

AVALUACIÓ DE LA PRESENCIA D'ORGANISMES ENTOMOPATÒGENS (NEMATODES I FONGS) A SÒLS D'AVELLANERS AMB DIFERENTS TIPUS DE PRODUCCIÓ

AUTORA: Helena Sánchez i Torres

SETEMBRE, 2008

DIRECTORS: Fernando García del Pino i Sergi Santamaria

RESUM

El present estudi pertinet a una fase inicial d'un projecte d'investigació del Ministeri d'Educació i Ciència que es porta a terme al Departament de Biologia Animal, de Biologia Vegetal i d'Ecologia (BABVE) de la Universitat Autònoma de Barcelona amb col·laboració del Departament d'Agricultura, Alimentació i Acció Rural de la Generalitat de Catalunya anomenat "Control biològic del diabló de l'avellaner, *Curculio nucum* L. (Coleoptera, Curculionidae) mitjançant organismes entomopatògens (nematodes i fongs)", es basa en la recerca d'organismes autòctons en els camps d'avellaners que un cop aïllats i caracteritzats puguin ser utilitzats com a insecticides biològics pel control de la plaga clau que afecta els avellaners de Catalunya, el diabló de l'avellaner (*Curculio nucum* L.). Aquest insecte, pertanyent a la família dels coleòpters presenta una àmplia distribució a l'Europa temperada i septentrional, essent especialment abundant a Espanya, Itàlia i Turquia. La major part del seu cicle enterrada al sòl en forma de larves i pupes fins que es converteix en adult (figura1).

Són les formes adultes les que ataquen les avellanes provocant dos tipus de dany, el primer degut a les picades alimentàries sobre els fruits embrionaris de l'avellaner i en segon lloc mitjançant la picada de posta on la larva completa el seu creixement, deixant a la seva sortida un forat característic d'aproximadament 2,5 mm de diàmetre anomenat "xiulet" i enterrant-se ràpidament al sòl (figura 2).



Figura 1. *C. nucum* adult realitzant la picada de posta



Figura 2. Larva de *C. nucum* sortint de l'avellana.

La utilització d'agents de control biològic, s'emmarca en el concepte de sostenibilitat en l'agricultura, de manera que intenta establir un equilibri harmònic entre desenvolupament agrari i els diferents components que integren l'agroecosistema,

basant-se en l'adequat ús dels recursos locals disponibles per tal de dur a terme una agricultura que sigui econòmicament viable, presentant-se com un model alternatiu al de l'agricultura convencional en relació al control de plagues. Dues de les branques més importants són la Producció Integrada i la Producció ecològica. La primera es defineix com “*un sistema d'explotació agrària que produeix aliments i altres productes d'alta qualitat mitjançant l'ús de recursos naturals i mecanismes reguladors que reemplacin els pesticides i que assegurin una producció agrària sostenible*” (Coscollá, 2004), situant-se a una posició intermèdia entre la producció convencional i l'ecològica. Durant els darrers anys, el sector de l'avellana ha tingut el suport de la Comunitat europea i del Ministeri d'Agricultura Pesca i Alimentació (MAPA), finançant ajuts i plans de millora dels cultius per la introducció de noves tècniques en el conreu i per afrontar l'elevada competència del mercat exterior. Aquestes ajudes tenen relació amb la superfície conreada d'avellaner i establint al mateix temps dotacions econòmiques més elevades en el cas de la Producció Ecològica respecte la Producció Integrada així en l'ús de sistemes de suport de regadiu que afavoreixin el rendiment de les plantacions. El control biològic mitjançant fauna auxiliar pel control del diabló de l'avellaner és molt limitat i la lluita química és l'únic mitjà que actualment es té per a controlar aquesta plaga, realitzant-se tractaments químics per tal d'evitar la picada d'alimentació i la de posta. Dels diferents agents de control biològics que es coneixen actualment, es creu que els únics que podrien tenir efectes eficaços contra *C. nucum* seria mitjançant l'ús d'organismes entomopatògens com els fongs o els nematodes, presentant l'alternativa als productes químics, els quals no són efectius ja que tan sols poden combatre el insecte en les formes adultes quan es troba a l'exterior i no en l'ambient críptic on es troben les formes més vulnerables. Per altra banda, l'ús d'altres agents de control biològic com bacteris o virus tampoc són eficaços per controlar els estadis anteriorment esmentats ja que aquests actuen per ingestió i els estadis de *C. nucum* al sòl no s'alimenten. Tot això fa que tant els fongs, que actuen per contacte, i molt especialment els nematodes, que tenen la particularitat de buscar activament al seu hoste accedint allà on es troben les larves i les pupes enterrades al sòl, siguin els agents de control biològic de plagues més prometedors contra el diabló de l'avellaner *Curculio nucum*.

La metodologia de recerca d'organismes entomopatògens als sòls de les comarques tarragonines es desenvolupa a partir d'un període de mostreig i d'un posterior aïllament i identificació dels organismes entomopatògens.

En el procés de mostreig, ha estat clau la implicació del personal del Servei de Sanitat Vegetal i de les Associacions de Defensa Vegetal de la Província de Tarragona i Girona, els quals han facilitat la informació dels camps d'avellaners inscrits en

Producció Integrada i Ecològica (els que són registrats i tenen seguiment), acompanyant-nos a les campanyes de recol·lecció de mostres i establint contacte amb els agricultors de les finques per tal que s'afegissin a la fase de mostreig i ens diguessin de primera mà si tenien afectació de *C. nucum* i de manera aproximada quines eren les pèrdues produïdes per aquesta plaga als camps mostrejats.

En total es van realitzar 310 mostres de sòls d'avellaners. 50 corresponent a camps d'avellaner abandonats, 63 de producció convencional, 10 camps de producció ecològica, 142 de producció integrada i 30 d'avellaners de vegetació autòctona o no cultivats (silvestres). La metodologia de mostreig va consistir en seleccionar quatre avellaners i realitzar els passos exposats a la figura 3.



Figura 3: Passos seguits en l'extracció de mostres al camp. (D'esquerra a dreta: 1, perforació a uns 15-20cm del sòl; 2, extracció de dues palades de sòl, aproximadament 250cc de sòl de cada punt de mostreig; 3, homogeneïtzació de les submostres; 4, extracció de 2L del sòl anteriorment barrejat). Font: elaboració durant diferents campanyes de mostreig.

També es varen anotar les variables producció, altitud i coordenades UTM per tal de georeferenciar especialment cadascuna de les mostres.

El procés d'aïllament es va fer mitjançant el mètode d'insecte trampa proposat per Bedding i Akhurst (1975) i Zimmerman (1986), utilitzant larves de *Galleria mellonella* i *Tenebrio molitor* com a insectes hoste les quals són susceptibles a la infecció de diverses espècies de fongs entomopatògens. Es van introduir aproximadament 50g de terra a set plaques de Petri de 90mm de diàmetre, de plàstic, configurant les submostres i posteriorment es van introduir 5 larves de *G. mellonella* a la superfície de cadascuna de les cinc submostres mentre que a les dos restants s'hi van afegir respectivament 5 larves de *T. molitor*. Es van incubar les mostres a $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ durant 7 dies. Passat aquest període de temps es van extreure les larves mortes ubicant-les individualment en plaques de petri petites sobre una superfície de paper de filtre estèril

humit i inspeccionant-les periòdicament fins a descobrir indicis d'esperulació o de presència de nematodes.

Es pot resumir el procés d'infecció dels hosts mitjançant la figura 4, on en primer lloc les espores s'adhereixen a la cutícula de l'hoste fins a completar el seu cicle amb l'esperulació externa que pot tornar a iniciar el cicle d'infecció

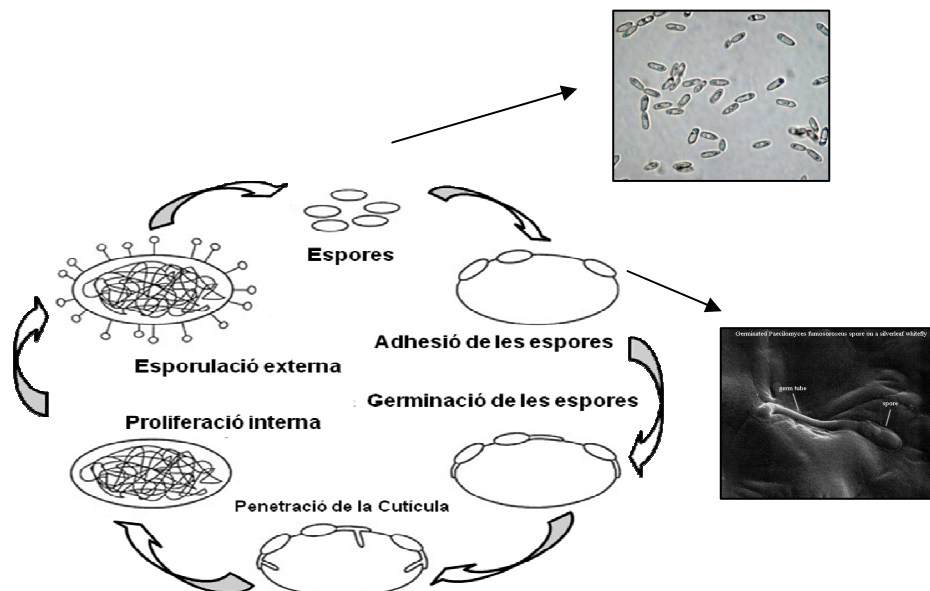


Figura 4. Processos seguits pels fongs entomopatògens al infectar hosts. Font: modificat de García-del-Pino (com. personal).

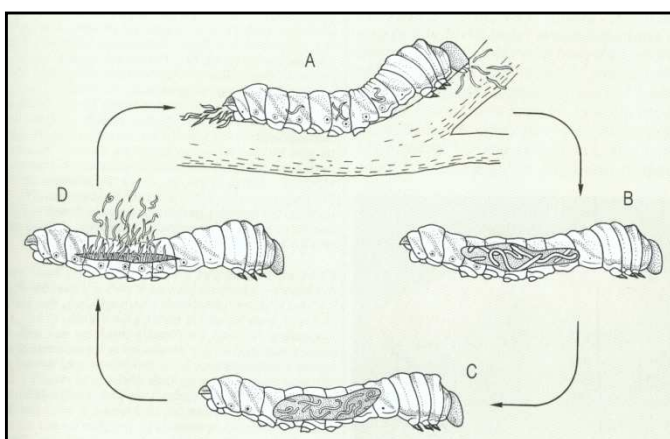


Figura 5: Cicle biològic dels nematodes. A, entrada de formes infectives; B, primera generació d'adults; C, segona generació d'adults i D sortida de formes infectives a l'exterior. Font: Modificat de García-del-Pino (2002).

El cicle seguit pels nematodes entomopatògens es mostra a la figura 5 on les formes infectives penetren a l'hemocel del insecte hoste a través de les obertures naturals (boca, anus i/o espiracles respiratoris) i allibera el bacteri. Les toxines produïdes pels nematodes i principalment pels bacteris, maten el insecte dins dels 2-3 primers dies.

S'ha detectat presència d'organismes entomopatògens a 141 dels 295 camps d'avellaners mostrejats (47,8%). En un 46,4% de localitats s'han aïllat fongs entomopatògens i en un 2% nematodes entomopatògens.

S'ha trobat presència de tots dos gèneres de nematodes entomopatògens, *Steinernema* sp. (Rhabditida: Steinernematidae) amb representació de 5 soques diferents i *Heterorhabditis* sp. (Rhabditida: Heterorhabditidae) amb un únic representant.

A continuació s'exposen els resultats de les variables analitzades a l'estudi:

En relació als fongs entomopatògens s'ha detectat la presència de *Beauveria bassiana* i *Metarrhizium anisopliae* amb percentatges d'un 56,21% i 43,51% respectivament. No s'han observat diferències significatives en la presència de *M. anisopliae* a cap de les localitats mostrejades a diferència de *B. bassiana* on es van veure diferències significatives entre les localitats silvestres, abandonades i les alzines de Collserola (HSD de Tukey, $P < 0,05$) (figura 6).

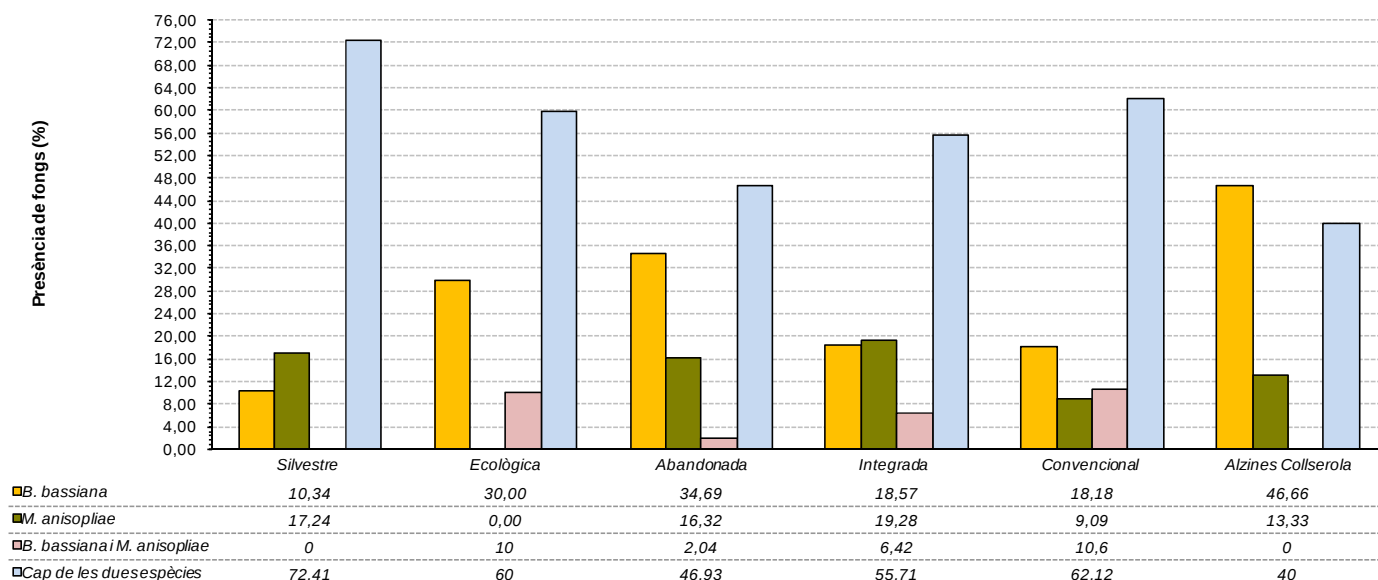


Figura 6 .Percentatge de fongs presents en cadascuna de les produccions del conjunt mostrat. Font: Elaboració pròpia.

Trobem presència de totes dues espècies de fongs entomopatògens en els rangs de pH classificats entre fortament àcid i fortament alcalí. En el conjunt mostrat de pHs, apareixen diferències significatives (HSD de Tukey, $P < 0,05$) entre la presència de *B. bassiana* i *M. anisopliae*, destacant diferències significatives entre *M. anisopliae* i *B. bassiana* (HSD de Tukey, $P < 0,05$) en els sòls classificats com fortament àcids i moderadament alcalins. La presència en pH de $4,2 < \text{pH} < 5,59$ per *M. anisopliae* és de l'ordre del 46,90% mentre que per *B. bassiana* és del 14,70%. Les mostres amb un pH moderadament alcalí ($7,40 < \text{pH} < 8,39$) són les que donen lloc a un major nombre de fongs, presentant un màxim per *B. bassiana* (42,60%) i seguida per *M. anisopliae* amb

un 16,30%. Per altra banda, la coexistència de totes dues espècies fúngiques a la mateixa localitat no presenta diferències significatives a cap dels rangs de pH estudiats ($P>0,05$), observant un màxim de la seva presència a sòls moderats alcalins (38,9%). No s'han trobat diferències significatives ($P>0,05$) entre els tipus de fongs trobats als diferents intervals d'altitud. La presència de totes dues espècies presenta diferències significatives (HSD de Tukey, $P<0,05$) si comparem les altituds de menys de 150 metres amb valors de més de 400m, reduint-ne la seva presència fins a la nul·litat. *M. anisopliae* és l'espècie entomopatògena present a les altituds més altes mostrejades ($>900\text{m}$).

S'observen dos tendències oposades pel que fa a la distribució dels fongs entomopatògens respecte la variable de temperatures mitjanes anuals, on hi ha una major presència de *B. bassiana* a mesura que el gradient tèrmic augmenta, contràriament amb el que s'observa per *M. anisopliae*.

En el cas de les dades relatives al deficient hídric, s'han vist diferències significatives (ANOVA, $P<0,05$) del conjunt mostrat de fongs aïllats als diferents intervals de deficient hídric on si comparem els dos extrems de l'eix que classifica els diferents dèficits hídric podem trobar (tot i que no de manera estadísticament significativa) dos casos oposats de distribució de les espècies, a zones on no hi ha dèficit hídric destacable domina *M. anisopliae* amb un 63,56% mentre que en els màxims valors registrats de dèficit hídric pel que fa a presència d'organismes entomopatògens trobem que *B. bassiana* és l'espècie majoritària amb un 66,24% seguida per *M. anisopliae* (34%).

Les perspectives científiques i socials del control biològic s'han relacionat amb autors que han treballat amb organismes entomopatògens per combatre la plaga de *C. nucum*. Fins al moment, la principal espècie de la que es té constància de l'efecte sobre *C. nucum* és el fong entomopatògen *Beauveria bassiana* (Shapiro-Ilan et al.,2008). A l'estudi s'ha destacat els fongs i els nematodes entomopatògens per les propietats del seu cicle biològic davant l'ecologia de la plaga clau sent unes possibles alternatives als productes químics, agents que són poc efectius en la regulació de plagues que desenvolupen gran part del seu cicle en ambients críptics.