

Control biològic del *Rhynchophorus ferrugineus* a partir de diferents soques de nemàtodes entomopatògens i la seva problemàtica a Catalunya

Autor: Joan Sarsanedas Palau
Directors: Fernando Garcia del Pino
Ana Morton Juaneda

Resum

En el present treball s'ha avaluat el potencial dels nemàtodes entomopatògens per a controlar la plaga de *R. ferrugineus*. Per fer-ho, s'ha determinat la susceptibilitat d'aquesta a 4 espècies diferents de nemàtodes: *Steinernema carpocapsae* (soca B14, IDEBIO, BIOVERD), *Steinernema feltiae* (soca D114), *Steinernema sp.* (D122) i *Heterorhabditis bacteriophora* (soca DG46). D'altra banda, s'ha determinat la predació de *Steinernema carpocapsae* per part de l'àcar *Centroupeda almerodai* (Acari: Acaridae) per comprovar si aquest pot influir negativament en l'efectivitat de *S. carpocapsae* com agent de control biològic. S'ha vist que el morrut de les palmeres és molt susceptible als nemàtodes entomopatògens en especial una soca comercial (*S. carpocapsae*), la qual produeix mortalitats del 91,67%. Hi ha evidències de que l'àcar *C. almerodai* depreda les formes infectives de *S. carpocapsae* encara que no és suficient important com perquè es vegi compromès l'efectivitat com a bioinsecticida. L'ús de nemàtodes entomopatògens com a control biològic és una alternativa viable als mètodes químics de eficàcia similar però menys respectuosos amb el medi ambient.

Abstract

In this work the potential of the entomopathogenic nematodes to control the pest of *R. ferrugineus* was evaluated. Four species of nematodes were used: *Steinernema carpocapsae* (B14, IDEBIO, BIOVERD strain), *Steinernema feltiae* (D114 strain), *Steinernema gliseri group* (D122 strain) and *Heterorhabditis bacteriophora* (DG46 strain). On the other hand, the predation of *Steinernema carpocapsae* by the acar *Centroupeda almerodai* (Acari: Acaridae) was determined, to evaluate if it could negatively influence in the effectiveness of *S. Carpocapsae* as a biological control agent. We have seen that the red plam weevil is very susceptible to the entomopathogens nematodes, specially the comercial stain IDEBIO (*S. carpocapsae*), that produce a mortality of 91,67%. There is an evidence that the acar *C. almerodai* depredate the infective forms of *S. carpocapsae* even if it's not enough to compromise the bioinsecticide effectiveness. The use of entomopathogens nematodes as a biological control is a viable alternative to the chemical methods that have a similar efficiency, but not so respectful with the environment.

Paraules clau: *Rhynchophorus ferrugineus*, nemàtodes entomopatògens, susceptibilitat, predació.

1. Introducció

Antecedents

El morrut de les palmeres

El morrut de les palmeres (*Rhynchophorus ferrugineus*) és un insecte de l'ordre dels coleòpters de la família Dryophthoridae. Espècie invasora procedent de les regions del sud-est asiàtic i Polinèsia, en països com l'Índia, Filipines, Pakistan, Indonèsia, Vietnam, Japó, Xina i Tailàndia.

La via de propagació arreu del món és a través del comerç de palmeres infestades. Va començar a expandir-se fa 25 anys atacant a les palmeres datileres (*Phoenix dactylifera*) dels països del sud d'Àsia, Península Aràbiga i Iran. L'any 1993 va arribar a Egipte i al nord d'Àfrica, on va entrar a Espanya l'any 1993 a Motril i Almuñécar (costa de Granada, Andalusia) (Barranco et al. 1995, 1996a) a través d'exemplars contaminats procedents d'Egipte. Fins l'any 2000 l'espècie va quedar localitzada a les poblacions costaneres de Motril, Salobreña, Almuñécar, Nerja, Frigiliama i Torrox (Junta de Andalucía 1999, 2000). El fort creixement urbanístic al litoral Mediterrani, va fer augmentar la demanda de palmeres per enjardinar tant espais públics i privats, fet que provocà l'aparició del primer focus l'any 2004 a la comunitat Valenciana i l'any 2005 a la regió de Múrcia. (Cabello, 2006).

El primer focus de morrut de les palmeres a Catalunya va ser el novembre de l'any 2005 al Vendrell (Baix Penedès), i al llarg del 2006 es van seguir detectant palmeres malaltes aïllades per la Comarca. La Generalitat de Catalunya va declarar

oficialment l'existència de la plaga al territori català el 3 de juliol del 2006. Les primeres captures daten del juliol del 2006 a Cabrils (Maresme). Un mes després es va localitzar el segon focus a Vilassar de Mar (Maresme). Al setembre del 2006 es van realitzar captures a Gavà (Baix Llobregat). El tercer focus es va detectar a l'octubre del 2006 a Pineda de Mar (Maresme). El quart focus va aparèixer al desembre del 2006 a Vilanova i la Geltrú (Garraf) i a finals del mateix mes es va localitzar el cinquè a Riudoms (Baix camp) (Departament d'Agricultura de la Generalitat de Catalunya, 2010).

El 31 de juliol del 2010 a Catalunya, la plaga és present a les comarques del Baix Camp, Alt Camp, Tarragonès, Baix Penedès, Alt Penedès, Garraf, Baix Llobregat, Barcelonès, Vallès Occidental, Maresme, Vallès Oriental, La Selva, Gironès, Baix Empordà i Alt Empordà, amb un total de 124 municipis afectats amb 5244 de palmeres malaltes.

Biologia

Els adults s'aparellen moltes vegades durant la seva vida i la còpula té lloc en qualsevol moment. Si a la palmera hi ha suficient aliment per a garantir una altra generació, la femella diposita els ous en la mateixa palmera; en cas contrari, l'adult abandona la palmera i busca una altra per a colonitzar (Ferry i Gomez, 2002). Les femelles realitzen la posta a l'interior d'escletxes o en petits forats realitzats per la femella (Junta de Andalucía, 1999, 2000).

Les larves naixen als 3 dies, són de color blanc cremós, i van adquirint una tonalitat més fosca a mesura que creixen. El període

larvari precisa d'1 a 3 mesos per completar-se i està influenciat per la temperatura, i el substrat alimentari (Barranco et al., 1999b; Martín i Cabello, 2005). La larva s'alimenta del teixit vegetal intern de la palmera i, com a conseqüència, deixa una sèrie de canals o galeries internes. És la fase que més danys causa a la palmera.

Al final del període larvari, la larva crea una cobertura de forma ovalada a partir de les fibres de l'interior de la palmera, que tenen una longitud de 4 a 6 cm i es localitzen en les bases de les fulles o en la base de la palmera. La fase de pupació dura de 15 a 30 dies. Passat aquest període, l'adult emergeix de l'embolcall pupal i roman a l'interior del capoll entre 5 i 17 dies (Menon i Pandalai, 1960). Segons Hutson (1933), el morrut madura sexualment durant aquest període d'inactivitat.

Problemàtica

El morrut de les palmeres és l'insecte que afecta mortalment a les palmeres. La larva és l'estadi que més dany infligeix a la palmera degut a la seva voraç alimentació del teixit intern de la palmera. Excava nombroses galeries des de la corona fins a l'ull de la palmera, lloc on s'alimenten. Quan l'ull de la palmera està molt afectat, la palmera ja no produeix noves fulles, les fulles velles s'assequen i al no ser capaç de fer la fotosíntesi la palmera acaba morint.

La palmera més susceptible i la més afectada a Catalunya, és la palmera canària (*Phoenix canariensis*) amb un 99,68%. La palmera datilera (*P. dactylifera*) que va ser la portadora de la plaga, no es veu gaire afectada a causa que el morrut és atret per la palmera

canària i només representa el 0,24%. A Catalunya és una espècie al·lòctona i les repercussions medioambientals de la seva desaparició són nul·les; en canvi a les Illes Canàries és una espècie endèmica que es troba de forma espontània en valls i barrancs, que representa el 40% del territori de l'arxipèlag. La seva desaparició seria una gran pèrdua per a la biodiversitat de l'arxipèlag i arrastraria a desaparèixer les espècies que depenen d'ella per sobreviure.

Mètodes de control

Donades les característiques i peculiaritats d'aquesta plaga, es necessita una estratègia de control integrat que consideri diversos aspectes de prevenció i de control de forma conjunta i complementària. Un cop s'han detectat les palmeres, el protocol establert per la Generalitat de Catalunya obliga a combatre la plaga amb diversos mètodes existents: els mètodes biorracional, els mètodes químics i els mètodes biològics.

Com a mètodes biorracional actualment s'utilitzen trampes amb feromones per atraure i capturar els adults evitant la seva dispersió i colonització de noves palmeres. Es poden utilitzar dues classes de feromones: les kairomones, feromona que s'agreguen els teixits ferits de la palmera que atrau l'adult, i el ferrugineol que és una feromona d'agregació que emeten els adults per atraure més adults a la nova palmera colonitzada.

Els mètodes químics utilitats es fan amb insecticides sistemàtics, és a dir, el seus principis actius penetren en el teixit i es desplacen amb la savia. El Clorpirifos i l'Imidacloprid s'apliquen

directament a la corona de fulles mitjançant un polvoritzador, procurant entollar bé la part interna de la base de les fulles, en especial l'ull de la palmera. Aquesta aplicació té una certa eficàcia si el morrut encara no ha entrat a l'interior de la palmera. El Clorpirifos és més perjudicial pel mediambient que l'Imidacloprid perquè està classificat com a producte nociu i perillós pel mediambient, sent B (mitjana perillositat) per mamífers i aus i C (molt perillós) per peixos i abelles; l'Imidacloprid és A (innocu) per peixos i C (molt perillós) per les abelles.

L'Abamectina, el Tiametoxam i l'Imidacloprid s'apliquen pel mètode d'endoteràpia, és a dir, injectant el producte directament en el sistema vascular de la planta a través del tronc. Les principals característiques són que la seva efectivitat persisteix durant un any, baix consum d'aigua, i baix impacte ambiental, ja que actua directament sobre la plaga i al estar localitzat dins l'exemplar, no perjudica a la resta de comunitats animals. L'Abamectina està classificat com: A (innocu) per les abelles, B (mitjana perillositat) per mamífers i aus i C (molt perillós) per peixos.

Mètodes biològics

El *Rhynchophorus ferrugineus* no té cap enemic natural fora del seu país d'origen i l'única via estudiada pel seu control és la utilització dels nemàtodes entomopatògens. La soca autoritzada per a la seva comercialització és la *Steinernema carpocapsae* que s'aplica juntament amb un líquid aplicador anomenat quitosano que és un producte orgànic biodegradable amb l'ingredient actiu N-acetil-

glucosamina. Aquest producte activa els mecanismes de defensa en la palmera (Hadwiger Löschke, 1981), augmentant la lignificació, i promovent el desenvolupament de les arrels (Ait Barka, 1981).

1.1.2.- Els nemàtodes entomopatògens

Els nemàtodes entomopatògens són paràsits obligats d'insectes, i presenten una relació simbiòtica amb un bacteri que els dona una enorme potencialitat com a bioinsecticides. Aquest nemàtodes pertanyen a dues famílies de l'ordre *Rhabditida*: la família *Steinernematidae* i la *Heterorhabditidae*. El cicle de vida de totes dues és molt similar (figura 1) (Garcia del Pino, 2005).

Aquets nemàtodes només poden viure fora de l'insecte en forma infectiva. Aquest correspon a un tercer estadi juvenil infectiu. En aquest estadi, els nemàtodes no s'alimenten, tenen tant la boca com l'anus tancats. Són precisament aquestes formes infectives les que s'encarreguen de buscar l'insecte. Cal dir també que transporten a l'intestí unes 200 cèl·lules d'un bacteri simbiònt del gènere *Xenorhabdus* o *Photorhabdus* (Garcia del Pino, 2005).

Un cop es localitzen, l'entrada té lloc per les obertures naturals del mateix, i quan es troba dins el sistema digestiu o traqueal de l'insecte, entra a l'hemocel i allibera els bacteris simbiònts que transporta en el seu interior. Aquestes últimes maten l'insecte per septicèmia de 24 a 48 hores després (Garcia del Pino, 2005).

Quan l'insecte mor és el moment en el qual el nematode comença a alimentar-se del bacteri, va mudant

fins arribar al quart estadi, arribant a l'estadi d'adults, mascles i femelles de primera generació. Aquest es reproduïxen donant una segona generació, i així successivament fins que s'esgota l'aliment del cadàver de l'insecte. Quan això passa, el segon estadi del nematode emmagatzema els bacteris en una vesícula del tub digestiu, muda i es converteix en forma infectiva. Aquestes sortiran del cadàver de l'insecte, passant al medi per a localitzar un nou insecte per a parasitar-lo (Garcia del Pino, 2005).

Els nemàtodes entomopatògens són especialment interessants per combatre plagues d'insectes per diversos motius: es tracta d'un sistema molt segur, ja que els nemàtodes són letals per molts insectes, però molt segurs per a l'home, les plantes i altres animals, ja que no contaminen el medi ambient. No cal utilitzar equips de protecció personal, no calen períodes de seguretat i no deixen residus ni contaminen les aigües subterrànies. També destaquen per la seva fàcil aplicació amb els aparells convencionals. Triguen unes 24–48 hores en matar l'insecte, i són capaços de trobar-lo activament en hàbitats ocults, com poden ser sòls i galeries. Cal destacar que tenen un avantatge molt gran respecte a la resta de mètodes de lluita ja que amb la reproducció del nematode a l'interior de l'insecte pot haver-hi un efecte multiplicador de la dosi inicial aplicada (Garcia del Pino, 2005).

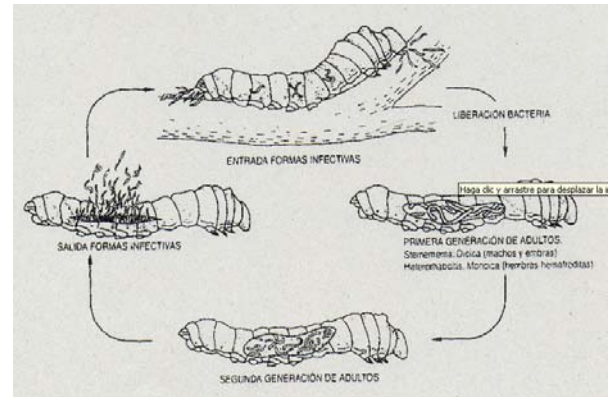


Figura 1: Cicle de vida dels nemàtodes entomopatògens (Garcia del Pino, 2005).

1.2.- Objectius

L'objectiu principal d'aquesta investigació és avaluar la susceptibilitat del *Rhynchophorus ferrugineus* als nemàtodes entomopatògens com alternativa al control químic de la plaga. S'ha trobat àcars vivint dins les ales dels adults de *R. ferrugineus* i l'objectiu secundari d'aquest estudi es determinar les relacions interespecífiques entre l'àcar *C. almerodai* i els nemàtodes entomopatògens.

2.- Susceptibilitat del *Rhynchophorus ferrugineus* als nemàtodes entomopatògens

La finalitat del present estudi es determinar quina de les 4 espècies de nemàtodes entomopatògens proposades és la més eficaç per combatre al *R. ferrugineus*. Actualment és comercialitzada una soca de *Steinernema carpocapsae* en el control biològic del morrut sense haver-se fet cap estudi de susceptibilitat entre les diferents espècies de nemàtodes entomopatògens existents. També es vol conèixer la susceptibilitat dels adults per sexes.

Actualment existeix diverses publicacions sobre el control biològic del *R. ferrugineus* amb *S. carpocapsae* (Gómez, et al., 2008) (Llacer, et al., 2009) i amb *H. bacteriophora* (Atakan, et al., 2009) en condicions de camp. Pel que fa a *S. feltiae* i *Steinernema sp.* no n'hi ha publicat cap estudi de susceptibilitat en *R. ferrugineus* ni en camp ni en laboratori.

2.1.- Materials i mètodes

Nemàtodes

Els nemàtodes escollits per dur a terme aquest assaig varen ser *Steinernema carpocapsae* (soca B14), *Heterorhabditis bacteriophora* (soca DG46), *Steinernema sp.* (soca D122), *Steinernema feltiae* (soca D114), més dues soques comercials de *Steinernema carpocapsae* (soca IDEBIO) i (soca Bioverd). Es van escollir aquestes espècies perquè són algunes de les que s'han aïllat a Espanya i pel fet de que són algunes amb les que es treballa més freqüentment, i per tant, estan molt ben caracteritzades. Els nemàtodes utilitzats van ser criats en larves de l'últim estadi de l'arna de la cera, *Galleria mellonella* (L.) (Lepidoptera: Galleridae) a 25°C, d'acord amb els procediments descrits per Woodring i Kaya (1998). Les formes infectives que es van obtenir es van emmagatzemar a 7°C entre 7 i 14 dies abans de ser utilitzats. Abans de la seva aplicació es van deixar aclimatar a temperatura ambient (21-23°C) durant 30 minuts.

Rhynchophorus ferrugineus

Els exemplars de *R. ferrugineus* que es van utilitzar en aquest assaig es van obtenir de diverses palmeres

de l'espècie *Phoenix canariensis* a les comarques del Maresme i Baix Penedès. Es van extreure in-situ de la valona i de la base de les fulles i es van conservar en caixes amb el propi substrat de la palmera. Les pupes es van descartar dels assajos degut a la seva fragilitat i dificultat de trobar exemplars en condicions.

Assaig de laboratori

L'assaig es va preparar en plaques de Petri de 8,5 cm de diàmetre amb substrat format per serradura de palmera esterilitzada en autoclau fins cobrir tres quartes parts.

La dosi de nemàtodes utilitzada va ser de 500.000 nemàtodes/m², de manera que tenint en compte la superfície de la placa, es va calcular que la dosi a introduir era de 2837 nemàtodes per placa. Per a cada soca de nematode, es van fer 2 sèries de 15 plaques cadascuna. A cada placa es va col·locar 1 individu (una larva o un adult). Es va realitzar unes altres 2 sèries control de 15 plaques amb cada un dels estadis (larves i adults). Es varen col·locar en caps amb tapa per conservar la humitat. Finalment, es van dipositar en una càmera a 23°C fins que l'assaig va finalitzar. Tot l'experiment es va repetir dues vegades.

Per avaluar l'efectivitat dels nemàtodes es van efectuar 4 controls de mortalitat: al tercer, al sisè, al novè i al dotzè dia de la infecció. Un cop passat aquest temps, es van dissecar tots els exemplars morts per comprovar que haguessin estat infectats per nemàtodes. La funció d'aquesta dissecció va ser eliminar possibles factors confusos, ja que hi ha fongs entomopatògens que també parasiten els insectes i que en

provoquen la mort, podent crear biaixos en els resultats.

Anàlisi estadístic

Previ al tractament de les dades es va avaluar si aquestes seguien una distribució normal. Donat que el resultat va ser negatiu, les dades es van avaluar mitjançant la prova no paramètrica d'en KRUSKAL-WALLIS per a veure si hi havia diferències significatives de mortalitat per a les diferents soques de nemàtodes. Es va utilitzar un nivell de significació de $P \leq 0,05$.

2.2.- Resultats

El tractament de les dades recollides ens mostra que hi ha diferents percentatges de mortalitat entre els diferents estadis de *R. ferrugineus* i entre les diferents soques de les espècies de nemàtodes utilitzades (figura 2).

Si s'observen els resultats obtinguts al finalitzar l'assaig, 12 dies després de la infecció, es pot veure que hi ha diferències significatives entre la mortalitat total del *R. ferrugineus* produïda per les diferents soques de nemàtodes (Kruskal-Wallis: $P=0,008$). La soca comercial IDEBIO (*S. carpocapsae*), és la que més mortalitat produeix dins de la seva

mateixa espècie, B14 (*S. carpocapsae*) (Kruskal-Wallis: $P=0,05$) i BIOVERD (*S. carpocapsae*) (Kruskal-Wallis: $P=0,05$); i entre les altres espècies estudiades: DG46 (*H. bacteriophora*) (Kruskal-Wallis: $P=0,05$), D122 (*Steinernema sp.*) (Kruskal-Wallis: $P=0,05$) i D114 (*S. feltiae*) (Kruskal-Wallis: $P=0,05$). La mortalitat produïda per la soca DG46 no té diferències significatives amb les soques B14 (Kruskal-Wallis: $P=0,127$) i BIOVERD (Kruskal-Wallis: $P=0,658$), en canvi, totes 3 soques són significativament més gran que la produïda per D122 (Kruskal-Wallis: $P=0,05$) i D114 (Kruskal-Wallis: $P=0,05$). La mortalitat produïda per la soca D122 és significativament més gran a la produïda per D114 (Kruskal-Wallis: $P=0,05$).

Per l'estadi adult hi ha diferències significatives en la mortalitat produïda per les diferents soques (Kruskal-Wallis: $P=0,007$). Les soques més virulentes amb mortalitat màxima són IDEBIO i B14, totes dues són significativament més gran a la produïda per: DG46 (Kruskal-Wallis: $P=0,001$), BIOVERD (Kruskal-Wallis: $P=0,001$), D122 (Kruskal-Wallis: $P=0,037$) i D114 (Kruskal-Wallis: $P=0,037$). La

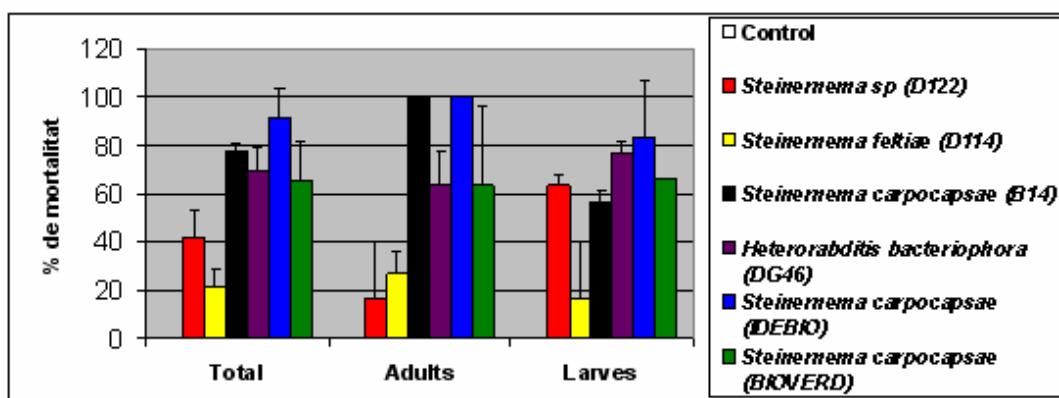


Figura 2: Percentatge de mortalitat per estadis del *R. ferrugineus* (les barres mostren les mitjanes de mortalitat, els colors les diferents espècies de nematodes i les barres d'error, la desviació típica).

mortalitat produïda per DG46 i BIOVERD és la mateixa sent significativament més gran que la produïda per D122 (Kruskal-Wallis: $P=0,05$) i D114 (Kruskal-Wallis: $P=0,05$). La mortalitat produïda per *Steinernema* sp. no és significativament diferent a la produïda per *S. feltiae* (Kruskal-Wallis: $P=0,376$).

Per l'estadi larvari hi ha diferències significatives entre les diferents soques (Kruskal-Wallis: $P=0,008$). La mortalitat produïda per IDEBIO no és significativament diferent a la produïda per DG46 (Kruskal-Wallis: $P=0,513$), en canvi, totes dues són significativament més elevades que les produïdes per B14 (Kruskal-Wallis: $P=0,05$) i D114 (Kruskal-Wallis: $P=0,05$); i significativament iguals amb les soques BIOVERD (Kruskal-Wallis: $P=0,102$; $P=0,121$) i D122 (Kruskal-Wallis: $P=0,121$). Les soques BIOVERD, D122 i B14 són significativament iguals (Kruskal-Wallis: $P=0,102$; $P=0,08$), però totes 3 són significativament diferents a la soca D114 (Kruskal-Wallis: $P=0,037$; $P=0,05$; $P=0,05$).

2.3.- Discussió

Els anàlisis estadístics realitzats mostren que les espècies *S. carpocapsae* i *H. bacteriophora* són les que produeixen significativament més mortalitat que les espècies *Steinernema* sp. i *S. feltiae*. La soca que més mortalitat produeix és la IDEBIO (*S. carpocapsae*) que és significativament més alta que les altres soques de *S. carpocapsae* i *H. bacteriophora* utilitzades en aquest assaig. La mortalitat produïda per *S. sp* és significativament molt més baixa que *S. carpocapsae* i *H. bacteriophora* però es

significativament superior a la mortalitat produïda per *S. feltiae*.

Així doncs, es confirma que la soca comercial de *S. carpocapsae* (IDEBIO), la que actualment s'utilitza pel control biològic del *R. ferrugineus*, és la més eficaç tant en adults, produint el 100% de mortalitat, com en les larves amb un 80%. Aquest resultat són similars als trobats per Gómez Vives (2008), que va obtenir una mortalitat del 100% dels adults alliberats dins la palmera una hora després del tractament amb *S. carpocapsae*. En el cas de les larves, la mortalitat produïda per *S. carpocapsae* al setè dia de la seva aplicació és de 67,44%, de les que restaven vives, un 64,24% van morir en el transcurs de 20 dies. Segons Llacer (2009), *S. carpocapsae* aplicat amb quitosano (producte orgànic biodegradable) és efectiu per tots els estadis de *R. ferrugineus* i assegura que la seva alta efectivitat es deguda que el nematode penetra dins la corona buscant activament a nou hostes de morrut per infectar. Aquesta darrera afirmació difereix de la idea clàssica que *S. carpocapsae* segueix una estratègia d'emboscada alhora d'infectar nou hostes (García del Pino, 2006). Els autors Gómez Vives (2008) i Llacer (2009), coincideixen en que el control biològic amb *S. carpocapsae* és efectiu tant per tractaments preventius com curatius. L'aplicació de *S. carpocapsae* poc abans de l'època de vol del morrut (abril – maig, setembre – octubre) ajuda a frenar la plaga ja que afecta: (1) els estats immadurs de la vella generació dins la palmera, (2) els adults abans de la oviposició, i (3) les larves joves de la nova generació (Llacer et al., 2009). En els resultats obtinguts per Martínez de Altube

(2010) demostren que no hi ha diferències significatives en la mortalitat de *R. ferrugineus* produïda per *S. carpocapsae* (control biològic) i Imidacloprid (control químic), sent tots dos tractaments molt efectius per combatre la plaga. Per tant, el control biològic del morrut és una alternativa viable per substituir els tractaments químics menys respectuosos amb el medi ambient.

Una segona opció viable en el control del *R. ferrugineus* amb nemàtodes és la utilització de *H. bacteriophora*, menys potent que la soca *S. carpocapsae* (IDEBIO), però de eficàcia significativament igual a les soques de *S. carpocapsae* (B14 i BIOVERD). En els resultats obtinguts, *H. bacteriophora* és més eficaç amb un 76,67% de mortalitat per l'estadi larvari, i un 63,33% per l'estadi adult. Els resultats obtinguts en la taxa de mortalitat de les larves, és molt semblant a la descrita per Atakan (2009) amb un 69%; en canvi, difereix considerablement amb la taxa mortalitat en els adults que és del 2%. Aquesta diferència es deguda a que els assajos realitzats per Atakan es van fer en el camp, on les condicions no són controlables com en el laboratori. *H. bacteriophora* produeix taxes elevades de mortalitat en les larves de *R. ferrugineus*, fet que limita la població dins de les palmeres afectades, en canvi, la poca mortalitat produïda en els adults, permet la continua expansió de la plaga (Atakan, et al., 2009).

Les soques de *Steinernema sp.* (D122) i *S. feltiae* (D114) que s'han utilitzat per a dur a terme aquest assaig han demostrat que no són una opció eficaç pel control de *R. ferrugineus* degut a què mostren poca susceptibilitat a l'espècie. Per a properes investigacions sobre la

susceptibilitat del morrut de les palmeres als nemàtodes entomopatògens s'hauria de provar altres soques diferents de *Steinernema sp.* i *S. feltiae* per a veure si poden arribar a ser igual d'efectives que les soques de *S. carpocapsae* i *H. bacteriophora* utilitzades en aquest assaig.

3. Avaluació de la depredació *S. carpocapsae* a partir de l'àcar *Centrouropa almerodai* present sota els èlitres de l'adult de *R. ferrugineus*.

L'objectiu secundari d'aquest treball és avaluar el possible potencial depredador de l'àcar *Centrouropa almerodai* (Acari: Acaridae) sobre els nemàtodes entomopatògens. Un dels mètodes de control biològic utilitzats actualment per combatre el morrut és la utilització de l'espècie de nematode *S. carpocapsae*. Les seves formes juvenils infectives penetren dins l'insecte a través dels orificis naturals, com per exemple, la boca, l'anús o els espiracles. L'àcar *C. almerodai* està associat als adults del *R. ferrugineus*, localitzant-se sota els seus èlitres molt a prop dels espiracles, un dels punts d'entrada natural dels nemàtodes. Els nemàtodes poden ser depredats per fongs i per altres invertebrats com ara els àcars (Ekmen et al., 2010). Es desconeix la relació interespecífica entre *C. almerodai* i *R. ferrugineus*. És possible que aquest àcar, present en els èlitres, pugui depredar *S. carpocapsae* que intenta penetrar dins de l'insecte a través dels espiracles, causant una menor eficiència d'aquest mètode de control. Ekmen et al (2010) han realitzat un estudi on demostra que l'àcar *Sancassania polyphyllae*

(Acari: Acaridae) depreda els nemàtodes entomopatògens utilitzats en control biològic.

3.1.- Materials i mètodes

Nemàtodes

L'espècie de nematode escollit per dur a terme aquest assaig va ser *Steinernema carpocapsae* que és la que es comercialitza i actualment és la que s'utilitza pel control biològic del morrut. Els nemàtodes utilitzats van ser criats en larves de l'últim estadi de l'arna de la cera, *Galleria mellonella* (L.) (Lepidoptera: Galleridae) a 25°C, d'acord amb els procediments descrits per Woodring i Kaya (1998). Les formes infectives que es van obtenir es van emmagatzemar a 7°C de 7 a 14 dies abans de ser utilitzats. Abans de la seva aplicació es van deixar aclimatar a temperatura ambient (21-23°C) durant 30 minuts.

Centrouropoda almerodai

Els exemplars dels àcars *Centrouropoda almerodai* que es van utilitzar en aquest assaig es van obtenir de diversos adults de *R. ferrugineus*. Es van extreure en el laboratori de sota dels èlits de les ales dels adults i es van dipositar en plaques de Petri de 9 cm de diàmetre amb un preparat d'agar-agar per mantenir la humitat i evitar la seva dessecació. Es van conservar durant 96 hores a una temperatura de 18°C amb la finalitat de mantenir els àcars en dejú.

Assaig de laboratori

L'assaig es va preparar en plaques de Petri de 3cm de diàmetre amb una base formada per dos papers de filtre estèrils. La dosi de *S. carpocapsae* utilitzada va ser de 100 nemàtodes per placa tenint cura

de mantenir el paper de filtre humit, però evitant la circulació d'aigua lliure perquè els àcars no s'ofeguin. Es van realitzar dos sèries, la primera sèrie control, es va introduir 100 nemàtodes en cada placa, i la segona, es va col·locar a cada placa 20 àcars i els 100 nemàtodes. Cada sèrie va constar de 20 plaques i l'experiment es va repetir tres cops. Les plaques es van guardar dins d'una caixa amb tapa per mantenir la humitat i es van dipositar en una cambra a 23°C durant 6 dies.

Per avaluar la depredació dels nemàtodes es van obrir totes les plaques al sisè dia i mitjançant una lupa es va realitzar el recompte dels nemàtodes vius.

Anàlisi estadístic

Previ al tractament de les dades, es van avaluar si aquestes seguien una distribució normal. Les dades que si la seguien, es van avaluar mitjançant un T-Test d'un factor (ONEWAY, SPSS – PC) per a avaluar si existien diferències significatives en el nombre total d'individus entre el tractament control i amb àcars. Les dades que no seguien una distribució normal, es van avaluar mitjançant la prova no paramètrica d'en KRUSKAL-WALLIS per veure si hi havia diferències significatives en la supervivència dels nemàtodes entre el tractament control i amb àcars.

3.2.- Resultats

El tractament de les dades recollides ens mostra que hi ha diferències en el nombre total de nemàtodes presents en el tractament control i el tractament amb *C. almerodai* (figura 3). També hi ha diferències en la taxa de

supervivència de *S. carpocapsae* en ambdós tractaments (figura 4).

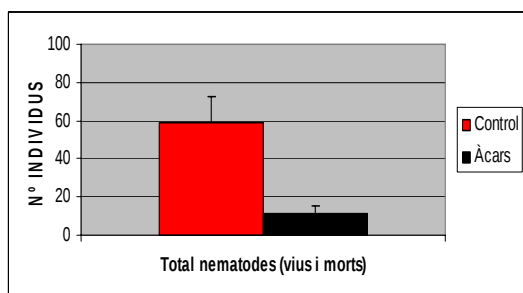


Figura 3: Nombre total de nemàtodes (vius i morts) presents en el dos tractaments (les barres mostren els individus totals, els colors els diferents tractaments i les barres d'error, la desviació típica).

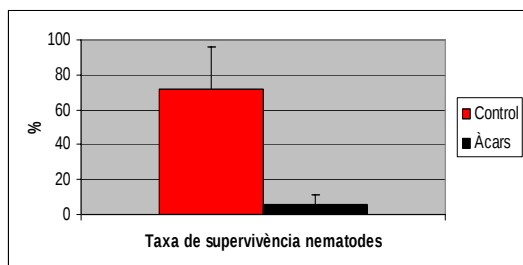


Figura 4: Percentatge de supervivència dels nemàtodes en el dos tractaments (les barres mostren el percentatge de supervivència, els colors els diferents tractaments i les barres d'error, la desviació típica).

Si s'observen els resultats obtinguts al cap de 6 dies de l'assaig, es pot veure que hi ha diferències significatives en el nombre total de *S. carpocapsae* (vius i morts) entre els dos tractaments (T-test. $F=66,804$, $P=0,004$), sent major el tractament control respecte al tractament amb *C. almerodai*. De la mateixa manera, hi ha diferències significatives entre la taxa de supervivència de *S. carpocapsae*, sent més alta en el tractament control respecte al tractament amb *C. almerodai* (Kruskal-Wallis: $P=0,05$).

3.3.- Discussió

Com s'ha vist en els resultats, el número de *S. carpocapsae* i la seva supervivència és molt menor en el tractament amb *C. almerodai* que en el tractament control. Basant-nos en aquest resultat es pot veure que existeix una relació de depredació entre *C. almerodai* i *S. carpocapsae*. Ekmen et al. (2010) van trobar un efecte negatiu significatiu en el número de nemàtodes juvenils infectius quan els van col·locar a prop de 10 àcars de *Sancassania polyphyllae*. D'altra banda van comprovar que si la distància entre els àcars i el juvenils infecciosos era gran, la taxa de depredació per part dels àcars es reduïa o era inexistent, fet que demostra que els àcars no són molt eficients a l'hora de trobar els juvenils infecciosos quan estan molt separats. No obstant això, la supervivència de les formes infectives va disminuir quan en el sòl havia presència de *S. polyphyllae*.

En l'assaig de susceptibilitat de *R. ferrugineus* als nemàtodes entomopatògens es va observar que diverses soques de diferents espècies eren molt efectives per combatre el morrut. Les diverses soques de *S. carpocapsae*, una d'elles comercial, van produir una mortalitat del 100% a l'estadi adult. La elevada efectivitat d'aquestes soques evidencien que la relació de depredació entre *C. almerodai* sobre *S. carpocapsae*, no es suficient perquè es vegi afectat el seu potencial com a bioinsecticida. El motiu perquè els àcars no influeixen negativament en la efectivitat dels nemàtodes és degut que aquest només es localitzen i es concentren a prop dels espiracles (sota els èlitres dels adults), que es un dels tres punts naturals d'entrada que tenen els nemàtodes per parasitar. Els altres dos punts que són la boca i

l'anus no hi ha presència d'àcars i es possible que siguin les vies d'entrada dels nemàtodes sense perill de ser depredats. Per corroborar-ho en treballs posteriors s'haurien de fer assajos per comprovar per quin dels tres orificis naturals del morrut entren els nemàtodes i determinar si hi ha diferències significatives entre elles.

Un dels avantatges del control biològic respecte altres mètodes és la seva capacitat dels seus agents per a reproduir-se i tornar a infectar més insectes diana sense la necessitat d'aplicar nous tractaments. Les formes juvenils infectives dels nemàtodes no tenen dificultats per infectar i matar als adults de *R. ferrugineus*, però hi ha la possibilitat de que els àcars puguin depredar les noves formes juvenils infectives que surten de l'interior de l'adult, afectant negativament a la reinfecció de nous hosts.

4.- Conclusions

El morrut de les palmeres (*R. ferrugineus*) és susceptible als nemàtodes entomopatògens. La soca comercial *S. carpocapsae*, la que s'utilitza actualment, és la més efectiva respecte a les altres soques que s'han estudiat en aquest treball. La seva eficàcia és similar a la del Imidacloprid, un dels productes més utilitzats per combatre químicament la plaga. L'ús de *S. carpocapsae* com a bioinsecticida és una alternativa viable als mètodes químics per controlar la plaga del morrut de les palmeres. La majoria de palmeres atacades pel morrut es localitzen en zones urbanes i la població queda molt exposada als productes químics que es fan servir per tractar-les. L'ús de *S. carpocapsae* per tractar les

palmeres afectades, minimitza el risc per a la salut humana perquè els nemàtodes entomopatògens no són perillosos pels humans i pels altres vertebrats. Els impactes generats pels productes químics en el medi ambient, també són eliminats amb l'ús de nemàtodes entomopatògens perquè no contaminen el medi aquàtic i no afecten a les abelles, insectes beneficiosos que juguen un paper molt important en la pol·linització.

La eficàcia de *S. carpocapsae* pel control de *R. ferrugineus*, no es veu afectada per la presència de l'àcar *C. almerodai* localitzat a sota els èlitres dels adults. S'ha vist que els àcars depreden a les formes juvenils infectives, però aquest fet no impedeixen que els nemàtodes facin la seva funció com bioinsecticides, tal i com s'ha observat en l'assaig de susceptibilitat.

L'estudi de la susceptibilitat del morrut de les palmeres als nemàtodes entomopatògens, és un dels molts exemples de la eficàcia que poden tenir els agents biològics per a controlar les plagues. En el camp de l'agricultura, és molt important poder controlar les plagues per evitar que aquestes malmetin la collita, arribant a generar pèrdues econòmiques en els països desenvolupats, i episodis de fam en els països en vies de desenvolupament. Els mètodes químics utilitzats en l'agricultura convencional, practicada arreu del món, fan que aquesta sigui insostenible generant uns impactes negatius per al medi ambient i per a la salut humana. La investigació de nous agents biològics i la seva posterior substitució pels agents químics actuals, poden representar un canvi substancial en l'agricultura convencional enfocant-lo d'aquesta

manera cap a una agricultura més sostenible, l'ecològica.

5.- Bibliografia

Pàgines web

“El palmeral històric de Elche”
Patrimoni de la humanitat per la
UNESCO.

[http://www.ayto-
elche.es/docs/Patrimonio.pdf](http://www.ayto-elche.es/docs/Patrimonio.pdf)

(Novembre 2009)

Publicacions:

Ait Barka, E., Eullaffroy, P., Clément, C.,
Vernet, G., 2004. Chitosan improves
development, and protects *Vitis*
vinifera L. against *Botrytis cinerea*.
Plant Cell Rep, 22:608–614.

Ajuntament de Reus; 2007; *full informatiu*
novembre 07. pag: 1-8.

Ayuntamiento de santa Lucia, 1999-2000.
El picudo rojo, *Rhynchophorus*
ferrugineus, en la palmera canària.
Junta de Andalucía.

Barranco, P., Peña, J., Cabello, T., 1995.
Un nuevo curculiónido tropical para
la fauna europea, *Rhynchophorus*
ferrugineus (Olivier, 1790),
(Coleoptera: Curculionidae). Boletín
de la Asociación Española de
Entomología, 20: 1-2.

Barranco, P., De La Peña, J.A., Martín,
M.M., Cabello, T., 2000. Host rank
for *Rhynchophorus ferrugineus*
(Olivier, 1790)(Coleoptera:
Curculionidae) and host diameter.
Bol. San. Veg. Plagas, 26: 73–78.

Dirección General del Medio Natural, 2006.
“El picudo rojo *Rhynchophorus*
ferrugineus Olivier. Dossier
informativo”. Gobierno de Canarias.

Ekmen, Z.I., Hazir, S., Cakmak, I., Ozer,
N., Karagoz, M., Kaya, H.K.
Potential negative effects on
biological control by *Sancassania*

polyphyllae (Acari: Acaridae) on an
entomopathogenic nematode
species. *Biological control*, 54: 166
– 171.

ElGarhy, M.E., 1996. “Field evaluation of
the aggregation pheromone of the
red palm weevil, *Rhynchophorus*
ferrugineus, in Egypt”. BRIGHTON
CROP PROTECTION
CONFERENCE: PESTS &
DISEASES , VOLS 1-3: 1059-
1064.

Esteban-Duran, J., Vela, J.L., Beitia-
Crespo, F., Jiménez-Álvarez, A.,
1998. Biología del curculiónido
ferruginoso de las palmeras
Rhynchophorus ferrugineus
(Olivier) en laboratorio y campo:
ciclo en cautividad, peculiaridades
biológicas en su zona de
introducción en España y métodos
biológicos de detección y posible
control (Coleoptera: Curculionidae.
Rhynchophorinae). Boletín de
Sanidad Vegetal - Plagas, 24 : 737-
748.

Ferry, M., Gómez, S., 2002. The red pal
weevil in the Mediterranean Area.
Palms, 46 (4): 176-178.

Gómez Vives, S., Muñoz Irles, C., Ferry,
M., Martínez de Altube, M.M.,
2008. Primeros resultados sobre el
uso de *Steinernema carpocapsae*
(Rhabditidae: Steinernematidae)
asociado a quitosano para el control
de *Rhynchophorus ferrugineus*,
Olivier en palmeras datileras.
Boletín de sanidad vegetal, plagas,
34(1): 147 – 149.

Güerri_Aguló, B., Gómez-Vidal, S.,
Asensio, L., Barranco, P., Lopez-
Llorca, L., 2009. Infection of the red
palm weevil (*Rhynchophorus*
ferrugineus) by the
entomopathogenic fungus *Beauveria*
bassiana: a SEM study. Microscopy
research and Technique, 73(7): 714 –
725.

Hadwiger, L.A., Loschke, D.C., 1981.
Molecular communication in host–

- parasite interactions: hexosamine polymers (chitosan) as regulator compounds in race-specific and other interactions. *Phytopathology*, 71:756–762.
- Hutson, J.C., 1933. The red weevil of coconut. Department of Agriculture of Ceylon. Leaflet, 22.
- Llacer, E., Martínez de Altube, M.M., Jacas, A.A., 2009. Evaluation of the efficacy of *Steinernema carpocapsae* in a chitosan formulation against the red palm weevil, *Rhynchophorus ferrugineus*, in *Phoenix canariensis*. *Biocontrol*, 54(4): 559 – 565.
- Martín, M.M., Cabello, T., 2005b. Biología y ecología del curculiónido rojo de la palmera, *Rhynchophorus ferrugineus* (Olivier, 1790) (Coleoptera: Dryophthoridae). Departamento de Biología Aplicada. Universidad de Almería. Almería: 202.
- Martín, M.M., Barranco, P., De La Peña, J., Cabello, T., 2001c. Parámetros biológicos de *Rhynchophorus ferrugineus* (Olivier, 1790) (Coleoptera: Curculionidae) en condiciones de cría prolongada. XIX Jornadas de la Asociación Española de Entomología. Badajoz (España): 80.
- Martínez de Altube, M.M., Llacer, E., Dembilio, O., Jacas, J.A., 2010. Field efficacy of imidacloprid and *Steinernema carpocapsae* in a chitosan formulation against the red palm weevil *Rhynchophorus ferrugineus* (Coleoptera: curculionidae) in *Phoenix canariensis*. *Pest management science*, 66(4): 365 – 370.
- Menon, K.P.V., Pandalai, K.M., 1960. The Coconut Palm A Monograph. Pests: 261-265.
- Reginald C (1973) Principal insect pests. In: Coconuts. Tropical Agriculture Series. Longmans, London (GB).
- Salama, H.S., Harndy, M.K., Magd El-Din, M., 2002. The thermal constant for timing the emergence of the red palm weevil, *Rhynchophorus ferrugineus* (Oliv.) (Coleoptera: Curculionidae). *Anzeiger für Schandtingskunde*, 75: 26-29.
- Salema, H.S., Abdel-Razek, A.S., 2002. Development of the red palm weevil, *Rhynchophorus ferrugineus* (Olivier), (Coleoptera, Curculionidae) on natural and synthetic diets. *Anzeiger für Schandtingskunde*, 75: 137-139.
- Sansano Javaloyes, M.P., Gómez Vives, S., Ferry, M., Díaz Espejo, G., 2008. “ Ensayos de campo para la mejora de la eficacia de las trampas de captura de *Rhynchophorus ferrugineus*, Olivier (Coleoptera: Dryophthoridae), picudo rojo de la palmera.” . Centro de investigación de la palmera datilera y los oasis, Estación Phoenix de Elche. *Bol.San. Veg. Plagas*, 34:135-145.
- Sanz-Elorza, M., 2005. aproximación al listado de plantas vasculares alóctonas invasoras reales y potenciales en las islas Canaria . *Lazaroa*, 26: 55 – 66.
- Servei de sanitat vegetal., 2010. El morrut de les palmeres (*Rhynchophorus ferrugineus*). Departament d’Agricultura de la Generalitat de Catalunya.
- Vives, J.M., Garcia, A., 2006. El morrut de les palmeres (*Rhynchophorus ferrugineus*). Departament d’Agricultura, Alimentació i Acció Rural, Fitxa 56.
- 1999,2000. El picudo rojo, *Rhynchophorus ferrugineus*, en la palmera canària. Junta de Andalusia.