^{os} mejores resultados en el brazo de las cepas (Fig. 5.92). Las larvas neonatas que se ubicaban en el tronco de las cepas, acumulan de nuevo una mortalidad del 25%, y no teniendo diferencias con *B. bassiana*, que con un 45,66%, es la materia activa con mejores resultados de mortalidad larvaria en los troncos de las cepas (Fig. 5.93).

Las larvas que sobreviven a *Piriproxifen*, en los brazos y en los troncos, representan un 75% en ambos casos.

Piriproxifen cuando es aplicado a la máxima dosis comercial sobre larvas neonatas de *X. arvicola* mediante Torre Potter obtiene prácticamente un control total de las larvas, 92% de mortalidad. Las mortalidades obtenidas por *Piriproxifen* en este ensayo sobre los brazos y troncos donde se ubicaban las larvas neonatas es del 25%, completando los datos obtenidos por la misma materia activa en los primeros 7 días de evaluación, en los que *Piriproxifen* inhibía el 75 y 37,5% de los huevos, respectivamente. Lo que confirma las toxicidades de los estadios inmaduros de *X. arvicola* a esta materia activa.

- **Agua destilada (testigo)**

Los tratamientos con el testigo en el que se aplicó agua destilada sobre huevos de *X. arvicola* que consiguieron eclosionar y dar lugar a la aparición de larvas neonatas de *X. arvicola* ubicadas en el brazo de las cepas, no muestran efecto larvicida alguno, pues la mortalidad alcanzada es solamente del 4,16%, siendo el tratamiento que peores resultados ofrece (Fig. 5.92), mientras que en las larvas que se ubicaban en el tronco de las cepas, se obtiene una mortalidad larvaria del 12,33%, siendo en esta ocasión segundo tratamiento que ofrece peores resultados, y no difiere significativamente con los resultados obtenido por *Clorpirifos*, que con un 8,33% es la materia activa que posee peores resultados (Fig. 5.93).

La aplicación de agua destilada como tratamiento testigo sobre huevos de *X. arvicola* que posteriormente eclosionaron para dar lugar a larvas neonatas, no produjeron efecto nocivo alguno sobre ellas, las mortalidades del 4,16% en brazos y del 12,33% en troncos son pocas significativas, comparadas con el resto de las materias activas testadas (Figs. 5.92 y 5.93). Las pequeñas mortalidades larvarias obtenidas no es producida por la aplicación inocua del agua destilada, no modificando ningún comportamiento alimentarios en la larvas, siendo esta capaz de introducirse y alimentarse de la madera sobre la eclosionó del huevo, de ahí las supervivencias de las larvas que se obtienen en los brazos y en los troncos, un 95,84 y 87,33%,

respectivamente.

Las técnicas de aplicar tratamientos insecticidas a una o varias ramas del árbol en lugar de realizar el tratamiento sobre el árbol entero ha sido descrito por otros autores (Rodríguez *et al.*, 2003b; Ruano *et al.*, 2008), para tener un mínimo impacto de los insecticidas en la salud y en el medio ambiente. Para nuestro caso, esta metodología fue adaptada a las cepas de los viñedos que habían presentado sintomatología por ataque de *X. arvicola*, y el tratamiento se realizaron después de la colocación de los huevos sobre los trozos de madera de brazos y troncos elegidos.

La aplicación de los insecticidas directamente sobre los troncos de los árboles, o en nuestro caso, en los brazos y troncos de las cepas, en un bosque o en un viñedo puede ser operativamente difícil, pero los insecticidas de contacto mediante pulverizaciones con equipos terrestres pueden pasar a ser una operación simple. La eficacia de los distintos insecticidas que son aplicados directamente sobre la corteza para controlar las larvas de los insectos plaga, puede depender de la conducta de los insectos y de la probabilidad que los insectos entren en contacto con el tratamiento (Wanner *et al.*, 2002).

Los resultados obtenidos en este ensayo de laboratorio intentan simular lo máximo posible las condiciones de campo en el que las materias activas ejercen su eficacia en contacto y residual sobre los estadios más sensibles de *X. arvicola* que no podemos encontrar en el exterior de la cepa.

El tratar una superficie más grande con el insecticida de contacto, puede aumentar la probabilidad de que una dosis letal se acumule en el cuerpo de la larva neonata en su rastreo de la zona donde ha eclosionado, y por otra parte, en una superficie pequeña y discreta puede ser tratado con una dosis letal (Wanner *et al.*, 2002).

La mayoría de las materias activas poseen menor capacidad de control en este ensayo del que se obtenía mediante pulverización directa de ellas misma con Torre Potter, debido como se ha descrito anteriormente a la protección que ejercen tanto el ritidoma como la grieta para que el materia activa entre con el estadio inmaduro de *X. arvicola*. En otros casos, y al contrario de lo que ocurría en ensayos con Torre Potter, la eficacia residual de *Spinosad* y *B. bassiana*, supera al resto de las materias activas, obteniendo mayores mortalidades acumuladas a los 14 días, como ocurre en el ensayo sobre brazos troncos, de lo que se deduce que las materias activas que tienen unos efectos letales a largo plazo, la presencia del ritidoma y la grieta favorecen y aumentan el efecto letal de estas materias activas.

Un conocimiento más exacto del comportamiento a la hora de la dispersión de las larvas neonatas de *X. arvicola* sobre la madera del viñedo una vez que han eclosionado de los huevos y el comportamiento a la hora de realizar la oviposición por parte de las hembras de *X. arvicola*, podría evitar la aplicación de tratamientos cuando los huevos o las larvas de estos no estuvieran expuestos.

Spinosad ha sido probado contra termitas (Isoptera: Kalotermitidae) en madera seca termitas en concentraciones de 2300 y 5000mg/l (Scheffrahn y Busey, 1997).

Beauveria bassiana es altamente virulenta sobre las larvas de otro coleóptero cerambícido *Monochamus alternatus* Hope (Coleoptera: Cerambycidae), pero necesita

de un tiempo mayor para matar a los adultos (Shimazu y Kushida, 1983). Han sido muchos los estudios que han examinado el efecto de la edad de las larvas de los insectos a la susceptibilidad de los hongos entomopatógenos (Tanada y Kaya, 1993).

Un control efectivo de las larvas neonatas por parte de *B. bassiana*, disminuiría la introducción de las larvas durante las primeras horas de vida, disminuyendo el daño estructural que son capaces de realizar las larvas en el interior de la madera de las cepas. Si los hongos entomopatógenos como *B. bassiana* se utilizasen en el campo de la misma forma que hemos simulado en el laboratorio, los adultos de *X. arvicola* estarían expuestos al hongo mientras se alimentan en la planta y realizan las oviposiciones en distintas ubicaciones de la planta. Bajo el ritidoma o dentro de las grietas, pueden existir unas condiciones de humedad y temperatura ideales para la germinación de las esporas de los hongos, e infectar a los estados inmaduros de *X. arvicola*. El ritidoma, las grietas o las heridas causadas en las cepas por las podas pueden ofrecer la posibilidad de que las esporas de los hongos lleguen más fácilmente a los estadios inmaduros de *X. arvicola*.

Se consideran a los hongos entomopatógenos más seguros para el medio ambiente que los insecticidas convencionales, y se pueden llegar a utilizar en zonas sensibles, donde la presencia de depredadores y parasitoides de plagas tienen un papel fundamental. Además, este tipo de hongos pueden persistir y proliferar en el medio ambiente, teniendo la capacidad de transmitirse horizontal y verticalmente en otras poblaciones plaga, mejorando su eficacia (Liu y Bauer, 2006).

B. bassiana (y los hongos entomopatógenos en general) carecen de la presencia de un síntoma evidente cuando el patógeno entra en contacto con el hospedador para poder desarrollarse y posteriormente sobre el cadáver del insecto al que ha causado la muerte, pudiendo variar este en función de la temperatura, humedad relativa del aire, etc...; es a partir de ahí, donde deducimos que muchas de las larvas que encontramos muertas sobre los brazos y troncos del ensayo, no presentaban micosidad exterior, pero si la rigidez y coloración rosácea descrita por Meyers et al (2013) para las larvas neonatas de otro coleóptero cerambícido *Enaphalodes rufulus* Haldeman (Coleoptera: Cerambycidae) al que se testó frente a varios aislados de *B. bassiana* y es considerada como seguro frente a organismos no objeto e insectos beneficiosas como depredadores, parasitoides y abejas de miel en el campo (Brinkman y Fuller, 1999; Ekesi et al., 1999; Cottrell y Shapiro-Ilan, 2003; Dunkel y Jaronski, 2003; Kanga et al., 2003), lo que lo hacen más atractivo frente a los insecticidas convencionales (Liu y Bauer, 2006).

En resumen, la aplicación de diferentes insecticidas, con distinto modo de acción, sobre los brazos y las cepas de los viñedos, podría ejercer sobre las larvas neonatas de *X. arvicola* un control en primer instante y proporcionar una alternativa ambientalmente sana, sostenible y económica dentro de un programa del manejo integrado de la plaga. Además el tamaño de la planta de acogida del tratamiento, la densidad de las puestas y las larvas eclosionadas y el comportamiento de la alimentación de las larvas también serán variables experimentales a considerar para el avance en el manejo integrado de la plaga.

○ **Ritidoma y grieta, brazo.**

El análisis estadístico muestra que no existen diferencias significativas entre las ubicaciones de larvas neonatas de *X. arvicola* en el brazo de las cepas cuando son aplicadas distintas materias activas a la máxima dosis comercial (Fig. 5.94).

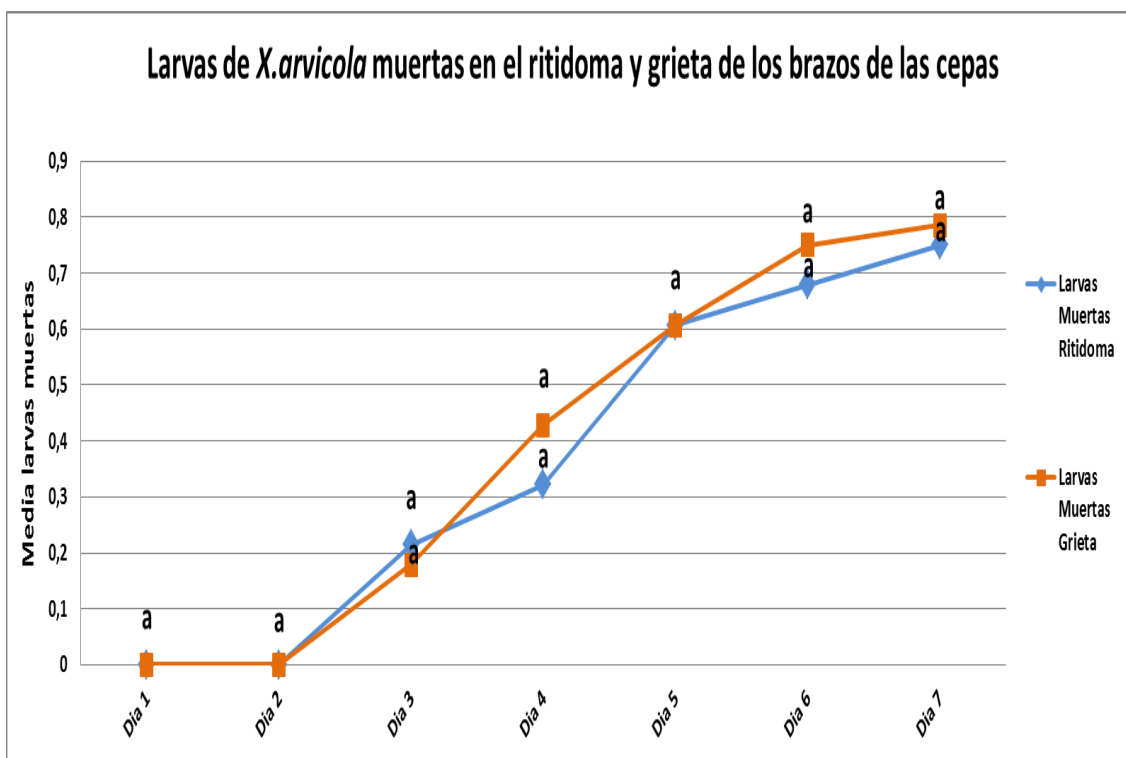


Figura 5.94: Evolución de larvas neonatas de *X. arvicola*, cuando la larva se ubica en el ritidoma y en la grieta de los brazos de las cepas. Letras diferentes en los superíndices muestran diferencias significativas entre las distintas ubicaciones para un mismo día de conteo ($P < 0,05$, test DMS).

Cuando las larvas neonatas de *X. arvicola* que eclosionaban de los huevos se ubicaban en los brazos de las cepas, se observa que no existen diferencias significativas entre las ubicaciones de la madera, ritidoma y grieta.

En el ritidoma y en la grieta de los brazos comienzan a producirse las primeras mortalidades de las larvas neonatas a partir del tercer día desde su eclosión con una mortalidad del 7,14% en ritidoma y un 5,95% en grieta (Fig. 5.94). En el cuarto día de evaluación, se produce la mayor diferencia, 14,28% de las larvas han muerto en la grieta de los brazos, mientras que en el ritidoma sólo se han muerto el 10,71%, no existiendo diferencias significativas entre las ubicaciones. En el séptimo día, las larvas muertas en el ritidoma son el 25% y en la grieta el 26,19% (Fig. 5.94), no existiendo diferencias significativas entre las ubicaciones para las mortalidades larvarias producidas ese día. En cuanto a larvas que sobreviven y consiguen introducirse en la madera, tenemos que en el ritidoma son un 75% y en la grieta un 73,81%.

Las larvas neonatas de *X. arvicola* que mueren en los brazos son mayores las que se ubican en la grieta, con 26,19%, seguido muy de cerca por las larvas que mueren en el ritidoma, que en este ensayo son el 25%. En este ensayo se observa que tanto el

ritidoma como los huecos de las grietas, impregnados días antes con las materias activas, ejercen efectos letales muy similares en cuanto a la mortalidad que producen a las larvas neonatas que discurren por las distintas ubicaciones tratadas.

○ **Ritidoma y grieta, tronco.**

El análisis estadístico muestra que no existen diferencias significativas entre las ubicaciones de larvas neonatas de *X. arvicola* en el tronco de las cepas cuando son aplicadas distintas materias activas a la máxima dosis comercial (Fig. 5.95).

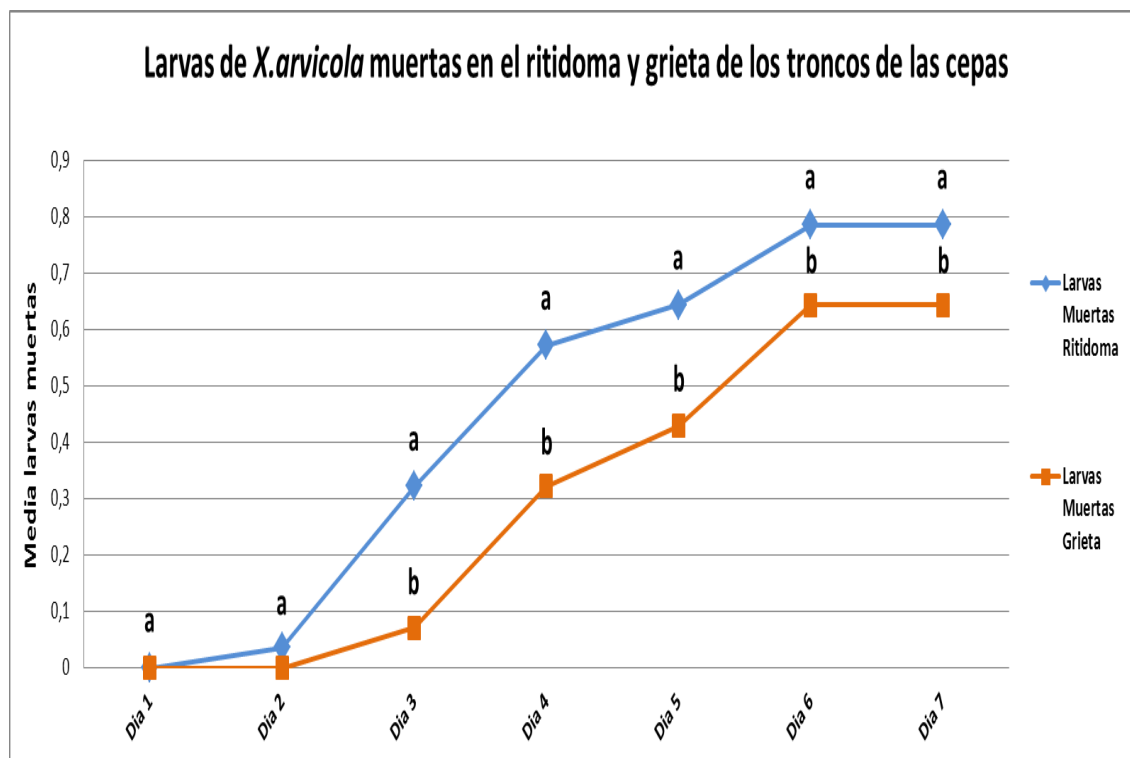


Figura 5.95: Evolución de larvas neonatas de *X. arvicola*, cuando la larva se ubica en el ritidoma y en la grieta de los troncos de las cepas. Letras diferentes en los superíndices muestran diferencias significativas entre las distintas ubicaciones para un mismo día de conteo ($P < 0,05$, test DMS).

Cuando las larvas neonatas de *X. arvicola* que eclosionaban de los huevos se ubicaban en los troncos de las cepas, se observa que existen diferencias significativas entre las ubicaciones de la madera, ritidoma y grieta.

En el ritidoma y en la grieta de los brazos comienzan a producirse las primeras mortalidades de las larvas neonatas a partir del segundo día desde su eclosión con una mortalidad del 1,19% en ritidoma. En el tercer día de evaluación, comienzan a apreciarse diferencias significativas entre ubicaciones, que se mantendrán hasta el último día de la evaluación, con un 10,71% de las larvas neonatas muertas en el ritidoma, frente al 2,38% de mortalidad larvaria que se acumula en la grieta. En el séptimo y último día de evaluación, las larvas acumulan una mortalidad del 26,21%, mientras que en la grieta sólo se alcanza el 21,42% (Fig. 5.95), existiendo diferencias significativas entre las ubicaciones para las mortalidades larvarias acumuladas en este

día. En cuanto a las larvas que sobrevivieron a las materias activas que se habían aplicado sobre los troncos, un 73,81% de las larvas se introdujeron en la madera desde el ritidoma y un 78,58% desde las grietas de los troncos (Figs. 5.96 y 5.97).

En el tronco son las larvas neonatas de *X. arvicola* que se encuentran en el ritidoma, las que mayores mortalidades presentan con un 26,19%, mientras que las que se ubican en el tronco solo alcanzan una mortalidad del 21,42%. Esta mayor viabilidad de las larvas que se encuentran en las grietas, tiene su origen en las dificultades que tienen las pulverizaciones de las materias activas de llegar a todos los huecos donde se ubican los huevos en las grietas, impregnarlos lo suficiente y una vez hayan eclosionados las larvas neonatas sean capaces de estar el mayor tiempo posible con la dosis adecuada para matarlas, y evitar que se introduzca en la madera.



Figura 5.96: Larvas neonatas de *X.arvicola* introducidas en el tronco de las cepas desde la grieta de la madera.



Figura 5.97: Detalle del serrín expulsado por las larvas neonatas de *X. arvicola*, una vez introducidas en la madera del tronco de las cepas.

5.3.3.- RECOMENDACIONES DE USO DE LAS MATERIAS ACTIVAS ENSAYADAS.

En este epígrafe se recogen las recomendaciones prácticas de uso de las materias activas derivadas de los ensayos realizados y de sus efectos sobre especies beneficiosas y/o depredadoras.

5.3.3.1. Materias activas.

- *Spinosad*.

En las aplicaciones con Torre Potter, *Spinosad* controla entre el 77 y el 82% de los huevos de entre 3 y 8 días de edad, sobre larvas neonatas consigue el 68 y 84% de mortalidad a mínima y máxima dosis comercial, y si se tratan a adultos de *X. arvicola* se logra un control prácticamente total, con mortalidades entre el 87 y el 100% a mínima y máxima dosis comercial, respectivamente.

Sobre huevos situados en brazo y en tronco de las cepas, *Spinosad* controla el 41,66 y

16,66% respectivamente. Consigue el control más eficaz sobre larvas neonatas eclosionadas en brazos, (45,83%) y la segunda mortalidad más alta para el citado estadio sobre tronco (33,33%). En el tratamiento en cepa tanto el ritidoma como la grieta protegen al huevo, por lo que al aplicar en campo es fundamental que el insecticida impregne bien la zona tratada para que sea efectivo tanto en un primer periodo frente a huevos como posteriormente frente a larvas neonatas de *X. arvicola*.

A la máxima dosis comercial, *Spinosad* consigue un buen control de las etapas inmaduras y un excelente control de los adultos. Es un insecticida de origen biológico, que controla algunas plagas con resistencia a organofosforados y piretroides y con baja toxicidad sobre especies beneficiosas y/o depredadoras, limitando el impacto sobre las mismas y teniendo en cuenta los efectos letales y subletales de *Spinosad*, hace que sean mayores los beneficios de incorporarlo a un programa de MIP en viñedos afectados por *X. arvicola*.

La aplicación de *Spinosad* en viñedo frente a *X. arvicola* se realizaría a la máxima dosis comercial tras las primeras emergencias, con lo que conseguiríamos una alta mortalidad en los adultos, los que sobrevivieran y consiguieran realizar las puestas en los días siguientes sufrirían los efectos del insecticida sobre las puestas que realizasen así como sobre las larvas neonatas que pudieran aparecer en las cepas.

- ***Beauveria bassiana*.**

Con Torre Potter, la aplicaciones de *B. bassiana* controlan entre el 80% y el 97% en huevos de 3 a 8 días de edad si es aplicada a la máxima dosis comercial, y el 82% en huevos de 8 días a la mínima dosis comercial. En larvas neonatas controla del 86 al 88% a la máxima y a la mínima dosis comercial respectivamente, mientras que sobre adultos se obtiene prácticamente un control total de la especie, con mortalidades que van del 87,50% al 100% en aplicaciones a la máxima y a la mínima dosis comercial.

En los huevos ubicados en los brazos y en los troncos de las cepas, *B. bassiana* inhibe el 54,16% en brazo, pero con la aparición de las larvas neonatas se consigue un control del 33,33% en brazos, y del 45,66% en troncos, siendo la mortalidad más alta alcanzada por todas las materias para este estadio.

B. bassiana consigue eficiencias que superan el 80% sobre huevos larvas y adultos. La aplicación de *B. bassiana* en el campo frente a *X. arvicola* se debería hacer en el momento de observar las primeras emergencias de adultos, lo que conseguiría un buen control de los adultos así la inhibición del desarrollo de los huevos y las larvas neonatas presentes en las cepas.

El control integrado de *X. arvicola* sobre los estadios inmaduros de la especie, puede plantearse con una combinación integrada de *B. bassiana*, junto con un insecticida de origen natural, que controle el estadio adulto de la especie, como se ha descrito anteriormente para *Spinosad*.

- ***Imidacloprid.***

En pulverizaciones directas en laboratorio a la máxima dosis comercial (Torre Potter) *Imidacloprid* controla el entre el 86 y el 92% en huevos de 3 a 8 días de edad, entre el 90 y 94% de las larvas neonatas y y entre el 87,50% y 100% de los adultos cuando la materia activa es aplicada a la mínima y a la máxima dosis comercial.

En huevos ubicados en los brazos y en los troncos de las cepas, *Imidacloprid*, inhibe el 54,17 y el 37,50% de huevos respectivamente, mientras que cuando aparecían las larvas neonatas su efecto residual alcanzaba mortalidades del 37,50% en brazos y del 29% en troncos.

Imidacloprid mostró sus efectos por contacto sobre los huevos, larvas neonatas y adultos de *X. arvicola*, y sugieren que aplicado en el campo en el momento de la aparición de los adultos reduciría de modo significativo su población, consiguiendo disminuir el número de emparejamientos y cópulas a la vez que controlaría el desarrollo de los huevos y de las larvas neonatas

La gestión integrada de *X. arvicola* con insecticidas sistémicos, como *Imidacloprid*, tiene el problema de aplicar una dosis comercial que persista en el tiempo en la concentración inicialmente aplicada, ya que si los niveles de insecticidas no son persistentes o no son aplicados a la totalidad de la plantación, es posible que los adultos de *X. arvicola* puedan sobrevivir durante varios días después de la exposición durante unas horas frente a *Imidacloprid*, dejando las cepas tratadas debido a su efecto anti alimentario, para dirigirse a otras cepas que no se han tratado o desplazarse a otras especies hospedantes descritas para este insecto plaga, como ha ocurrido en otras especies de coleópteros tras la aplicación de *Imidacloprid*.

- ***Clorpirifos.***

Clorpirifos mediante pulverización directa (Torre Potter), obtiene la inhibición de todos los rangos de edad de huevos, teniendo un control total de este estadio de desarrollo, al igual que lo tiene sobre larvas neonatas y adultos de *X. arvicola*, en las aplicaciones a la máxima y a la mínima dosis comercial.

Sobre huevos colocados en brazos y en troncos inhibía el 91,66 y 83,33% respectivamente, siendo la materia activa que mejores resultados presenta. Sobre las larvas neonatas emergidas provoca bajas mortalidades, 8,34% en brazo y 16,67% en tronco, que responden al modo de acción de *Clorpirifos* que es relativamente rápido debido a las toxinas nerviosas que lo componen, hace que se alcancen las mayores mortalidades los primeros días, disminuyendo la actividad residual con el tiempo que es cuando aparecían las larvas neonatas en la madera.

La gran eficacia que ofrece *Clorpirifos* a la hora de controlar todas las etapas de desarrollo de *X. arvicola* choca con los graves efectos secundarios que provoca frente a poblaciones de insectos no diana. Aunque *Clorpirifos* muestra niveles muy altos de eficacia en un gran número de especies, también causa mortalidades en poblaciones beneficiosas y/o depredadoras, es por ello que cada vez se optimiza más la búsqueda de

insecticidas de origen natural, que no provoquen estos problemas, para seguir con la sustitución de los productos químicos tradicionales como los piretroides y los organoforforados.

- ***Flufenoxuron.***

Flufenoxuron aplicado, a la máxima dosis comercial, en pulverizaciones directas con Torre Potter inhibe entre el 82 y 83% de los huevos en huevos de 3 a 8 días de edad, en larvas neonatas logra prácticamente un control total de este estadio con unas mortalidades del 98 y 100% en máxima y mínima dosis comercial respectivamente, lo que indica que *Flufenoxuron* es un insecticida altamente tóxico frente a estas etapas inmaduras de desarrollo del insecto.

Los huevos colocados en brazos y troncos de las cepas, al aplicar *Flufenoxuron*, provocaban inhibiciones del 75 y del 62,50% respectivamente, siendo la segunda materia activa con mejores resultados en ambas ubicaciones, el efecto residual sobre larvas neonatas produce una mortalidad larvaria del 20,83% en brazos y del 12,33% en troncos, encontrándose entre las materias activas que peores resultados ofrece tras 14 días desde la aplicación.

El momento idóneo para la aplicación de *Flufenoxuron* en el campo frente a *X. arvicola* sería a partir de que se produzcan los picos de vuelo de los adultos en campo, tenemos de 7 a 8 días para que *Flufenoxuron* coincida en el tiempo con los huevos de mayor edad y las primeras larvas neonatas en el viñedo, que han demostrado ser los estadios mas susceptibles a esta materia activa.

Elegir el periodo idóneo a la hora de aplicar *Flufenoxuron* frente a los distintos estadios de *X. arvicola* es especialmente importante teniendo en cuenta que su principal actividad es ovicida y larvicida. La aparente ausencia de efectos secundarios en el campo, es absorbido por el suelo e incluso a dosis altas deja pocos residuos que no afectan a los microorganismos del suelo, lo convierte una alternativa a incluir en programas de MIP en viñedos con ataques de *X. arvicola*.

- ***Piriproxifen.***

En aplicaciones con Torre Potter a la máxima dosis comercial, *Piriproxifen* demuestra tener una gran capacidad ovicida, inhibiendo desde el 76 al 95% en huevos de 2 a 8 días de edad, sobre larvas neonatas obtiene un control casi total de este estadio, alcanzándose una mortalidad del 92% a la máxima y a la mínima dosis comercial, de los que se desprende que *Piriproxifen* al igual que *Flufenoxuron*, son insecticidas altamente eficaces en las etapas inmaduras de desarrollo del insecto.

Si se colocan los huevos sobre brazos y troncos de las cepas, *Piriproxifen* inhibe el 75% y el 45,83% respectivamente, siendo junto con *Clorpirifos* las dos materias activas que poseen mejores resultados en aplicación en brazo y tronco, y posteriormente sobre larvas neonatas alcanza una mortalidad del 25%.

El momento idóneo para la aplicación de *Piriproxifen* en el campo frente a los estadios inmaduros de *X. arvicola* sería el mismo planteado para *Flufenoxuron*, pues sabemos que a partir de los picos de población de adultos de *X. arvicola*, habrá un intervalo de 7 a 8 días, desde se han realizado las primeras puestas, para que *Piriproxifen* pueda desarrollar su mayor efecto letal observado sobre los huevos de mayor edad y las primeras larvas neonatas.

El modo de acción de estos insecticidas los hace ser una gran herramienta a utilizar en el control integrado contra aquellas especies plaga de insectos barrenadores que se desarrollan en el interior de las plantas huésped durante la mayor parte de su ciclo de vida, a los que es imposible acceder sin destruir la planta, y en la que uno de sus estadios más sensibles como es el del huevo se da en el exterior de las plantas atacadas y, donde la aplicación de *Piriproxifen*, durante los 10 días posteriores a las emergencias de adultos, puede tener gran efectividad sobre los estadios inmaduros de dicha especie.

5.3.3.2.- Estrategias de control.

Una vez presentados, analizados y discutidos los resultados sobre la mortalidad que causan las materias activas estudiadas sobre los estadios vulnerables de *X. arvicola*, queda la cuestión práctica, el trasladarlos ante la problemática que pueda presentar un viñedo en producción y que esté afectado.

La mortalidad en adultos, en condiciones de laboratorio, es mayor del 87 % para todas las materias activas analizadas, en estas materias activas con capacidad adulticida, sus efectos ovicidas y larvicidas, en condiciones similares al campo, tienen porcentajes desiguales pero en ningún caso desdeñables si se unen a su capacidad de control de imagos. Los productos con efecto exclusivo ovicida y larvicida mejoran estos porcentajes de mortalidad, pero sin efecto control sobre los adultos. Hay que añadir la morfología de la planta de de vid que juega un papel importante, la variedad, el sistema de conducción y el tipo de poda son claves a la hora de establecer una estrategia de control.

El momento indicado para la realización de los tratamientos, para todas las materias activas analizadas es el de máxima emergencia de adultos o en picos de gran presencia, se sabe que la curva de emergencia puede tener fluctuaciones, dientes de sierra, debido a factores ambientales. El efecto control de adultos tiene porcentajes ya comentados de más del 87 % en todos los productos, con su correspondiente control de huevos y larvas neonatas. Para las materias activas solo ovicidas y larvicidas, se daría igual indicación de momento de aplicación, se controlarían los huevos y las emergencias de larvas de las puestas de los adultos en vuelo y de las que se vayan a producir por los nuevos imagos que salgan de las cepas.

Pero con los resultados obtenidos, es recomendable usar las materias activas de amplio espectro a la máxima dosis comercial, que incluyen el control de adultos, huevos y larvas, ya que controlan los imagos con altos porcentajes de mortalidad, anulando o reduciendo su capacidad reproductiva, limitando que se produzca el estadio larvario, causante de los daños en el cultivo.

Se recomendaría la máxima dosis comercial en casi todas las materias activas. Por los resultados con *Flufenoxuron* no, se obtiene el 100% de mortalidad a mínima dosis.

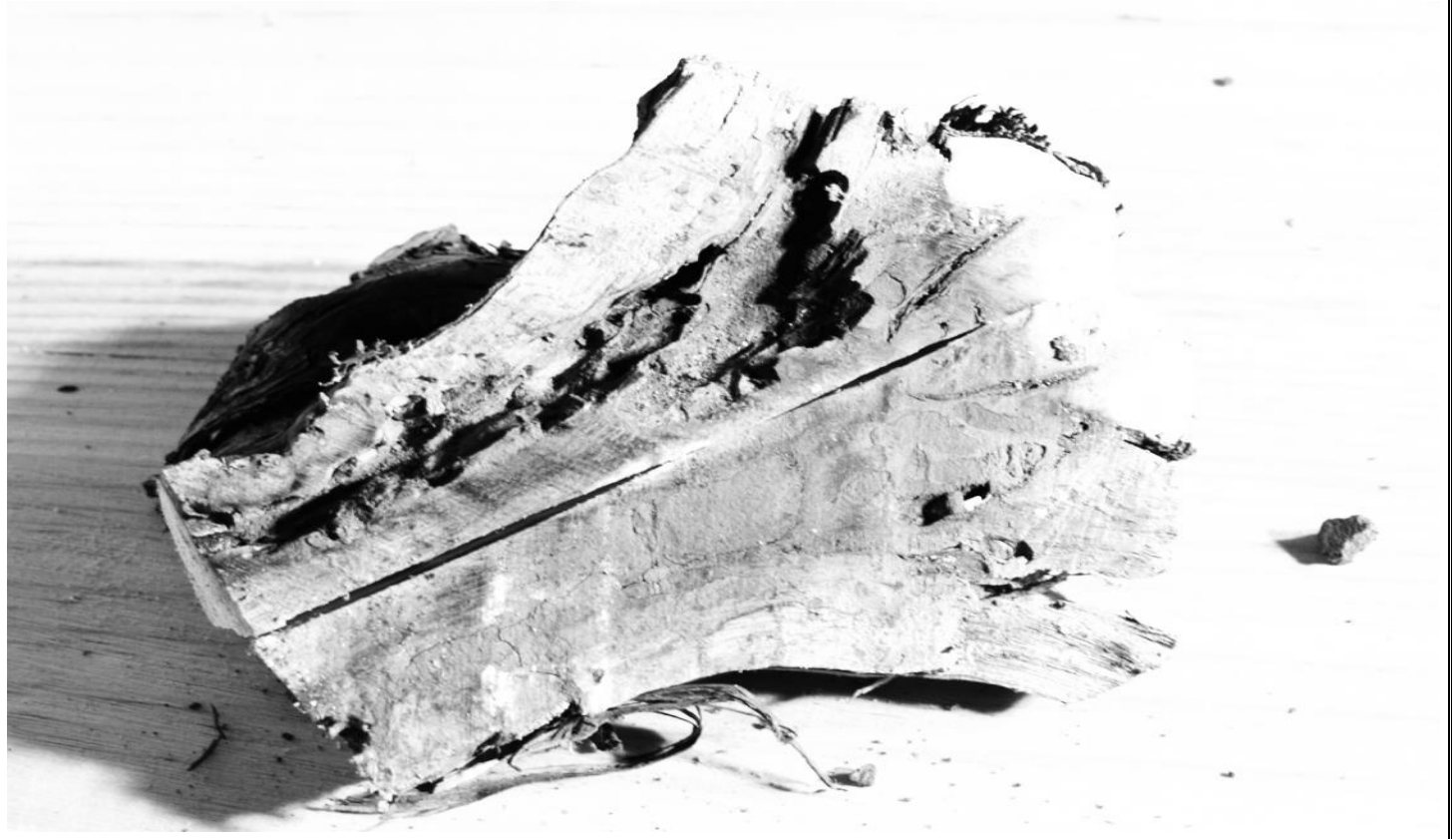
El uso de materias activas, mientras la legislación lo permita, de máxima eficacia como *Clorpirifos* y que tienen efectos negativo para otras especies no diana, puede estar justificado en parcelas con niveles de infestación muy altas, donde es conveniente y acuciante controlar estos focos altos de población de adultos para evitar su dispersión a los viñedos colindantes, restringiendo o acotando las aplicaciones, siempre que se pueda, a zonas reducidas de las plantaciones.

Para situaciones de presencia real contrastada, pero con bajas densidades de población, es decir cuando en la poda en seco se aprecian galerías recientes, o se ven larvas en algunos de los cortes que se hacen y, en verano se observan adultos de manera casual, la realidad es que hay que reducir este potencial para evitar daños irreparables o explosiones demográficas. Para evitar que sus descendencias puedan seguir causando daños en las plantas, o estén latentes, el uso de materias activas como *Beauveria bassiana*, *Imidacloprid* o *Spinosad*, con porcentajes de mortalidad tanto de adultos como de huevos y larvas neonatas, pueden ser un gran instrumento, para que en varios años, de seguimiento y control, se pueda tener controlado.

Dentro de un programa o una estrategia de control, hay que conjugar todas las alternativas viables conocidas posibles. Primero habría que establecer labores culturales como la eliminación en la planta en la poda de invierno, y de la parcela, de todos aquellas partes de los órganos vegetativos afectados y secos como potencial hospedador de larvas; el descortezado o retirada del ritidoma en tronco y brazos, según la edad y el sistema de conducción, como protector o refugio de los diferentes estadios del insecto ante un tratamiento fitosanitario y, ya en el tiempo de emergencia de adultos, si es necesario, realizar el tratamiento con la materia activa que se considere más conveniente en función del grado de infestación y de la orientación productiva de la plantación.



Capítulo 6:
Conclusiones.



CAPÍTULO 6: CONCLUSIONES

A continuación se presentan las conclusiones generales según el orden establecido en cada uno de los capítulos de la presente tesis: prospección de zonas estudiadas, cría en cautividad y estrategias de control fitosanitario.

1. Las denominaciones de origen españolas muestreadas en la cuenca del Duero presentan síntomas en las cepas por ataque de *X. arvicola*, siendo una de las parcelas de la DOP Toro con un 66% la que mayor afección presentó, por delante de la DOP Ribera del Duero, 33%, y la DOP Tierra de León, 16%, mientras que en las parcelas portuguesas de la DOC Douro y DOC Tras os Montes no se detectaron síntomas.

2. Se ha conseguido establecer y mantener una población en condiciones de laboratorio a partir de individuos capturados en campo en la DOP Ribera del Duero, DOP Toro y DOP Tierra de León, que ha servido de base para el estudio de la biología del insecto y para el ensayo de materias activas para su control.

3. La cría en cautividad reduce la viabilidad de los individuos con el paso de las generaciones, la supervivencia desciende del 34,40% de la primera generación de laboratorio hasta el 2,19% cuando las larvas pertenecen a la segunda generación, por lo que se constata que para mantener la población con una viabilidad aceptable sería necesario partir de individuos recolectados en el campo.

4. Con la cría en laboratorio se logra reducir el ciclo de larva a adulto a 255 días, en larvas de segunda generación, 67 días menos respecto a la anteriormente registrada, fijada en 322 días; sin que muestren diferencias en los días de desarrollo larvario entre sexos.

5. En la cría en cautividad, el tiempo de desarrollo de prepupa, es mayor en machos, 22 días, que en hembras, 13 días, al igual que en el tiempo de desarrollo de pupa, con 20 días en machos y 16 días en las hembras.

6. Las hembras obtenidas en laboratorio poseen una mayor fecundidad, 64,77 huevos, que las hembras capturadas en campo, que sólo tienen 36,18 huevos. La viabilidad de las puestas es mayor en las hembras capturadas en campo, 77,16%, mientras que en las hembras obtenidas en laboratorio sólo se alcanza el 30,92%.

7. Los adultos de *X. arvicola* presentan diferencias en el tamaño entre sexos, mayores las hembras que los machos si son capturados en el campo, y entre ambientes, mayores los adultos obtenidos en laboratorio que los capturados en campo. No hay diferencias entre los individuos procedentes de las diferentes denominaciones de origen evaluadas en la cuenca del Duero.

8. El análisis biométrico de los adultos de *X. arvicola* muestra que los machos capturados en el campo presentan una apariencia más estilizada que las hembras de la misma procedencia, no siendo esa característica física tan ostensible en los adultos obtenidos en laboratorio.

9. El tamaño final de los insectos puede reflejar el volumen del material que ha utilizado como huésped o el estado de conservación del hábitat donde se ha desarrollado, siendo las condiciones de desarrollo controladas y el mayor volumen por larva, los motivos por

los que la media en el tamaño de los cuerpos de los adultos obtenidos en laboratorio es mayor que los capturados en campo.

10. El mayor tamaño de los individuos de *X. arvicola* obtenidos en laboratorio afectan a otras variables de su desarrollo, como son su mayor fertilidad en las hembras o su mayor longevidad de los adultos.

11. Se han demostrado los efectos letales y subletales del insecticida de origen biológico *Spinosad*, que ha obtenido un control total sobre adultos de *X. arvicola*, mientras que en las etapas inmaduras del insecto (huevos y larvas neonatas) presenta eficacias superiores al 82%.

12. El hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* muestra eficacias superiores al 88% en los estadios inmaduros de *X. arvicola*, con control total sobre los imagos en condiciones de laboratorio.

13. El insecticida sistémico *Imidacloprid*, tiene un control total sobre adultos de *X. arvicola* con una eficacia por encima del 90% sobre huevos (92% de mortalidad) y larvas neonatas (94% de mortalidad).

14. El insecticida organofosforado *Clorpirifos* registra la más alta velocidad de acción y un control total sobre todos los estadios evaluados, pero plantea graves problemas al afectar a otros organismos beneficiosos y/o depredadores de *X. arvicola*, por lo que su uso solo estaría justificado en parcelas con elevados niveles de infestación.

15. Los insecticidas ovicidas y larvicidas *Flufenoxuron* y *Piriproxifen* demuestran un buen control sobre los estadios inmaduros de *X. arvicola*, con mortalidades sobre huevos y larvas neonatas del 83% y del 100% con *Flufenoxuron*, y del 95% y del 92% con *Piriproxifen*.

16. El menor grosor del ritidoma y profundidad de las grietas, unido al menor desarrollo que poseen los brazos en comparación con los troncos de las cepas hace que todas las materias activas evaluadas muestren mayor eficacia sobre los estadios inmaduros cuando se aplican en brazo que cuando se localizan sobre tronco.

17. Las materias activas *Clorpirifos*, *Flufenoxuron* y *Piriproxifen* son las más eficaces sobre huevos de cuando estos se ubican en brazos y troncos de las cepas. *Spinosad*, *B. bassiana* e *Imidacloprid* son las que tienen mayores efectos letales a largo plazo sobre las larvas neonatas eclosionadas en brazos y troncos.

18. Las puestas de huevos de *X. arvicola* localizadas en las grietas de troncos y brazos, tienen mayor capacidad de completar su desarrollo embrionario y eclosionar, que las puestas situadas sobre su superficie, cuando se aplican materias activas para su control.

19. Una estrategia de control frente a *X. arvicola* sería, en primer lugar realizar las labores culturales en la planta en la poda de invierno eliminando la madera afectada y ya, en el tiempo de emergencia de adultos, si es necesario, realizar el tratamiento con la materia activa que se considere más conveniente, en función del grado de infestación y de la orientación productiva de la parcela, pudiendo utilizar *B. bassiana* en producción ecológica

CAPÍTULO 6: CONCLUSÕES

A seguir são apresentadas as conclusões gerais segundo a ordem estabelecida em cada um dos capítulos desta tese: pesquisa das zonas estudadas, criação em cativeiro e, estratégias de controle fitossanitário.

1. As denominações de origem espanholas visualizadas no Douro apresentaram sintomas nas cepas por ataque de *X. arvicola*, sendo uma das parcelas do DOP Toro com 66%, apresentou maior sintoma, seguida da DOP Ribera del Duero, 33%, e DOP Tierra de León, 16%, enquanto nas parcelas portuguesas DOC Douro e Trás-os-Montes DOC não foram detectados sintomas.

2. Se conseguiu estabelecer e manter uma população em condições de laboratório de indivíduos capturados em campo no DOP Ribera del Duero, DOP Toro e DOP Tierra de León, que serviram de base para o estudo da biologia do inseto e testes de matérias ativas para o seu controle.

3. A criação em cativeiro reduz a viabilidade dos indivíduos ao longo das gerações, à sobrevivência diminui em 34,40% na primeira geração de laboratório até 2,19% quando as larvas são de segunda geração, de modo que se observa que para manter a viabilidade da população seria necessário começar de indivíduos coletados no campo.

4. Com a criação em laboratório reduziu o ciclo de larva a adulto há 255 dias, em larvas de segunda geração, 67 dias a menos do que se tinha relatado antes que foi de 322 dias; sem mostrar diferenças nos dias de desenvolvimento larval entre os sexos.

5. Na criação em cativeiro, o tempo de desenvolvimento de prepupa é maior em machos, 22 dias, do que nas fêmeas, 13 dias, do mesmo modo que o tempo de desenvolvimento de pupa, com 20 dias nos machos é 16 dias nas fêmeas.

6. As fêmeas obtidas em laboratório possuem uma maior fecundidade, 64,77% ovos, que as fêmeas capturadas em campo, que só tem 36,18% ovos. A viabilidade de postura é maior nas fêmeas capturadas em campo, 77,16%, enquanto que nas fêmeas obtidas em laboratório só alcançam 30,92%.

7. Os adultos de *X. arvicola* apresentam diferenças no tamanho entre sexo, as fêmeas são maiores que os machos se são capturados em campo, e entre ambientes, maiores nos adultos obtidos em laboratório que nos capturados no campo. Não há diferenças entre os indivíduos procedentes das diferentes denominações de origem avaliadas na bacia de Douro.

8. A análise biométrica dos adultos de *X. arvicola* mostra que os machos capturados em campo apresentam uma aparência mais exuberante que as fêmeas de mesma procedência, não sendo essa característica física tão visual nos adultos obtidos no laboratório.

9. O tamanho final dos insetos podem refletir o volume de material que se utiliza como hospedeiro no estado de conservação no seu hábitat natural, sendo as condições de desenvolvimento controlado o maior volume por larva, por isso o motivo dessa média

de tamanho dos adultos obtidos no laboratório ser maior do que nos capturados no campo.

10. O maior tamanho dos insetos de *X. arvicola* obtidos no laboratório afeta a outras variáveis de seu desenvolvimento, como uma maior fertilidade nas fêmeas ou uma maior longevidade nos adultos.

11. Foi observado os efeitos letais e subletais do inseticida de origen biológico *Spinosad*, que foi obtido um controle total sobre os adultos de *X. arvicola*, sendo que nas etapas imaturas do inseto (ovos e larvas neonatais) apresentou uma eficiência superiores a 82%.

12. O fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana* mostra eficiência superior a 88% nos estádios imaturos de *X. arvicola*, com controle total sobre os estádios imaturos em condições de laboratório.

13. O inseticida sistêmico *Imidacloprid*, tem um controle total sobre os adultos de *X. arvicola* com uma eficiência superior de 90% sobre os ovos (92% de mortalidade) e larvas neonatais (94% de mortalidade).

14. O inseticida organosfosforado *Clorpirifos* tem um maior controle e mais rápido sobre os estádios avaliados, porém tem muitos problemas graves pois afeta os organismos benéficos e/ou predadores de *X. arvicola*, por isso seu uso só se justificaria em parcelas com elevados níveis de infestação.

15. Os inseticidas ovicidas e larvicidas *Flufenoxuron* e *Piriproxifen* demonstram um bom controle sobre os estádios imaturos de *X. arvicola*, com mortalidade sobre ovos e larvas neonatais de 83% e de 100% com *Flufenoxuron*, e de 95% e de 92% com *Piriproxifen*.

16. A menor espessura da casca e profundidade das abertura, junto com o menor desenvolvimento que possuem os ramos em comparação com os troncos das planta faz com que todas as matérias ativas avaliadas mostrem maior eficiência sobre os estádios imaturos quando se aplicam no galho que quando se localizam no tronco.

17. As matérias ativas *Clorpirifos*, *Flufenoxuron* e *Piriproxifen* são as mais eficientes sobre os ovos quando estes estão localizados nos ramos e troncos das plantas. *Spinosad*, *B. bassiana* e *Imidacloprid* são as que possuem maiores efeitos letais a longo prazo sobre as larvas neonatais eclodidas nos ramos e troncos.

18. As posturas de ovos de *X. arvicola* localizadas nas aberturas dos troncos e ramos, tem maior capacidade de completar seu desenvolvimento embrionário e eclodir, que as posturas situadas sobre a superfície, quando se aplicam materias ativas para o seu controle.

19. Uma estratégia de controle frente a *X. arvicola* seria, em primeiro lugar, realizar práticas culturais na planta e poda de inverno, eliminando a madeira afetada e no período de emergencia dos adultos, se necessário, realizar tratamento com matérias ativas que considere mais conveniente, em função do grau de infestação e da orientação produtiva da parcela, podendo utilizar *B. bassiana* em produção ecológica.



Capítulo 7: Referencias bibliográficas



REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

- Abo-Elghar, G.E., El-Sheikh, A.E., El-Sayed, F., El-Maghraby, H.M. y El-Zun, H.M. 2003.** Persistence and residual activity of an organophosphate, pirimiphos-methyl, and three IGRs, hexaflumuron, teflubenzuron and pyriproxifen, against the cowpea weevil, *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae). *Pest Manag. Sci.*, 60: 95-102.
- Adachi, I. 1988.** Reproductive biology of the white-spotted longicorn beetle, *Anoplophora malasiaca* Thomson (Coleoptera: Cerambycidae), in citrus trees. *Appl. Entomol. Zool.*, 23: 256-264.
- Adachi, K. 1995.** Discovery of *Xylotrechus villioni* (Villard). (Coleoptera, Cerambycidae) from the mainland of Kyushu, Southwest Japan. *Gekkan-Mushi*, Tokyo (293): 3-8.
- Adán, A., Del Estal, P., Budía, F., González, M. y Viñuela, E. 1996.** Laboratory evaluation of the novel naturally derived compound *spinosad* against *Ceratitis capitata*. *Pestic. Sci.* 48, 261-268.
- Alburquerque, M.V., Yuste, J.R., Rubio, J.A. y Yuste, J. 2006.** Descripción y caracterización agronómica de 28 variedades tintas de vid en Castilla y León. Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León.
- Allison, J.D. y Borden, J.H. 2001.** Observations on the behavior of *Monochamus scutellatus* (Say) (Coleoptera: Cerambycidae) in northern British Columbia. *J. Entomol. Soc. Brit. Columbia* 98: 195–200.
- Allison, J.D., Borden, J.H. y Seybold, S.J. 2004.** A review of the chemical ecology of the Cerambycidae (Coleoptera). *Chemoecology* 14:123–150.
- Althoff, J. y Danilevsky, M. 1997.** A Check-list of Longicorn Beetles (Coleoptera, Cerambycoidea) of Europa. *Slov. Ent. Drustvo*, 64 pp.
- Anbutsu, H. y Togashi, K. 1996.** Deterred oviposition of *Monochamus alternatus* (Coleoptera: Cerambycidae) on *Pinus densiflora* bolts from oviposition scars containing eggs or larvae. *Appl. Entomol. Zool* 31: 481–488.
- Anbutsu, H. y Togashi, K. 1997a.** Oviposition behavior and response to the oviposition scars occupied by eggs in *Monochamus saltuarius* (Coleoptera: Cerambycidae). *Appl Entomol Zool* 32: 541–549.
- Anbutsu, H. y Togashi, K. 1997b.** Effects of spatio-temporal intervals between newly-hatched larvae on larval survival and development in *Monochamus alternatus* (Coleoptera: Cerambycidae). *Res Popul Ecol* 39: 181–189.
- Anbutsu, H. y Togashi, K. 2000.** Deterred oviposition response of *Monochamus alternatus* (Coleoptera: Cerambycidae) to oviposition scars occupied by eggs. *Agric. For Entomol.* 2: 217–223.
-

Anbutsu, H. y Togashi, K. 2001. Oviposition deterrent by female reproductive gland secretion in Japanese pine sawyer, *Monochamus alternatus*. J. Chem. Ecol. 27: 1151–1161.

Anbutsu, H. y Togashi, K. 2002. Oviposition deterrence associated with larval frass of the Japanese pine sawyer, *Monochamus alternatus* (Coleoptera: Cerambycidae). J Insect Physiol 48:459–465.

Anbutsu, H. y Togashi, K. 2002. Oviposition deterrence associated with larval frass of the Japanese pine sawyer, *Monochamus alternatus* (Coleoptera: Cerambycidae). J Insect Physiol 48: 459–465.

Angeli, G., Baldessari, M., Trona, F. y Loriatti, C. 2009. Effectiveness of five insecticides for the control of adults and young stages of *Cacopsylla melanoneura* (Forster) (Hemiptera: Psyllidae) in a semi-field trial. *Pest Manag Sci* 2010; 66: 308–312.

Aojin, Y. y Qing'an, T. 1998. Repellency effects of essential oil derived from *Eucalyptus* leaf against three species of sawyers. J Nanjing Forestry University 22: 87–90.

Arnett, R.H. Jr. 2000. American insects, a handbook of insects of America north of Mexico USA, FL-Boca Raton: CRC Press.

Arthur, F.H. 1996. Grain protectants: current status and prospects for the future. J Stored Prod Res 32:293–302.

Arthur, F.H. 2004. Evaluation of methoprene alone and in combination with diatomaceous earth to control *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera: Bostrichidae) on stored wheat. J Stored Prod Res 40:485–498.

Athanassiou, C.G., Arthur, F.H., Kavallieratos, N.G. y Throne, J.E. 2011. Efficacy of spinosad and methoprene, applied alone or in combination, against six stored-product insect species. J Pest Sci 84:61–67.

Athanassiou, C.G., Kavallieratos, N.G., Chintzoglou, G.J. 2008a. Effectiveness of spinosad dust against different European populations of the confused flour beetle, *Tribolium confusum* Jacquelin du Val. J Stored Prod Res 44:47–51.

Athanassiou, C.G., Kavallieratos, N.G., Chintzoglou, G.J., Peteinatos, G.G., Boukouvala, M.C., Petrou, S.S. y Panoussakis, E.C. 2008c. Effect of temperature and commodity on insecticidal efficacy of spinosad dust against *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae) and *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera: Bostrychidae). J Econ Entomol 101:976–981.

Athanassiou, C.G., Kavallieratos, N.G., Yiatis, A.E., Vayias, B.J., Mavrotas, C.S. y Tomanovic, Z. 2008b. Influence of temperature and humidity on the efficacy of spinosad against four stored grain beetle species. J Insect Sci 8:60.

Bahillo, P. 1996. Cerambícidos (Coleoptera, Cerambycidae) del País Vasco. Cuadernos de Investigación Biológica. Vol. n° 19. 274 pp.

Bahillo, P. 1997. Estudio de la variabilidad en las poblaciones de *Iberodorcadion fuliginator* (Linneo, 1758) del País Vasco y Navarra (Coleoptera: Cerambycidae). Bol. Asoc. esp. Ent., 21(3-4): 211-220.

Bahillo, P. 1999. Un posible híbrido intersubgenérico entre *Iberodorcadion* (s.Str.) *spinolae* ssp. *caunense* (Lauffer, 1910) e *Iberodorcadion* (Hispanodorcadion) *ruspolii* (Breuning, 1975) (Coleoptera, Cerambycidae). Biocosme Mésogéen, 15(4): 273-284.

Baragaño, J.R., Notario, A. y Sa Montero, C. 1981. *Agapanthia asphodeli* Latreille (col.: Cerambycidae): cría artificial y estudio cariológico. Boletín del Servicio de Plagas. Vol. nº 7. 161–167.

Barata, E.N., Pickett, J.A., Wadhams, L.J., Woodcock, C.M. y Mustaparta, H. 2000. Identification of host and nonhost semiochemicals of eucalyptus woodborer *Phoracantha semipunctata* by gas chromatography-electroantennography. J. Chem. Ecol. 26: 1877–1895.

Barbour, J.D., Millar, J.G., Rodstein, J., Ray, A.M., Alston, D.G., Rejzek, M., Dutcher, J.D. y Hanks, L.M. 2011. Synthetic 3,5-dimethyldodecanoic acid serves as a general attractant for multiple species of *Prionus* (Coleoptera: Cerambycidae). Ann. Entomol. Soc. Am. 104:588–593.

Basham, J.T. y Belyea, R.M. 1960. Death and deterioration of balsam fir weakened by spruce budworm defoliation in Ontario. Part III. The deterioration of dead trees. For. Sci. 6: 78–96.

Batta, Y.A. 2007. Biocontrol of almond bark beetle (*Scolytus amygdale* Geurin-Meneville, Coleoptera: Scolytidae) using *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. (Deuteromycotina: Hyphomycetes). Journal of Applied Microbiology.

Belyea, R.M. 1952a. Death and deterioration of balsam fir weakened by spruce budworm defoliation in Ontario. Part I. Notes on the seasonal history and habits of insects breeding in severely weakened and dead trees. Can. Entomol. 84: 325–335.

Belyea, R.M. 1952b. Death and deterioration of balsam fir weakened by spruce budworm defoliation in Ontario. Part II. An assessment of the role of associated insect species in the death of severely weakened trees. J. For. 50: 729–738.

Bercedo, P. y Bahillo, P. 1999. Nueva especie de *Vesperus* Dejean, 1821 de la península ibérica (Coleoptera, Cerambycidae). Graellsia, 55: 149-156.

Bing, L.A. y Lewis, L.C. 1991. Suppression of *Ostrinia nubilalis* (Hübner) (Lepidoptera: Pyralidae) by endophytic *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin. Environmental Entomology 20: 1207–1211.

Biurrun, R., Yanguas, R., Garnica, I. y Benito, A. 2007. El taladro del endrino. Navarra agraria 164: 47-51.

Boiteau, G. y Noronha, C. 2007. Topical, residual and ovicidal contact toxicity of three reduced-risk insecticides against the European corn borer, *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera: Crambidae), on potato *Pest Manag Sci* 63:1230–1238.

- Bombosch, S. y Dedek, W. 1994.** Integrierter Pflanzenschutz gegen *Ips typographus* (L.) Kombination von Pheromonen und dem systemischen Insektizid Methamidophos (IPIDEX). Zeitschrift für Pflkrankh Pflschutz 101: 508–518.
- Bostanian, N.J., Hardman, J.M., Thistlewood, H.A. y Racette, G. 2010.** Effects of six selected orchard insecticides on *Neoseiulus fallacis* (Acari: Phytoseiidae) in the laboratory. Wiley Online Library, 16.
- Boyero, J.R., Rodríguez, N., Suria, R., Ruíz, R. y Pascual, F. 2005.** Efectos de varios plaguicidas sobre *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant y *Rhyzobius lophantae* Blaisdell (Coleoptera, Coccinellidae). Bol. San. Veg. Plagas, 31: 79-87.
- Bradbury, P.M. 1998.** The effects of the burnt pine longhorn beetle and wood-staining fungi on fire damaged *Pinus radiata* in Canterbury. N Z For 43: 28–31.
- Brattli, J.G., Andersen, J. y Nilssen, A.C. 1998.** Primary attraction and host tree selection in deciduous and conifer living Coleoptera: Scolytidae, Curculionidae, Cerambycidae and Lymexylidae. J. Appl Entomol 122: 345–352.
- Braud Y., Ramos R. y Coquempot, C. 2002.** Nouvelles observations de *Xylotrechus stebbingi* Gahan, 1906, en Europe et en Afrique du Nord (Col., Cerambycidae). Bull Soc. Ent. France, 107 (5): 487-488.
- Brinkman, M. A., y B. W. Fuller. 1999.** Influence of *Beauveria bassiana* GHA on non-target rangeland arthropod populations. Environ. Entomol. 28: 863-867.
- Brustel, H. ; Berger, P. y Cocquempot, C.H. 2002.** Catalogue des Vesperidae et des Carambycidae de la faune de France (Coleoptera). Ann. Soc. entomol. Fr. (n.s.), 38(4): 433-461.
- Burakowski, B. 1980.** Immature stages and bionomics of *Vadonia livida* (F.) (Coleoptera: Cerambycidae). Annales Zoologici 35: 25–42.
- Bybee, L.F., Millar, J.G., Paine, T.D., Campbell, K. y Hanlon, C.C. 2004.** Seasonal development of *Phoracantha recurva* and *P. semipunctata* (Coleoptera: Cerambycidae) in Southern California. Environ. Entomol. 33: 1232-1241.
- Cabral, S., Soares, A.O. y Garcia, P. 2011.** Voracity of *Coccinella undecimpunctata*: effects of insecticides when foraging in a prey/plant system. J Pest Sci 84:373–379.
- Calabrese, E.J. y Baldwin, L.A. 2003.** Toxicology rethinks its central belief hormesis demands a reappraisal of the way risks are assessed. Nature 421:691–692.
- Calabrese, E.J., y Baldwin, L.A. 1998.** Hormesis as a biological hypothesis. Environ Health Perspect 106:357–362.
- Campadelli, G. 1982.** Utilizzazione della dieta di G. Raoul de Pontivy come pabulum di “Soccorso” per allevare larve di coleotteri cerambicidi. Inform. Giov. Entomol., 103: 15-18.
- Campadelli, G. y Sama, G. 1988.** Prima segnalazione per l’Italia di un Cerambicide giapponese: *Callidiellum rufipenne* Motschulsky. Bollettino dell’Istituto di Entomologia
-

“Guido Grandi” dell’Università di Bologna 43: 69–73.

Campos, M. y Phillips, T.W. 2010 Contact toxicity of insecticides for attract-and-kill applications against adult *Plodia interpunctella* (Hubner) (Lepidoptera: Pyralidae). *Pest Manag Sci* 2010; 66: 752–761.

Carabajal, M.V. 2003. Estudio de *Ischionorox antiqua* Aurivillius, 1922 (Coleoptera: Cerambycidae): cría artificial, ciclo biológico, etología, descripción y aspectos ecológicos. Tesis doctoral. Universidad Politécnica de Madrid. E.T.S.II. Montes. 266-pp.

Champlain, A.B. y Knull, J.N. 1932. Fermenting baits for trapping Elateridae and Cerambycidae (Coleop.). *Entomol News* 43:253–257.

Cherepanov, A.I. 1952. The Larch Cerambycid and Measures for its Control. Nauka, Novosibirsk.

Cherepanov, A.I. 1981. Longhorn Beetles of Northern Asia (Cerambycinae). Nauka, Novosibirsk.

Cherepanov, A.I. 1988. Cerambycidae of Northern Asia. Volume 2. Cerambycinae Part II. [Usachi Severnoi Azii (Cerambycinae)]. Ed. S. Otdelenie. Translated from Russian. Amerind Publishing Co. Pvt. Ltd. New Delhi. 354 p.

Cherepanov, A.I. 1990. Cerambycidae of Northern Asia. Volume 2 Cerambycinae, Part II. E.J. Brill, Leiden, Netherlands, 292 pp. [North.].

Cherry, A.J., Banito, A., Djegui, D. y Lomer, C. 2004. Suppression of the stem-borer *Sesamia calamistis* (Lepidoptera: Noctuidae) in maize following seed dressing, topical application and stem injection with African isolates of *Beauveria bassiana*. *International Journal of Pest Management* 50: 67–73.

Chippendale, G.M. y Beck, S.D. 1965. A method for rearing the cabbage looper, *Trichoplusia ni*, on a meridic diet. *J. Eco. Entomol.*, 58: 377-378.

Cho, J.R., Kim, Y.J., Kim, H.S., Yoo, J.K., 2002. Some biochemical evidence on the selective insecticide toxicity between the two aphids, *Aphis citricola* and *Myzus malisuctus* (Homoptera: Aphididae), and their predator, *Harmonia axyridis* (Coleoptera: Coccinellidae). *J. Asia-Pac. Entomol.* 5, 49–53.

Chomé, P.M., et al. 2006. Variedades de vid. Registro de variedades comerciales. Coordinador: Chomé, P.M. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación.

Ciach, M. y Michalcewicz, J. 2013. Correlation between selected biometric traits of adult *Rosalia alpina* (L.) (Coleoptera: Cerambycidae) and size of their exit holes: new perspectives on insect studies?. *Pol. J. Ecol.* 61: 349-355.

Clarke, S.R. 2001. Review of the operational IPM program for the southern pine beetle. *Integrated Pest Management Review* 6: 293–301.

Colombi, L. y Brunetti, R. 2002. Rapporto del Servizio fitosanitario del Canton Ticino

2002. Servizio Fitosanitario Bellinzona, 36 pp.

Corso IC. 1988. Effect of chemical insecticides on natural enemies of insect pests of soyabean. *Documentos, Centro Nacional de Pesquisa de Soja, EMBRAPA* 36: 46–48.

Coté, W.A., III, y Allen, D.C. 1980. Biology of the two-lined chestnut borer, *Agrilus bilineatus*, in Pennsylvania and New York. *Ann Entomol. Soc. Am.* 73: 409–413.

Cottrell, T. E. y D. I. Shapiro-Ilan. 2003. Susceptibility of a native and an exotic lady beetle (Coleoptera: Coccinellidae) to *Beauveria bassiana*. *J. Invertebr. Pathol.* 84: 137–144.

Coulson, R.N., Mayyasi, A.M., Foltz, J.L. y Hain, F.P. 1976. Interspecific competition between *Monochamus titillator* and *Dendroctonus frontalis*. *Environ Entomol* 5: 235–247.

Coulson, R.N., Pope, D.N., Gagne, J.A., Fargo, W.S., Pulley, P.E., Edson, L.J. y Wagner, T.L. 1980. Impact of foraging by *Monochamus titillator* (Col.: Cerambycidae) on within-tree populations of *Dendroctonus frontalis* (Col.: Scolytidae). *Entomophaga* 25: 155–170.

Cutler, G.C., Scott-Dupree, C.D., Tolman, J.H. y Harris, C.R. 2005. Acute and sublethal toxicity of novaluron, a novel chitin synthesis inhibitor, to *Leptinotarsa decemlineata* (Coleoptera: Chrysomelidae). *Pest Management Science Pest Manag Sci* 61:1060–1068.

Daglish, G.J. 2008. Impact of resistance on the efficacy of binary combinations of spinosad, chlorpyrifos-methyl and s-methoprene against five stored-grain beetles. *J Stored Prod Res* 44:71–76.

Dahlsten, D.L. y Stephen, F.M. 1974. Natural enemies and insect associates of the mountain pine beetle, *Dendroctonus ponderosae* (Coleoptera: Scolytidae), in sugar pine. *Can Entomol* 106: 1211–1217.

Dauber, D. 2004. Beitrag zur Kenntnis der Cerambycidenfauna von Samos. *Linz. biol. Beitr.*, 36 (1): 81-88.

De Liñan, C. 2013. Vademecum de productos fitosanitarios y nutricionales. Ediciones Agrotécnicas,S.L. 29ª Edición.

De Viedma, M. G., Notario, A. y Baragaño, J. R. 1985. Laboratory rearing of Lignicolous Coleoptera (Cerambycidae). *J. Econ. Entomol.* 78: 1149-1153.

Denominación de Origen Ribera del Duero, 2013, (www.riberadelduero.es).

Denominación de Origen Tierras de León, 2013, (www.dotierradeleon.es).

Denominación de Origen Toro. 2013, (www.dotoro.com).

Dhadialla, T.S., Carlson, G.R. y Le, D.P. 1998. New insecticides with ecdysteroidal and juvenile hormone activity. *Ann. Rev. Entomol.*, 43: 545-569.

Doane, R.W., Van Dyke, E.C., Chamberlain, W.J. y Burke, H.E. 1936. Forest insects. USA, NY-New York: McGraw Hill.

Doberski, J.E. 1981. Comparative laboratory studies on three fungal pathogens of the elm bark beetles, *Scolytus scolytus*: effect of temperature and humidity on infection by *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* and *Paecilomyces farinosus*. J Invertebr Pathol 37, 195–200.

Dobesberger, E. J. 2004. *Xylotrechus rufilius*. Pest Facts Sheet (draft). Plant Health Risk Assessment Unit. Science Division. Canadian Food Inspection Agency. 5 p.

Dodds, K.J. y Stephen, F. M. 2000. Partial age-specific life tables for *Monochamus titillator* in *Dendroctonus frontalis*-infested loblolly pines. Entomol. Exp. Appl., 97: 331-338.

Dodds, K.J., Graber, C. y Stephen, F.M. 2001. Facultative intraguild predation by larval Cerambycidae (Coleoptera) on bark beetle larvae (Coleoptera: Scolytidae). Environ. Entomol. 30: 17–22.

Dojnov, B., Vujcic, Z., Bozic, N., Margetic, A. Vujcic, M., Nenadovic, V. y Ivanovic, J. 2012. Adaptations to captive breeding of the longhorn beetle *Morimus funereus* (Coleoptera: Cerambycidae); application on amylase study. J Insect Conserv (2012) 16: 239–247.

Donley, D.E. 1959. Studies of wood boring insects as vectors of the oak wilt fungus. PhD Dissertation. USA, OH-Columbus: Ohio State University.

Downie, N.M. y Arnett, R.H. Jr. 1996. The beetles of northeastern North America, Vol. II. Polyphaga: Series Bostrichiformia through Curculionioidea. Pp 891–1721. USA, FL-Gainesville: Sandhill Crane Press.

Dubois, T., Akello, J., Coyne, D. y Kyamanywa, S. 2008. Effect of endophytic *Beauveria bassiana* on populations of the banana weevil, *Cosmopolites sordidus*, and their damage in tissue-cultured banana plants. Entomologia Experimentalis et Applicata 129: 157–165.

Dubois, T., Hajek, A.E. y Smith, S. 2002 Methods for rearing the asian longhorned beetle (Coleoptera: Cerambycidae) on artificial diet. Ann. Entomol. Soc. Am., 95: 223-230.

Duffy, A.J. 1953. A monograph of the immature stages of British and imported timber beetles (Cerambycidae). GB-Norwich: Jarrold and Sons Ltd.

Dunkel, F. V. y S. T. Jaronski. 2003. Development of a bioassay system for the predator, *Xylocoris flavipes* (Heteroptera: Anthocoridae), and its use in subchronic toxicity/pathogenicity studies of *Beauveria bassiana* strain GHA. J. Econ. Entomol. 96: 1045-1053.

Dunn, J.P. y Potter, D.A. 1991. Synergistic effects of oak volatiles with ethanol in the capture of saprophagous wood borers. J Entomol Sci 26:425–429.

Echeverri, D., Santolamazza, S. 2010. Toxicity of synthetic and biological insecticides

against adults of the Eucalyptus snout-beetle *Gonipterus scutellatus* Gyllenhal (Coleoptera: Curculionidae) *J Pest Sci* 83:297–305.

Edmonds, R.L. y Eglitis, A. 1989. The role of the Douglas-fir beetle and wood borers in the decomposition of and nutrient release from Douglas-fir logs. *Can. J. For Res.* 19: 853–859.

Ehnström, B., Långström, B. y Hellqvist, C. 1995. Insects in burnt forests – forest protection and faunal conservation (preliminary results). *Entomol Fenn* 6: 109–117.

Eken, C., Tozlu, G., Dane, E., Oruh, C.S. y Demirci, E. 2006. Pathogenicity of *Beauveria bassiana* (Deuteromycotina: Hypomycetes) to larvae of the small poplar longhorn beetle, *Saperda populnea* (Coleoptera: Cerambycidae). *Mycopathologia* 162: 69–71.

Ekési, S. 2001. Pathogenicity and antifeedant activity of entomopathogenic hyphomycetes to the cowpea leaf beetle, *Ootheca mutabilis* Shalberg. *Insect Science and its Application*, 21, 55–66.

Ekési, S., N. K. Maniania, K. Ampong-Nyarko y I. Onu. 1999. Effect of intercropping cowpea with maize on the performance of *Metarhizium anisopliae* against *Megalurothrips sjostedti* (Thysanoptera: Thripidae) and predators. *Environ. Entomol.* 28: 1154-1161.

Elbert, A., B. Becker, J. Hartwig, y C. Erdelen. 1991. Imidacloprid - a new systemic insecticide. *Pflanzenschutz- Nachr. Bayer* 44: 113-136.

Elzen, G.W., 2001. Lethal and sublethal effects of insecticide residues on *Orius insidiosus* (Hemiptera: Anthocoridae) and *Geocoris punctipes* (Hemiptera: Lygaeidae). *J. Econ. Entomol.* 94, 55–59.

Environmental Protection Agency [EPA]. 1997. *Spinosad* Pesticide Fact sheet No. 501C. Environmental Protection Agency, Office of Pesticides and Toxic substances. (www.epa.gov).

Environmental Protection Agency [EPA]. 2006a. *Beauveria bassiana* strain GHA (128924) biopesticide fact sheet (http://www.epa.gov/oppbppd1/biopesticides/ingredients/factsheets/factsheet_128924.htm).

European and Mediterranean Plant Protection Organization [EPPO]. 2005a. Data sheets on quarantine pests *Xylotrechus altaicus*. *EPPO Bulletin* 35: 406-408. (<http://www.eppo.int>).

European and Mediterranean Plant Protection Organization [EPPO]. 2005b. Data sheets on quarantine pests, *Xylotrechus namanganensis*. *EPPO Bulletin* 35: 456-458. (<http://www.eppo.int>).

European and Mediterranean Plant Protection Organization [EPPO]. 2007. EPPO Plant Quarantine Information Retrieval System (PQR), version 4.6. European and Mediterranean Plant Protection Organization. (<http://www.eppo.int>).

Evans, W.G. 1971. The attraction of insects to forest fires. Pp 115–127 in Komarek

EV, Sr (ed) Proceedings of the Tall Timbers Conference on Ecological Animal Control by Habitat Management, vol 3. USA, FL-Tallahassee: University of Florida, Department of Entomology.

EVENA. 2005. Recomendación de prácticas culturales. Boletín nº. 7, junio de 2005. (http://www.navarra.es/home_es/Gobierno+de+Navarra/Organigrama/Los+departamentos/Desarrollo+Rural+Industria+Empleo+y+Medio+Ambiente/Organigrama/Estructura+Organica/Evena/).

Fægri, K. y Van der Pijl, L. 1979. The principles of pollination ecology. USA, NY New York: Pergamon Press.

Fäldt, J., Martin, D., Miller, B., Rawat, S. y Bohlmann, J. 2003. Traumatic resin defense in Norway spruce (*Picea abies*) Methyl jasmonate-induced terpene synthase gene expression, and cDNA cloning and functional characterization of (+)-3-carene synthase. *Plant Molecular Biology* 51: 117–133.

Fan, M.Z., Li, L.C., Guo, C., Wu, X.M. y Sun, Z.B. 1990. Control of *Agrilus auriventris* by the strain Ma83 of *Metarhizium anisopliae*. *Disinsectional Microorganism* 3: 278-279.

Fang, L., Subramanyam, B.H. y Dolder, S. 2002b. Persistence and efficacy of spinosad residues in farm stored wheat. *J Econ Entomol* 95:1102–1109.

Fang, L., Subramanyam, B.H., Arthur, F.H. 2002a. Effectiveness of spinosad on four classes of wheat against five stored product insects. *J Econ Entomol* 95:640–650.

Fauna Europaea. 2013. ([http:// www.faunaeur.org](http://www.faunaeur.org)).

Fettköther, R., Dettner, K., Schröder, F., Meyer, H., Francke, W. Noldt, U. 1995. The male pheromone of the old house borer *Hylotrupes bajulus* (L.) (Coleoptera: Cerambycidae): identification and female response. *Experientia* 51: 270–277.

Fettköther, R., Reddy, G.V.P., Noldt, U. y Dettner, K. 2000. Effect of host and larval frass volatiles on behavioural responses of the old house borer, *Hylotrupes bajulus* (L.) (Coleoptera: Cerambycidae), in a wind tunnel bio-assay. *Chemoecology* 10: 1–10.

Flamm, R.O., Coulson, R.N., Beckley, P., Pulley, P.E. y Wagner, T.L. 1989. Maintenance of a phloem-inhabiting guild. *Environ Entomol* 18: 381–387.

Fogel, M.N., Schneider, M.I., Desneux, N., González, B. y Ronco, A.E. 2013. Impact of the neonicotinoid acetamiprid on immature stages of the predator *Eriopis connexa* (Coleoptera: Coccinellidae) *Ecotoxicology* 22:1063-1071.

Forbes, V.E. 2000. Is hormesis an evolutionary expectation? *Funct Ecol* 14:12–24.

Fukaya, M., Akino, T., Yasuda, T., Wakamura, S., Satoda, S. y Senda, S. 2000. Hydrocarbon components in contact sex pheromone of the white-spotted longicorn beetle, *Anoplophora malasiaca* (Thomson) (Coleoptera: Cerambycidae) and pheromonal activity of synthetic hydrocarbons. *Entomol Sci* 3: 211–218.

Fukaya, M., Wakamura, S., Yasuda, T., Senda, S., Omata, T. y Fukusaki, E. 1997.

Sex pheromonal activity of geometric and optical isomers of synthetic contact pheromone to males of the yellow-spotted longicorn beetle, *Psacotheta hilaris* (Pascoe) (Coleoptera: Cerambycidae). *Appl Entomol Zool* 32: 654–656.

Fukaya, M., Yasuda, T., Wakamura, S. y Honda, H. 1996. Reproductive biology of the yellow-spotted longicorn beetle, *Psacotheta hilaris* (Pascoe) (Coleoptera: Cerambycidae) III. Identification of contact sex pheromone on female body surface. *J Chem Ecol* 22: 259–270.

Furniss, R.L. y Carolin, V.M. 1977. Western forest insects. Misc Publ No 1339. USA, WA-Washington, DC: US Dept of Agriculture, Forest Service.

Furniss, R.L. 1937. Salvage on Tillamook burn as affected by insect activity. *The Timberman* 11–13, 30–32.

Galet, P. 1967. Recherches sur les methods d'identification et de classification des Vitace es tempere es. II These, University de Montpellier, Montpellier, France.

Galford, J.R. 1974. Some physiological effects of temperature on artificial reared red oak borers. *J. Econ. Entomol.*, 67: 709-710.

Galford, J.R. 1985. *Enaphalodes rufulus*. En: Singh, P.; Moore, R.F., (eds.). Handbook of insect rearing, volume I. Elsevier, New York. USA.

Galvan, T.L., Koch, R.L. y Hutchison, W.D. 2005b. Toxicity of commonly used insecticides in sweet corn and soybean to the multicolored Asian lady beetle (Coleoptera: Coccinellidae). *J Econ Entomol* 98:780–789.

Galvan, T.L., Koch, R.L., y Hutchison, W.D. 2005a. Effects of *Spinosad* and indoxacarb on survival, development, and reproduction of the multicolored Asian lady beetle (Coleoptera: Coccinellidae). *Biol Control* 34:108–114.

García Ruiz, E. 2009. Contribución al Manejo de Plagas en vid: *Xylotrechus arvicola* y *Lobesia botrana* Denis & Schiffermüller (Lepidoptera: Tortricidae). Tesis Doctoral. Universidad de La Rioja. Departamento de Agricultura y Alimentación.

García-Ruiz, E., Marco, V. y Pérez-Moreno, I. 2007. *Xylotrechus arvicola*: Posibilidades de control biológico. *Terralia*, 61: 38-44.

Gardiner, L.M. 1957a. Deterioration of fire-killed pine in Ontario and the causal wood-boring beetles. *Can. Entomol.* 89: 241–263.

Gardiner, L.M. 1957b. Collecting woodboring beetle adults by turpentine and smoke. *Bimon. Prog. Rept. Sci. Serv. Can. Dept. Agr.* 13: 2 pp.

Gardiner, L.M. 1970. Rearing wood-boring beetles (Cerambycidae) on artificial diet. *Can. Entomol.*, 102: 113-117.

Gardiner, L.M. 1975. Insect attack and value loss in wind-damaged spruce and jack pine stands in northern Ontario. *Can. J. For. Res.* 5: 387–398.

Garman, H. 1921. The relation of the Kentucky species of *Solidago* to the period of

activity of the adult *Cyllene robiniae*. Kentucky Agr Exp Sta Bull 231: 3–22.

Ginzel, M.D. y Hanks, L.M. 2005. Role of host plant volatiles in mate location for three species of longhorned beetles. *J Chem Ecol* 31:213–217.

Ginzel, M.D., Blomquist, G.J., Millar, J.G. y Hanks, L.M. 2003. The role of contact pheromones in mate location and recognition in *Xylotrechus colonus*. *J Chem Ecol* 29: 533–545.

González, C.F., Gonzalo, I. y Velasco, P. 2001. *Iberodorcadion (hispanodorcadion) mosqueruelense* var. *pseudomolitor* (Escalera, 1902), propuesta de nuevo status (Cerambycidae: Dorcadionini). *ZAPATERI Revta. Aragon. ent.*, 9 (2001): 59–64.

González, C.F., Vives-Nogueira, E. y De Sousa, A.J. 2007. Nuevo catálogo de los Cerambycidae (Coleóptera) de la Península Ibérica, islas Baleares e islas atlánticas: Canarias, Azores y Madeira. Sociedad Entomológica Aragonesa. Monografías S.E.A., vol. 12.

Goodwin, S. 2005. Chemical control of fig longicorn, *Acalolepta vastator* (Newman) (Coleoptera: Cerambycidae), infesting grapevines. *Australian Journal of Entomology* 44. 71–76.

Goodwin, S. y Pettit M.A. 1994. *Acalolepta vastator* (Newman) (Coleoptera: Cerambycidae) infesting grapevines in the Hunter Valley, New South Wales 2. Biology and ecology. *Journal of the Australian Entomological Society* 33, 391–397.

Goujet, G., Rahola Fabra, P., 2004. Premier foyer d'infestation de *Xylotrechus stebbingi* Gahan constaté en France (Gard) (Col., Cerambycidae, Clytini). *Bulletin de la Société entomologique de France*, 109 (1): 77 -78.

Grimble, D.G., Nord, J.C. y Knight, F.B. 1969. Oviposition characteristics and early mortality of *Saperda inornata* and *Oberea schaumii* in Michigan Aspen. *Ann. Entomol. Soc. Am.*, 62: 308-315.

Grosman, D.M. y Upton, W.W. 2006. Efficacy of systemic insecticides for protection of loblolly pine against southern fine engraver beetles (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) and wood borers (Coleoptera: Cerambycidae). *Journal of Economic Entomology* 99: 94–101.

Gullan, P.J. y Cranston, P.S. 2005. The insects: an outline of entomology, 3th edn edn. Blackwell Publishing, Oxford.

Gutowski, J.M. 1986. Species composition and structure of the communities of longhorn beetles (Col., Cerambycidae) in virgin and managed stands of *Tilio-Carpinetum stachyetosum* association in the Białowieża Forest (NE Poland). *J. Appl. Entomol.* 102: 380–391.

Haack, R. A., and F. Slansky, Jr. 1986. Nutritional ecology of wood-feeding Coleoptera, Lepidoptera, and Hymenoptera, pp. 449-486. *In* F. Slansky, Jr. and J. G. Rodriguez [eds.], *Nutritional ecology of insects, mites, spiders and related invertebrates*. Wiley, New York.

Hajek, A.E., Huang, B., Dubois, T., Smith, M.T. y Li, Z. 2006. Field studies of control of *Anoplophora glabripennis* (Coleoptera: Cerambycidae) using fiber bands containing the entomopathogenic fungi *Beauveria brongniartii*, *Metarhizium anisopliae*. *Biocont Sci Technol* 16, 329–343.

Hall, D. R., Cork, A., Phythian, S., Sumathi, C., Jayarama, B. K., Venkatesha, M. G., D'Souza, V. M. y Naidu, R. 1998. Studies on the male sex pheromone of the coffee white stem borer, *Xylotrechus quadripes* Chevrolat (Coleoptera: Cerambycidae). 2nd International Symposium on Insect Pheromones, Wageningen, The Netherlands, March 1998, pp. 50–52.

Hall, D.R., Cork, A., Phythian, S.J., Chittamuru, S., Jayarama, B.K., Venkatesha, M.G., Sreedharan, K., Vinod-Kumar, P.K., Seetharama, H.G., y Naidu, R. 2006. Identification of components of male-produced pheromone of coffee white stem borer, *Xylotrechus quadripes*. *J. Chem. Ecol.*, 32: 195-219.

Hanks, L.M. 1999. Influence of the larval host plant on reproductive strategies of cerambycid beetles. *Annu. Rev. Entomol.*, 44: 483-505.

Hanks, L.M. y Millar, J.G. 2012. Field bioassays of cerambycid pheromones reveal widespread parsimony of pheromone structures, synergism by host plant volatiles, and antagonism by components from heterospecifics. *Chemoecology*.

Hanks, L.M., Mcelfresh, J.S., Millar, J.G. y Paine, T.D. 1993a. *Phoracantha semipunctata* (Coleoptera: Cerambycidae), a serious pest of Eucalyptus in California: Biology and laboratory-rearing procedures. *Ann. Entomol. Soc. Am* 86: 96–102.

Hanks, L.M., Millar, J.G. y Paine, T.D. 1990. Biology and ecology of the eucalyptus longhorned borer (*Phoracantha semipunctata* F.) in southern California. Pp 12–16 in Adams D, Rios J (eds) Proceedings of the 39th California Forest Pest Council, 14–15 Nov. 1990, Sacramento, CA. USA, CA-Sacramento: Calif Dept of Forestry and Fire Protection.

Hanks, L.M., Millar, J.G. y Paine, T.D. 1996a. Body size influences mating success of the eucalyptus longhorned borer (Coleoptera: Cerambycidae). *J. Insect Behav.* 9: 369–382.

Hanks, L.M., Millar, J.G., Mongold-Diers, J.A., Wong, J.C.H., Meier, L.R., Reigel, P.F. y Mitchell, R.F. 2012. Using blends of cerambycid beetle pheromones and host plant volatiles to simultaneously attract a diversity of cerambycid species. *Can J For Res* 42:1050–1059.

Hanks, L.M., Millar, J.G., Moreira, J.A., Barbour, J.D., Lacey, E.S., McElfresh, J.S., Reuter, F.R., Ray, A.M. 2007. Using generic pheromone lures to expedite identification of aggregation pheromones for the cerambycid beetles *Xylotrechus nauticus*, *Phymatodes lecontei*, and *Neoclytus modestus modestus*. *J Chem Ecol* 33:889–907.

Hanks, L.M., Paine T.D. y Millar J.G. 1993. Host species preference and larval performance in the wood-boring beetle *Phoracantha semipunctata* F. *Oecologia*, 95: 22–29.

Hanks, L.M., Paine, T.D. y Millar, J.G. 1991a. Mechanisms of resistance in Eucalyptus against larvae of the eucalyptus longhorned borer (Coleoptera: Cerambycidae). *Environ Entomol* 20: 1583–1588.

Hanks, L.M., Paine, T.D., Millar, J.G., Campbell, C.D. y Schuch, U.K. 1999. Water relations of host trees and resistance to the phloemboring beetle *Phoracantha semipunctata* F. (Coleoptera: Cerambycidae). *Oecologia* 119: 400–407.

Hanks, LM, Millar, JG, Mongold-Diers, J.A., Wong, J.C.H., Meier, L.R., Reigel, P.F. y Mitchell, R.F. 2012. Using blends of cerambycid beetle pheromones and host plant volatiles to simultaneously attract a diversity of cerambycid species. *Can J For Res* 42:1050–1059.

Harley, K. L. S. y Willson, B. W., 1968: Propagation of a cerambycid borer on a meridic diet. *Can. J. Zool.*, 46: 1265-1266.

Hassan, S.A., 1998. Standard laboratory methods to tests the side Vects of pesticides (initial and persistent) on *Trichogramma cacoeciae* Marchal (Hym., Trichogrammatidae). In: Haskell, P.T., McEwen, P. (Eds.), *Ecotoxicology Pesticides and BeneWcial Organisms*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, pp. 71–79.

Hatchett, J.H., Jackson, R.D. y Barry, R.M. 1973. Rearing a wood cerambyd, *Dectes texanus*, on an artificial medium, with notes on biology. *Ann. Entomol. Soc. Am.*, 66: 519-522.

Hidalgo, J; 2006. La calidad del vino desde el viñedo. Ediciones Mundi-Prensa, 2006. 389 p.

Higgs, M.D. y Evans, D.A. 1978. Chemical mediators in the oviposition behavior of the house longhorn beetle, *Hylotrupes bajulus*. *Experientia* 34: 46–47.

Hill, M.G., Borgemeister, C., Nansen, C. 2002. Ecological studies on the larger grain borer, *Prostephanus truncatus* (Horn) (Col.: Bostrichidae) and their implications for integrated pest management. *Integr Pest Manag Rev* 7:201–221.

Hiratsuka, Y., Langor, D.W. y Crane, P.E. 1995. A field guide to forest insects and diseases of the prairie provinces. Northern Forestry Centre Special Report No 3. CAN, AB-Edmonton: Canadian Forest Service, Northwest Region Northern Forestry Centre.

Hobson, K.R., Wood, D.L., Cool, L.G., White, P.R., Ohtsuka, T., Kubo, I., y Zavarin, E. 1993. Chiral specificity in responses by the bark beetle *Dendroctonus valens* to host kairomones. *J. Chem Ecol* 19: 1837–1846.

Hodková, M. y Hodek, I. 2004. Photoperiod, diapause and cold-hardiness. *Eur. J. Entomol.*, 101: 445–458.

Hoffmann, E.J., Middleton, S.M. y Wise, J.C. 2008. Ovicidal activity of organophosphate, oxadiazine, neonicotinoid and insect growth regulator chemistries on the northern strain plum curculio, *Conotrachelus nenuphar*. *J. Insect Sci.*, 8: 29-34.

Hosking, G.P. y Bain, J. 1977. *Arhophalus ferus* (Coleoptera: Cerambycidae); its

biology in New Zealand. *N Z J For Sci* 7: 3–15.

Huber, P.W., Borden, J.H., Jeans-Williams, N. y Gries, R. 2000b. Differential bioactivity of conophthorin on four species of North American bark beetles (Coleoptera: Scolytidae). *Can Entomol* 132: 649–653.

Huber, P.W., Gries, R., Borden, J.H. y Pierce, H.D.Jr. 1999. Two pheromones of coniferophagous bark beetles (Coleoptera: Scolytidae) found in the bark of nonhost angiosperms. *J Chem Ecol* 25: 805–816.

Huber, P.W., Gries, R., Borden, J.H. y Pierce, H.D.Jr. 2000a. A survey of antennal responses by five species of coniferophagous bark beetles (Coleoptera: Scolytidae) to bark volatiles of six species of angiosperm trees. *Chemoecology* 10: 103–113.

Hughes, A.L. 1979. Reproductive behavior and sexual dimorphism in the white-spotted sawyer *Monochamus scutellatus* (Say). *Coleop Bull* 33: 45–47.

Hughes, A.L. 1981. Differential male mating success in the whitespotted sawyer *Monochamus scutellatus* (Coleoptera: Cerambycidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.* 74: 180–184.

Hughes, A.L. y Hughes, M.K. 1982. Male size, mating success, and breeding habitat partitioning in the whitespotted sawyer, *Monochamus scutellatus* (Say) (Coleoptera: Cerambycidae). *Oecologia* 55: 258–263.

Humber, R. A. 2005. USDA-ARS Collection of Entomopathogenic Fungal Cultures, Catalog of Isolates. (<http://arsef.fpsnl.cornell.edu/mycology/catalogs/Catalog.pdf>).

Ibeas, F., Díez, J.J. y Pajares, J.A. 2008. Olfactory Sex Attraction and Mating Behaviour in the Pine Sawyer *Monochamus galloprovincialis* (Coleoptera: Cerambycidae). *J Insect Behav* (2008) 21:101–110.

Iglesias, C. 1988. Coleópteros lignícolas sobre tocón de pino en el Parque Natural de la Cuenca Alta del río Mnzanares: distribución, cría y datos bionómicos. Tesis doctoral. Universidad complutense de Madrid. 204 pp.

Iglesias, C., Notario, A. y Baragaño, J.R. 1989. Evaluación de las condiciones de cría y datos bionómicos de coleópteros lignícolas de tocón de pino. *Bol. San. Veg. Plagas*, 15: 9-16.

Ikeda, T., Yamane, A., Enda, N., Matsuura, K. y Oda, K. 1981. Attractiveness of chemical-treated pine trees for *Monochamus alternatus* Hope (Coleoptera: Cerambycidae). *J. Jap. For Soc.* 63: 201–207.

Imai, T., Kodama, H., Chuman, T y Kohno, M.1990. Female produced oviposition deterrents of the cigarette beetle, *Lasioderma serricorne* (F.) (Coleoptera: Anobiidae). *J Chem Ecol* 16: 1237–1247.

Infovini – Vinhos de Portugal, 2013 (www.infovini.com).

Instituto dos Vinhos do Douro e do Porto, I.P.; 2013. Ministerio da Agricultura, Mar,

Ambiente e Ordenamento do Território. Governo do Portugal, (www.ivdp.pt).

Ioriatti, C., Pasqualini, E., Pasquier, D. y Tomasi, C. 2006. Efficacy baselines of seven insecticides against larvae of *Pandemis heparana* (Lepidoptera: Tortricidae). *J Pest Sci* 79: 163–168.

Issaev, A.S. 1966. Borer Pests of *Larix dahurica*. Nauka, Moscow.

Iwabuchi, K. 1982. Mating behavior of *Xylotrechus pyrrhoderus* Bates (Coleoptera: Cerambycidae). I. Behavioral sequence and existence of the male sex pheromone. *Appl. Ent. Zool.* 17: 494-500.

Iwabuchi, K. 1986. Mating behavior of *Xylotrechus pyrrhoderus* Bates (Coleoptera: Cerambycidae) III. Pheromone secretion by male. *Appl Entomol Zool* 21: 606–612.

Iwabuchi, K., Takahashi, J., Nakagawa, Y. y Sakai, T. 1985. Electroantennogram responses of grape borer *Xylotrechus pyrrhoderus* Bates (Coleoptera: Cerambycidae) to its male sex pheromone components. *J. Chem. Ecol.* 11: 819–828.

Iwabuchi, K., Takahashi, J., Nakagawa, Y., y Sakai, T. 1986. Behavioral responses of female grape borer *Xylotrechus pyrrhoderus* Bates (Coleoptera: Cerambycidae) to synthetic male sex pheromone components. *Appl Entomol Zool* 21: 21–27.

Iwabuchi, K., Takahashi, J., y Sakai, T. 1987. Occurrence of 2,3-octanediol and 2-hydroxy-3-octanone, possible male sex pheromone in *Xylotrechus chinensis* Chevrolat (Coleoptera: Cerambycidae). *Appl. Entomol. Zool.* 22:110–111.

Iwata, R., Yamada, F., Kato, H., Makihara, H., Araya, K., Ashida, H. y Takeda, M. 1997. Nature of galleries, durability of boring scars and density of *Xylotrechus villioni* (Villard) larvae (Coleoptera: Cerambycidae) on coniferous tree trunks. *Pan Pacific Entomologist*, 73(4): 213-224.

Iwata, R., Yamada, F., Yagi, M., Kitayama, A., Kinoshita, T., Hosokawa, K., Kitayama, K., Iwabuchi, K., y Makihara, H. 1990. Studies on *Xylotrechus villioni* (Villard) (Coleoptera: Cerambycidae), a primary borer of coniferous trees in Japan. (I) General bionomics. *Trans. 101 st Mtg. Jpn. For. Soc.: Jpn. For. Soc.:* 525-528.

Jankov, D., Indic, D., Kljajic, P., Almas, R., Andric, G., Vukovic, S. y Grahovac, M. 2013. Initial and residual efficacy of insecticides on different surfaces against rice weevil *Sitophilus oryzae* (L.). *J Pest Sci* 86:211–216.

Jepson PC. 1988. Ecological characteristics and the susceptibility of non-target invertebrates to long term pesticide side effects. *British Crop Protection Council Monograph* 40, 191–200.

Jia-Ning, W. y Rong-pid, K., 2002. Biological control of coffee stem borers, *Xylotrechus quadripes* and *Acalolepla cervinus*, by *Beauveria bassiana* preparation. *Entomología Sínica.* 9: 43-50.

Johnson, W.T. y Lyon, H.H. 1991. Insects that feed on trees and shrubs (2nd edition). Cornell University Press, USA, 560 pp.

- Kadyrov, A.K. 1988.** Data on the ecology of Cerambycidae damaging forest trees in Tajikistan. *Izvestiya Akademii Nauk Tadzhikskoi SSR* 4 (113), 61–66.
- Kanga, L.H.B., W. A. Jones y R. R. James. 2003.** Field trials using the fungal pathogen, *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycetes: Hyphomycetes) to control the ectoparasitic mite, *Varroa destructor* (Acari: Varroidae) in honey bee, *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) colonies. *J. Econ. Entomol.* 96: 1091-1099.
- Kavallieratos, N.G., Athanassiou, C.G., Vayias, B.J., Kotzamanidis, S. y Synodis, S.D. 2010.** Efficacy and adherence ratio of diatomaceous earth and spinosad in three wheat varieties against three storedproduct insect pests. *J Stored Prod Res* 46:73–80.
- Keena, M.A. 2005.** Pourable artificial diet for rearing *Anoplophora glabripennis* (Coleoptera: Cerambycidae) and methods to optimize larval survival and synchronize development. *Ann. Entomol. Soc. Am.*, 98: 536-547.
- Kelsey, R.G. 1994.** Ethanol synthesis in Douglas-fir logs felled in November, January, and March and its relationship to ambrosia beetle attack. *Can. J. For Res.* 24: 2096–2104.
- Kelsey, R.G. 1996.** Anaerobic induced ethanol synthesis in the stems of greenhouse-grown conifer seedlings. *Trees: Structure and Function* 10: 183–188.
- Kelsey, R.G. y Joseph, G. 1997.** Ambrosia beetle host selection among logs of Douglas fir, western hemlock, and western red cedar with different ethanol and alpha-pinene concentrations. *J. Chem. Ecol.* 23: 1035–1051.
- Kelsey, R.G. y Joseph, G. 1998.** Ethanol in Douglas-fir with blackstain root disease (*Leptographium wageneri*). *Ca.n J. For Res.* 28: 1207–1212.
- Kelsey, R.G. y Joseph, G. 1999a.** Ethanol and water in *Pseudotsuga menziesii* and *Pinus ponderosa* stumps. *J. Chem. Ecol.* 25: 2779–2792.
- Kelsey, R.G. y Joseph, G. 1999b** Ethanol and ambrosia beetles in Douglas fir logs exposed or protected from rain. *J. Chem. Ecol.* 25: 2793–2809.
- Kelsey, R.G. y Joseph, G. 2003.** Ethanol in ponderosa pine as an indicator of physiological injury from fire and its relationship to secondary beetles. *Can. J. For Res* 33: 870–884.
- Kemner, N.A. 1922.** Zur Kenntnis Entwicklungsstadien und Lebensweise der schwedischen Cerambyciden. *Entomol. Tidskr.* 43: 81–138.
- Kim, M.K., Kim, J.S., Han, J.H., Kim, Y.J., Yoon, C., Kim, G.H. 2006.** Mating behavior of Pine Sawyer, *Monochamus saltuarius* Gebler (Coleoptera: Cerambycidae). *J Asia Pacific Entomol* 9:275–280.
- Kimoto, T., Duthie-Holt, M. 2004.** *Cerambyx cerdo* Linnaeus-great Capricorn beetle. In: Exotic forest Insect guidebook, her majesty in right of Canada. Canadian Food Inspection Agency. pp 30–32.
- Kitajima, H. 2003.** Aseptic rearing of larvae of the *Cryptomeria* bark borer, *Semanotus*
-

japonicus (Lacordaire) (Coleoptera: Cerambycidae), on an artificial diet. Jpn. J. Appl. Entomol. Zool., 47: 36–38.

Kobayashi, F., Yamade, A. e Ikeda, T. 1984. The japanese pines ayer beetles as the vector os pine wilt disease. Ann. Rev. Ent., 29: 115-135.

Kohler, F. 2000. Erster Nachtrag zum Verzeichnis der Käfer Deutschland. Entomol. Nachrichten u. Berichte, Dresden, 44 (1): 60-84.

Kosaka, H. y Ogura, N. 1990. Rearing of the japanese pine sawyer, *Monochamus alternates* (Coleoptera: Cerambycidae) on artificial diets. Appl. Entomol. Zool., 25: 532-534.

Kreutz, J., Vaupel, O. and Zimmermann, G. 2004a. Efficacy of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. against the spruce bark beetle, *Ips typographus* L., in the laboratory under various conditions. J Appl Entomol 128, 384–389.

Kreutz, J., Vaupel, O. and Zimmermann, G. 2004b. Horizontal transmission of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* among the spruce bark beetle, *Ips typographus* (Coleoptera: Scolytidae) in the laboratory and under field conditions. Biocont Sci Technol 14, 837–848.

Kukor, J.J. y Martin, M.M. 1986. Cellulose digestion in *Monochamus marmorator* Kby. (Coleoptera: Cerambycidae): Role of acquired fungal enzymes. J. Chem. Ecol. 12: 1057–1070.

Kunca A., Vakula J., Galko J., Gubka A. 2009. Výskum využitia entomopatogénnej huby *Beauveria bassiana* pri ochrane smrečín pred podkôrnymi druhmi hmyzu. In: Zborník referátov z medzinárodnej konferencie konanej 8. – 19. 11. 2009 v Nitre “Tretie rastlinolekárské dni Slovenskej rastlinolekárskej spoločnosti” (eds.: K. Hudec, T. Roháčik). Nitra: Slovenská rastlinolekárska spoločnosť.

Kuwahara, Y., Matsuyama, S. y Suzuki, T. 1987. Identification of 2,3-octanediol, 2-hydroxy- 3-octanone and 3-hydroxy-2-octanone from male *Xylotrechus chinensis* Chevrolat as possible sex pheromones (Coleoptera: Cerambycidae). Appl. Entomol. Zool. 22:25–28.

Lacey, E.S., Millar, J.G., Moreira, J.A. y Hanks, L.M. 2009. Male-produced aggregation pheromones of the cerambycid beetles *Xylotrechus colonus* and *Sarosesthes fulminans*. J Chem Ecol 35:733–740.

Lacey, E.S., Moriera, J.A., Millar, J.G., Ray, A.M y, Hanks, L.M. 2007. Maleproduced aggregation pheromone of the cerambycid beetle *Neoclytus mucronatus mucronatus*. Entomol. Exp. Appl. 122: 171–179.

Lange, W.H, Jr. 1937. An annotated list of the insects, mostly Coleoptera, associated with Jeffrey pine in Lassen National Forest, California. Pan-Pacific Entomol 13: 172–175.

Le Pelley, R. H. 1968. Pests of Coffee, 590 pp. Longmans, Green and Co., Ltd., London.

- Lee, C.Y. y Lo, K.C. 1998.** Rearing of *Anoplophora macularia* (Thomson) (Coleoptera: Cerambycidae) on artificial diets. *Appl. Entomol. Zool.*, 33: 105-109.
- Lieutier, F., Koutroumpa, F.A., Vincent, B., Roux-Morabito, G. y Martin, C. 2008.** Fecundity and larval development of *Monochamus galloprovincialis* (Coleoptera: Cerambycidae) in experimental breeding. *Ann. For. Sci.* 65: 707.
- Lingafelter, S.W. y Hoebeke, E.R. 2002.** Revision of *Anoplophora* (Coleoptera: Cerambycidae). USA, WA-Washington, DC: Entomological Society of Washington.
- Linit, M.J. 1985.** Continuous laboratory culture of *Monochamus carolinensis* (Coleoptera: Cerambycidae) with notes on larval development. *Ann. Entomol. Soc. Am.*, 78: 212-213.
- Linsley, E. G. 1943.** Delayed emergence of *Buprestis aurulenta* from structural timbers. *J. Econ. Entomol.* 36: 348-348.
- Linsley, E.G. 1959.** Ecology of Cerambycidae. *Annu. Rev. Entomol.*, 4: 99-138.
- Linsley, E.G. 1961.** The Cerambycidae of North America, Part I. Introduction. University of California Publications in Entomology, vol 18. USA, CA-Berkeley: University of California Press Berkeley.
- Linsley, E.G. 1962a.** The Cerambycidae of North America, Part II. Taxonomy and classification of the Parandrinae, Prioninae, Spondylinae, and Aseminae. University of California Publications in Entomology, vol 19. USA, CA-Berkeley: University of California Press.
- Linsley, E.G. 1962b.** The Cerambycidae of North America, Part III. Taxonomy and classification of the Subfamily Cerambycinae, tribes Opsimini through Megaderini. University of California Publications in Entomology, vol 20. USA, CA-Berkeley: University of California Press.
- Liu, H. and Bauer, L.S. 2006.** Susceptibility of *Agrilus planipennis* (Coleoptera: Buprestidae) to *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*. *J Econ Entomol* 99, 1096–1103.
- Liu, H.P., Bauer, L.S., 2008.** Microbial control of emerald ash borer, *Agrilus planipennis* (Coleoptera: Buprestidae) with *Beauveria bassiana* strain GHA: Greenhouse and field trials. *Biological Control* 45, 124–132.
- Liu, T.X. y Stansly, P. 2004.** Lethal and sublethal effects of two insect growth regulators on adult *Delphastus catalinae* (Coleoptera: Coccinellidae), a predator of whiteflies (Homoptera: Aleyrodidae). *Biolog. Control*, 30: 298-305.
- Liu, T.-X., Sparks, A.N.Jr. y Chen, W. 2003.** Toxicity, persistence and efficacy of indoxacarb on *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) in cabbage. *Intern J Pest Manag* 49:235–241.
- Liu, T-X., Sparks, A.N.Jr. 1999.** Efficacies of some selected insecticides on cabbage looper and diamondback moth on cabbage in south Texas. *Subtrop Plant Sci* 51:54–58.
-

Liu, Y.G. 1966. A study on the ash buprestid beetle, *Agrilus* sp., in Shenyang. Annual Report of Shenyang Horticulture Research Institute, Shenyang, Liaoning, China.

Longley, M. y Jepson, P.C. 1997. Cereal aphid and parasitoid survival in a logarithmically diluted deltamethrin spray transect in winter wheat: field-based risk assessment. *Environmental Toxicology and Chemistry* 16: 1761–1767.

Lorenzana, A., Hermoso-de-Mendoza, A., Seco, M., Casquero, P. 2013. Population dynamics and integrated control of the damson-hop aphid *Phorodon humuli* (Schrank) on hops in Spain. *Spanish Journal of Agricultural Research, North America*, 11, apr. 2013.

Lorenzo Bethencourt, C.D., Prendes Ayala, C., Álvarez de la Paz, F.J., Cabrera Pérez, R. y Prendes Lorenzo, C.D. 2004. Daños de *Stenidea annulicornis* (Brullé 1838) (*Coleoptera: Cerambycidae*) en los viñedos de Tacoronte-Acentejo. Tenerife. Phytoma España: La revista profesional de sanidad vegetal, 159, Pg 34-37.

Lovell, J.H. 1915a. The origin of anthophily among the Coleoptera. *Psyche* 22: 67–84.

Lovell, J.H. 1915b. A preliminary list of the anthophilous Coleoptera of New England. *Psyche* 22: 109–117.

Loyttyniemi, K., Heliovaara, K., y Repo, S. 1988. No evidence of a population pheromone in *Tomicus piniperda* (Coleoptera: Scolytidae): A field experiment. *Ann Entomol Fenn* 54: 93–95.

Lozano, C., Pena, A., Sanchez-Raya, A.J., Campos, M. 2001. Effectiveness of deltamethrin for protecting olives from attack by the beetle *Phloeotribus scarabaeoides* (Scolytidae). *International Journal of Pest Management* 47: 75–78.

Machado, L.A. y Raga, A. 1999. Efficacy of chemical and biological insecticides against the citrus trunk borer *Macropophora accentifer*. *Revista de Agricultura Piracicaba* 74, 229–234.

Macias-Samano, J., Wakarchuk, D., Millar, J.G. y Hanks, L.M. 2012. 2-Undecyloxy-1-ethanol in combination with other semiochemicals attracts three *Monochamus* species (Coleoptera: Cerambycidae) in British Columbia. *Can. Entomol.*

Macías-Sámamo, J.E., Borden, J.H., Gries, R., Pierce, H.D.Jr., Gries, G. y King, G.S. 1998. Primary attraction of the fir engraver, *Scolytus ventralis*. *J. Chem. Ecol.* 24: 1049–107.

Maehara, N. y Kanzaki, N. 2013. Effect of aging in adult *Monochamus alternatus* (Coleoptera: Cerambycidae) on the susceptibility of the beetle to *Beauveria bassiana* (Ascomycota: Hypocreales). *J For Res.*

Maier, C.T. y Lemmon, C.R. 2000. Discovery of the small Japanese cedar longhorned beetle, *Callidiellum rufipenne* (Motschulsky) (Coleoptera: Cerambycidae), in live arborvitae in Connecticut. *Proc. Entomol. Soc. Wash* 102: 747–754.

Makhnovskii, I.K. 1955. Pests of Shelter Plantings in Central Asia and their Control.

State Editing Office of Uzbek SSR, Tashkent.

Makhnovskii, I.K. 1966. Namangan longhorn beetle *Xylotrechus namanganensis* Heyd. In: Pests of mountain forests and their control, pp. 84–85. Lesnaya Promyshlennost', Moscow.

Mamaev, B.M. 1985. Borer Pests of Forests of Siberia and the Far East. Agropromizdat, Moscow.

Maniania, N.K., Nyamasyo, G.H.N., Nderitu, J.H. y Ondiaka, S. 2008. Virulence of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* to sweet potato weevil *Cylas puncticollis* and effects on fecundity and egg viability. Ann Appl Biol 153 41–48.

Marco, V. y Castañera, P. 1996. Eficacia de aplicaciones foliares de insecticidas, con Torre de Potter, sobre adultos de *Aubeonymus mariaefranciscas* Roudier (Coleoptera, Curculionidae). Bol. San. Veg. Plagas, 22: 659-666, 1996.

Markalas, S. 1997. Frequency and distribution of insect species on trunks in burnt pine forests of Greece. Bull Soc. Entomol. Suisse 70: 57–61.

Martin, M.M. 1987. Acquired enzymes in cerambycid beetles. Pp 73–90 in Martin, M.M. (ed) Invertebrate-Microbial Interactions: Ingested Fungal Enzymes in Arthropod Biology. USA, NY-Ithaca: Comstock Publishing Associates.

Maslov, A.D. 1988. Guide to the Protection of Forests against Pests and Diseases. Agropromizdat, Moscow.

Maslov, A.D., Kuteev, F.S. y Pribylova, M.V. 1973. Xylophagous Forest Pests. Lesnaya Promyshlennost, Moscow.

Mazaheri A., Hatami, B., Khajehali J. y Sadeghi, E. 2007. Reproductive parameters of *Aeolesthes sarta* Solsky (Col.: Cerambycidae) on *Ulmus carpinifolia* Borkh. Under laboratory conditions. J. Sci. Tech. Agric. Nat. Res., 11: 333-343.

Mead-Briggs, M.A., Brown, K., Candolfi, M.P., Coulson, M.J.M., Miles, M., Moll, M., Nienstedt, K., Schuld, M., Ufer, A. y Mcindoe, E. 2000. A laboratory test for evaluating the effects of plant protection products on the parasitic wasp, *Aphidius rhopalosiphi* (DeStephani-Peres) (Hymenoptera: Braconidae). En: Guidelines to evaluate side-effects of plant protection products to non-target arthropods. Editores: Candolfi, M.P.J.; Blümel, S.; Forster, R.; Bakker, E.M.; Grimm, C.; Hassan, S.A.; Heimbach, U.; Mead-Briggs, M.A.; Reber, B.; Schmuck, R. y Vogt, H.: 13-21.

Medina, P., Budia, F., Del Estal, P., Viñuela, E., 2003. Effects of three modern insecticides, *pyriproxyfen*, *spinosad* and *tebufenozide*, on survival and reproduction of *Chrysoperla carnea* adults. Ann. Appl. Biol. 142, 55–61.

Melander, A.L. 1904. Destructive beetles: A note on landscape gardening. Entomol. News 15: 19–20.

Mendel, Z., Blumberg, D. y Ishaaya, I. 1994. Effect of some insect growth regulators on natural enemies of scale insects (Homoptera: Coccoidea). Entomophaga, 39: 199-

209.

Meurer-Grimes, B. y Tavakilian, G. 1997. Chemistry of cerambycid host plants. Part I: Survey of Leguminosae – A study in adaptive radiation. *Botanical Review* 63: 356–394.

Meyers, J.M., Stephen, F.M., Haavik, L.J. y Steinkraus, D.C. 2013. Laboratory and field bioassays on the effects of *Beauveria bassiana* Vuillemin (Hypocreales: Cordycipitaceae) on red oak borer, *Enaphalodes rufulus* (Haldeman) (Coleoptera: Cerambycidae) *Biological Control* 65: 258–264.

Meyling, N.V., Lubeck, M., Eilenberg, J. y Rehner, S.A. 2009. Community composition, host range and genetic structure of the fungal entomopathogen *Beauveria* in adjoining agricultural and seminatural habitats. *Mol Ecol* 18:1282–1293.

Michalaki, M.P., Athanassiou, C.G., Kavallierateos, N.G., Batta, Y.A, Balotis, G.N. 2006. Effectiveness of *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin applied alone or in combination with diatomaceous earth against *Tribolium confusum* Du Val larvae: influence of temperature, relative humidity and type of commodity. *Crop Prot* 25:418–425.

Michaud, J.P., Grant, A.K. 2005. The biology and behavior of the longhorned beetle, *Dectes texanus* on sunflower and soybean. *J Insect Sci* 5:25–29.

Michaud, J.P., Grant, A.K., 2003. IPM-compatibility of foliar insecticides for citrus: indices derived from toxicity to beneficial insects from four orders. *J. Insect Sci.* 3, 1–10.

Mitchell, R.F., Graham, E.E., Wong, J.C.H., Reagel, P.F., Striman, B.L., Hughes, G.P., Paschen, M.A., Ginzler, M.D., Millar, J.G. y Hanks, L.M. 2011. Fuscumol and fuscumol acetate are general attractants for many species of cerambycid beetles in the subfamily Lamiinae. *Entomol. Exp. Appl.* 141:71–77.

Mitsuaki, S., Bo, Z., Yi-Ning, L. 2002 Fungal Pathogens of *Anoplophora glabripennis* (Coleoptera: Cerambycidae) and Their Virulences. *Bulletin of FFPPRI*, Vol. 1. Num.1 382: 123-130.

Mkhize, H.N. 1993. Ovicidal effects of four synthetic juvenile hormone analogues on the confused flour beetle, *Tribolium confusum*. *Insecticide Science and Its Application* 14:351–353.

Moeck, H.A. 1970. Ethanol as the primary attractant for the ambrosia beetle, *Trypodendron lineatum* (Coleoptera: Scolytidae). *Can Entomol* 102: 985–995.

Moreno, C.M. 2005. *Xylotrechus arvicola* (Olivier 1795) (Coleoptera: Cerambycidae): descripción morfológica, ciclo biológico, incidencia y daños en el cultivo de la vid. Tesis Doctoral. Publicaciones del ITACYL, 191 pp.

Moreno, C.M., Martín, M.C., Santiago, Y., De Evan, E., Hernández, J.M. y Peláez, H. 2004a. Presencia de *Xylotrechus arvicola* (Olivier, 1795) (Coleoptera: Cerambycidae) en viñedos de la zona centro de Castilla y León. *Bol. San. Veg. Plagas*,

30: 475-486.

Moreno, C.M., Martín, M.C., Urbez, J.R., Maraña, R., Moro, S., García, D. y Peláez, H. 2003. Descripción de dos coleópteros que afectan al viñedo en Castilla y León. *Phytoma*, 147: 34-42.

Morewood, W.D., Simmonds, K.E., Gries, R., Allison, J.D. y Borden, J.H. 2003. Disruption by conophthorin of the kairomonal response of sawyer beetles to bark beetle pheromones. *J Chem Ecol* 29: 2115–2129.

Mori, K. y Gotoh, T. 2001. Effects of pesticides on the spider mite predators, *Scolothrips takahashii* (Thysanoptera: Thripidae) and *Stethorus japonicus* (Coleoptera: Coccinellidae). *Int J Acarol* 27:299–302.

Nakamuta, K., Sato, H. y Nakashima, T. 1994. Behavioral and morphological evidence for a male-produced sex pheromone in the cryptomeria twig borer, *Anaglyptus subfasciatus* PIC (Coleoptera: Cerambycidae). *Jap J Entomol* 62: 371–376.

Nauen, R., Reckmann, U., Thomzik, J. y Thielert, W. (2008) Biological profile of spirotetramat (Movento) a new two-way systemic (ambimobile) insecticide against sucking pest species. *Bayer CropScience Journal* 61:245–278.

Necibi, S., Linit, M. 1997. A new artificial diet for rearing *Monochamus carolinensis* (Coleoptera: Cerambycidae). *J. Kans. Entomol. Soc.*, 70: 145-146.

Nielsen, D.G. 1981. Studying biology and control of borers attacking woody plants. *Bulletin of the Entomological Society of America* 27, 251–259.

Niemeyer, H., Watzek, G., Lu, N., y Niu, J. 1996. Field investigations into the attraction of *Tomicus piniperda* L. (Col.: Scolytidae) to monoterpenes and ethanol. *J Appl Entomol* 120: 265–267.

Noldt, U., Fettköther, R. y Dettner, K. 1995. Structure of the sex pheromone producing prothoracic glands of the male old house borer, *Hylotrupes bajulus* (L.) (Coleoptera: Cerambycidae). *Int J Insect Morphol Embryol* 24: 223–234.

Nord J.C, Knight F.B. 1972.The importance of *Saperda inornata* and *Oberea schaumii* (Coleoptera: Cerambycidae) galleries as infection courts of *Hypoxylon pruinautum* in trembling aspen, *Populus tremuloides*. *Great Lakes Entomol* 5: 87–92.

Notario, A. 1978. Desarrollo de una dieta definida para cría individual de insectos lignícolas con especial atención a Coleóptera. Tesis Doctorales I.N.I.A., n.º 7.

Ocete, R. y Del Tío, R. 1996. Presencia del perforador *Xylotrechus arvicola* (Olivier) (Coleoptera, Cerambycidae) en viñedos de la Rioja Alta. *Bol. San. Veg. Plagas*, 22: 199-202.

Ocete, R. y López, M.A. 1999. Principales insectos xilófagos de los viñedos de la Rioja Alta y Alavesa. *Viticultura y Enología Profesional*, 62: 24-30.

Ocete, R., López-Martínez, M.A., Gallardo, A., Pérez, M.A. y Rubio, I. 2004. Efecto de la infestación de *Xylotrechus arvicola* (Olivier) (Coleoptera: Cerambycidae)

sobre la floración de la variedad Tempranillo en La Rioja. Bol. San. Veg. Plagas., 30: 311-316.

Ocete, R., López-Martínez, M.A., Prendes, C., Lorenzo, C.D. y González-Andújar, J.L. 2002. Relación entre la infestación de *Xylotrechus arvicola* (Coleoptera: Cerambycidae) (Olivier) y la presencia de hongos patógenos en un viñedo de la Denominación de Origen “La Mancha”. Bol. San. Veg. Plagas, 28: 97-102.

Ocete, R., Valle, M., Artano, K., Ocete, M.E., López, M.A., Pérez, M.A., García, D. y Soria, F.J. 2010. Evolution of the spatio-temporal distribution of *Xylotrechus arvicola* (Olivier) (Coleoptera, Cerambycidae) in La Rioja vineyard (Spain). Vitis, 49 (2), 67-70.

Okuda, M. 1969. Diapause of *Monochamus alternatus*. Shinrin Boeki (For. Pests), 18: 204–205 (en japonés).

Ondiaka, S., Maniania, N.K., Nyamasyo, G.H.N. y Nderitu, J.H. 2008. Virulence of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* to sweet potato weevil *Cylas puncticollis* and effects on fecundity and egg viability. Ann Appl Biol 153 41–48.

Oshima, K., Honda, H. y Yamamoto, J. 1973. Isolation of an oviposition marker from Azuki bean weevil, *Callosobruchus chinensis* (L.). Agric Biol Chem 37: 2679–2680.

Ostry, M.E., Anderson, N.A. 1995. Infection of *Populus tremuloides* by *Hypoxylon mammatum* ascospores through *Saperda inornata* galls. Can. J. For Res. 25: 813–816.

Pacual, S., Sánchez-Ramos, I. Fernández, C.E. y González-Núñez. 2012. Laboratory tests of insect growth regulators as bait sprays for the control of the olive fruit fly, *Bactrocera oleae* (Diptera: Tephritidae). Pest Manag Sci 2013; 69: 520–526.

Pago de Larrainzar, 2013. (www.pagodelarrainzar.com/mialias.net).

Paiva, M.R., Mateus, E. y Farrall, M.H. 1993. Chemical ecology of *Phoracantha semipunctata* (Coleoptera: Cerambycidae): Potential role in eucalyptus pest management. IOBC/WPRS 16: 72–77.

Pajares, J.A., Álvarez, G., Ibeas, F., Gallego, D., Hall, D.R. y Farman, D.I. 2010. Identification and Field Activity of a Male-Produced Aggregation Pheromone in the Pine Sawyer Beetle, *Monochamus Galloprovincialis*. J Chem Ecol. 36:570–583.

Pajares, J.A., Ibeas, F., Díez, J.J. y Gallego, D. 2004. Attractive responses by *Monochamus galloprovincialis* (Col.,Cerambycidae) to host and bark beetle semiochemicals. Blackwell Verlag, Berlin, JEN 128(9/10): 633–638.

Parmelee, F.T. 1941. Longhorned and flatheaded borers attacking fire-killed coniferous timber in Michigan. J. Econ. Entomol. 34: 377–380.

Parrella, .M.P, Murphy, B.C. 1998. Insect growth regulators. Grower-Talks 62: 86–89.

Pavlicek, T., Chikatunov, V., Kravchenko, V., Dorchin, J. y Nevo, E. 1998.

Xylotrechus stebbingi Gahan a new species for Israeli beetle fauna (Coleoptera: Cerambycidae). Mitt. Internat. Entom. Ver., 23 (1-2): 73-74.

Pavlovskii, E.N. y Shtakelberg, A.A. 1955. Guide to Forest Pests. Izdatel'stvo Akademii Nauk SSSR, Moscow-Leningrad.

Payne, J. A., Lowman, H. y Pate, R.R. 1975. Artificial diet for rearing the tile horned *Prionus*. Ann. Entomol. Soc. Am. 68: 680-682.

Peddle, S., De Groot, P. y Smith, S. 2002. Oviposition behavior and response of *Monochamus scutellatus* (Coleoptera: Cerambycidae) to conspecific eggs and larvae. Agric For Entomol 3: 217-222.

Peláez, H., Hernández, J.M., Martín, M.C., Moreno, C.M. y Santiago, Y. 2002. Determinación de las características del huevo de *Xylotrechus arvicola* (Coleoptera: Cerambycidae, Olivier, 1795). Libro de Actas del X Congreso Ibérico de Entomología, 52.

Peláez, H., Moreno, C., Santiago, Y., Maraña, R., Urbez, J.R., Lambert, S.M., María, C.M., Evan, E., Barrigón, J. y Prada, P.V. 2006. *Xylotrechus arvicola*: Un cerambícido en el cultivo de la vid. Terralia, 55:50-60.

Peláez, H., Sánchez, E., Ruíz, P., Rodríguez, A., Mayo, S., González, O., de Pedro, H., Rivilla, E. y Casquero, P.A. 2012. Cléridos depredadores en el cultivo de la vid en la región del Duero. Libro de Actas del XV Congreso Ibérico de Entomología, 181.

Peláez, H.J., Maraña, R., Urbez, J.R. y Barrigón J.M. 2001. *Xylotrechus arvicola* (Olivier, 1795) (Coleoptera, Cerambycidae). Presencia en los viñedos de Castilla y León. IV Congreso Ibérico de Ciencias Hortícola, Cáceres. España.

Peleg, B.A. 1983. Effect of three insect growth regulators on larval development, fecundity and egg viability of the coccinellid, *Chilocorus bipustulatus* (Col., Coccinellidae). Entomophaga 28:117-121.

Peña, A., Rodríguez, E., Campos, M., Sánchez Raya, y A.J., Raya. 2003. Effect of the combined treatment of insecticides and an attractant for the control of *Phloeotribus scarabaeoides*, a pest of *Olea europea*. Pest Manag Sci 59:339-346.

Pérez-Otero, R., Mansilla-Vázquez, P., Rodríguez-Iglesias, J. 2003. Eficacia y efectos en laboratorio de diferentes insecticidas en el control del defoliador del eucalipto *Gonipterus scutellatus* y de su parasitoida *Anaphes nitens*. Bol San Veg Plagas 29:649-658.

Picard, F. 1929. Faune de France. 20. Coleoptera Cerambycidae. Ed. Lechevalier. Paris. France.

Planes, L., Catalán, J., Tena, A., Porcuna, J.L., Jacas, J.A., Izquierdo, J. y Urbaneja, A. 2013. Lethal and sublethal effects of spirotetramat on the mealybug destroyer, *Cryptolaemus montrouzieri*. J Pest Sci (2013) 86:321-327.

Poland, T.M., Haack, R.A., Petrice, T.R., Miller, D.L., Bauer, L.S. 2006. Laboratory evaluation of the toxicity of systemic insecticides for control of *Anoplophora*

glabripennis and *Plectrodera scalator* (Coleoptera: Cerambycidae). Journal of Economic Entomology 99: 85–93.

Potter, C. 1952. An improved laboratory apparatus for applying direct sprays and surface films with data on the electrostatic charge on atomized spray fluids. Ann. Appl. Biol., 1: 1-29.

Pozidi-Metaxa, E. y Athanassiou, C.G. 2013. Comparison of spinosad with three traditional grain protectants against *Prostephanus truncatus* Horn and *Ephestia kuehniella* Zeller at different temperatures J Pest Sci 86:203–210.

Prebble, M.L. y Gardiner, L.M. 1958. Degrade and value loss in firekilled pine in the Mississauga area of Ontario. For Chron. 34: 139–158.

Prokopy, R.J. 1972. Evidence for a marking pheromone deterring repeated oviposition in apple maggot flies. Environ Entomol 1: 326–332.

Racke, K.D. 1993. Environmental fate of chlorpyrifos. Rev. Environ. Contam. Toxicol. 131:1–150.

Rahola, P. 2003. *Xylotrechus stebbingi* Gahan (Coleoptera: Cerambycidae: Clytini), espece nouvelle pour le Gard. Bull. Soc. Etudes Sci. Nat. Nimes Gard, 64: 59-60.

Raske, A.G. 1972. Biology and control of *Monochamus* and *Tetropium*, the economic woodborers of Alberta (Coleoptera: Cerambycidae). Internal Report NOR-9. CAN, AB Edmonton: Northern Forest Research Centre.

Reay, S.D., Hachet, C., Nelson, T.L., Brownbridge, M., Glare, T.R., 2007. Persistence of conidia and potential efficacy of *Beauveria bassiana* against pinhole borers in New Zealand southern beech forests. Forest Ecology and Management 246, 232–239.

Rehner, S.A. y Buckley, E.P. 2003. Isolation and characterization of microsatellite loci from the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* (Ascomycota: Hypocreales). Mol Ecol 3:409–411.

Ren, S., Islam, M.T. y Castle, S.J. 2009. Compatibility of the insect pathogenic fungus *Beauveria bassiana* with neem against sweetpotato whitefly, *Bemisia tabaci*, on eggplant. Entomologia Experimentalis et Applicata. 134: 28–34.

Rhains, M., Chin, C. L., Mo, L. Z. y Gries, G. 2002. Incidence, symptoms and intensity of damage by three coffee stem borers (Coleoptera: Cerambycidae) in South Yunan, China. J. Econ. Entomol. 95:106–112.

Rhains, M., Lan, C. C., King, S., Gries, R., Mo, L. Z. y Gries, G. 2001a. Pheromone communication and mating behaviour of coffee white stem borer, *Xylotrechus quadripes* Chevrolat (Coleoptera: Cerambycidae). Appl. Entomol. Zool. 36:299–309.

Rhains, M., Warndorff, M., Chiew, P.K., Lan, C.C. y Gries, G. 2001b. Stimuli increasing oviposition by female coffee white stem borer (Coleoptera: Cerambycidae).

Can Entomol 133: 409–412.

Ripa, R., Larral, P., y Rodríguez, S. 2008. Manejo Integrado de Plagas (MIP). Capítulo 2, pp. 41.

Rodríguez, E., Pena, A., Raya, A.J.S. y Campos, M. 2003b. Evaluation of the effect on arthropod populations by using deltamethrin to control *Phloeotribus scarabaeoides* Bern. (Coleoptera: Scolytidae) in olive orchards. *Chemosphere* 52: 127–134.

Rodríguez, M. y Ocaña, P.J. 1997. Presencia del perforador *Xylotrechus arvicola* (Olivier) en viñas de la provincia de Ciudad Real. 1996. Comunicaciones XXII Reunión del Grupo de Trabajo de los problemas Fitosanitarios de la Vid. Ciudad Real. España.

Rogers, D.J., Lewthwaite, S.E. y Dentener, P.R. 2002. Rearing huhu beetle larvae, *Prionoplus reticularis* (Coleoptera: Cerambycidae) on artificial diet. *N. Z. J. Zool.*, 29: 303-310.

Romanenko, K.E. 1981. Pests of Shelter Plantings in Kirgizia. Ilim, Frunze. (en Ruso).

Rose, D., Leather, S.R. y Matthews, G. A. 2005. Recognition and avoidance of insecticide-treated Scots Pine (*Pinus sylvestris*) by *Hylobius abietis* (Coleoptera: Curculionidae): implications for pest management strategies. *Agricultural and Forest Entomology* 7, 187–191.

Ross, D.A. 1960. Damage by long-horned wood borers in fire-killed white spruce, central British Columbia. *For Chron* 36: 355–361.

Ross, D.A. 1966. Biology of the spotted pine sawyer *Monochamus maculosus* (Haldeman) (Coleoptera: Cerambycidae). Internal Report BC-5. CAN, BC-Victoria: Department of Forestry, Forest Research Laboratory.

Rothschild, M. y Schoonhoven, L.M. 1977. Assessment of egg load by *Pieris brassicae* (Lepidoptera: Pieridae). *Nature* 266: 352–355.

Ruano, F., Campos, M., Sánchez-Raya, J. y Pena, A. 2008. Deltamethrin application on colonized olive logs: effect on the emergence of the olive bark beetle *Phloeotribus scarabaeoides* Bernard 1788 (Coleoptera: Scolytidae) and its associated parasitoids. *Crop Protection* 27: 614–621.

Saeed, S., Masood, A., Sayyed, A.H. y Kwon, Y.J. 2011. Comparative efficacy of different pesticides against mango bark beetle *Hypocryphalus mangiferae* Stebbing (Coleoptera: Scolytidae) *Entomological Research* 41: 142–150.

Sakai, T., Nakagawa, Y., Takahashi, J., Iwabuchi, K., y Ishii, K. 1984. Isolation and identification of the male sex pheromone of the grape borer *Xylotrechus pyrrhoderus* Bates (Coleoptera: Cerambycidae). *Chem. Lett.* 263-264.

Sama, G. 1999. Aggiunte e correzioni alla fauna dei Cerambycidae d'Italia (Insecta Coleoptera Cerambycidae). *Quad. Studi Nat. Romagna*, 11, suppl.: 41-56.

Sama, G. 2007. Cerambycidae. In: AUDISIO P., Fauna Europaea: Coleoptera 2.

Sama, G. y Cocquempot, C. 1995. Note sur l'extension européenne de *Xylotrechus stebbingi* Gahan, 1906 (Coleoptera, Cerambycidae, Clytini). L'Entomologiste, 51:71-75.

Sama, G., 1988. Fauna d'Italia, Coleoptera Cerambycidae, Catalogo topografico e sinonímico. Calderini ed., Bologna, 216 pp.

Santolamazza-Carbone, S. y Fernández de Ana-Magán, F.J. 2004. Testing of selected insecticides to assess the viability of the integrated pest management of the Eucalyptus snout-beetle *Gonipterus scutellatus* in north-west Spain. J Appl Entomol 128:620–627.

Sawyer, N.W. y Anderson, G.J. 1998. Reproductive biology of the carrionflower *Smilax herbacea* (Smilacaceae). Rhodora 100: 1–24.

Scheffrahn, R.H. y Busey, P. 1997. Laboratory and field evaluations of selected chemical treatments for control of drywood termites (*Isoptera:Kalotermitidae*). J Econ Entomol 90:492–502.

Schneider, M.I., Smagghe, G., Pineda, S., Viñuela, E., 2004. Action of insect growth regulator insecticides and spinosad on life history parameters and absorption in third-instar larvae of the endoparasitoid *Hyposoter didymator*. Biol. Control 31, 189–198.

Schoeman, P.S.; Van Hamburg, H. y Pasques, B.P. 1998. The morphology and phenology of the white coffee stem borer, *Monochamus leuconotus* (Pascoe) (Coleoptera: Cerambycidae), a pest of Arabica coffee. African Entomol 6: 83–89.

Schroeder, L.M. 1988. Attraction of the bark beetle *Tomicus piniperda* and some other bark- and wood-living beetles to the host volatiles α -pinene and ethanol. Entomol Exp Appl 46: 203–210.

Schroeder, L.M. y Lindelöw, Å. 1989. Attraction of scolytids and associated beetles by different absolute amounts and proportions of α -pinene and ethanol. J Chem Ecol 15: 807–817.

Schroeder, L.M. y Weslein, J. 1994b. Interactions between the phloemfeeding species *Tomicus piniperda* (Col.: Scolytidae) and *Acanthocinus aedilis* (Col.: Cerambycidae) and the predator *Thanasimus formicarius* (Col.: Cleridae) with special reference to brood production. Entomophaga 39: 149–157.

Schultz, C.B., Dzurisin, J.D., Russell, C. 2009. Captive rearing of Puget blue butterflies (*Icaricia icarioides blackmorei*) and implications for conservation. J Insect Conserv 13:309–315.

Scriven, G.T., Reeves, E.L. y Luck, R.F. 1986. Beetle from Australia threatens eucalyptus. Calif Agric 40: 4–6.

Shamaev, A.V. 1994. Guide to the Identification of Pests of Forest Tree Trunks subject to Phytosanitary Import Requirements. Viktoriya, Syktyvkar.

Shibata, E. 1984. Spatial distribution pattern of the Japanese pine sawyer, *Monochamus alternatus* Hope (Coleoptera: Cerambycidae), on dead pine trees. Appl Entomol Zool

19: 361–366.

Shimazu, M. y Kushida, T. 1983. Virulence of the various isolates of entomogenous fungi to *Monochamus alternatus* Hope. Trans Ann Mtg Kanto Br Jpn For Soc 35:165-166 (En japonés).

Shimazu, M. 1994. Potential of the cerambycid-parasitic type of *Beauveria brongniartii* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) for microbial control of *Monochamus alternatus* Hope (Coleoptera: Cerambycidae). Appl. Entomol. Zool., 29, 127-130.

Shin, S.C. y Chung, S.B. 1987. Bionomics and control of small poplar long horn beetle, *Saperda populnea* (Coleoptera: Cerambycidae). *Research Reports of the Forestry Research Institute Seoul* 35, 155–161.

Shintani, Y., Munyiri, F.N., Ishikawa, Y. 2003. Change in significance of feeding during larval development in the yellow spotted longicorn beetle, *Psacotha hilaris*. J Insect Physiol 49:975–981.

Shintani, Y., y Ishikawa, Y. 1997. Effects of photoperiod and low temperature on diapause termination in the yellow-spotted longicorn beetle (*Psacotha hilaris*). Physiol. Entomol. 22: 170-174.

Siddall, J.B. 1976. Insect growth regulators and insect control: a critical appraisal. Environ Health Perspect 14:119–126.

Sikura A.I., Sikura L.V., Trebesava R.M. 1972. Influence of white muscardine fungus (*Beauveria bassiana* Balsamo Vuillemin) on the reproductive system of the Colorado potato beetle. Zashchita Rastenij Kishinev, 2, 89–97.

Silhacek, D.L., Dyby, S. y Murphy, C. 1994. Use of IGRs for protection of stored commodities from Indian meal moth. Proc Annu Int Res Conf Methyl Bromide Alternatives and Emissions Reductions, Lissimnee, Florida, pp 98–112.

Singh, P. 1983. A general purpose laboratory diet mixture for rearing insects. Insect Sci. Appl., 4: 357-362.

Smith, D. N. 1962. Prolonged larval development in *Buprestis aurulenta* L. (Coleoptera: Buprestidae). A review with new cases. Can. Entomol. 94: 586-593.

Solomon, J.D. 1995. Guide to insect borers of North American broadleaf trees and shrubs. Agric. Handbook No 706. USA, WA-Washington, DC: US Dept. of Agriculture, Forest Service.

Sousa, E., Naves, P., y Vieira, M. 2013. Prevention of pine wilt disease induced by *Bursaphelenchus xylophilus* and *Monochamus galloprovincialis* by trunk injection of emamectin benzoate. Phytoparasitica 41:143–148.

Sousa, M. et al. 2007. Caracterização de Castas Cultivadas na Região Vitivinícola de Trás-os-Montes. Sub-regiões de Chaves, Planalto Mirandês e Valpaços. Direcção Regional de Agricultura e Pescas do Norte. Ministerio da Agricultura de Desenvolvimento Rural e das Pescas. Colecção: Uma Agricultura com Norte.

Sparks, T.C., Crouse, G.D. y Durst, G. 2001. Natural products as insecticides: the biology, biochemistry and quantitative structure-activity relationships of spinosyns and spinosoids. *Pest Manag Sci* 57:896–905.

Sparks, T.C., Shour, M.H., Wellemeyer, E.G. 1982. Temperature toxicity relationships of pyrethroids on three lepidopterans. *Journal of Economic Entomology* 75: 643–646.

Sreedharan, K. y Kumar, V. 2001. Managing the white stem borer key issues. *Indian Coffee* 65:13–15.

Staal, G.B. 1975. Insect growth regulators with juvenile hormone activity. *Annu Rev Entomol* 20:417–460.

Stanil, V., Jankovid-Hladni, J., Ivanovid y Nenadovic, V. 1989. Joint effects of temperature, food quality, and season on the development of the cerambycid *Morimus funereus* under laboratory conditions. *Entomol. Exp. Appl.* 51: Entomol. Exp. Appl. 51: 261-267.

Starzyk J.R., Strojny W. 1985. Morphological variability of imagines of the great capricorn beetle *Cerambyx cerdo* L. (Coleoptera, Cerambycidae). *Pol. J. Entomol.* 55: 491–504 (in Polish, English summary).

Stein, J.D. y Nagata, R.F. 1986. Response of *Plagithmysus bilineatus* Sharp (Coleoptera: Cerambycidae) to healthy and stressed Ohia trees. *Pan-Pacific Entomol* 62: 344–349.

Stephen, F.M. y Dahlsten, D.L. 1976. The arrival sequence of the arthropod complex following attack by *Dendroctonus brevicomis* (Coleoptera: Scolytidae) in ponderosa pine. *Can. Entomol.* 108: 283–304.

Suckling, D.M., Gibb, A.R., Daly, J.M., Chen, X. y Brockerhoff, E.G. 2001. Behavioral and electrophysiological responses of *Arhophalus tristis* to burnt pine and other stimuli. *J Chem Ecol* 27: 1091–1104.

Takai, K., Soejima, T., Suzuki, T., Kawazu, K. 2000. Emamectin benzoate as a candidate for a trunk-injection agent against the pine wood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus*. *Pest Management Science* 56: 937–941.

Tan, Y., Biondi, A., Desneux, N. y Gao, X.W. 2012. Assessment of physiological sublethal effects of imidacloprid on the mirid bug *Apolygus lucorum* (Meyer-Dur). *Ecotoxicology* 21:1989–1997.

Tanada, Y. y Kaya, H.K. 1993. *Insect Pathology*. Academic, New York.

Terriere, L.C. 1984. Induction of detoxication enzymes in insects. *Annu Rev Entomol* 29:71–88.

Teunissen, A. 2002. Waarnemingen van *Xylotrechus stebbingi* in Griekenland: Een Aziatische wespenboktor die zich in korte tijd heeft verbreid in het Middellandse Zeegebied (Coleoptera: Cerambycidae). *Entomologische-Berichten*, Amsterdam, 62 (2):

57-58.

Tillman, P.G., Mulrooney, J.E., 2000. Effect of selected insecticides on the natural enemies *Coleomegilla maculata* and *Hippodamia convergens* (Coleoptera: Coccinellidae), *Geocoris punctipes* (Hemiptera: Lygaeidae), and *Bracon mellitor*, *Cardiochiles nigriceps*, and *Cotesia marginiventris* (Hymenoptera: Braconidae) in cotton. *J. Econ. Entomol.* 93, 1638–1643.

Togashi, K. 1990. Life table for *Monochamus alternates* (Coleoptera: Cerambycidae) within dead trees of *Pinus thunbergii*. *Jap J Entomol* 58: 217–230.

Tomlin C. 1994. *The Pesticide Manual*. Tenth edn. Crop Protection Publications, Farnham.

Trapp, S. y Croteau, R. 2001. Defensive resin biosynthesis in conifers. *Annu. Rev. Plant Physiol Plant Mol Biol* 52: 689–724.

Travakilian, G., Berkov, A., Meurer-Grimes, B. y Mori, S. 1997. Neotropical tree species and their faunas of *Xylophagous longicornis* (Coleoptera: Cerambycidae) in French Guiana. *Bot Rev (Lancaster)* 63: 303-355.

Tsitsipis, J.A. 1989. Nutrition. requirements in fruit flies: their biology, natural enemies and control, Vol. 3A: 101–116. Ed. Robinson, A.S. y Hooper, G.H.S. Elsevier, Amsterdam. The Netherlands.

Tunset, K., Nilssen, A.C. y Andersen, J. 1993. Primary attraction in host recognition of coniferous bark beetles and bark weevils (Col.: Scolytidae and Curculionidae). *J. Appl. Entomol* 115: 155–169.

Tyler, P.S. y Hodges, R.J. 2002. Phytosanitary measures against larger grain borer, *Prostephanus truncatus* (Horn) (Coleoptera: Bostrichidae), in international trade. *Integr Pest Manag Rev* 7:279–289.

U.S.D.A. (United States Department of Agriculture). Forest Service. 1985. Insects of eastern forests. Misc Publ No 1426. USA, WA-Washington, DC: US Dept of Agriculture, Forest Service.

Vallentgoed, J. 1991. Some important woodborers related to export restrictions. Forest Pest Leaflet No 74. CAN, ON-Ottawa: Natural Resources Canada, Canadian Forest Services.

Van Herk, W.G., Vernon, R.S. 2013. Categorization and numerical assessment of wireworm mobility over time following exposure to bifenthrin. *J Pest Sci* (2013) 86:115–123.

Vaupel, O. y Zimmermann, G. 1996. Preliminary trials on the combination of pheromone traps with the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill against the bark beetle species *Ips typographus* L (Col, Scolytidae). *Anzeiger Fur Schadlingskunde Pflanzenschutz Umweltschutz* 69: 175–179.

Venkateshu, K., Krishnamoorthy Bhat, P., Bhaskara Reddy, K., y Ramaiah, P. K. 1986. Preliminary studies on pheromone of coffee white stem-borer, *Xylotrechus*

quadripes Chev.J. Coffee Res. 16:111–113.

Victorsson, J. y Wikars, L. 1996. Sound production and cannibalism in larvae of the pine-sawyer beetle *Monochamus sutor* L. (Coleoptera: Cerambycidae). Entomol Tidskr 117: 29–33.

Viedma, C., Notario, A., Baragaño, J.R., Rodero, M. e Iglesias, C. 1983. Cría artificial de coleópteros lignícolas. Rev. R. Acad. Cienc. Exactas. Fis. Nat. Madrid, 78 (4): 767-772.

Villiers, A. 1946. Faune de l'Empire français, V.Coléoptères Cerambycides de l'Afrique du Nord. Office de la Recherche Scientifique Coloniale. París, 152 pp.

Villiers, A. 1978. Encyclopédie Entomologique XLII. Faune des Coléoptères de France, I. Cerambycidae. Ed. Lechevalier. Paris. France.

Viñuela, E., Medina, M.P., Schneider, M., González, M., Budia, F., Adán, A., Del Estal, P., 2001. Comparison of side-effects of spinosad, tebufenozide and azadirachtin on the predators *Chrysoperla carnea* and *Podisus maculiventris* and the parasitoids *Opius concolor* and *Hyposoter didymator* under laboratory conditions. Pestic. Beneficial Organ. IOBC/wprs Bull. 24, 25–34.

Visitpanich, J. 1994a. The biology and survival rate of the coffee stem borer, *Xylotrechus quadripes* Chevrolat (Coleoptera: Cerambycidae). Jpn. J. Ent., 62: 731–745.

Vives, E. 2000. Coleoptera, Cerambycidae. En: Fauna Ibérica, vol. 12. Museo Nacional de Ciencias Naturales y C.S.I.C. Madrid. 730 pp.

Vives, E., 1983. *Revisión del género fberodorcadion Breuning.* Instituto Español de Entomología. C.S.I.C. Madrid. 117 págs.

Vives-Noguera, E. 1984. Cerambícidos (Coleoptera) de la Península Ibérica y de las Islas Baleares. Treballs del Museo de Zoología de Barcelona, 2: 1-137.

Vives-Noguera, E. 2000. Coleoptera, Cerambycidae. En: Fauna Ibérica, vol. 12. Ramos M. A. *et al.* (eds). Museo Nacional de ciencias Naturales. CSIC. Madrid. España.

Vorontsov, A.I. 1995. Forest Entomology, 5th edn. Ekologiya, Moscow.

Wakil, W., Riasat, T., Ghazanfar, M.U., Kwon, Y.J., Shaheen, F.A. 2011. Aptness of *Beauveria bassiana* and enhanced diatomaceous earth (DEBBM) for control of *Rhyzopertha dominica* F. Entomol Res 41:233–241.

Wakil, W., Ghazanfar, M.U. 2010. Entomopathogenic fungus as a biological control agent against *Rhyzopertha dominica* F. (Coleoptera: Bostrychidae) on stored wheat. Arch Phytopathol Plant Prot 43:1236–1242.

Wakil, W., Riasat, T., y Ashfaq, M. 2012. Residual efficacy of thiamethoxam, *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin, and diatomaceous earth formulation against *Rhyzopertha dominica* F. (Coleoptera: Bostrychidae). J Pest Sci 85:341–350.

- Wallbank, B.E. 1999.** Resistance to Organophosphorus Grain Protectants in *Oryzaephilus surinamensis* (L.) (Coleoptera: Silvanidae) from Off-farm Grain Storages in New South Wales. *Australian Journal of Entomology*, 1996, 35: 193-195.
- Walsh, K.D. y Linit, M.J. 1985.** Oviposition biology of the pine sawyer, *Monochamus carolinensis* (Coleoptera: Cerambycidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.* 78: 81-85.
- Wang, A.J., Liu, H.G. y Deng, K.R. 1999.** Study on losses caused by *Xylotrechus namanganensis*. *Scientia Silvae Sinicae* 35, 72-76.
- Wang, Q., Shi, G.L., Song, D.P., Rogers, D.J., Davis, L.K. y Chen, X. 2002.** Development, survival, body weight, longevity, and reproductive potential of *Oemona hirta* (Coleoptera: Cerambycidae) under different rearing conditions. *J. Econ. Entomol.*, 95: 563-569.
- Wang, Q., Shi, G. y Davis, L.K. 1998.** Reproductive potential and daily reproductive rhythms of *Oemona hirta* (Coleoptera: Cerambycidae). *J. Econ. Entomol.* 91: 1360-1365.
- Wang, X.Y., Yang, Z.Q., Tang, Y.L., Jiang, J., Yang, Y.L., y Gao, C. 2012.** Determination of larval instar number and duration in the oak long-horned beetle, *Massicus raddei* (Coleoptera: Cerambycidae). *Acta Entomologica Sinica*, 55, 575-584.
- Wanner, K.W., Helson, B.V. y Harris, B.J. 2002.** Laboratory evaluation of two novel strategies to control first-instar gypsy moth larvae with spinosad applied to tree trunks. *Pest Manag Sci* 58:817-824.
- Wegensteiner R. 1992.** Untersuchungen zur Wirkung von *Beauveria* Arten auf *Ips typographus* (Col., Scolytidae). *Mitteilungen der Deutschen Gesellschaft für Allgemeine und Angewandte Entomologie*, 8, 104-106.
- Wickman, B.E. 1964.** Freshly scorched pines attract large numbers of *Arhopalus asperatus* (Coleoptera: Cerambycidae) adults. *Pan-Pac Entomol* 40: 59-60.
- Williams, T., Valle, J., Viñuela, E., 2003.** Is the naturally derived insecticide Spinosad compatible with insect natural enemies?. *Biocontrol Sci. Tech.* 13, 459-475.
- Wilson, T. G. y Cryan, J.R. 1997.** Lufenuron, a chitin-synthesis inhibitor, interrupts development of *Drosophila melanogaster*. *Journal of Experimental Zoology* 278: 37-44.
- Wittenberg, R. 2005.** An inventory of alien species and their threat to biodiversity and economy in Switzerland. CABI Bioscience Switzerland Centre report to the Swiss Agency for Environment, Forests and Landscape, 417 pp.
- Wollerman, E.H., Adams, C. y Heaton, G.C. 1969.** Continuous laboratory culture of the locust borer, *Megacyllene robiniae*. *Ann. Entomol. Soc. Am.*, 62: 647-649.
- Wong, J.C.H., Mitchell, R.F., Striman, B.L., Millar, J.G. y Hanks, L.M. 2012.** Blending synthetic pheromones of cerambycid beetles to develop trap lures that simultaneously attract multiple species. *J Econ Entomol* 105:906-915.
-

- Wood, D.L. 1982.** The role of pheromones, kairomones, and allomones in the host selection and colonization behavior of bark beetles. *Annu. Rev. Entomol.* 27: 411–446.
- Wu, H., Wang, X.Y., Li, M.L., Yang, Z.Q., Zeng, F.X., y Wang, H.Y. 2008.** Biology and mass rearing of *Sclerodermus pupariae* Yang et Yao (Hymenoptera: Bethyridae), an important ectoparasitoid of the emerald ash borer, *Agrilus planipennis* (Coleoptera: Buprestidae) in China. *Acta Entomologica Sinica*, 51, 46–54.
- Xiao-yi W., Yan-long, T., Ji-fang, L., y Zhong-qi, Y. 2013.** Biomass evaluation of concealed insect pests at parasitism based on allometric scaling laws. *Phytoparasitica*. 41:435-441.
- Yamasaki, T. y Suzuki, N. 1982.** Luring of Japanese pine sawyer *Monochamus alternatus* Hope by paraquat-treated pine trees. II. The attractiveness of volatile oil from lightwood. *J Jap For Soc* 64: 340–345.
- Yamasaki, T., Sakai, M., y Miyawaki, S. 1989.** Oviposition stimulants for the beetle, *Monochamus alternatus* Hope, in inner bark of pine. *J Chem Ecol* 15: 507–516.
- Yanega, D. 1996.** Field guide to northeastern longhorned beetles (Coleoptera: Cerambycidae). Illinois Natural History Survey, Manual 6. USA, IL-Champaign.
- Yang, Z.Q., Wang, X.Y., Yao, Y.X., Gould, J.R., y Cao, L. M. 2012.** A new species of *Sclerodermus* (Hymenoptera: Bethyridae) parasitizing *Agrilus planipennis* (Coleoptera: Buprestidae) from China, with a key to Chinese species in the genus. *Annals of the Entomological Society of America*, 105, 619–627.
- Yasui, H., Akino, T., Yasuda, T., Fukaya, M., Ono, H., Wakamura, S. 2003.** Ketone components in the contact sex pheromone of the white-spotted longicorn beetle, *Anoplophora malasiaca*, and pheromonal activity of synthetic ketones. *Entomol Exp Appl* 107: 167–176.
- Yoo, S.S., Kim, S.S., 2000.** Comparative toxicity of some pesticides to the predatory mite, *Phytoseiulus persimilis* (Acarina: Phytoseiidae) and the twospotted spider mite, *Tetranychus urticae* (Acarina: Tetranychidae). *Korean J. Entomol.* 30, 235–241.
- Yoon, H., y Mah, Y. 1999.** Life cycle of the mulberry longicorn beetle, *Apriona germani* hope on an artificial diet. *J Asia-Pacific Entomol* 2:169–173.
- Youn, Y.N., Seo, M.J., Shin, J.G., Jang, C., Yu, Y.M., 2003.** Toxicity of greenhouse pesticides to multicolored Asian lady beetles, *Harmonia axyridis* (Coleoptera: Coccinellidae). *Biol. Control* 28, 164–170.
- Yuste, J. 2001a.** Descripción y comportamiento de los sistemas de conducción en espaldera. *Semana Vitivinícola*. 2886: 4170-4190.
- Yuste, J. 2001b.** Sistema de conducción: técnica de cultivo en viticultura. *Vida Rural*. 121: pp. 26-32.
- Zhang, A., Oliver, J.E., Chauhan, K., Zhao, B., Xia, L., Xu, Z. 2003.** Evidence for contact sex recognition pheromone of the Asian longhorned beetle, *Anoplophora*
-

glabripennis (Coleoptera: Cerambycidae). *Naturwissenschaften* 90: 410–413.

Zhang, Q.H., Liu, G.T., Schlyter, F., Birgersson, G., Anderson, P. y Valeur, P. 2001. Olfactory responses of *Ips duplicatus* from inner Mongolia, China to nonhost leaf and bark volatiles. *J Chem Ecol* 27: 995–1009.

Zhang, X., Linit, M.J. 1998. Comparison of oviposition and longevity of *Monochamus alternatus* and *M. carolinensis* (Coleoptera: Cerambycidae) under laboratory conditions. *Environ Entomol* 27: 885–891.

Zimmermann, G. 2007. Review on safety of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Beauveria brongniartii*. *Biocontrol Sci Technol* 17:553–596.