SANIDAD VEGETAL

10º Symposium Nacional de Sanidad Vegetal

10 SYMPOSIUM NACIONAL DE SANIDAD VEGETAL

innovación y futuro

Sevilla 24,25 y 26 de enero 2007

Consejería de Agricultura y Pesca

JUNTA DE ANDALUCIA

COLEGIO OFICIAL DE INGENIEROS TÉCNICOS AGRÍCOLAS DE ANDALUCÍA OCCIDENTAL

Patrocinan:

JUNTA DE ANDALUCIA
CONSEJERIA DE AGRICULTURA Y PESCA

Instituto de Investigación y Formación Agraria y Pesquera
CONSEJERÍA DE INNOVACIÓN, CIENCIA Y EMPRESA

CAJA DE AHORROS EL MONTE

MINISTERIO DE AGRICULTURA, PESCA Y ALIMENTACIÓN

Colaboran:

aepla

el REAL ALCAZAR de Sevilla

renfe

IBERIA
TRANSPORTISTA OFICIAL / OFFICIAL CARRIER

NO8DO
AYUNTAMIENTO DE SEVILLA

10º SYMPOSIUM NACIONAL DE SANIDAD VEGETAL

Consejería de Agricultura y Pesca

10º Symposium Nacional de Sanidad Vegetal

© *Edita*: JUNTA DE ANDALUCÍA. Consejería de Agricultura y Pesca

Publica: Viceconsejería. Servicio de Publicaciones y Divulgación

Colección: CONGRESOS y JORNADAS

Serie: SANIDAD VEGETAL

Autor/es: Varios

Depósito Legal: SE-183-07

I.S.B.N.: 978-84-8474-202-9

Fotocomposición e impresión: J. de Haro Artes Gráficas, S.L.
Parque Ind. P.I.S.A, Mairena del Aljarafe • Sevilla

10º SYMPOSIUM NACIONAL DE SANIDAD VEGETAL
COMITÉ DE HONOR

PRESIDENCIA DE HONOR:

Manuel Chaves González
Presidente Junta de Andalucía

MIEMBROS DE HONOR:

Elena Espinosa Mangana
Ministra de Agricultura, Pesca y Alimentación

Alfredo Sánchez Monteseirín
Alcalde de Sevilla

Isaías Pérez Saldaña
Consejero de Agricultura y Pesca Junta de Andalucía

Francisco Vallejo Serrano
Consejero de Innovación, Ciencia y Empresa Junta de Andalucía

Juan Ángel Fernández Batanero
Viceconsejero de Agricultura y Pesca Junta de Andalucía

Francisco Mombiela Muruzábal
Director General de Agricultura Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación

Judith Anda Ugarte
Directora General de la Producción Agraria
Consejería de Agricultura y Pesca Junta de Andalucía

Guillermo Artolachipi Esteban
Subdirector General de Agricultura Integrada y Sanidad Vegetal
Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación

Carmen Hermosín Gaviño
Presidenta del IFAPA y de la Producción Ecológica
Consejería de Innovación, Ciencia y Empresa Junta de Andalucía

José Núñez Casaus
Delegado Provincial de Agricultura y Pesca de Sevilla Junta de Andalucía

Antonio Pulido Gutiérrez
Presidente de Caja de Ahorros El Monte

Mª Luisa Lombardero Barceló
Directora General de Caja de Ahorros El Monte

Pau Relat Vidal
Presidente de AEPLA

ORGANIZACIÓN DEL 10º SYMPOSIUM NACIONAL DE SANIDAD VEGETAL

PRESIDENTE
LUÍS CARLOS CÍA GONZÁLEZ
Presidente
Colegio Oficial de Ingenieros Técnicos Agrícolas de Andalucía Occidental

SECRETARIA
TATIANA MONTAÑO JAPÓN
Ingeniero Técnico Agrícola

COMITÉ CIENTÍFICO:

JUAN DE BENITO DORREGO
Ingeniero Técnico Agrícola
Profesor de Fitopatología

SANTIAGO BORRERO CABRERA
Ingeniero Técnico Agrícola

JESÚS GONZÁLEZ GARCÍA
Ingeniero Agrónomo
Jefe de Servicio de Sanidad Vegetal
Consejería de Agricultura y Pesca
Junta de Andalucía

COMITÉ ORGANIZADOR:

ANTONIO ACOSTA HERRERA
Ingeniero Técnico Agrícola

ANDRÉS ARAMBARRI CAZALIS
Ingeniero Técnico Agrícola

ALFONSO MARTÍNEZ GONZÁLEZ
Ingeniero Técnico Agrícola

MANUEL SEQUEIROS UGARTE
Gerente de APROVE

ANTONIO VERGEL ROMÁN
Ingeniero Técnico Agrícola

ÍNDICE

PONENCIAS MAGISTRALES:

PONENCIAS COMERCIALES:

COMUNICACIONES:

• En folleto adjunto a este libro se incluyen las ponencias:

PONENCIAS MAGISTRALES

LAS POLÍTICAS DE INNOVACIÓN AGRARIA: SU APLICACIÓN A LA SANIDAD VEGETAL EN ANDALUCÍA

Marcelino Bilbao Arrese
Jefe del Servicio de Investigación
IFAPA CICE

Se pretende exponer una panorámica de los orígenes, situación actual y perspectivas de las actuaciones de Investigación, Desarrollo e Innovación (I+D+I) en materia de sanidad vegetal y en el ámbito de la Comunidad Autónoma de Andalucía. La creación del Instituto de Investigación y Formación Agraria y Pesquera (IFAPA) en el año 2003 debe suponer un punto de inflexión en las políticas de innovación en el ámbito de la sanidad vegetal en Andalucía. Los instrumentos principales para el sector serán la orden de incentivos a los proyectos de I+D+I de la CICE y el Servicio de Asesoramiento del Instituto.

INTRODUCCIÓN

Las crisis provocadas por la aparición de la filoxera en España y las plagas cíclicas de langosta obligaron al establecimiento de las primeras medidas administrativas modernas enfocadas al control y lucha contra los insectos, que cristalizaron en la Ley de Plagas de 1.908. Esta norma introducía por primera vez el concepto de plagas del campo y su vigencia se ha extendido durante todo el siglo XX.

En el año 1971 se crea, mediante el Decreto Ley 17/1971, el Servicio de Defensa contra Plagas e Inspección Fitopatológica, al que se le encomienda, entre otras funciones, la prevención, lucha y control de los medios de defensa contra los agentes nocivos, tanto agrícolas como forestales.

La aprobación del Estatuto de Autonomía para Andalucía en 1.981 supuso un cambio muy importante en el reparto de competencias en materia de sanidad vegetal. Así, la prevención y lucha contra los agentes nocivos, el control de los medios de defensa y de los establecimientos de producción, la inspección y evaluación fitopatológica, entre otras materias, fueron asumidas por la Consejería de Agricultura y Pesca (CAP) a través de su Dirección General de la Producción Agraria.

La integración de España en la Comunidad Económica Europea en el año 1.996 ha supuesto la incorporación de todo el acervo comunitario en materia fitosanitaria. Esta incorporación se ha desarrollado tradicionalmente mediante Directivas, cuyo contenido no es directamente aplicable, sino que debe trasponerse a la normativa nacional.

La creciente sensibilización de la sociedad respecto a los riesgos derivados de la utilización de los productos fitosanitarios está provocando una mayor integración de las políticas comunitarias, que se concreta en la aprobación de Reglamentos, que son normas comunitarias de aplicación directa y de obligado cumplimiento para todos los Estados miembros.

LOS ORÍGENES DE LA EXPERIMENTACIÓN Y LA INNOVACIÓN FITOSANITARIA EN ANDALUCÍA

Centrándonos en las actuaciones específicas de innovación fitosanitaria en nuestra Comunidad Autónoma, podemos concluir que la Dirección General de Producción Agraria, a través de su red de Laboratorios de Sanidad Vegetal, ha desarrollado la mayoría de las políticas y actuaciones de carácter experimental respecto a las plagas y enfermedades vegetales durante los últimos 25 años en Andalucía. Entre las más destacadas, podemos citar:

- La introducción y promoción de las Agrupaciones de Tratamientos Integrados de Agricultura (ATRIAs), que supuso la introducción del concepto de control integrado en la agricultura andaluza, desterrando los calendarios fijos para el tratamiento de las adversidades.
- La experiencia acumulada en las ATRIAs posibilitó la introducción y el amplio desarrollo normativo de la Producción Integrada en Andalucía. La puesta a punto de los diferentes Reglamentos Técnicos para cada cultivo ha supuesto un enorme esfuerzo de experimentación y desarrollo para el establecimiento de métodos de conteo, umbrales de tratamiento y dosis recomendadas para el control racional de las diferentes adversidades.

- La realización de campañas fitosanitarias contra la mosca del olivo, la mosca de la fruta, la langosta y otras plagas y enfermedades.
- Las prospecciones fitosanitarias sobre diferentes organismos se han utilizado de manera frecuente para la detección precoz de plagas y enfermedades de especial gravedad y sobre las que existían sospechas sobre su presencia en Andalucía.
- La Red de Alerta e Información Fitosanitaria, que suministra información sobre la incidencia de las adversidades y las medidas de control recomendadas en cada caso.

LA SITUACIÓN ACTUAL

La ley 1/2003, de creación del Instituto Andaluz de Investigación y Formación Agraria, Pesquera, Alimentaria y de la Producción Ecológica (IFAPA) surge como respuesta a la necesidad de introducir cambios estructurales y organizativos en el sistema de la I+D+I agraria, pesquera y alimentaria dependiente de la Junta de Andalucía. En el Instituto se integran los medios materiales y humanos procedentes de la antigua Dirección General de investigación y Formación Agraria y Pesquera de la CAP. En la actualidad, el IFAPA dispone de 19 centros distribuidos por toda la geografía andaluza.

Una novedad reseñable de esta ley es la creación de las especialidades de Investigador y de Técnico Especialista en materias agrarias y pesqueras, que cuentan con un sistema específico de ingreso y promoción dentro del sistema general de la función pública andaluza. Esta especificidad radica en la valoración de los méritos de investigación, de transferencia de tecnología y de formación.

Los Estatutos del Instituto, aprobados mediante el Decreto 359/2003, establecen siete áreas de actuación. La Protección de los Cultivos es una de estas siete áreas. Cada área tiene adscritas una serie de plazas de investigador y técnico especialista en la red de centros del IFAPA.

El Decreto del Presidente 11/2004 sobre reestructuración de Consejerías, creó la nueva Consejería de Innovación, Ciencia y Empresa (CICE), y estableció que el Instituto de Investigación y Formación Agraria y Pesquera pasara a depender de esta, desvinculándose orgánicamente de la CAP.

La situación actual plantea una paradoja desde el punto de vista funcional: una gran parte de la experiencia práctica y del personal cualificado se ubica en la red de laboratorios de sanidad vegetal, mientras que los medios materiales y la estructura organizativa y de promoción profesional adecuada a este tipo de trabajos reside actualmente en el IFAPA.

Es absolutamente imprescindible reforzar y mejorar los mecanismos de coordinación entre los distintos órganos administrativos implicados, para atender de forma eficiente y ágil las demandas del sector agrario en materia de sanidad vegetal.

PERSPECTIVAS

En la actualidad, el IFAPA esta desarrollando una serie de herramientas para poder atender esas demandas tecnológicas, formuladas tanto por parte de la Dirección General de la Producción Agraria, como del sector privado. Entre los instrumentos más importantes, podemos citar:

- Demandas institucionales. El Instituto elabora y ejecuta planes de actuación específicos en materia de I+D fitosanitaria encargados por la Dirección General de Producción Agraria, con el objetivo de abordar cuestiones de interés general en nuestra Comunidad Autónoma. En la actualidad se vienen realizando actuaciones específicas, como la formación para el carnet de aplicador de fitosanitarios, los cursos de cualificación para producción integrada y trabajos encaminados al control del ácaro del aguacate, del picudo rojo de las palmeras y de insectos en cultivos 2 plástico.
- Orden de incentivos a los proyectos de I+D+I presentados por las empresas. La Orden de 16 de mayo de 2005 de la CICE refunde todas las líneas de subvención existentes en esta Consejería hasta la fecha en una norma única, que también incluye a la convocatoria de proyectos concertados del IFAPA. Esta nueva orden establece un sistema de incentivos a las empresas que presenten, entre otras propuestas, proyectos de I+D+I en colaboración con grupos de investigación del Plan Andaluz de Investigación, procedentes de las Universidades, el Consejo Superior de Investigaciones Científicas y el propio IFAPA. Está prevista la inminente publicación de una nueva orden de incentivos para, al menos, el periodo 2007/2008.
- Convenios de colaboración. El IFAPA realiza actuaciones concertadas con distintos organismos y empresas, para alcanzar objetivos de interés común para ambas partes. La participación del Instituto en los proyectos de I+D+I presentados por las empresas a la orden de incentivos anteriormente comentada es un ejemplo típico de colaboración. Durante el año 2006 se han establecido más de 60 convenios, varios de ellos para actuaciones en materia de I+D+I fitosanitaria.

EL SERVICIO DE ASESORAMIENTO DEL IFAPA

La integración del Instituto en la CICE está suponiendo una profunda reorganización funcional. En la actualidad se trabaja intensamente en la definición y el desarrollo de un modelo de gestión del conocimiento, basado en la utilización intensiva de las Tecnologías de la Información y las Comunicaciones (TIC). Este modelo de gestión permitirá el uso de una serie de herramientas muy variadas (búsquedas específicas, resultados de la organización, consultas on-line, recursos didácticos, etc) que permitirán acceder a una cantidad ingente de información en tiempo real, lo que mejorará enormemente la eficacia del trabajo desarrollado por los miembros de la organización.

Este modelo de gestión del conocimiento no es nuevo en la empresa privada multinacional, aunque su introducción en un organismo público de investigación supondrá una importante innovación en el sistema de I+D+I nacional.

El sector agrario y pesquero podrá beneficiarse de forma directa de este aumento de eficacia en la gestión interna del Instituto gracias a la próxima implantación del Servicio de Asesoramiento del IFAPA. Se pretende, en colaboración con la CAP y con otros organismos interesados, cubrir la demanda tecnológica que los diferentes servicios de asesoramiento gestionados por entidades sin ánimo de lucro, van a generar a corto plazo.

A través de este Servicio de Asesoramiento cualquier usuario de Internet podrá acceder de forma directa y en tiempo real a los contenidos de los gestores documentales del IFAPA y de otras organizaciones asociadas, plantear cuestiones concretas , utilizar recursos didácticos y herramientas informáticas que faciliten la toma de decisiones para el riego, las aplicaciones de fitosanitarios, la elección de maquinaria, la gestión económica de las explotaciones, entre otras cuestiones.

CONCLUSIONES

La situación de crisis generalizada que las reformas de la PAC están provocando en el sector agrario y la creciente sensibilización del conjunto de la ciudadanía de la UE hacia la utilización de productos fitosanitarios hace necesario replantear los esquemas clásicos de trabajo. En ese sentido, el mantenimiento y la mejora de la competitividad en el sector agrario en general y en el subsector fitosanitario en particular pasa por mejorar y reforzar los mecanismos de colaboración entre las Administraciones públicas y el sector privado para elevar la eficiencia de las actuaciones.

Las Tecnologías de la Información y las Comunicaciones son uno de los

instrumentos más potentes para conseguir esta mejora de eficiencia, y van a provocar a corto y medio plazo una serie de cambios drásticos en la forma de gestionar y utilizar los recursos públicos y privados destinados a la I+D+I.

PERSPECTIVAS DE LAS TÉCNICAS DE BIOCONTROL

Pedro Urbano Terrón.

Catedrático de Fitotecnia del Departamento de Producción Vegetal: Fitotecnia. Universidad Politécnica de Madrid

1. CONSIDERACIONES PREVIAS

En primer lugar, parece oportuno señalar que las Técnicas de Biocontrol que voy a considerar en esta Ponencia se refieren al ámbito de la Sanidad Vegetal que es el marco en el que se desarrolla este Symposium. No consideraré, en consecuencia, las Técnicas de Biocontrol que puedan aplicarse en otros ámbitos de la actividad agrícola, como pueden ser las utilizadas en el mantenimiento de la fertilidad del suelo.

También debo señalar que mi actuación, tanto científica como profesional, en el campo de la agronomía, se inscribe en el área de la Producción y no en el de la Protección Vegetal. Al ser fitotécnico y no fitopatólogo, no puedo abordar el tema en la dirección de la Fitopatología –en la que ya he visto en el Programa de las Jornadas que hay nutridas intervenciones encomendadas a auténticos especialistas– sino que lo haré en el sentido en el que estas técnicas, aunque en relación directa con la sanidad vegetal, puedan afectar a diferentes aspectos de la producción agrícola. En consecuencia, me gustaría completar el título de esta Ponencia con el de "*Perspectivas de las técnicas de biocontrol en sanidad vegetal y su repercusión en la producción agrícola*".

Las preocupaciones que se plantean en la hora actual, tanto desde el punto de vista de la sostenibilidad agraria como del respeto al medio ambiente y la conservación de la biodiversidad, para el desarrollo de una agricultura productiva –incluso con diferentes grados de intensidad– moti-

van que es necesario reflexionar y plantear actuaciones más globales para la defensa razonada o integrada de los cultivos.

En este marco, en la defensa integrada con carácter global, es en el que considero que tienen cabida las técnicas de biocontrol en la producción agrícola. Por carácter global entiendo que las técnicas de protección integrada pueden completarse o ser complementarias de otras técnicas utilizadas en la producción agrícola.

Etimológicamente, se podrían definir las técnicas de biocontrol como el conjunto de actuaciones que se apoyan en una base biológica; es decir, técnicas que tienen su fundamento en los organismos vivos y en las sustancias de origen natural sintetizadas por ellos o producidas durante su evolución y/o descomposición. Volviendo la oración por pasiva y aunque sea una consideración restrictiva que puede reducir muchas posibilidades, también podrían definirse como el conjunto de técnicas aplicadas en la producción agraria que no utilizan productos obtenidos por vía química.

2. EL BIOCONTROL EN LA PRODUCCIÓN VEGETAL

Como señalaba anteriormente, entre los retos que plantea la agricultura moderna figura el de coordinar la productividad con el respeto al medio ambiente y la conservación de la biodiversidad. Es necesario mantener las producciones agrícolas para garantizar el suministro a los mercados y a las industrias agroalimentarias de productos y materias primas en cantidad suficiente y con calidad irreprochable, pero al mismo tiempo es exigible que este objetivo se consiga sin causar daño ni alterar el equilibrio en el que se desarrollan los diferentes ecosistemas.

Sin embargo, los productos químicos de síntesis, de los que con toda seguridad se ha abusado durante la segunda mitad del siglo XX, no son el mejor medio para garantizar un medio ambiente exento de residuos o de contaminaciones indeseables. Se considera, con mayor o menor razón, que los productos químicos de síntesis utilizados en agricultura son responsables de la contaminación de la mayor parte de los biotopos, del empobrecimiento de la biodiversidad y de la polución del aire o de las aguas superficiales y subterráneas necesarias para la vida del planeta.

Por ello, al igual que ocurre con otros aspectos de la producción vegetal, es necesario utilizar tecnologías limpias que puedan representar una alternativa al empleo de productos químicos de síntesis (fitosanitarios, fertilizantes, etc.) o, en otro caso, que puedan ser complementarios de ellos para que los procesos productivos de nuestros sistemas agrarios y alimentarios sean más naturales y más sostenibles (Urbano, 2002). En el campo de la sanidad vegetal, la integración de los tratamientos fitosanitarios con las técnicas

agronómicas modernas, ha sido, en los últimos decenios del siglo pasado, un tema incuestionable y podrá, en lo sucesivo, incrementarse en forma sorprendente. Esta alternativa es la que pretendo poner de manifiesto en mi exposición.

3. TÉCNICAS DE BIOCONTROL

Entre las diferentes técnicas de biocontrol, me referiré a tres tipos de estas técnicas en las que, de diferentes maneras, estamos trabajando durante estos últimos años en el Departamento de Producción Vegetal Fitotecnia, de la UPM, y en colaboración con el Departamento de Agroecología del Centro de Ciencias Mediaoambientales del CSIC, en Madrid.

Por una parte, el conocimiento desde hace ya muchos años de que las plantas producen sustancias capaces de presentar actividad fitosanitaria en ámbitos tan diversos como son sus efectos sobre los insectos, hongos, bacterias, nematodos, virus y, también, en las relaciones alelopáticas entre las plantas cultivadas y otras plantas superiores (vegetación adventicia o malas hierbas para los cultivos), abre un horizonte de alcance incuestionablemente amplio y prometedor para que, en el futuro, las acciones fitosanitarias se realicen utilizando productos naturales con el mínimo deterioro del medio ambiente. Bajo la denominación genérica de biopesticidas, se dispone actualmente de un importante número de moléculas de origen vegetal que, al utilizarlas de muy diferentes maneras, pueden considerarse como técnicas de biocontrol.

Aunque existen diferentes interpretaciones relativas al alcance del término biopesticida, optaremos por la definición más amplia aceptando que comprende todas las moléculas de síntesis biológica con actividad fitosanitaria.

Otro aspecto en el que estamos trabajando es el aprovechamiento de subproductos y residuos de la agricultura y de las industrias agroalimentarias en el control de determinados patógenos del suelo. El efecto biocida de determinados subproductos agroindustriales, como son los procedentes de las industrias oleícola, vitivinícola y remolachera, así como de los residuos ganaderos, permite su aplicación como biofumigantes para el control de nematodos y hongos del suelo, patógenos de los vegetales. Esta tecnología permite reducir o eliminar el uso de los fumigantes que se vienen utilizando en los cultivos hortícolas y en la replantación de viñedos y frutales.

Finalmente, una tercera posibilidad en las técnicas de biocontrol corresponde a las opciones que nos brinda la moderna biotecnología con los vegetales modificados genéticamente (plantas o variedades transgénicas). Aunque en el ámbito científico está suficientemente claro el concepto y el

alcance de la ingeniería genética y de la biotecnología, puede ser oportuno concretar el sentido con que utilizaremos estos términos en esta Ponencia.

Conceptualmente, se designa la Biotecnología como "*la utilización de organismos vivos, o parte de los mismos, para obtener o modificar productos, mejorar plantas o animales, o desarrollar microorganismos para fines específicos*" (Albert, 1997). A su vez, la ingeniería genética "*es un conjunto de técnicas que permiten alterar las características de un organismo mediante la modificación dirigida y controlada de su genoma, añadiendo, eliminando o modificando alguno de sus genes*" (SEBIOT, 2000).

Para obtener una variedad mejorada mediante ingeniería genética no es necesario que entre en juego, o se actúe, sobre el genoma completo de una planta, sino que se puede actuar con la máxima precisión operando sobre un gen, o sobre un conjunto limitado de genes, para obtener una variedad que exprese alguna o varias características mejoradas.

Una planta transgénica *"es una planta cuyo genoma ha sido modificado mediante ingeniería genética, bien para introducir uno o varios genes nuevos o para modificar la función de un gen propio. Una vez realizada la inserción o modificación del gen, éste se comporta y se transmite a la descendencia como uno más de los genes de la planta"* (SEBIOT, 2000).

4. UILIZACIÓN DE BIOPESTICIDAS

Se sabe desde hace aproximadamente un siglo (y las investigaciones siguen multiplicándose sobre este tema) que las plantas producen un gran número de sustancias que actúan sobre distintos animales y sobre otras plantas. Estas acciones, favorables, perjudiciales o incluso mortales, se dirigen a especies diana con las que la planta que las produce mantiene relaciones de cohabitación (sustancias atrayentes) o de defensa (sustancias repelentes o tóxicas) y han permitido a las plantas relacionarse con sus enemigos naturales a lo largo de su evolución.

Hay, en consecuencia, moléculas sintetizadas por los organismos vivos susceptibles de presentar acción insecticida, fungicida, nematicida o herbicida que merecen ser inventariadas, valoradas y utilizadas, en su caso, por sus efectos fitosanitarios. Considerar estas sustancias en la protección de los cultivos, es una técnica de biocontrol que ya se está realizando y que debe incrementarse notablemente en el futuro. Por el tiempo disponible, me referiré brevemente a la utilización de estas sustancias como insecticidas, nematicidas y herbicidas.

4.1. Fitoinsecticidas

Por razones tróficas, generalmente, los insectos fitófagos se relacionan en la naturaleza con las diferentes especies vegetales, pero algunas de éstas, por su composición química, tienen propiedades insecticidas. El número de moléculas con actividad sobre los insectos que se han identificado en los vegetales, es sorprendentemente considerable y ahora se conoce con bastante precisión su modo de acción sobre los animales. Es posible su utilización para detener o eliminar los depredadores.

A diferencia de las feromonas que son moléculas o compuestos no alimentarios producidos por un organismo que afectan al comportamiento o la biología de individuos de la misma especie, los fitoinsecticidas son producidos por las plantas y afectan a los insectos, son especies diferentes y se consideran moléculas o compuestos aleloquímicos. En los términos más amplios, estos últimos se clasifican como alomonas (beneficiosas para el emisor), kairomonas (beneficiosas para el receptor) y alokairomonas (beneficiosas para ambos) (Regnault-Roger, C., 2004).

Las moléculas aleloquímicas vegetales ejercen sobre los insectos gran variedad de efectos, ya que, según su modo de acción, pueden actuar como sustancias defensivas, tóxicas, repelentes, disuasorias, antifagoestimulantes o inhibidoras de la digestión, atrayentes, inductoras de captura o de puesta, etc.

Los estudios realizados sobre la eficacia de diferentes fracciones de plantas aromáticas, por ejemplo, demuestran que existe gran variación en la sensibilidad de las especies para un mismo aceite esencial o para un mismo compuesto. También se ha comprobado que una misma molécula aleloquímica no ejerce obligatoriamente la misma actividad en los diferentes estados del ciclo reproductor de un insecto; es decir, la sensibilidad de un insecto puede evolucionar en función de su desarrollo fisiológico. Por ello, es muy importante conocer la selectividad y especificidad de las moléculas aleloquímicas vegetales, así como el momento de su aplicación para actuar sobre las especies diana.

Las moléculas aleloquímicas vegetales pertenecen al metabolismo secundario. Son polifenoles, terpenos, alcaloides o glucósidos cianogénicos (Strebler, 1989) que se degradan fácilmente por vía enzimática y, hasta ahora, no se ha descrito ningún fenómeno de bioamplificación. En el marco de una utilización más generalizada de estos compuestos como insecticidas, es necesario seleccionar solamente moléculas que no manifiesten efectos secundarios indeseables para la salud humana, ni para otros organismos diferentes a los insectos diana.

Como ocurre con los antibióticos, un fitoinsecticida puede generar casos de resistencia si las aplicaciones de este compuesto se hacen de manera sis-

temática, repetidas y sin criterio. Es necesario, por ello, limitar las aplicaciones frecuentes y variar, en la medida de lo posible, las formulaciones asociando varios compuestos con modos de acción diferentes.

4.2. Fitonematicidas

Los problemas fitosanitarios planteados por los nematodos fitoparásitos tienen una incidencia económica muy importante a escala mundial pues atacan tanto a los grandes cultivos (cereales, patata, remolacha azucarera, etc.), como a los hortícolas, frutales, plantas de flor y ornamentales. Aunque los daños son difícilmente cuantificables debido a numerosas interacciones que los relacionan con otros patógenos fúngicos o bacterianos, se considera que provocan una pérdida no inferior al 10% de la producción mundial.

Teniendo en cuenta la extrema resistencia de estos parásitos, su gran variabilidad fisiológica y el hecho de ser parásitos telúricos, es muy difícil combatirlos. Los métodos convencionales más empleados (desinfección del suelo con ayuda de nematicidas químicos que actúan por desprendimiento de gases tóxicos o mediante tratamiento a los cultivos con ayuda de nematicidas sistémicos) plantean serios problemas. En primer lugar, debido a la dificultad para alcanzar a los nematodos en los horizontes profundos del suelo y, además, porque estos nematicidas forman parte de los pesticidas más tóxicos, generan acumulación de residuos en las cosechas y son costosos. Finalmente, en relación con el medio ambiente, muchos de estos productos no son selectivos y destruyen sin distinción los microorganismos útiles y perjudiciales del suelo, que llega a convertirse en un soporte estéril que puede, a su vez, recolonizarse fácilmente por organismos indeseables. Presentan también riesgos de contaminación no despreciables para las aguas freáticas, las fuentes y los ríos.

Además de los tratamientos convencionales esencialmente químicos, los nematodos fitoparásitos pueden eliminarse total o parcialmente de los cultivos mediante tratamientos alternativos que se apoyan en la capacidad intrínseca de algunas plantas para resistir a estos parásitos. Me referiré especialmente a los diferentes mecanismos que las plantas ponen en juego para luchar contra estos parásitos y que son el fundamento de los métodos alternativos en la defensa frente a los nematodos.

Uno de los mejores métodos de lucha alternativa consiste en explotar las posibilidades que ofrece la resistencia natural de las plantas o las toxinas nematicidas que ellas producen. Las plantas pueden defenderse de los nematodos por la liberación de determinadas sustancias en los exudados que pueden actuar por efecto repelente o nematostático, por inhibición de la eclosión de los huevos o por envenenamiento de los nematodos. Desde el

punto de vista fitotécnico, estas plantas son utilizables en las rotaciones con cultivos sensibles, ya sea en cultivo intercalar o asociado, formando parte de las estrategias de biocontrol en la producción vegetal (Urbano, 2002).

Otras sustancias presentes en diferentes partes de los vegetales pueden ser tóxicas para los nematodos al actuar envenenando a las larvas desde su penetración en la planta o bloqueando su desarrollo y multiplicación. Lo mismo que las anteriores, las plantas que producen estas sustancias pueden utilizarse en las rotaciones de cultivos, pero especialmente como cultivos intercalares para disminuir el potencial de infección de los suelos.

Las fitoalexinas son sustancias antibióticas que limitan el desarrollo del agente invasor y son producidas en la planta como reacción a una infección. Cada familia botánica sintetiza fitoalexinas químicamente diferentes. Así, las Fabaceae producen isoflavonoides, las Asteraceae excretan poliacetilenos y las Solanaceae y Malvaceae elaboran terpenoides (Veech, 1982).

De una variedad de soja (*Glycine max*) se ha extraído gliceolina que es una fitoalexina nematostática específicamente activa sobre larvas de Meloidogyne incognita. Se han aislado tres isoflavonoides de la Judía de Lima (*Phaseolus lunatus*) y de una variedad de granos rojos de judía común (*Phaseolus vulgaris*): se trata, respectivamente, del cumestrol y de la psoralidina (nematostáticos específicos para *Pratylenchus scribeni)*, y de la faseolina, tóxica para *P. penetrans*.

De diferentes cultivares americanos del algodonero (*Gossypium hirsutum*), se han extraído derivados del gosipol, aldehidos terpenoides nematostáticos para *M. incognita*. De la patata (*Solanum tuberosum*), se ha extraído risitina, sesquiterpenoide nematostático para *Dytilenchus dipsaci y D. destructor*.

Se ha comprobado que la mayor parte de estas sustancias nematicidas naturales pueden tener una actividad sistémica al ser transportadas por la savia. Además, son degradables y no contaminantes, por lo que podrían utilizarse como base para la síntesis de nuevos nematicidas.

4.3. Fitoherbicidas

Hay actualmente una actividad investigadora importante para conocer mejor los efectos alelopáticos de las especies cultivadas sobre las malas hierbas con el objetivo de reducir el uso de herbicidas. Como ejemplo, ya sabemos que los exudades radiculares del sorgo (*Sorghum bicolor*) contienen sorgoleona que inhibe el crecimiento de numerosas adventicias.

La casi totalidad de las moléculas caracterizadas como agentes alelopáticos son metabolitos secundarios de los vegetales; es decir, compuestos que

no ejercen acción directa a nivel de actividades fundamentales del organismo (crecimiento, desarrollo, reproducción, etc.).

La extraordinaria diversidad del metabolismo vegetal es el origen de varias decenas de millares de estructuras que pueden agruparse en tres grandes categorías: compuestos fenólicos, terpenos y alcaloides. Proceden principalmente del ácido sikímico, de la acetil-CoA y del ácido mevalónico, por lo que existen lazos estrechos, a través de estas moléculas bisagra, entre las grandes funciones fisiológicas de los vegetales (fotosíntesis y respiración) y la producción de metabolitos secundarios potencialmente alelopáticos. Su importancia cuantitativa en los vegetales es extremadamente variable y está controlada por factores genéticos y medioambientales. Por ello, su aparición y/o acumulación coincide frecuentemente con alguna de las fases del desarrollo y está fuertemente regulada por las condiciones medioambientales.

En el suelo aparecen por los exudados radiculares liberados por raíces sanas o heridas. La exudación radicular presenta un interés particular para los fenómenos alelopáticos porque se trata de una vía de liberación directa de toxinas en la rizosfera que puede influir sobre la composición de la población microbiana.

También aparecen en la descomposición de los residuos vegetales ya que las sustancias potencialmente alelopáticas están presentes en todos los tejidos de las plantas observándose frecuentemente en agricultura efectos alelopáticos de los residuos de un cultivo sobre los rendimientos del cultivo siguiente. Sabemos que durante la descomposición de determinados residuos vegetales en el suelo, una parte puede volatilizarse y afectar a la germinación y al crecimiento de las plántulas. Son conocidos los efectos negativos del cultivo de alfalfa (*Medicago sativa*) sobre la germinación de las propias semillas de alfalfa y sobre el crecimiento de sus plántulas.

Se debe tener en cuenta que el suelo influye de una manera decisiva en la evolución de los compuestos con actividad alelopática en función de sus propiedades físicas, químicas y biológicas. Los coloides del suelo pueden adsorber la mayor parte de estas sustancias y se pueden también formar complejos con los ácidos húmicos, lo que puede generar una pérdida temporal de la actividad alelopática que, a su vez, es reversible. También puede producirse inactivación de estos compuestos por degradación microbiana que produce su transformación química con posibilidad de aparición de nuevos compuestos alelopáticos. En cualquier caso, el conocimiento del papel del suelo en los mecanismos alelopáticos es fundamental pero, hasta ahora, resulta complejo y mal conocido.

Lo más significativo de las investigaciones en alelopatía ha correspondido a los efectos apreciables de los compuestos alelopáticos sobre la germinación

y el crecimiento. Estos efectos se han determinado con extractos de plantas (hojas, raíces, etc.) aún cuando las moléculas no hayan podido identificarse en muchos casos. Este es el caso, por ejemplo, de los ensayos sobre fitotoxicidad del sorgo en el que se ha comprobado que los extractos de tallos, hojas y raíces inhiben el crecimiento y el desarrollo de plántulas de trigo.

Entre la gran diversidad de moléculas procedentes del metabolismo secundario de las plantas, los ácidos hidroxámicos constituyen una familia química importante en numerosas gramíneas. Se encuentran, por ejemplo, en diferentes variedades de trigo (*Triticum aestivum*), maíz (*Zea mays*), sorgo (*Sorghum sp.*) o centeno *(Secale cereale*). Por el interés agronómico y económico de estos cereales productores de ácidos hidroxámicos, se han desarrollado numerosos trabajos para conocer su papel en el desarrollo de estos cultivos. Estos trabajos han revelado la participación de los ácidos hidroxámicos en la resistencia de los cereales a los insectos, hongos o bacterias patógenas, en la desintoxicación de algunos herbicidas y en su potencial alelopático para algunas plantas.

5. UTILIZACIÓN DE RESÍDUOS Y SUBPRODUCTOS AGROINDUSTRIALES

La biofumigación es una técnica que permite aprovechar la acción de las sustancias volátiles procedentes de la biodegradación de la materia orgánica y de los productos de su descomposición, en el control de patógenos vegetales de origen edáfico. La biofumigación se ha aplicado en el control de nematodos, hongos, insectos y plantas adventicias con una eficacia similar a la de los pesticidas convencionales (Bello *et al.*, 2000).

La experiencia de nuestro equipo de investigación en el campo de la biofumigación corresponde a la participación en dos proyectos de investigación, *"Prevención de la contaminación de suelos mediante el uso de biopesticidas y mejoradores orgánicos obtenidos a partir de subproductos agroindustriales y ganaderos"*, del que es investigador principal el Dr. Antonio Bello Pérez, y *"Biorremediación de suelos cultivados mediante la aplicación de productos obtenidos de melazas de remolacha"*, del que es investigador responsable el autor de esta Ponencia.

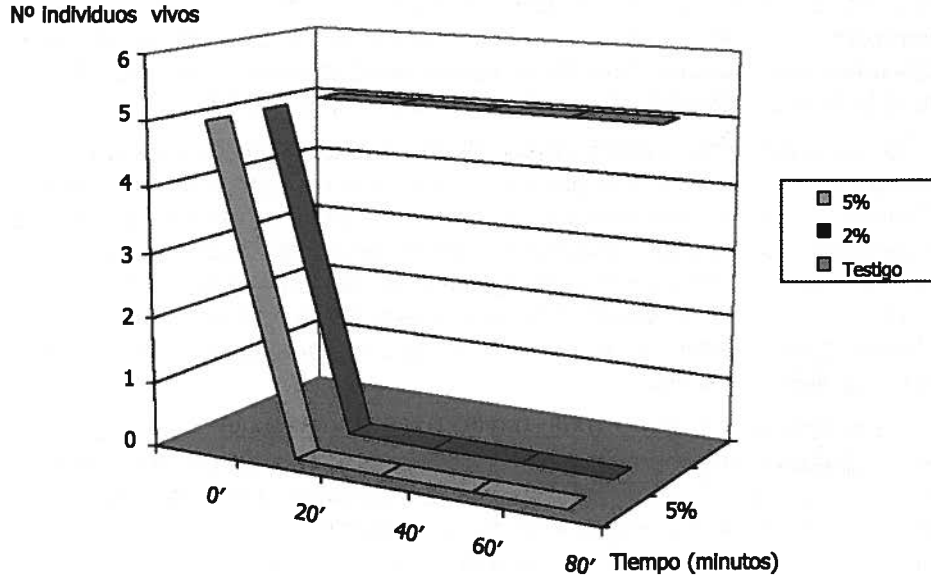
Para el desarrollo de ambos proyectos se seleccionaron suelos con diferentes texturas (arenosos, francos y arcillosos) y reacción (ácidos y básicos) en los que se habían encontrado poblaciones altas del nematodo *Meloidogyne incognita* (especie de mayor incidencia en cultivos hortícolas y viñedo) y de *Xiphinema index* (nematodo de mayor interés en la replantación de viñedo por ser el vector del virus causante de la enfermedad del entrenudo corto de la vid). Para trabajos en remolacha azucarera, se seleccionaron parcelas con altos niveles de infestación de *Heterodera schachtii.*

En nuestras investigaciones hemos utilizado purines de cerdo, alpechín y vinazas de remolacha con los objetivos de conocer su acción fitosanitaria en el control de los patógenos edáficos, antes señalados, en ambientes controlados y de determinar las condiciones de aplicación práctica para su utilización en los cultivos en pleno campo.

Mediante ensayos *in vitro*, en placas de Petri, y en laboratorio, en columnas de tierra, se hizo una primera aproximación de las dosis a aplicar para que los resultados fueran efectivos. Aproximaciones posteriores permitirán confirmar la dosis mínima eficaz en el control de los patógenos y que, al ser mínima, permitirá reducir los impactos que pudiera generar su utilización y abaratar los costes.

En la figura 1, puede observarse el efecto de la vinaza de remolacha sobre *Xiphinema index.* Se comprueba que con concentraciones del 2%, aparecen muertos todos los individuos en un tiempo aproximado de 20 minutos, pero que con menores concentraciones también se consigue una eficacia del 100% frente a este nematodo, aunque con tiempos de exposición más largo (90 minutos).

Figura 1. Efecto de diferentes concentraciones de EVO sobre *Xiphinema index.*



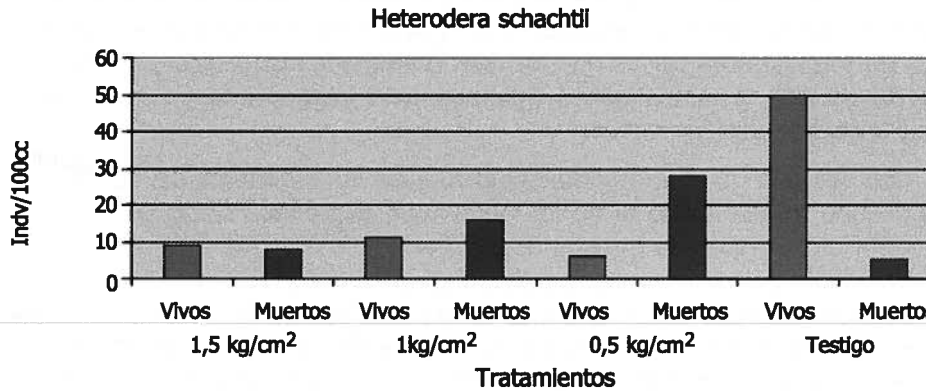
Tratamientos similares realizados sobre *Meloydogine incognita* nos han permitido comprobar que estos nematodos no morían todos en 90 minutos, sino que algunos llegan a sobrevivir durante una semana, aunque murieron finalmente. Esto nos lleva a pensar que el control de este nematodo presenta más dificultad que *X. index.*

En determinaciones en columnas de suelo de 1 m de profundidad, se ha comprobado que es posible el control de estos nematodos a lo largo de la columna siempre que se aporte suficiente agua para que el producto descienda y se distribuya por toda la columna. En las columnas de tierra, se aportaron cantidades de vinaza equivalentes a 5.000, 10.000, 15.000 y 25.000 L/ha.

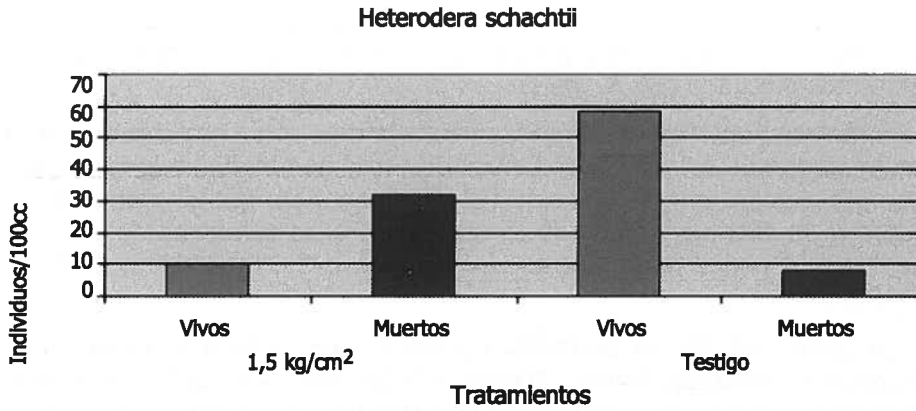
La dosis más alta ha permitido controlar totalmente *a X. index* y a *M. incognita* en toda la columna, pero cuando se han continuado los estudios reutilizando las tierras tratadas con una siembra de tomate, al analizar los índices de nodulación en las plántulas aparecieron infestaciones leves en las raíces de las plantas sembradas en las muestras de tierra que habían recibido las dosis más bajas. Puede ocurrir que para las dosis más bajas, el producto no sea ovicida.

En condiciones de campo, les presento un avance de los resultados de un primer muestreo realizado en dos parcelas en las que este año se ha cultivado remolacha azucarera y en la que se hicieron aportes de vinaza de remolacha en dosis variables entre 5.000 y 15.000 kg/ha. Puede observarse como, en relación con los testigos, el número de individuos vivos de *H. schachtii* es francamente menor en los suelos tratados. Así mismo, la dosis de 5.000 kg/ha se ha mostrado, en el primer caso, con una eficacia comparable a las dosis más elevadas.

Figura 2. Control de H. schachtii en parcelas de campo
Parcela Campillo Bajo (Rota)



Parcela 2005A (Lebrija)



Se ha identificado, por HCPL, la presencia en los horizontes superficiales del suelo (0-20 cm) de compuestos volátiles, como diferentes alquilbencenos y alcoholes alifáticos y la acumulación en horizontes más profundos (>65 cm) de compuestos azufrados, nitrogenados y aldehidos aromáticos, con efecto sobre el control de nematodos. Todos estos compuestos proceden de la descomposición de la vinaza en el suelo.

Estos son algunos ejemplos de los trabajos que estamos realizando con técnicas de biocontrol para la protección fitosanitaria de diferentes cultivos.

6. INNOVACIONES BIOTECNOLÓGICAS

Mediante esta nueva tecnología se pueden diseñar y obtener variedades de cultivo (variedades transgénicas) en las que algunas de sus características valiosas se hayan obtenido mediante ingeniería genética. Estas variedades son "sustancialmente equivalentes" y sólo se diferencian de las variedades no transgénicas de las que derivan (variedades isogénicas), en la presencia de uno o varios genes que han sido incorporados a su genoma mediante ingeniería genética.

Una vez que un gen foráneo es introducido en el genoma de una planta, su destino queda ligado al de los genes que componen dicho genoma. La probabilidad de que sea transferido a especies afines, es la misma que la de los restantes genes y esta probabilidad es diferente para las distintas especies cultivadas según la fertilidad o esterilidad de los híbridos espontáneos que se formen con esas especies. La evaluación de riesgos de dispersión puede realizarse mediante experimentos de campo usando marcadores

genéticos de la especie cultivada para seguirles la pista en las especies silvestres próximas (García Olmedo, 2000).

No debemos ignorar, por otra parte, que la aplicación de la Biotecnología en la agricultura –y muy especialmente en su rama agrícola con los cultivos transgénicos– ha generado una aguda polémica en nuestra sociedad desde el primer momento en que se comenzó a utilizar esta tecnología a escala comercial. Existe una postura de rechazo para los cultivos transgénicos debida a actitudes maximalistas que no quieren reconocer sus posibles ventajas y sólo plantean inconvenientes exigiendo situaciones de "riesgo cero".

Siguiendo a Fernández de Gorostiza (2004), reconocemos que es necesario disponer de nuevas variedades vegetales con mayor y más eficiente capacidad productiva, mejor adaptadas a condiciones adversas y que requieran menos tratamientos fitosanitarios. A continuación se exponen algunos ejemplos sobre las posibilidades que ofrece la ingeniería genética como técnica de biocontrol señalando objetivos ya conseguidos que se están utilizando a nivel comercial por parte de los agricultores y otros objetivos en vías de investigación que se encuentran en las fases de experimentación o de información para su correspondiente autorización comercial.

Resistencia a plagas y enfermedades:

Se incide, por una parte, en el impacto ambiental al disminuir el uso de productos químicos y, por otra, en la obtención de mayores cosechas con menos residuos e, incluso, evitando infecciones secundarias (micotoxinas).

Utilización comercial:

- Variedades de maíz Bt resistentes a taladros y variedades de algodón Bt resistentes a diferentes plagas.
- Variedades de maíz y algodón resistentes a insectos y tolerantes a herbicidas.

Líneas de investigación:

- Algodón Bt (Bolgard II) con mayor espectro de resistencia a insectos parásitos, especialmente *Helicoverpa armigera* (Heliothis) sp.
- Arroz Bashmati resistente a tres clases de insectos, *Milaparvata, Chaphalocrosis* y *Scircophaga sp.* mediante tres genes Bt (Cry1ac, Cry2A y GNA).
- Patata resistente al virus y (PVY).
- Manzano resistente al moteado (*Venturia inaequalis*).
- Ciruelo resistente al virus de la sharka.

Tolerancia a herbicidas:

Permiten utilizar herbicidas de baja persistencia y amplio espectro en el momento oportuno. Incidencia favorable en el aspecto económico y ambiental.

Utilización comercial:

- Variedades de maíz, soja y colza tolerantes a glifosato

Líneas de investigación:

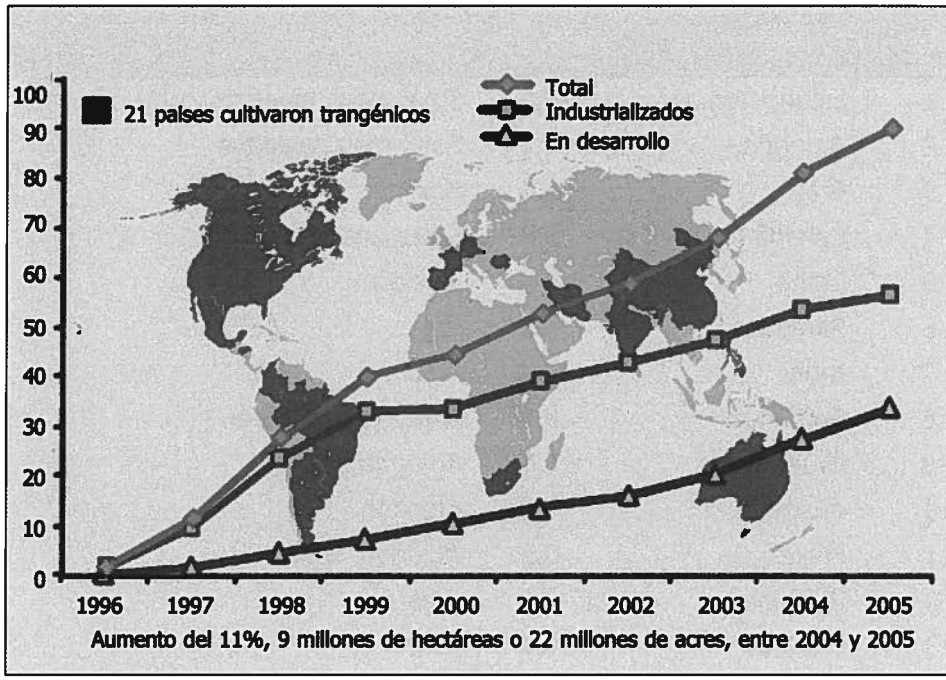
- Trigo y alfalfa tolerantes a glifosato
- Algodón tolerante a herbicida de segunda generación
- *Agrostis stolonifera* tolerante a glifosato

Una triple garantía de seguridad se presenta para las variedades modificadas genéticamente autorizadas:

- *Estudios caso por caso*, realizados por cada empresa o institución para asegurar que las variedades MG no tienen efectos adversos directos o indirectos, inmediatos o diferidos, ni afectan negativamente a la composición de la cosecha.
- *Evaluación científica* independiente, transparente y caso por caso, por las agencias responsables de los países más desarrollados (FDA y EPA en EE UU; Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria, en la UE; AESA y CNB, en España, etc.)
- *Seguimiento* de los resultados de cada MG, en estudios científicos independientes, y desarrollado mediante Planes de Seguimiento bajo control de las autoridades responsables.

El año 2005 marca el décimo aniversario de la comercialización de los cultivos modificados genéticamente alcanzándose, en 2005, una cifra de 90 millones de hectáreas cultivadas (figura 3), con un aumento de 9 millones sobre las cultivadas en 2004, lo que representa una tasa de crecimiento del 11%. En total, desde que se inició el cultivo de variedades MG en 1996, se han cultivado en el mundo 400 Mha.

Figura 3. Evolución de la superficie global de cultivos transgénicos (James, C., 2005)



Fuente: Clive James, 2005

Como puede observarse en la figura 3, hasta el año 2000 la tasa de crecimiento fue mucho mayor en los países industrializados, pero a partir de esta fecha la tasa de crecimiento es sensiblemente paralela en los países en crecimiento y en desarrollo presentándose, a partir de 2004, una tasa de crecimiento más importante en estos últimos países. Significa que, si en principio fueron los países industrializados los que acogieron más entusiásticamente esta tecnología, en la actualidad está calando muy fuertemente también en los países en desarrollo.

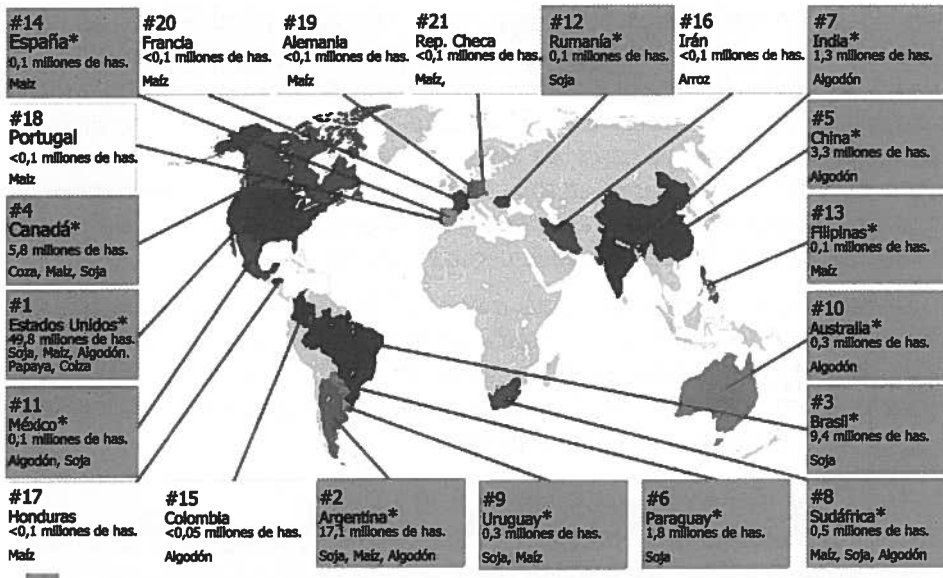
En la tabla 1 se recoge la superficie mundial de cultivos MG en 2005, destacando en este aspecto EE UU, Argentina, Brasil y Canadá. Son, en total, 21 países los que cultivaron comercialmente variedades MG, de los que 14 países dedicaron más de 50.000 ha a estos cultivos (figura 4).

Orden	País	Superficie	Cultivos MG
1	Estados Unidos	49,8	Soja, maíz, algodón, colza, papaya
2	Argentina	17,1	Soja, maíz, algodón
3	Brasil	9,4	Soja
4	Canadá	5,8	Colza, maíz, soja
5	China	3,3	Algodón
6	Paraguay	1,8	Soja
7	India	1,3	Algodón
8	Sudáfrica	0,5	Maíz, soja, algodón
9	Uruguay	0,3	Soja, maíz
10	Australia	0,3	Algodón
11	México	0,1	Algodón, soja
12	Rumania	0,1	Soja
13	Filipinas	0,1	Maíz
14	España	0,1	Maíz
15	Colombia	<0,1	Algodón
16	Irán	<0,1	Arroz
17	Honduras	<0,1	Maíz
18	Portugal	<0,1	Maíz
19	Alemania	<0,1	Maíz
20	Francia	<0,1	Maíz
21	República Checa	<0,1	Maíz

Fuente: ISAAA, James, C., 2005.

Hasta el año 2004, el grupo de los países cultivadores de MG estaba constituido por 17 y en el año 2005 se incorporaron cuatro nuevos países (Portugal, Francia, República Checa e Irán), siendo de destacar que tres de ellos pertenecen a la UE.

Figura 4. Países productores de transgénicos (James, C., 2005)



* 14 paises mega-productores cultivaron 50.000 hectáreas o más de trangénicos

Fuente: Clive James, 2005.

Un informe del Departamento de Agricultura de EE UU de finales de junio de este año, indica que la superficie sembrada, en este país, con variedades MG ha vuelto a crecer un 9,5% en 2006, alcanzándose con los tres principales cultivos las 51 Mha, distribuidas en 26,68 Mha de soja (representa el 89% de la superficie cultivada con esta leguminosa en EE UU), 19,36 Mha en maíz (61% de este cultivo) y 4,96 Mha de algodón (83% de este cultivo).

Por cultivos, las cuatro especies a las que se dedican mayores superficies en el mundo son, por este orden, soja, maíz, algodón y colza (tabla 2).

Tabla 2. Evolución de las superficies dedicadas en el mundo a cultivos MG (Mha).

Cultivo	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005
Soja	0,5	5,1	14,5	21,6	25,8	33,3	36,5	41,4	48,4	54,4
Maíz	0,3	3,2	8,3	11,1	10,3	9,8	12,4	15,5	19,3	21,2
Algodón	0,8	1,4	2,5	3,7	5,3	6,8	6,8	7,2	9,0	9,8
Colza	0,1	1,2	2,4	3,4	2,8	2,7	3,0	3,6	4,3	4,6
Calabaz	--	--	<0,0	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1
Papaya	--	--	0,0	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1
Patata	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	--	--	--	--
Total	**1,7**	**11**	**27,8**	**39,9**	**44,2**	**52,6**	**58,7**	**67,7**	**81,0**	**90,0**

Fuente: ISAAA, James, C., 2005.

La tolerancia a herbicidas continúa siendo la modificación genética más utilizada. Esta tolerancia está disponible para las cuatro grandes especies cultivadas con variedades MG (soja, maíz, algodón y colza). La primera variedad de remolacha tolerante a herbicidas ha sido aprobada en 2005 en EE UU, Australia, Canadá y Filipinas. Variedades de arroz y trigo tolerantes a herbicidas están prácticamente puestas a punto pero aún no se utilizan. En la mayor parte de los casos se trata de tolerancia al glifosato o al glufosinato amónico. En conjunto, la tolerancia a herbicidas, sea como expresión individual o combinada con resistencia a insectos, superan el 70% de las modificaciones genéticas utilizadas comercialmente (tabla 3).

La resistencia a insectos es la modificación genética (Bt) utilizada en segundo lugar. Se combina la característica Bt con la resistencia a herbicidas y se consiguen ambas modificaciones en un solo evento. La expansión reciente de los cultivos Bt se debe principalmente al incremento del maíz Bt y algodón Bt en China, India y Australia.

Tabla 3. Evolución de cultivos MG según tipo de modificación, desde 1996 a 2006 (Mha).

Modificación	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005
Tolerancia a herbicidas	0,6	6,9	19,8	28,1	32,7	40,6	44,2	49,7	58,6	63,7
Resistencia a insectos (Bt)	1,1	4,4	7,7	8,9	8,3	7,8	10,1	12,2	15,6	16,2
Bt+herbicidas-	--	<0,1	0,3	2,9	3,2	4,2	4,4	5,8	6,8	10,1
Resistencia a virus y otros	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1
Total	**1,7**	**11,0**	**27,8**	**39,9**	**44,2**	**52,6**	**58,7**	**67,7**	**81,0**	**90,0**

Fuente:ISAAA, James, C., 2005.

Las modificaciones genéticas que expresan los diferentes cultivos comerciales y su evolución desde 1996 puede analizarse en la tabla 4.

Tabla 4. Evolución de las modificaciones genéticas introducidas en los diferentes cultivos comerciales, desde 1996 a 2005 (Mha).

Cultivos y modificación	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005
Soja tolerante a herbicidas	0,5	5,1	15,0	21,6	25,8	33,3	36,5	42,4	48,4	54,4
Maíz Bt	0,3	3,0	7,0	7,5	6,8	5,9	7,7	9,1	11,2	11,3
Maíz tolerante herbicidas	0,0	0,2	2,0	1,5	2,1	2,4	2,5	3,2	4,3	3,4
Maíz Bt y tol. herbicidas	-	-	-	2,1	1,4	2,5	2,2	3,2	3,8	6,5
Algodón Bt	0,8	1,1	1,0	1,3	1,5	2,1	2,4	3,1	4,5	4,9
Algodón toler. herbicidas	<0,1	0,4	-	1,6	2,1	1,8	2,2	1,5	1,5	1,3
Algodón Bt tol. herbicidas	0,0	<0,1	-	0,8	1,7	1,9	2,2	2,6	3,0	3,6
Colza tolerante herbicidas	0,1	1,2	2,0	3,5	2,8	2,7	3,0	3,6	4,3	64,6
Patata Bt	<0,1	<0,1	<0,1	-	-	-	-	-	-	-
Total	**1,7**	**11,0**	**27,0**	**39,9**	**44,2**	**52,6**	**58,7**	**67,7**	**81,0**	**90,0**

Fuente:ISAAA, James, C., 2005.

Hasta la fecha, las modificaciones genéticas aprobadas para su utilización a escala comercial en la UE, de acuerdo con la Directiva 2001/18/CE, son las que aparecen en la tabla 5.

Tabla 5. Modificaciones genéticas aprobadas para su comercialización en la UE de acuerdo con la Directiva 2001/18/CE

MG	Empresa	Característica	Aprobación
Tabaco	Seita	Tolerancia a bromoxinil	1994
Soja (importación)	Monsanto	Tolerancia a glifosato	1996
Achicoria	Bejo Zaden	Androesterilidad / Tol. glifosato	1996
Maíz CG-176	Ciba-Geigy	Resistencia a taladros	1997
Colzas (3)	PGS / Agrevo	Tolerancia a glufosinato	1997-98
Maíz T-25	Agrevo	Tolerancia a glufosinato	1998
Maíz MON810	Monsanto	Resistencia a taladros	1998
Maíz Bt-11 (imp.)	Northrup King	Resistencia a taladros y glufosinato	1998
Claveles	Florigene	Longevidad / Cambio de color	1998
Maíz NK603 (imp)	Monsanto	Tolerancia a glifosato	2004
Maíz MON863 (imp)	Monsanto	Resistencia a larvas coleopteros	2005
Colza GT73 (imp)	Monsanto	Tolerancia a glifosato	2005
Maíz 1507 (imp)	Pioneer/Mycogen	Resistencia a lepidópteros / Tolerancia a glufosinato	2005
Maíz MON863 x MON810 (imp)	Monsanto	Resistencia a coleópteros y lepidópteros	2006

Hasta el año 2004, los agricultores españoles podían acceder a las siguientes variedades de maíz MG, algunas de ellas registradas en Francia (tabla 6).

Tabla 6. Híbridos de maíz MG registrados y de posible comercialización en España

Variedad de maíz Bt	Evento	Fecha de Registro	Empresa	Inscripción en lista UE
Jordi CB	Bt176	BOE. 26 marzo 1998	Syngenta Seeds S.A.	
Compa CB	Bt176	BOE. 26 marzo 1998	Syngenta Seeds S.A.	
PR33P67	MON810	BOE. 11 marzo 2003	Pioneer Hi-Bred Spain S.L.	17/09/2004
DKC6575	MON810	BOE. 11 marzo 2003	Monsanto Agr. España S.L.	17/09/2004
Aliacant Bt	MON810	BOE. 11 marzo 2003	Nickerson Sur S.A.	17/09/2004
Aristis Bt	MON810	BOE. 11 marzo 2003	Nickerson Sur S.A.	17/09/2004
Brama	Bt176	BOE. 11 marzo 2003	Syngenta Seeds S.A.	
Campero Bt	MON810	BOE 16 febrero 2004	Advanta Ibérica S.A.	17/09/2004
Cuartal Bt	MON810	BOE 16 febrero 2004	Arlesa Semillas S.A.	17/09/2004
DKC6550	MON810	BOE 16 febrero 2004	Monsanto Agr. España S.L.	17/09/2004
Escobar	Bt176	BOE 16 febrero 2004	Syngenta Seeds S.A.	
Gambier Bt	MON810	BOE 16 febrero 2004	Nickerson Sur S.A.	17/09/2004
Jaral Bt	MON810	BOE 16 febrero 2004	Semillas Fitó S.A.	17/09/2004
Protect	MON810	BOE 16 febrero 2004	Koipesol	17/09/2004
PR32P76	MON810	BOE 16 febrero 2004	Pioneer Hi-Bred Spain S.L.	17/09/2004
Levita	MON810	Reg. en Francia 1998	Pioneer Hi-Bred Spain S.L.	17/09/2004
Elgina	MON810	Reg. en Francia 1998	Pioneer Hi-Bred Spain S.L.	17/09/2004
Bolsa	MON810	Reg. en Francia 1998	Pioneer Hi-Bred Spain S.L.	17/09/2004
Olimpica	MON810	Reg. en Francia 1998	Pioneer Hi-Bred Spain S.L.	17/09/2004
Novelis	MON810	Reg. en Francia 1998	Coop. de Pau	17/09/2004
DK513	MON810	Reg. en Francia 1998	Monsanto Agr. España S.L.	17/09/2004

Además de las anteriores, durante el año 2005 quedaron inscritas en el Registro español y en el Catálogo Europeo hasta 34 variedades de maíz Bt derivadas del evento MON810. En el año 2006 se ha autorizado la inscripción de diez nuevas variedades de maíz resistente a los taladros, todas ellas con el evento MON810.

En España, se llevan ocho años cultivando variedades de maíz protegidas contra los taladros. Según Alcalde y Bachmann (2005), en 1998 se inscribieron en el Registro de Variedades Comerciales español dos híbridos de maíz Bt-176, Compa CB y Jordi CB. Desde entonces y hasta 2003, la variedad Compa CB de Syngenta Seeds fue la única variedad MG que se comercializó en España. En el año 2003 se empiezan a cultivar nuevos híbridos de maíz Bt derivados del evento MON810 (tabla 7). Durante estos años, por decisión voluntaria de Syngenta Seeds, se suministró a los agricultores semilla suficiente para sembrar unas superficies próximas a 20.000 ha. Por disposición limitada de semilla, durante el año 2001, la superficie sembrada descendió por debajo del promedio y, desde entonces, hay un incremento claro hasta 2004 en que se superaron las 50.000 ha. En el año 2005 hubo un pequeño descenso de la superficie cultivada debido, fundamentalmente, a las dificultades de todo tipo planteadas a los agricultores para realizar este cultivo.

Tabla7. Evolución de la superficie de maíz Bt cultivada en España (ha).

	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004
Bt176	22.317	24.952	25.816	11.550	23.280	26.085	21.814
Total	22.317	24.952	25.816	11.550	23.280	32.1664	58.000
Superficie Total maíz	519.000	396.063	437.559	577.500	423.272	478.760	483.148
% Maíz Bt	4,3	6,3	5,9	2,0	5,5	6,7	12

Fuente: Alcalde y Bachmann, 2005

¿Es posible la coexistencia de cultivos con variedades MG y otros sistemas de cultivo, como son los convencionales y los ecológicos? ¿Pueden los flujos génicos "contaminar" variedades no transgénicas depreciando su valor comercial o la asistencia a determinados mercados? ¿Existen medidas de control y responsabilidades que salvaguarden el derecho de los agricultores a elegir el sistema de cultivo que consideren más adecuado para su explotación?

Para la Comisión Europea, la idea principal de la coexistencia de cultivos consiste en buscar las mejores formas de no excluir, en el ámbito de la Unión, ningún tipo de agricultura; por ello, entiende por coexistencia la capacidad de los agricultores de escoger, en la práctica, la producción convencional, ecológica o de cultivos modificados genéticamente, siempre que se cumplan las normas legales aplicables al sistema de producción elegido.

En España se ha elaborado un Proyecto de Real Decreto (el primer borrador es de julio de 2005), por el que se hacen públicas las normas sobre coexistencia de los cultivos modificados genéticamente, convencionales y ecológicos. El Proyecto ha sido presentado a los sectores más afectados y estudiado en la Comisión Nacional de Biovigilancia. Este Proyecto normativo ha sido objeto de numerosas y ácidas críticas por diversas organizaciones agrarias y otras de corte ecologista.

La aplicación del R.D. alcanzará a todas las especies vegetales para las que la UE haya autorizado una modificación genética para su cultivo. Las obligaciones de los agricultores que no sólo comportan umbrales de coexistencia sino, también medidas para la aplicación, se refieren a:

- Umbrales de etiquetado
- Medidas a aplicar durante el proceso productivo
- Otras obligaciones generales

Los *umbrales de etiquetado* por debajo de los cuales no será necesario etiquetar un producto como modificado genéticamente (OMG), son los establecidos en el Reglamento (CE) 1829/2003, sobre alimentos y piensos modificados genéticamente (0,9%), a condición de que la presencia de la modificación sea accidental o técnicamente inevitable.

Las *medidas a aplicar* durante el proceso productivo afectan principalmente a:

- Distancias de aislamiento
- Zonas tampón
- Zonas refugios
- Barreras
- Fechas de siembra
- Limpieza de la maquinaria
- Transporte y almacenamiento

Para la vigilancia y control, el Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentación en coordinación con el Ministerio de Medio Ambiente elaborará anualmente un Plan Nacional de Supervisión que aplicará en el ámbito de sus competencias en colaboración con las CC AA. La autoridad competente de las CC AA, debe inspeccionar en el porcentaje que se establezca, las parcelas sembradas y comprobar que se cumplen por parte de los agricultores todos los requisitos establecidos, recogiendo además en un registro, denominado "registro de parcelas", los datos proporcionados por los agricultores y notificarlos al MAPA, quien los integrará en el "registro central", de acuerdo con la Ley 9/2003 que establece el régimen jurídico de la utilización confinada, liberación voluntaria y comercialización de OMG.

Está establecido un régimen de infracciones y de sanciones para el incumplimiento de los citados Reglamento (CE) 1830/2003 y Ley 9/2003.

7. FUTURO DE LAS TÉCNICAS DE BIOCONTROL

Es indudable que nos encontramos ante cambios muy importantes en las tecnologías utilizadas en la producción agrícola. La agricultura del futuro necesitará aplicar tecnologías mejoradas que le permitan optimizar los procesos productivos al utilizar, en cada escenario concreto, los factores de la producción en las condiciones que presenten su mayor eficiencia (Urbano, 2004). En este ámbito de las tecnologías mejoradas, las técnicas de biocontrol han de jugar un papel fundamental en la agricultura del futuro, ya sea como tecnologías de aplicación exclusiva –agricultura biológica o agricultura ecológica– o complementándose con otras técnicas agrarias –agricultura sostenible o agricultura integrada–.

La estrategia ecoquímica que utiliza los biopesticidas de origen vegetal puede considerarse como un método complementario a la defensa química, pero utilizando pesticidas orgánicos de síntesis. También puede ser un método alternativo y, en consecuencia, utilizable en agricultura biológica.

La utilización de estos compuestos en las formulaciones fitosanitarias representa, pues, una estrategia particularmente adaptada a las preocupaciones actuales de mejora de la diversidad, la biodegradabilidad y la selectividad de los tratamientos, lo que conduce a ausencia de residuos tóxicos y respeto de las cadenas tróficas y de la biocenosis.

Otro aspecto de indudable interés es el que se apoya en las relaciones alelopáticas para el control de las malas hierbas. Desde hace una treintena de años, los trabajos dedicados a investigación sobre la alelopatía han aumentado considerablemente. Si hasta la fecha han estado financiados mayoritariamente con fondos públicos, se está comprobando actualmente un interés creciente de las industrias del sector agroquímico por las moléculas alelopáticas. Se prevén dos tipos de aplicaciones: utilización directa de compuestos alelopáticos en la formulación de herbicidas, o mejora genética de plantas cultivadas para que sinteticen naturalmente sustancias con potencial alelopàtico.

En el primer caso, los ejemplos conocidos se refieren a compuestos alelopáticos cuya estructura molecular se ha modificado para aumentar, aún más, su fitotoxicidad. Puede citarse la 1,8-cineola (comercializada bajo el nombre de Cinmetileno®) o, incluso, ciertos ácidos hidroxámicos, para los que se prevé su comercialización en un plazo no superior a tres años (Chiapusio *et al.*, 1997).

Para el segundo caso, mejora genética, se sabe que el potencial alelopático se manifiesta tanto en los cultivares tradicionales como en los híbridos mejorados. Parece ser un carácter poligénico no correlacionado con los genes de interés agrícola. Las posibilidades de cruzamientos entre cultivares con buen rendimiento y cultivares con potencial alelopático frente a las malas hierbas, se están investigando en el IRRI (International Rice Research Institute), en Filipinas, bajo la dirección del Dr. M. Olofsdotter.

La posible aplicación de los conocimientos adquiridos sobre alelopatía, está en consonancia con la actual demanda social, preocupada por una aproximación más respetuosa al medio ambiente de las prácticas agrícolas. Los próximos años serán, pues, primordiales para validar los conocimientos teóricos sobre la eficacia biológica de estas sustancias naturales en la lucha contra las adventicias. En cualquier caso, deberán emprenderse nuevos trabajos para estudiar la biodegradabilidad de estos compuestos alelopáticos, en comparación con la de los herbicidas actualmente comercializados.

Con la biofumigación se podrá integrar la protección de cultivos con la conservación del medio ambiente siguiendo criterios de sostenibilidad económica y medioambiental. Sin embargo, falta mucho por hacer en este campo especialmente en lo que corresponde a las cantidades a aportar y frecuencia con que hay que hacer las aportaciones de los productos orgánicos que se utilicen, modo de aplicación de los productos, lugar en las alternativas, etc. Es muy importante destacar que la biofumigación presenta un aspecto complementario en la conservación de la fertilidad orgánica y mineral de los suelos agrícolas. Este aspecto puede ser suficiente para valorizar esta tecnología y hacerla viable desde aspectos estrictamente económicos y de competitividad.

En el caso de la biotecnología, si unas modificaciones genéticas –tolerancia a herbicidas y resistencia a determinados insectos– han abierto el camino, otras muchas modficaciones han de seguirles en forma ininterrumpida. El proceso de cambios no ha hecho más que empezar.

Como consecuencia de las modificaciones ya autorizadas, se estima que para el año 2010 será posible reducir los tratamientos posteriores a la siembra en los cultivos de variedades transgénicas hasta un tercio de los niveles actuales (García Olmedo, 2000), como consecuencia de la mayor resistencia o tolerancia de estas variedades, de las nuevas técnicas de protección de las semillas y de la posibilidad de empleo de productos más selectivos y eficaces.

Desde el punto de vista de la investigación, se propone que se dediquen medios para realizar más estudios en España ya que este es el país de Europa donde se pueden obtener más datos de campo que complementen a los procedentes de parcelas experimentales o de modelos de simulación.

REFERENCIAS:

ALBERT, A., 1997. *Introducción a la biotecnología.* Págs. 13 a 26 en, Libro verde de la biotecnología en la agricultura. ¿Ilusión o realidad?. SEBIOT. Madrid.

ALCALDE, E. y J. BACHMANN, 2005. *Planes de seguimiento post-comercialización del Bt-176 en España: 1998-2005.* 9ª Conferencia Internacional de ICABR sobre Biotecnología Agrícola: Diez años después. Ravello (Italia).

BELLO, A., J.A. LÓPEZ PÉREZ, L. DÍAZ y R. SANZ, 2000. Biofumigation, solarization and nematode control. *XXV International Nematology Symposium.* Herzliya. Israel.

CHIAPUSIO, G., A.M. SANCHEZ, M.J. REIGOSA, L. GONZALEZ, F. PELLISSIER, 1997. *Do germination indices adequately feflect allelochemical effects on the germination process?* J. Chem. Ecology. 23: 2445-2453.

FERNÁNDEZ DE GOROSTIZA, M.J., 2004. *Regulación de la utilización de organismos modificados genéticamente en agricultura y alimentación.* Curso: Alimentos transgénicos. Cursos de verano de la Fundación General de la Universidad Complutense de Madrid. Comunicación personal.

GARCÍA OLMEDO, F., 2000. *Ingeniería genética: La tercera revolución verde.* Páginas 121 a 137 en *Biotecnología e Ingeniería.* Serie Técnica. Editorial Agrícola Española. Madrid.

JAMES, C., 2005. *Situación global de los cultivos transgénicos/GM comercializados: 2005.* ISAAA (Internacional Service for the Adquisition of Agrobiotech Applications): Resumen Ejecutivo, Brief 34. Ithaca. N.y.

REGNAULT-ROGER, C., 2004. *¿Nuevos fitoinsecticidas para el tercer milenio?* Páginas 19 a 35, en C. Regnault-Roger, B. J.R. Philogene y Ch. Vincent (eds.) Biopesticidas de origen vegetal. Versión española de P. Urbano Terrón. Mundi Prensa. Madrid.

SEBIOT (Sociedad Española de Biotecnología), 1997. *Libro verde de la biotecnología en la agricultura. ¿Ilusión o realidad?* Madrid.

SEBIOT, 2000. *Plantas transgénicas: Preguntas y respuestas.* 5ª ed. Madrid.

STREBLER, G., 1989. *Les mediateurs chimiques.* Techniques et Documentation Lavoisier. París.

URBANO, P., 2002. *Fitotecnia. Ingeniería de la Producción Vegetal.* Mundi Prensa. Madrid. ISBN: 84-8476-037-5.

URBANO, P., 2004. *Medio ambiente y agricultura del futuro: factores limitantes y positivos.* Vida Rural, 200: 78-82.

VEECH, J.A., 1982. Phytoalexins and their role in the resistance of plants to nematodes. J. of Nematology, 14: 2-9.

INSECTICIDAS DE ORIGEN NATURAL: ¿SON COMPATIBLES CON LOS ENEMIGOS NATURALES DE LAS PLAGAS?

Elisa Viñuela

Catedrática de Entomología
Protección de Cultivos. E.T.S.I, Agrónomos

En la actualidad, en la búsqueda de nuevas materias insecticidas, prima en especial sus características favorables tales como selectividad, bajo impacto ambiental y nuevas formas de actuación que puedan retrasar en lo posible el desarrollo de resistencia. Así, en todo el mundo, las sustancias de origen natural están en el punto de mira, debido a su baja persistencia ambiental y a su perfil ecotoxicológico favorable, aunque a veces sean menos eficaces que los insecticidas de síntesis y más caras que los productos convencionales (Zapata *et al.*, 2006). Estas favorables características ambientales, hacen que bajo ciertas premisas de manejo, puedan ser compatibles con los enemigos naturales de las plagas, considerados como pieza clave de la agricultura sostenible (Viñuela, 2005), lo que las hace ser altamente interesantes para ser incluidas en programas de Manejo de Plagas (IPM), ya que una de las herramientas más corrientes a nivel mundial, es el uso conjunto de plaguicidas selectivos y enemigos naturales (Minks, *et al.*, 1998).

El uso conjunto de enemigos naturales y plaguicidas requiere la premisa previa imprescindible de determinar cuales son los productos selectivos para un cierto enemigo, ya que los tratamientos fitosanitarios les suelen afectar más que a las mismas plagas (Croft, 1990). Con la finalidad de dar apoyo a las actividades de IPM, la organización pionera en estos estudios ha sido la OILB (Organización para la Lucha Biológica e Integrada www.iobc-wprs.org cuyo grupo de trabajo *Plaguicidas y organismos beneficiosos* (wg P&OB) empezó su actividad en 1974 (Hassan, 1994). Destaca desde entonces, la normalización y validación de métodos de medida para unos 30 enemigos

(artrópodos, hongos y nematodos entomopatógenos) (Hassan, Bigler, Blaisinger *et al.*, 1985; SamsΔe-Petersen 1990; Candolfi *et al.*, 2000) y la evaluación de unos 160 productos comerciales en gran número de enemigos de interés (Hassan, Albert, Bigler *et al.*, 1987; Hassan, Bigler, Bogenschütz *et al.*, 1983, 1988, 1991, 1994; Sterk, Hassan, Baillod *et al.*, 1999). Pero también hay que estudiar los efectos de los plaguicidas en los enemigos naturales para el registro único europeo, desde que la directiva 91/414 UE entró en vigor (Doce, 1991), pues allí se expresa por primera vez a nivel mundial, la obligatoriedad de hacer estudios ecotoxicológicos en los enemigos naturales, y estos estudios siguen actualmente, las directrices dadas en el Documento Guía elaborado en el año 2001 por representantes de la OILB, EPPO [Organización Europea y Mediterránea para la protección de las plantas, www.eppo.org y BART (asociación de las casas comerciales)] (Candolfi *et al.*, 2001).

El control químico, es aún hoy en día la estrategia más usada a nivel mundial por dar un control rápido y curativo, por no ser necesario planificar su uso y por su coste no elevado, pero el tipo de plaguicidas empleados ha cambiado notablemente, desechándose aquellos con un comportamiento ambiental y un impacto en los ecosistemas menos favorable (Stetter, 1998). Hay dos grandes grupos de insecticidas, los síntéticos y los naturales (Casida & Quistad, 1998), y dentro de estos últimos, podemos distinguir entre *botánicos* (azadiractina, nicotina, rotenona, etc.), *microbiológicos* (virus, bacterias, hongos, nematodos), obtenidos a partir de *actinomicetos* (avermectinas, espinosinas, etc.) e *inorgánicos* (caolín, aceites minerales, azufre, etc.).

Los insecticidas naturales, con independencia de su origen, comparten gran número de características favorables. Son pocos tóxicos para vertebrados [e.j. la DL50 oral aguda para ratas es de 5.000 ppm en el compuesto botánico azadiractina, lo que le convierte desde este punto de vista, en más seguro que algunos productos de uso común como la sal (3.320 ppm) o la aspirina (1.240 ppm) o insecticidas ampliamente utilizados como el piretroide bifentrín (54,5 ppm)]; se usan a dosis mucho más bajas que la mayoría de los productos sintéticos; exhiben algunas nuevas formas de actuación (lo que es muy favorable desde el punto de vista de desarrollo de la resistencia); se degradan rápido en los ecosistemas y son más compatibles con los enemigos naturales (Croft, 1990; Ware, 2000).

INSECTICIDAS BOTÁNICOS

Plantas e insectos llevan juntos millones de años de evolución, y las primeras, ricas en metabolitos secundarios, los utilizan con frecuencia para la defensa. Por ello, el hombre ha usado las plantas desde tiempos remotos

para tratar de controlar muchas de las plagas que afectan a los cultivos: por ejemplo, los chinos, griegos y romanos ya usaban polvos insecticidas-rodenticidas a base de *Veratrum* spp, o de tejo (*Taxus baccata L.*), la azadiractina tan de moda hoy en día, ya se aplicaba hace 4.000 años en las zonas tropicales y la nicotina, rotenona y piretrinas naturales eran compuestos corrientemente utilizados en la agricultura (Philogène *et al.*, 2004).

Hoy en día, hemos vuelto los ojos hacia los insecticidas botánicos, después de que su uso quedara relegado un largo tiempo en especial durante la edad de oro de los productos sintéticos, porque somos conscientes de que gran número de sus metabolitos secundarios, ofrecen excelentes características para ser evaluados como insecticidas, debido a su fácil extracción e identificación estructural y conocemos ya más de 100.000 con al menos 30.000 estructuras químicas diferentes (Harborne, 1982; Schoonhoven *et al.*, 1998; López-Olguín *et al.*, 1999). Estos metabolitos, constituyen una primera línea de defensa frente al ataque de los insectos y su distribución varía notablemente, pudiendo estar a veces sólo en una planta o en especies próximas (Rhodes, 1994), y pudiéndose localizar tan solo en determinados órganos o tejidos o en células especializadas dentro de éstos (Hashimoto *et al.*, 1987).

Con fines insecticidas, de las 200.000 especies del reino vegetal, se han estudiado tan sólo unas 2.000 (Grainge & Ahmed, 1987; Jermy, 1990) y caracterizado unas 900 (Prakash & Rao, 1997), por lo que queda mucho por hacer. Entre las familias más estudiadas están: Compositae, Labiatae, Leguminosae, Meliaceae y Solanaceae (Simmonds, 1997).

Los metabolitos secundarios de las plantas, pueden dividirse en nitrogenados (alcaloides, glucósidos, etc.) y no nitrogenados (esteroides, terpenoides, etc.), aunque se puede considerar una tercera categoría, los fototóxicos, que son aquellos que únicamente se activan en presencia de la luz (Schoonhoven *et al.*, 1998).

El modo de actuación de un insecticida, no tiene nada que ver con su origen y así, los botánicos pueden actuar por ingestión o contacto, tanto en el sistema nervioso (ej. piretrina natural, nicotina), como en mitocondrias (ej. rotenona) o como un RCI (regulador del crecimiento de insectos) (ej. azadiractina). Por ello la gama de efectos que producen es de lo más diversa: efectos tóxicos, estimuladores / inhibidores de la reproducción, estimuladores / inhibidores de la alimentación; atrayentes/ repelentes, alteradores de las hormonas del insecto, alteración de la síntesis de quitina, etc. (Budia *et al.*, 2002; Zapata *et al.*, 2006).

Trichilia havanensis Jacq pertenece a la familia de las Meliáceas conocida sobre todo porque *Azadirachta indica* A. Juss (árbol del nim) y *Melia azaderach L.* poseen una gran cantidad de triterpenopides que alteran el com-

portamiento y la fisiología de gran número de insectos fitófagos al actuar como un RCI (Champagne *et al.*, 1992; Mordue & Blackwell, 1993), comercializándose ya insecticidas que contienen el limonoide azadiractina como ingrediente activo (López-Olguín *et al.*, 1999; Liñán, 2005). *Trichilia,* crece en las regiones tropicales de varios países Norte, Centro y Sur Americanos, donde los agricultores usan sus frutos y hojas para combatir diversas plagas. De sus frutos, hemos aislado los limonoides azadirona, O-acetiltrichelenona y la mezcla (4:1) de 1,7+ 3,7-di-O-acetilhavanesina, que tienen actividad antialimentaria frente a los noctuidos *Spodoptera littoralis* (Boisduval), *Helicoverpa armigera* (Hübner) o la mosca de la fruta *Ceratitis capitata* (Wied.) (López-Olguín *et al.*, 1997,1998, 1999, 2002).

La familia de las Labiadas, también tiene gran variedad de metabolitos secundarios: monoterpenoides, sesquiterpenoides, diterpenoides, glicósidos y flavonoides (Simmonds & Blaney, 1992), y el género *Teucrium* en particular, es rico en diterpenoides neoclerodánicos (Teucjaponina B y Teucvina) que son activos frente a los noctuidos *S. littoralis, Prodenia litura* F., *H. armigera,* la langosta *Locusta migratoria* L. y el escarabajo de la patata *Leptinotarsa decemlineata* L. (Ortego *et al.*, 1995).

Entre los insecticidas botánicos más utilizados desde hace tiempo, se encuentran las piretrinas, ésteres extraidos de *Chrysanthemum cenerariefolium* (Trev.), Asterácea de origen asiático, que tienen un modo de actuación neurotóxico (Ware, 2000).

Ensayos realizados con todos los insecticidas anteriores por ingestión mostraron que en adultos del neuróptero depredador cosmopolita *Chrysoperla carnea* (Stephens) y del parasitoide bracónido muy sensible *Psyttalia concolor* (Szépli.) (Vogt, 2000), los dos productos comerciales ensayados a base de azadiractina y piretrina natural, erán más perjudiciales que los extractos de las plantas. Así, la azadiractina no tenía efecto en la mortalidad, pero inhibía totalmente la fecundidad del crisópido o disminuía el número de huéspedes atacados y la descendencia del bracónido; la piretrina natural +PBO daba mortalidades apreciables en los dos enemigos y los extractos tanto de *T. viscidum* (M1 y M9), como de *T. havanensis* (F12 y F18) eran inócuos (Huerta *et al.*, 2003a b; Medina *et al.*, 2004, 2006; Viñuela *et al.*, 2001; Zapata *et al.*, 2005).

La forma de exposición, tiene mucho que ver con la toxicidad causada, como se comprueba en adultos de varios enemigos al aplicar la piretrina natural+PBO por ingestión, contacto residual o aplicación tópica. En C. carnea, por contacto residual y por ingestión, la mortalidad superó el 80% y no se pudo estudiar la reproducción, mientras que por aplicación tópica la mortalidad fue inferior al 40% y no hubo efecto en la reproducción (Huerta *et al.*, 2003a,b; Medina *et al.*, 2006). En P. concolor, el insecticida fue tóxico

aplicado de cualquier manera, matando prácticamente al 100% de los adultos e impidiendo estudiar su reproducción (Medina *et al.*, 2006). En otro himenóptero, el icneumónido *Hyposoter didymator* (Thunberg), parasitoide de muchas larvas de noctuidos de interés agrícola en España, el insecticida fue totalmente incompatible aplicado residual o tópicamente, mientras que por ingestión, sólo redujo ligeramente la longevidad del enemigo natural (Morales *et al.*, 2005, 2006).

También la azadiractina tiene diferente toxicidad según se aplique, y así, para el parasitoide *H. didymator* aplicada residual o tópicamente es categoría 1 de la OILB, mientras que por ingestión o vía huésped contaminado es categoría 2 (Schneider *et al.*, 2003).

Otro aspecto a tener en cuenta es la formulación., y para azadiractina por ejemplo, si incorpora o no aceites influye en los efectos causados. Así, cuando larvas de *C. carnea* se expusieron a residuos de una formulación comercial española de azadiractina sin aceites (Align®) y una alemana oleosa (Neem-Azal®), ésta última resultó más drástica en sus efectos, que se dieron además en un plazo más breve, aunque las dos fueron incompatibles con el enemigo (Vogt *et al.*, 1998).

De todas maneras, no hay que olvidar que la OILB propone un esquema secuencial de evaluación de los efectos secundarios de los plaguicidas, empezando en el laboratorio donde se le pone al enemigo las condiciones más desfavorables y acabando en el campo (Hassan, 1994), y que los resultados obtenidos con un mismo producto pueden variar notablemente. Así con larvas de *C. carnea,* se pudo comprobar que en laboratorio, dos formulaciones comerciales a base de azadiractina y piretrina natural eran totalmente incompatibles con el enemigo, mientras que en campo eran inocuas (Viñuela *et al.*, 1996).

Un tipo especial de insecticidas botánicos, son los fototóxicos a base de metabolitos presentes en muchas familias de plantas (Umbelliferae, Asteraceae, Rutaceae, etc.), que tienen dobles o triples enlaces en sus moléculas (alcaloides, furanocumarinas, furocromonas, etc.), y que se activan con la luz (Heitz & Downum, 1995). Estos metabolitos, actúan únicamente por ingestión, provocando la muerte de los insectos al alterar el ADN o la comunicación celular y se utilizan corrientemente como aditivos alimenticios o cosméticos o colorantes (azul metileno; floxina; eritrosina; eosina, etc.). Uno de sus usos prácticos hoy en día, se ha enfocado hacia sustituir los insecticidas organofosforados en las pulverizaciones cebo contra las moscas de la fruta (Charmaine, 2005), pero su principal inconveniente es que manchan la fruta, al tener color. En ensayos hechos con la floxina B y el depredador C. carnea, se pudo comprobar que tanto aplicados tópicamente como por ingestión, eran compatibles con el enemigo (Huerta *et al.*, 2004)

INSECTICIDAS MICROBIOLÓGICOS

Los virus, bacterias, hongos y nemátodos son organismos entomopatógenos con gran potencial como insecticidas microbianos (Caballero, 2002).

Los nematodos entomopatógenos, son parásitos obligados de insectos y las especies de los géneros *Steinernema* y *Heterorhabditis* se utilizan corrientemente en control biológico, por tener capacidad de búsqueda y otro buen número de atributos deseables (respetuosos ambientalmente, compatibles con otras técnicas, aplicables con equipos convencionales, etc.) (García del Pino, 2005). Los nematodos, podrían utilizarse contra las moscas de la fruta, dado que una parte de su ciclo ocurre en el suelo. Por ello, en ensayos hechos con las especies *S. feltiae Filipjev, H. megidis Poinar* y *H. bacteriophora Poinar* y el parasitoide de la mosca de la aceituna P. concolor, se observó que cuando el enemigo parasitaba larvas del huésped infectadas, se reducía la emergencia de adultos, en especial con *S. feltiae* (Corrales, 2006), por lo que también este tipo de organismos debe ser evaluado junto con los enemigos naturales, para establecer totalmente su compatibilidad.

Los hongos entomopatógenos incluyen varios cientos de especies pertenecientes a las divisiones Ascomycota, Basidiomycota y Zygomicota, y los grupos más importantes como agentes de control biológico pertenecen a la clase Hyphomycetes (Ascomycota) (Quesada-Moraga, 2002). *Beauveria bassiana* (Bals.) se encuentra normalmente infectando insectos diversos en zonas húmedas de España, y se aplica en la lucha contra moscas blancas, trips, pulgones, etc., por lo que también hay que conocer sus posibles efectos en los enemigos naturales. Cuando los adultos del parasitoide muy sensible P. concolor se expusieron al hongo con diversas técnicas, se redujo la emergencia de adultos más drásticamente por ingestión, luego tópica y residualmente, mientras que vía huésped no tuvo efecto (Corrales, 2006).

INSECTICIDAS OBTENIDOS A PARTIR DE ACTINOMICETOS

Un moderno insecticida aislado del actinomiceto *Saccharopolispora spinosa* Mertz & Yao por fermentación, es el spinosad, que actúa principalmente por ingestión en lepidópteros, dípteros, coleópteros, termitas, hormigas y trips, y que tiene unas favorables características ambientales (Adán *et al.*, 1996; Salgado 1997). Este producto, cuyo ingrediente activo es una mezcla de espinosinas, se considera seguro para muchos enemigos naturales, en especial depredadores, pero puede interferir gravemente con los parasitoides, aunque presenta la ventaja de su corta persistencia ambiental. Así en 228 observaciones recogidas en 52 especies (167 depredadores de 27 especies y 66 parasitoides de 25 especies), se observa que para los depredadores en el 71% de los estudios de laboratorio y el 79% de los de campo

fue categoría 1 de la OILB (inocuo), mientras que para los parasitoides ocurre lo contrario y en el 78% de los estudios de laboratorio y en el 86% de los de campo fue categoría 4 de la OILB (perjudicial) (Williams *et al.*, 2003).

La toxicidad del spinosad para un enemigo natural, puede variar según se exponga éste. Así es muy tóxico se aplique como se aplique (categoría 4 de la OILB), para las larvas L_3 de *H. didymator* (Schneider *et al.*, 2003) y también para los adultos de *P. concolor* (Viñuela *et al.*, 2001), pero para las ninfas del chinche depredador *Podisus maculiventris* (Say), es categoría 4 aplicado por ingestión o categoría 3 aplicado tópicamente (Viñuela *et al.*, 1998).

INSECTICIDAS INORGÁNICOS

Entre los primeros productos aplicados por el hombre en la lucha contra las plagas, se encuentran algunos productos inorgánicos como el azufre, el caldo sulfocálcico, aceites minerales de verano, etc. Sus efectos en los enemigos naturales, depende mucho del producto considerado, siendo a veces tan sólo efectos sutiles en el comportamiento o fisiología. Así el azufre, insecticida- fungicida ampliamente empleado, no provoca ninguna mortalidad en el parasitoide *P. concolor*, tanto en laboratorio cuando se exponen los adultos a residuos frescos, como en semicampo con residuos frescos o de 7 días, pero sin embargo hay menor parasitación pues las hembras parecen estar desorientadas y no encuentran al huésped (categorías de la OILB 3-3-2, respectivamente) (Jacas & Viñuela, 1994; Viñuela *et al.*, 2002).

La mayoría de los compuestos inorgánicos tienen un uso limitado hoy en día, aunque la puesta en el mercado de productos tales como el caolín, ha hecho volver los ojos hacia ellos. El caolín, silicato de aluminio hidratado, es un protector de cultivos que combate el estrés térmico y el golpe de sol pero que también controla eficazmente algunas plagas, como las del olivo (De la Roca, 2003). En ensayos de campo realizados en la provincia de Madrid, pusimos de manifiesto que los enemigos naturales parecen estar ligeramente afectados por él, ya que la riqueza y número de especies capturadas por golpeo en las parcelas tratadas, era menor que la de los testigos (M. González, comunicación personal). El producto, fue sin embargo compatible con larvas del depredador *C. carnea*, cuando se expusieron a residuos frescos en cristal o en hojas (G. Contreras, comunicación personal) y con adultos del parasitoide *P. concolor* (Adán *et al.*, 2006), pues no hubo ni mortalidad ni efecto en la reproducción.

Otro producto inorgánico, un aceite mineral de verano (Volcó Miscible®), también fue totalmente compatible con las larvas del depredador C. carnea por contacto residual (G. Contreras, comunicación personal) y con adultos del parasitoide *P. concolor* (Categoría OILB 1) (Adán *et al*, 2006).

EFECTO DEL ESTADO DE DESARROLLO

El efecto de los plaguicidas, puede variar notablemente con el estado de de desarrollo del enemigo, por lo que la OILB recomienda hacer estudios tanto con el estado más expuesto (adultos de parasitoides, larvas o ninfas de depredadores) como con el más protegido (parasitoides dentro del huésped, adultos de depredadores) (Hassan, 1994), con la finalidad de poder establecer la posibilidad de un uso conjunto manejando la selectividad ecológica (no coincidencia con el estado más sensible).

En muchos enemigos, huevos y pupas, en especial si tienen capullo sedoso, se pueden considerar estados protegidos o menos expuestos, porque pueden ser totalmente compatibles con los plaguicidas, como se comprobó en C. carnea para azadiractina y spinosad (Medina *et al.*, 2001), que eran sin embargo más o menos perjudiciales para larvas y adultos (Medina *et al.*, 2004, 2004; Viñuela *et al.*, 2000). Sin embargo en *H. didymator* las pupas, que también tienen capullo sedoso, parecen ser muy tolerantes a algunos insecticidas como piretrina natural+PBO (categoría OILB 1) (Morales *et al.*, 2006) mientras que los adultos por ej son afectados más o menos dependiendo de la forma de exposición (categorías OILB: 4 residual; 3 tópico; 2 ingestión) (Morales *et al.*, 2005), y son más susceptibles que los huevos que están dentro del huésped a otros productos como azadiractina o spinosad (Schneider *et al.*, 2004; Morales *et al.*, 2006).

Sin embargo, aunque en los parasitoides suele cumplirse que los adultos son mucho más sensibles que cuando están dentro del huésped (Jacas & Viñuela, 1994), no está tan claro para los depredadores que los adultos sean el estado menos expuesto. Así la piretrina natural+PBO fue más tóxica para los adultos tratados tópicamente, que para las larvas de *C. carnea* (Huerta *et al.*, 2003b) (Categorías OILB 2 y 1, respectivamente).

EFECTO DE LA EDAD DEL RESIDUO

Finalmente, la toxicidad de los productos de origen natural, parece ser bastante dependiente de la edad de los residuos, ya que la fotolisis es la principal forma de degradación en muchos casos. Así, la toxicidad del botánico azadiractina, no cambia con el tiempo, pero sí lo hace notablemente la del naturalito spinosad, que resulta muy perjudicial para las larvas L3 de H. didymator recién aplicado, mientras que a los 5 días es ya bastante compatible y a los 10, totalmente inócuo para los adultos (Categoría OILB 4, 2 y 1, respectivamente) (Schneider *et al.*, 2003).

CONCLUSIÓN

Los insecticidas de origen natural, tienen un perfil toxicológico más favorable en general que los productos clásicos y una mayor selectividad para los enemigos naturales. Sin embargo, dada la dificultad de extrapolar resultados entre insecticidas y enemigos naturales por el gran número de factores que influyen (estado de desarrollo, forma de exposición, edad del residuo, etc.), no queda más remedio, que previo al uso conjunto del plaguicida seleccionado y el parasitoide o depredador que nos interesa, se hagan estudios para establecer su compatibilidad o incompatibilidad.

REFERENCIAS

ADÁN A., DEL ESTAL P., BUDIA F. & VIÑUELA E. 1996. Laboratory evaluation of the novel naturally-derived compound spinosad, against *Ceratitis capitata.* Pestic. Sci. 43: 261-268.

ADÁN A., GONZÁLEZ M., BASTANTE R., BUDIA F., MEDINA P., DEL ESTAL P. & VIÑUELA E. 2006. Efectos de diversos insecticidas aplicados en condiciones de laboratorio extendido sobre *Psyttalia concolor. Bol. San. Veg. Plagas* (en prensa)

BUDIA F., ADÁN A., DEL ESTAL P. & VIÑUELA E. 2002. Los insecticidas botánicos: pasado y presente. *Phytoma España* 138: 11-12.

CABALLERO P., 2002. Los principales organismos entomopatógenos y su potencial como insecticidas microbianos. Phytoma España 144, 13-18

CANDOLFI M.P.; BARRETT K.L.; CAMPBELL P.J.; FOSTER R.; GRANDY N.; HUET M.C., LEWIS G.; OOMEN P.A.; SCHMUCK R. & VOGT H. (eds). 2001. *Guidance document on regulatory testing and risk assessment procedures for plant protection products with non-target arthropods.* SETAC. 46 pp.

CANDOLFI M.P., BLÜMEL S., FORSTER R., BAKKER F.M., GRIMM, HASSAN S. A., HEIMBACH U., MEAD-BRIGGS M.A., REBER B., SCHMUCK R. & VOGT H. (eds). 2000. *Guidelines to evaluate side-effects of plant protection products to non target arthropods.* WPRS-SROP. Germany.

CASIDA J.E. & QUISTAD G.B. 1998: golden age of insecticide research: past, present or future? *Ann. Rev. Entomol.* 43: 1-16.

CHAMPAGNE D.E., KOUL O., ISMAN M.B., SCUDER G.G.E. & TOWERS G.H.N. 1992. Biological activity of limonoids from the Rutales. *Phytochemistry* 31: 377-394.

CHARMAINE D. 2005. Comparative evaluation of spinosad and phloxine B as toxicants in protein baits for suppression of three fruit fly species. *J. Econ. Entomol.* 98(4): 1170-1178.

CORRALES E. 2006. Posibilidades de control de las moscas de la fruta con insceticidas biológicos a base de hongos (*Beuaveria bassiana* (Bals.) y de

nematodos (*Heterorhabditis bacteriophora* Poinar, H. *megidis* Poinar y S. *feltiae* Filipjev): eficacia sobre *Ceratitis capitata* y efectos secundarios sobre el parasitoide muy sensible *Psyttalia concolor* (Szèpl.). Trabajo fin de carrera. UPM. Madrid.

CROFT B.A. 1990. *Arthropod biological control agents and pesticides.* John Wiley & Sons. New York. 723 pp.

DE LA ROCA M. 2003. Surround®, crop protectant: la capa protectora natural para cultivos como el olivar. *Phytoma España* 148: 83-85.

DOCE, 1991. Directiva 91/414/EEC relativa a la Comercialización de productos fitosanitarios. *Diario Oficial Comunidades Europeas* (15-7-91) L230: 1-32.

GARCÍA DEL PINO F. 2005. Los nematodos entomopatógenos agentes de control de plagas. En: *El control biológico de plagas, enfermedades y malas hierbas y la sostenibilidad de la agricultura*: 87-112. Jacas J., Caballero P. & Avilla J. (eds). UJI/Univ. Pública Navarra.

GRAINGE M. & AHMED S. 1987. *Handbook of plants with pest-control properties.* John Wiley & Sons. New York. 470 pp.

HARBORNE J.B. 1982. *Introduction to ecological biochemistry.* Academic press. UK

HASHIMOTO T.; KOHNO J. & YAMADA y. 1987. Epoxidation in vivo of hyoscyamine to scopolamine does not involve a dehidration step. *Plant Physiol.* 84: 144-147.

HASSAN S. A. 1994. Activities of the IOBC/wprs working group "Pesticides and Beneficial Organisms". *IOBC/wprs Bulletin* 17, 1-5.

HASSAN S.A.; ALBERT R.; BIGLER F. *et al.* 1987. Results of the third joint pesticide testing programme by the IOBC/WPRS working group *pesticides and beneficials organisms. Z. ang. Ent.* 103: 92-107.

HASSAN S. A.; BIGLER F.; BLAISINGER H. *et al.* 1985. Standard methods to test the side-effects of pesticides on natural enemies of insects and mites. *EPPO Bulletin* 15: 214-255.

HASSAN S.A.; BIGLER F.; BOGENSCHÜTZ H. *et al.* 1983. Results of the second joint pesticide testing programme by the IOBC/WPRS working group *pesticides and beneficials organisms. Z. ang. Ent.* 95: 151-158.

HASSAN S.A.; BIGLER F.; BOGENSCHÜTZ H. *et al.* 1988. Results of the fourth pesticide testing programme by the IOBC/WPRS working group *pesticides and beneficials organisms. J. Appl. ent.* 105: 321-329.

HASSAN S.A.; BIGLER F.; BOGENSCHÜTZ H. *et al.* 1991. Results of the fith pesticide testing programme by the IOBC/WPRS working group *pesticides and beneficials organisms. Entomophaga.* 36: 55-67.

HASSAN S.A.; BIGLER F.; BOGENSCHÜTZ H. *et al.* 1994. Results of the sixth pesticide testing programme by the IOBC/WPRS working *group pesticides and beneficials organisms. Entomophaga.* 39: 107-119.

HEITZ J.R. & DOWNUM K.R. (eds.). 1995. *Light-activated pest control.* ACS Symposium series 616. American Chemical Society. Washington D.C.

HUERTA A., MEDINA P., BUDIA F. & VIÑUELA E. 2004. Evaluación de la toxicidad por ingestión de cuatro insecticidas y el colorante florín-B en larvas y adultos de *Chrysoperla carnea.* Bol. San. Veg. Plagas 30: 721-732.

HUERTA A., MEDINA P., CASTAÑERA P. & VIÑUELA E., 2003a. Laboratory studies with Trichilia havanensis, a botanical pesticide and *Chrysoperla carnea. OILB/IOBC Bull.* 26 (5): 25-32.

HUERTA A., MEDINA P., SMAGGHE G., CASTAÑERA P. & VIÑUELA E. 2003b. Topical toxicity of two acetonic fractions of Trichilia havanensis, and four insecticides to larve and adults of *Chrysoperla carnea. Communications in Agricultural Applied Biological Sciences* 68(4a): 277-286.

JACAS J. & VIÑUELA E. 1994. Side-effects of pesticides on Opius concolor, a parasitoid of the olive fruit fly. *Bull. OILB/IOBC Bull.* 17(10):143-146.

JERMY T. 1990: Prospects of antifeedant approach to pest control. A critical view. *J. Chemical Ecology* 16: 3151-3166.

LIÑÁN C. DE. 2005: Vademecum de productos fitosanitarios y nutricionales 2006. Agrotécnicas S.L. Madrid.

LÓPEZ-OLGUÍN, J.F. ADÁN, A., OULD-ABDALLAHI, E., BUDIA, F., DEL ESTAL, P. & VIÑUELA, E. 2002: Actividad de Trichilia havanensis Jacq. (Meliaceae) en la mosca mediterránea de la fruta *Ceratitis capitata* (Wied.). *Bol. San. Veg. Plagas* 28: 301-308.

LÓPEZ-OLGUÍN J., ARAGÓN A., HANDAL A., VIÑUELA E. & CASTAÑERA P. 1999. Métodos para la extracción y evaluación de actividad de productos vegetales contra insectos. En: *Recursos naturales, medio ambiente y agricultura*: 99-113. Aragón G.A. & López-Olguín J. (eds). BUAP. Puebla. México.

LÓPEZ-OLGUÍN J.; BUDIA F., CASTAÑERA P. & VIÑUELA E. 1997: Actividad de *Trichilia havanensis* Jacq. (Meliaceae) sobre larvas de *Spodoptera littoralis* (Boisduval). *Bol. San. Veg. Plagas* 23: 3-10.

LÓPEZ-OLGUÍN J.; DE LA TORRE C., VIÑUELA E. & CASTAÑERA P. 1998. Actividad de extractos de semillas de *Trichilia havanensis* sobre larvas de Helicoverpa armigera. *Bol. San. Veg. Plagas* 24: 629-636.

MEDINA P., BUDIA F., DEL ESTAL P., ADÁN A. & VIÑUELA E., 2003. Side-effects of six insecticides on different developmental stages of *Chrysoperla carnea. OILB/wprs Bull.* 26 (5): 33-40.

MEDINA P., BUDIA F., DEL ESTAL P. & VIÑUELA E. 2004. Influence of azadirachtin, a botanical insecticide, on *Chrysoperla carnea* (Stephens) reproduction: toxicity and ultrastructural approach. *J.Econ.Entomol.* 97 (1): 43-50.

MEDINA P., BUDIA F., GONZÁLEZ M., RODRÍGUEZ A., DÍAZ I., HUERTA A., ZAPATA N. & VIÑUELA E. 2006. Effects of botanical insecticidas on two natural enemies of importante in Spain: C*hrysoperla carnea and Psyttalia concolor. IOBC/wprs Bull* (in press).

MEDINA P.; BUDIA F.; TIRRY L.; SMAGGHE G. & VIÑUELA E. 2001. Compatibility of Spinosad, Tebufenozide and Azadirachtin with eggs and pupae of the predator *Chrysoperla carnea* (Stephens) under laboratory conditions. *Biocontrol Scien.& Technol.* 11: 597-610.

MINKS A.K., BLOMMERS L.H.M., RAMAKERS P.M.J. & THEUNISSEN J. 1998. Fifty years of biological and integrated control in Western Europe: accomplishments and future prospects. *Med. Fac. Landbouww. Univ. Gent.* 63/2a: 165-181.

MORALES J., MEDINA P. & VIÑUELA E. 2005. Residual toxicity of five insecticidas on two noctuid endoparasitoids, *Hyposoter didymator and Chelonus inanitus under laboratory conditions. Sting 27:* 14-17. http:/web.agrsci.dk/plb/iobc/sting/sting27.pdf

MORALES J., MEDINA P. & VIÑUELA E. 2006. Compatibility of *Hyposoter didymator* (Thunberg), endoparasitoid of *Spodoptera littoralis* Boisduval, with several insecticides used on horticultural crops. *IOBC/wprs Bull.* 29(4): 361-367.

MORDUE A.J. & BLACKWELLL A. 1993. Azadirachtin: an update. *J. Insect Physiol.* 39: 903-924.

ORTEGO, F., RODRÍGUEZ, B., CASTAÑERA, P. 1995. Effects of neoclerodane diterpenes from Teucrium on feeding behaviour of Colorado potato beetle larvae. *J. Chem. Ecol.* 21: 1375-1386.

PHILOGÈNE B.J.R., REGNAULT-ROGER C. & VINCENT C. 2004. Productos firosanitarios insecticidas de origin vegetal: promesas de ayer y de hoy. En: *Biopesticidas de origin vegetal*: 1-18. Ragnault-Roger C., Philogène B.J.R. & Vincent C. eds. Mundi Prensa. Madrid.

PRAKASH A. & RAO J. 1997. *Botanical pesticides in agriculture.* CRC Press Inc. Boca Ratón.

QUESADA-MORAGA E. 2002. Los hongos entomopatógenos en el control de las plagas de insectos. *Phytoma España* 144, 41-48

RHODES M. J. C. 1994. Physiological roles for secondary metabolites in plants: some progress, many outstanding problems. *Plant Mol. Biol.* 24: 1-20.

SALGADO V.L. 1997. The modes of action of spinosad and other insect control products. *Down to earth* 52: 35-43.

SAMSØE-PETERSEN L. 1990. Sequences of standard methods to test effects of chemicals on terrestrial arthropods. *Ecotoxicol. & Environ. Safety* 19: 310-319.

SCHNEIDER M., SMAGGHE G. & VIÑUELA E. 2003. Susceptibility of Hyposoter didymator adults to spinosad and several IGR pesticides by different exposure methods. *OILB/wprs Bull.* 26 (5): 111-122.

SCHNEIDER M., SMAGGHE G. & VIÑUELA E. 2004. Comparative effects of several insect grotwh regulators and spinosad on the different developmental stages of the endoparasitoid Hyposoter didymator. *IOBC/wprs Bull.* 26(5): 111-122

SCHOONHOVEN L. M., JERMY T. & VAN LOON J. J. A. 1998: *Insect-plant biology*. Chapman and Hall. UK. 409 pp.

SIMMONDS M. S.J. 1997. *Insecticidas de origen natural y protección integrada y ecológica en agricultura*. España

SIMMONDS & BLANEY, W.M. 1992. Labiatae-insect interactions: Effects of Labiatae-derived compounds on insect behaviour. In: *Advances in labiatae science*: 375-392. Eds. Harley & Reinolds.

STERK G.; HASSAN S.A.; BAILLOD M. *et al.* 1999. Results of the seventh joint pesticide testing programme carried out by the IOBC/WPRS working group *pesticides and beneficials. Biocontrol* 44: 99-117.

STETTER J. 1998. Pesticide innovation: trends in research and development. *Med. Fac. Landbouww. Univ. Gent* 63/2ª: 135-164.

VIÑUELA E. 2005. La lucha biológica, pieza clave de la agricultura sostenible. En: *El control biológico de plagas, enfermedades y malas hierbas y la sostenibilidad de la agricultura*: 15-30. Jacas J., Caballero P. & Avilla J. (eds). UJI/Univ. Pública Navarra.

VIÑUELA E., ADAN A., GONZÁLEZ M., BUDIA F., SMAGGHE G., DE CLERO P., VOGT H. & DEL ESTAL P. 1998. Spinosad y azadiractina: efectos de 2 plaguicidas de origen natural en el chinche depredador *Podisus maculiventris* (Say). *Bol. San. Veg. Plagas* 24: 57-66.

VIÑUELA E., ADÁN A., SMAGGHE G., GONZÁLEZ M., MEDINA Mª.P., BUDIA F., VOGT H. & DEL ESTAL P. 2000. Laboratory Effects of Ingestion of Azadirachtin by Two pests (*Ceratitis capitata and Spodoptera exigua*) and Three Natural Enemies (*Chrysoperla carnea, Opius concolor and Podisus maculiventris*). *Biocontrol Scien.& Technol.* 10 (2) 175-187.

VIÑUELA E., GONZÁLEZ M., VOGT H. & JACAS J. 2002. Efectos secundarios de los plaguicidas en los enemigos naturales. Necesidad de su estudio para la autorización de productos en Producción Integrada y otros modernos sistemas productivos. Segunda parte *Phytoma España* 136: 26-33.

VIÑUELA E, HÄNDEL U.& VOGT H. 1996. Evaluación en campo de los efectos secundarios de dos plaguicidas de origen botánico, una piretrina natural y un extracto de neem, sobre *Chrysoperla carnea* . *Bol. San. Veg. Plagas* 22 (1): 97-106.

VIÑUELA E., MEDINA 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. *OILB/IOBC Bull.* 24(4): 25-34.

VOGT H. 2000. Sensitivity of non-target arthropods species to plant protection products according to laboratory results of the IOBC WG "Pesticides and beneficial organisms". *IOBC/wprs Bull.* 23(9): 3-15.

VOGT H., GONZÁLEZ M., ADÁN A., SMAGGHE G. & VIÑUELA E. 1998. Efectos secundarios de la azadiractina via contacto residual en larvas jóvenes del depredador *Chrysoperla carnea* (Stephens). *Bol. San. Veg. Plagas* 24 : 67-78.

WARE, G.W. 2000. *The pesticide book.* 5th ed. Thomson Publications. Fresno. 415 pp.

WILLIAMS T., VALLE J. & VIÑUELA E. 2003. Is the naturally-derived insecticide spinosad® compatible with insect natural enemies? *Biocontrol Sci. Technol.* 13: 459-475.

ZAPATA N., BUDIA F., VIÑUELA E. & MEDINA P. 2006. Insecticidal effects of various concentrations of selected extractions of *Cestrum parqui* l'Heritier (Solanaceae) on adult and immature *Ceratitis capitata. J. Econ. Entomol.* 99(2): 359-365.

ZAPATA N., BUDIA F., SILVA G., VIÑUELA E. & MEDINA P. 2006. Actividad antialimentaria de *Maytenus boaria, Peumus boldus y Quillaza saponaria* sobre *Spodoptera littoralis. Bol. San. Veg. Plagas* 32: 125-135.

ZAPATA N., MEDINA P., VIÑUELA E. & BUDIA F. 2005. Toxicidad del malatión, piretrinas naturales+PBO y triflumurón en adultos del parasitoide *Psyttalia concolor* según el modo de aplicación. *Bol. San. Veg. Plagas* 31: 111-118.

AGENTES DE BIOCONTROL DE ENFERMEDADES

Emilio Montesinos Seguí
Catedrático de Producción Vegetal (Patología Vegetal)
Instituto de Tecnología Agroalimentaria-CeRTA-CIDSAV,
Universidad de Gerona

La harmonización del registro de productos fitosanitarios en la Unión Europea que establece la directiva 91/414/CEE prevé una reducción para el año 2008 de casi mil a menos de cuatrocientas sustancias activas, y la presentación de un extenso dossier con estudios toxicológicos en mamíferos y ecotoxicológicos, de trazabilidad y de impacto ambiental. Esta directiva surgió como consecuencia de una tendencia lógica a anteponer la salud del consumidor y la preservación del medio ambiente a cualquier otra consideración de tipo productivo o económico.

Es en este escenario en el que emerge la tecnología de control de plagas y enfermedades basadas en fitosanitarios cuya materia activa son microorganismos y que se desarrolla como un complemento o alternativa a los métodos convencionales basados en la lucha química.

Los bioplaguicidas microbianos son además una apuesta de futuro para el sector agrícola y para la industria de fitosanitarios tras la aplicación y desarrollo de la directiva europea, así como con el auge de la demanda de una producción integrada y ecológica, necesitadas de nuevos productos menos tóxicos y más respetuosos con el medio ambiente.

PROSPECCIÓN Y DESARROLLO DE BIOPLAGUICIDAS

El desarrollo de plaguicidas microbianos tiene como principio fundamental la obtención de microorganismos que tengan capacidad para interferir con el ciclo biológico de agentes fitopatógenos. Para ello se requieren técnicas de cultivo en medios sintéticos o de enriquecimiento en sistemas bioló-

gicos (cultivos celulares o organismos trampa) por un lado para poderlos aislar, y por otro para producirlos a escala comercial.

El procedimiento general de desarrollo de un bioplaguicida es complejo y requiere diversas etapas. La primera etapa consiste en el aislamiento en cultivo puro o de enriquecimiento del microorganismo, su identificación y caracterización, la realización de bioensayos de eficacia que pueden ser *in vitro, ex vivo* o *in vivo* dependiendo del patógeno u organismo plaga que se pretende controlar, y finalmente los ensayos piloto en condiciones reales de aplicación (campo, invernadero, etc.). En esta primera etapa se constituye una colección de centenares o miles de aislados, que son sometidos a ensayos de actividad a pequeña escala frente al patógeno en condiciones controladas de laboratorio, y de los cuales sólo finalmente algunos, los más eficientes, son sometidos a pruebas a escala piloto. Las técnicas modernas de selección asistida mediante marcadores genotípicos y fenotípicos, están contribuyendo a mejorar la eficacia del proceso de selección. Sin embargo, con cierta frecuencia algunos aislados que muestran actividad se rechazan por la inconsistencia de los resultados entre ensayos. En el proceso de prospección, además de la eficacia y consistencia, se manejan criterios de selección como presentar una dosis efectiva mínima baja, tolerancia a fitosanitarios, o determinados mecanismos de acción que incrementan su eficacia. En general, menos de un 1% de los aislados satisfacen las expectativas, de modo que muchas cepas se quedan en el camino por no satisfacer los criterios. Esto es debido a que la aptitud para el control biológico es una característica subespecífica, ya que sólo pocas cepas de una especie dada desarrollan esta capacidad.

Los ensayos piloto, dado que se realizan en las condiciones más cercanas posibles a las reales en que se quiere aplicar el control biológico, obligan a trabajar con pocos aislados, y conviene efectuarlos en diferentes patosistemas para verificar su espectro de acción y en condiciones ambientales suficientemente diversas para garantizar un amplio rango de aplicabilidad que es lo que interesa a la industria de fitosanitarios.

La segunda etapa en el desarrollo de un plaguicida microbiano consiste en investigación conducente a resolver los problemas de producción en masa (fermentación), conservación y formulación para su producción industrial, así como en estudios toxicológicos, de impacto ambiental y desarrollo de métodos específicos de análisis necesarios para su uso como producto fitosanitario.

Antes de su desarrollo comercial un agente de biocontrol, una vez verificada su efectividad en ensayos piloto, debe superar una serie de pruebas que demuestren su bioseguridad. Estas pruebas consisten en verificar que no es fitopatógeno y que garanticen su inocuidad, especialmente en mamí-

feros. Además, el microorganismos debe ser apto para ser cultivado a escala productiva y formulado para permitir una conservación adecuada en un formato compatible comercialmente. En cuanto a su bioseguridad un aspecto importante es que el agente de biocontrol no sea patógeno de plantas, especialmente de plantas de cultivo, por las consecuencias negativas que podría tener su uso en la práctica agrícola. En el caso de bacterias, la ausencia de hipersensibilidad en solanáceas, especialmente en tabaco, es una prueba, aunque conviene la confirmación mediante métodos moleculares, que se puede realizar de forma relativamente sencilla mediante PCR. También es recomendable verificar la inocuidad para insectos y otros organismos auxiliares.

Los estudios de toxicología en mamíferos son necesarios para garantizar la salud del consumidor y de los manipuladores del producto. En algunos casos en que la identificación del microorganismo es suficientemente segura, y si existe ausencia de historial clínico o veterinario, los estudios toxicológicos pueden ser menos exhaustivos. Los estudios toxicológicos más usuales son la toxicidad aguda por vía oral en rata cuyo objetivo es determinar la dosis letal mediana (DL_{50}) y la dosis letal límite (DL_l). En el caso de bacterias es conveniente que la dosis sea superior a 100.000 millones de UFC/kg de peso del animal. Otras pruebas necesarias, sobre todo para garantizar la inocuidad en la manipulación del producto concentrado, son la ausencia de irritación dérmica, ocular y por inhalación en cobaya o conejo. En ciertos casos en función de los resultados anteriores se realiza la prueba de hipersensibilidad retardada por contacto según Magnusson y Klingman. Otras pruebas adicionales consisten en el estudio de la producción de metabolitos secundarios tóxicos que a veces son sintetizados por el agente de biocontrol dependiendo de las condiciones de fermentación. En determinados casos se realizan pruebas de genotoxicidad consistentes generalmente en el test de mutagenicidad de Ames. En la Unión Europea los aspectos relacionados con la bioseguridad de microorganismos se regulan mediante las directivas 2001/36/EC y 2000/54/EC. Desafortunadamente, diversos microorganismos que forman parte de la microbiota normal de las plantas (a veces dominante como *Pantoea agglomerans*) u otros como *Aureobasidium pullulans* han sido incluídos en la lista de microorganismos de riesgo de nivel 2, basados en referencias clínicas con poco rigor científico. Por lo tanto resulta evidente que es necesario destinar más esfuerzos en este campo.

La aptitud para el escalado industrial es decisiva en cuanto a valorar la iabilidad de la producción y comercialización de un plaguicida microbiano. En general, y dependiendo de si el microorganismo es una bacteria, levadura u hongo, se emplean métodos de fermentación en estado sólido o líquido, basados en los grandes avances tecnológicos en el campo farmacológico y alimentario. Las bacterias y levaduras suelen producirse por fermentación

líquida utilizando bioreactores de tipo CSTR, mientras que la mayoría de hongos se fermentan bien en medio sólido. Sea cual sea el método utilizado, al final del proceso el rendimiento debe ser elevado y dependiendo de la formulación final el producto obtenido debe concentrarse mediante filtración o centrifugación. Otro aspecto importante es que los medios de cultivo deben ser de bajo coste y en general se aprovechan melazas, peptonas o hidrolizados de proteínas para uso industrial. En los casos en que los microorganismos no son cultivables en medios sintéticos las técnicas consisten en utilizar huéspedes alternativos o incluso cultivos celulares o de tejidos para realizar el escalado y producción en masa.

La necesidad de almacenamiento y conservación del producto requiere alargar la vida útil del bioplaguicida, y es uno de los principales factores limitantes para su comercialización. Consiste en un tratamiento que estabilice su viabilidad mediante formulación. Esta puede ser en fase líquida y mantenerse bajo refrigeración o congelación en presencia de sustancias crioprotectoras, o bien como producto deshidratado. No existe una receta general y aunque hay puntos de partida, la mejor técnica se determina siempre empíricamente. Los métodos basados en la deshidratación son sin duda los que garantizan unas mejores condiciones de almacenamiento, manejo, distribución y formulación posterior del microorganismo. La liofilización es un método de deshidratación que consiste en la sublimación del agua (paso de estado sólido a vapor) y es el mejor método en cuanto al mantenimiento de la viabilidad, pero tiene un coste muy elevado. Industrialmente son preferibles los métodos de deshidratación por atomización (spray-drying) o lecho fluido, ya que son más rápidos y económicos, pero producen una pérdida de viabilidad durante el proceso que puede ser importante debido al aporte de calor, sobre todo en la atomización. Con independencia del método utilizado para concentrar y conservar el microorganismo, el material obtenido suele formularse mediante aditivos biocompatibles que mejoren la supervivencia celular, faciliten la aplicación y estabilicen el producto final. Esta mejora puede realizarse durante o después del procesado para conservación. Los aditivos consisten en agentes químicos humectantes, determinados nutrientes, dispersantes, protectores de radiación ultravioleta u osmoprotectores. En muchos casos esta tecnología es similar a la utilizada en la formulación de productos fitosanitarios de tipo químico y de productos farmacéuticos.

El análisis específico del agente de biocontrol es imprescindible tanto para permitir un control de calidad del proceso de fermentación, conservación, formulación o almacenamiento, como para posibilitar estudios de trazabilidad, y análisis de sus residuos e impacto ambiental. Los procedimientos microbiológicos clásicos no sirven en general por que no distinguen la cepa del agente de biocontrol de sus congéneres silvestres que puedan for-

mar parte de la microbiota natural. Por lo tanto son necesarios marcadores específicos. Los marcadores pueden ser fenotípicos o genotípicos, pero son preferibles los genotípicos por ser más estables y no depender su expresión de la naturaleza de los medios de cultivo. En determinados casos puede ser suficiente la selección de mutantes espontáneos resistentes a antibióticos (en bacterias es frecuente usar rifampicina u otros) para los que es poco frecuente encontrar microorganismos resistentes en la naturaleza. La obtención de marcadores genotípicos es un proceso complicado que puede realizarse mediante genotipado de la cepa de agente de biocontrol con técnicas basadas en la amplificación de secuencias génicas por reacción en cadena de la polimerasa o PCR (RAPD, REP, etc.) o mediante digestión con enzimas de restricción (RFLP) del DNA. La comparación de los patrones de la cepa con los de aislados de la misma especie permitir en algunos casos obtener fragmentos diferenciales y singulares presentes sólo en ésta, que pueden secuenciarse y caracterizarse (fragmentos SCAR). El conocimiento de la secuencia nucleotídica de dichos fragmentos posibilita el diseño de cebadores para PCR específicos de la cepa. En la actualidad la técnica de PCR en tiempo real constituye una herramienta potentísima para la determinación cuantitativa y altamente específica, y se ha desarrollado para varios agentes de biocontrol, que además en combinación con otras técnicas permite determinar su estado de actividad en condiciones naturales.

La línea de investigación que realizamos en nuestro laboratorio desde hace unos quince años, y siguiendo los procedimientos comentados anteriormente, ha desarrollado diversas bacterias para el control biológico de enfermedades de los frutales, que abarcan desde la producción hasta la poscosecha (Tabla 1).

EL REGISTRO DE BIOPLAGUICIDAS

El interés de esta tecnología y sus perspectivas de futuro se reflejan en un aumento exponencial de los proyectos de investigación en control biológico de enfermedades, de las ponencias en congresos y publicaciones de Fitopatología y Entomología Aplicada, así como de las patentes existentes que protegen su explotación comercial.

Existen unas 215 patentes tanto del tipo PCT de ámbito mundial como restringidas sólo a E.E.U.U. o a la Unión Europea que consisten en cepas de microorganismos con aplicación potencial como biofungicidas, bioplaguicidas, bioherbicidas y bioestimulantes de las plantas. Dichas patentes incluyen 101 fungicidas, 31 insecticidas, 23 herbicidas, 11 nematicidas, 7 bactericidas, y 11 promotores de crecimiento, de los que 93 son bacterias, 64 hongos, 11 levaduras, 9 nematodos y 5 virus. El país que más patentes de bio-

plaguicidas posee es Estados Unidos (141) seguido del Reino Unido (18) y Australia (14). El mayor número de patentes está en manos del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA) y de varias universidades de este país.

Existe además un razonable número de productos de tipo microbiano a nivel mundial con actividad contra plagas, enfermedades, e incluso biofertilizantes, de los que podemos destacar la extensa gama disponible para el control de enfermedades de los frutales (Tabla 2). Sin embargo, sólo algunos están autorizados en Europa.

En la Unión Europea el registro de plaguicidas microbianos depende de la Dirección General de Protección de la Salud del Consumidor (subdirección de Seguridad Alimentaria, Sanidad Vegetal y Animal) y se regula por las directivas 2001/36/EC y 2005/25/EC (Tabla 3). Hasta la actualidad se ha solicitado registro de unos 30 bioplaguicidas de los cuales 15 son para el control de enfermedades e incluyen 5 bacterias (2 bactericidas, 3 fungicidas) y 10 hongos (todos fungicidas) (Tabla 4). Los registros de bioplaguicidas que se hayan efectuado en cada país serán vigentes sólo hasta el año 2008 a menos que se hayan presentado y sean aprobados bajo la nueva directiva. En España, por el momento, entre los antiguos registros que serán vigentes hasta el año 2008 y las nuevas solicitudes presentadas en el Ministerio de Agricultura se contabilizan una bacteria (fungicida) y dos hongos (fungicidas) para el control de enfermedades.

Un aspecto que interviene como freno de las expectativas de desarrollo comercial de los bioplaguicidas, además de los costes de las patentes y registro que son considerables (1-4 millones de Euros), son las restricciones de las directivas y el lento sistema de toma de decisiones de la Unión Europea, sobre todo si se compara con otros sistemas como el de Estados Unidos o Canadá.

Otro factor limitante es el hecho de que con cierta frecuencia la eficacia del agente de biocontrol depende de las condiciones de cultivo y de otros factores no muy bien conocidos. Ciertamente, éste es un problema difícil de resolver ya que es intrínseco a los sistemas de control biológico puesto que su buen funcionamiento depende de la interacción adecuada entre el agente patógeno o plaga, el agente de biocontrol, la planta huésped y las condiciones ambientales.

Como conclusión podemos decir que existe una falta de sincronización entre la oferta de resultados de investigación, demanda de los sectores implicados y capacidad normativa que reside en una problemática compleja que incluye desde aspectos puramente científicos y tecnológicos todavía sin resolver, hasta legislativos y mercadotécnicos diversos.

REFERENCIAS

BOYETCHKO S, PEDERSEN E, PUNJA Z, REDDY M (1998) Formulations of biopesticides. pp. 487-508. In: Hall, F.R. and Barry, J.W. (eds.). Methods in Biotechnology. Humana Press, Totowa, NJ

COOK, R.J., I BAKER, K.F. 1983. The nature and practice of biological control of plant pathogens. APS, St Paul, Minnesota. pp. 539.

CHET, I. (ed.). 1993. Biotechnology in Plant Disease Control. Wiley-Liss.

GLAZER, A.N., NIKAIDO, H. 1995. Microbial biotechnology. W. H. Freeman Co.

GULLINO ML, KUIJPERS LAM (1994) Social and political implications of managing plant diseases with restricted fungicides in Europe. Annu Rev Phytopathol 32:559-579

GULLINO, M.L. I KUIJPERS, L.A.M. 1994. Social and political implications of managing plant diseases with restricted fungicides in Europe. Annual Review of Phytopathology 32:559-579

GUTTERSON, N. 1990. Microbial fungicides: Recent approaches to elucidating mechanisms. Critical Reviews in Biotechnology 10:69-91

HARMAN GE (2000) Myths and dogms of biocontrol. Plant Dis 84:377-393

HARMAN, G.E. 2000. Myths and dogms of biocontrol. Plant Disease 84:377-393.

Jones, D.G. (ed.).1993. Exploitation of microorganisms. Chapman Hall.

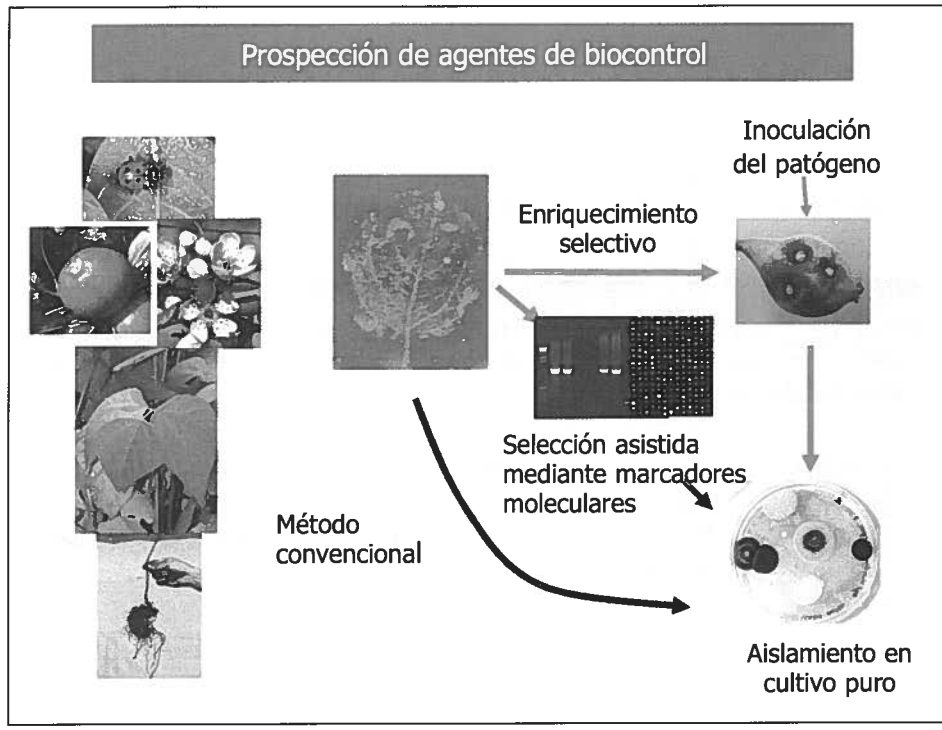
MATHRE DE, COOK RJ, CALLAN NW (1999) From discovery to use. Traversing the world of commercializing biocontrol agents for plant disease control. Plant Dis 83:972-983

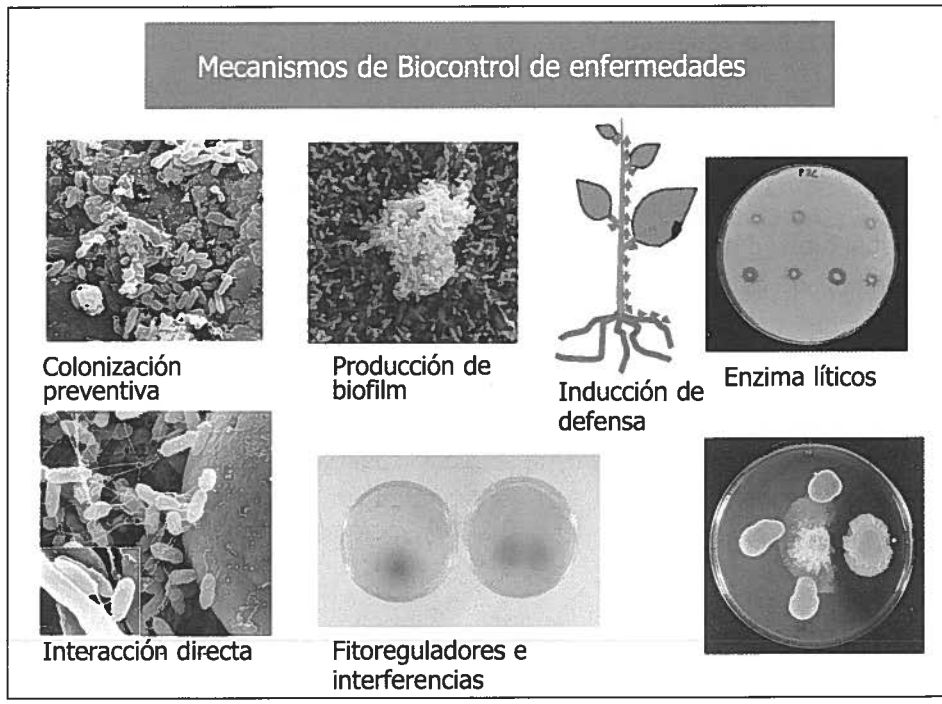
MATHRE,D.E., COOK, R.J., CALLAN, N.W. 1999. From discovery to use. Traversing the world of commercializing biocontrol agents for plant disease control. Plant Disease 83:972-983.

MCSPADDEN, B.B., FRAVEL, D. 2002. Biological control of plant pathogens: research, commercialization, and application in the USA. Plant Health Progress. Publicación on line de Plant Management Network.

MONTESINOS, E. 2003. Development, registration and commercialization of microbial pesticides for plant protection. International Microbiology. 6:245-252.

RAGSDALE, N.N. I SISLER, H.D. 1994. Social and political implications of managing plant diseases with decreased availability of fungicides in the United States. Annual Review of Phytopathology 32:545-557


Prospección de agentes de biocontrol
Inoculación del patógeno
Enriquecimiento selectivo
Selección asistida mediante marcadores moleculares
Método convencional
Aislamiento en cultivo puro


Mecanismos de Biocontrol de enfermedades
Colonización preventiva
Producción de biofilm
Inducción de defensa
Enzima líticos
Interacción directa
Fitoreguladores e interferencias


Producción a escala preparativa y formulación en fase sólida
Bioreactor
Atomizador
Liofilizador
Lecho fluirizado
Formulación
Envasado
10^{10} - 10^{11} cfu/g

Tabla2. Algunos agentes de biocontrol comerciales desarrollados para el control de enfermedades de los frutales de pepita

Microorganismo	Enfermedad	Nombre comercial	Compañía
Agrobacterium radiobacter K84/K1026	tumores	Galltrol-A, Nogall	Futureco
Ampelomyces quisqualis M10	oidios	AQ10	Ecogen Inc.
Aureobasidum pullulans	fuego bacteriano	Blossom Protect fb	Bio-ferm
Bacillus pumilus QST2808	fuego bacteriano+	Sonata	AgraQuest Inc.
B. subtilis BD170	fuego bacteriano+	Biopro	Andermatt Bioc.
B. subtilis QST713	fuego bacteriano+	Serenade	AgraQuest Inc.
B. subtilis BS-F3	fuego bacteriano	BS-F4	Agribiotec
B. subtilis MBI600	podred. fúng.	Subtilex	Becker Underw. Pty.
Candida oleophila I-182	postcosecha	Aspire	Ecogen Inc.
Candida saitoiana	postcosecha	Biocoat, Biocure	--
Cryptococcus albidus	postcosecha	YieldPlus	Anchor Yeast
Gliocladium catenulatum J1446	pat. suelo	Primastop	AgBio Dev. Inc.
Metschnikowia fructicola	postcosecha	Shener	Agrogreen
Myrothecium verrucaria	nematodos	DiTera	Valent Biosciences
Paecilomyces lilacinus 251	nematodos	MeloCon	Prophyta Bio. Pf.
Pantoea agglomerans C9-1	fuego bacteriano	Blightban C9-1	Plant Health Tech.
P. agglomerans D325	fuego bacteriano	Bloomtime	Northwest Agr.Prod.
P. agglomerans P10c	fuego bacteriano	BlossomBless, PomaVita	Hortresearch,Agrifutur
Pseudomonas fluorescens A506	fuego bacteriano+	Blightban	Nufarm Inc.
Pseudomonas fluorescens A506/1629RS	daños helada	Frostban A,B,C,D	Frost Technology Co.
P. syringae ESC10/ESC11	postcosecha	Biosave 10LP,11O	JET Harvest Solutions
Streptomyces griseoviridis K61	enf. fúngicas	Mycostop	Verdera Oy
Trichoderma atroviride L52	enf. fúngicas	Sentinel	Agrimm Tech.

Tabla 3. Información que se requiere según las directivas que regulan el registro y autorización de microorganismos como ingredientes activos de bioplaguicidas (Directivas 2001/36/EC y 2005/25/EC)

- Identificación de la especie y de la cepa
- Propiedades biológicas y otras características
- Métodos analíticos específicos
- Residuos y trazabilidad
- Eficacia
- Efectos adversos potenciales en humanos y otros organismos no objetivo

Tabla 4. Ingredientes activos de tipo microbiano aprobados o en fase de evaluación en la Unión Europea . Anexo 1 (Directiva 91/414/EEC, 2001/36/EC, 2005/25/EC)

Microorganismo	Actividad	Compañía
Agrobacterium radiobacter K84	B	Futureco
Bacillus subtilis QST713	B,F	AgraQuest (2006)
Bacillus subtilis IBE711	F	--
Pseudomonas chlororaphis MA342	F	BioAgri (2004)
Streptomyces griseoviridis	F	Verdera Oy
Ampelomyces quisqualis AQ10	F	Ecogen Europe (2005)
Coniothyrium minitans (FU)	F	Prophyta GmbH (2003)
Gliocladium catenulatum J1446	F	Kemira Agro Oy (2005)
Phlebiopsis gigantea	F	Verdera Oy
Pseudozyma flocculosa	F	Maasmond-Westland
Pythium oligandrum	F	Biopreparaty Spol s.r.o.
Trichoderma harzianum	F	Agrifutur, NewBiotechnic, otras
Trichoderma polysporum	F	Binab-Bio-Innovation AB
Trichoderma viride	F	Agribiotec S.r.l.
Verticillium dahliae	F	Arcadis

HERBICIDAS DE ORIGEN ALELOPÁTICO

Francisco A. Macías,* David Marín, José M. G. Molinillo, Ceferino Carrera y Juan C.G. Galindo
Grupo de Alelopatía, Departamento de Química Orgánica, Facultad de Ciencias, Universidad de Cádiz

El control de malas hierbas en la agricultura puede realizarse por diferentes estrategias, una de las cuales la constituye el uso de pesticidas. De hecho, los métodos ordinarios para este control de malas hierbas en agricultura pueden clasificarse en dos tipos:[1]

– Los *métodos preventivos* que tienen el objetivo de evitar la germinación y el desarrollo de malas hierbas y que a su vez pueden subdividirse en rotación de cultivos; operaciones de adecuación del suelo sin cultivo y la limpieza de maquinaria, semillas y márgenes del cultivo

– Los *métodos directos* que actúan después de la aparición de malas hierbas en el cultivo, y se dividen en:

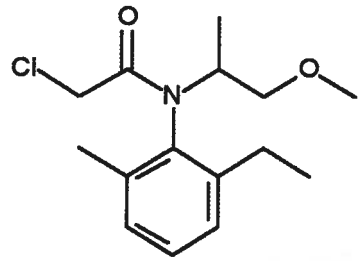
- Físicos: Esterilización por vapor de agua y/o fuego, cobertura con agentes inertes (cartón, plásticos).
- Mecánicos: Laboreo y siega.
- Biológicos: Uso de organismos patógenos, depredadores o parásitos que detengan el desarrollo de la mala hierba.
- Químicos: Utilización de sustancias químicas con actividad fitotóxica.

Los métodos de control directo más populares actualmente son los métodos químicos, aunque las nuevas exigencias medioambientales y sobre la calidad de los alimentos han impulsado de manera considerable los métodos biológicos. La combinación de más de uno de los métodos anteriores, cono-

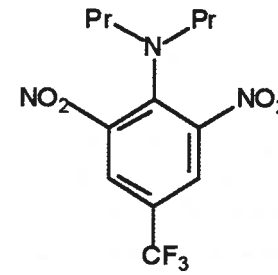
cida como "lucha integrada" o "control integrado" supone la herramienta más prometedora en la actualidad para resolver los problemas derivados de la irrupción de malas hierbas en cultivos.

CONTROL QUÍMICO DE MALAS HIERBAS

Esta modalidad de control incluye el uso de herbicidas y la fumigación del suelo. Los fumigantes han sido utilizados en diversas áreas para eliminar patógenos originados en el suelo y semillas de malas hierbas. El bromuro de metilo, un fumigante popular, ha sido descartado por sus interacciones con el ozono atmosférico, tras lo cual se están desarrollando sustitutos. Los herbicidas, que destruyen las malas hierbas inhibiendo procesos fisiológicos necesarios para su crecimiento, están registrados y aconsejados para su uso con determinados cultivos y deben seleccionarse de acuerdo con el cultivo, las diferentes rotaciones empleadas, las especies de malas hierbas presentes, los costes y el método de aplicación, además de por su potencial impacto ambiental. Pueden clasificarse entre selectivos y no selectivos. Los herbicidas clasificados como selectivos, como el metolachlor o la trifluralina se pueden aplicar directamente sobre determinados cultivos indicados sin causarles daño.



Metolachlor

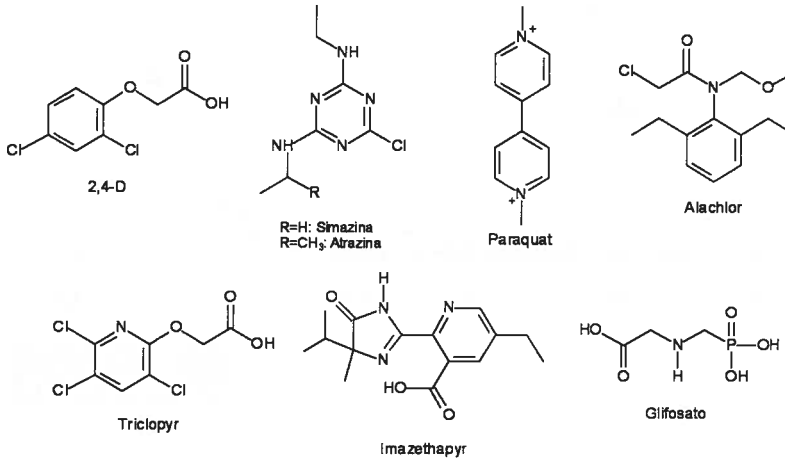


Trifluralina

Los herbicidas no selectivos deben aplicarse antes de la siembra del cultivo, o bien aplicarse de modo controlado. Los herbicidas asimismo se clasifican de acuerdo a su método de aplicación. Los herbicidas aplicables antes del desarrollo del cultivo o de la mala hierba se denominan herbicidas de preemergencia. Los herbicidas aplicados tras el desarrollo de la mala hierba se denominan herbicidas de post-emergencia.

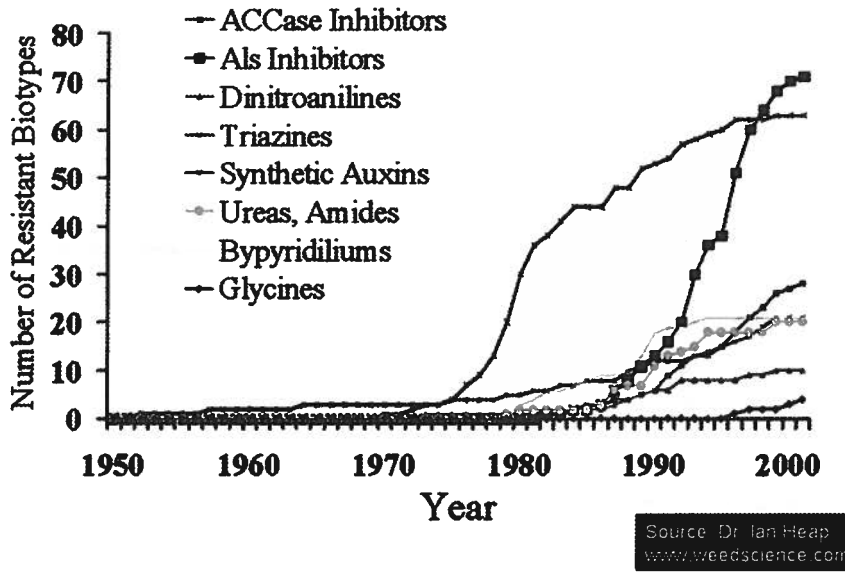
Otro método de clasificación de herbicidas es por estructura molecular o modo de acción que es procedimiento empleado por el Comité de Acción contra la resistencia a Herbicidas (HRAC), y la sociedad americana de ciencia de malas hierbas (WSSA).

Los modos de acción más comunes incluyen la regulación el crecimiento (efecto de los herbicidas 2,4-D y triclopyr), la inhibición de la fotosíntesis (atrazina, simazina), necrosis de contacto (paraquat), la inhibición de la biosíntesis de aminoácidos (glifosato, imazethapyr), y la inhibición del desarrollo de plántulas (alachlor).



A pesar de la gran variedad estructural de herbicidas que existe, todos están agrupados en un número muy discreto de modos de acción. En resumen, el control integrado de malas hierbas en cultivos vegetales identifica el problema y combina las técnicas preventivas, de cultivo, mecánicas, biológicas y químicas para el control de las plagas, evitando centrarse solamente en una técnica. En la actualidad, el control integrado constituye una forma fiable de producir cultivos comercialmente viables con un aumento de su calidad, y una reducción del daño medioambiental.

El control de las malas hierbas se ha visto dificultado en los últimos años por la aparición del fenómeno de la resistencia a herbicidas. Éste es uno de los problemas a los que se enfrenta la agricultura moderna, especialmente si ésta desea llevar el marchamo de sostenible. En efecto, el uso continuado, y en algunos casos indiscriminado, de determinados herbicidas ha creado una presión artificial de selección que ha provocado la aparición de biotipos resistentes de malas hierbas que ya no son controlables mediante las dosis habituales y permitidas de herbicida. Este fenómeno tiene un impacto adverso en el rendimiento de las explotaciones agrícolas que es necesario abordar.



El fenómeno de la resistencia ha sido definido según el *Herbicide Resistance Action Committee* (HRAC) como **"la habilidad/aptitud heredable de una especie vegetal a sobrevivir y reproducirse después del tratamiento de un herbicida a dosis que normalmente serían letales para la misma especie susceptible"** y fue observado por primera vez a mediados de los años 60, cuando se describieron poblaciones de *Senecio vulgaris* resistentes a las s-triazinas atrazina y simazina[2]. Desde entonces, se han descrito aproximadamente 65 especies de plantas resistentes a este tipo de herbicidas y 174 especies resistentes a diversos herbicidas (104 dicotiledóneas y 74 monocotiledóneas). Actualmente, hay 292 biotipos de malas hierbas resistentes a herbicida en el mundo, con una media de aparición de nueve casos por año[3], pertenecientes a géneros tan problemáticos como *Amaranthus, Chenopodium, Conyza, Lolium, Avena* o *Echinochloa*, entre otros.

Por otra parte, la resistencia se está convirtiendo en un fenómeno cada vez más complejo, por cuanto una misma especie vegetal puede presentar resistencia a uno o más herbicidas. En este sentido, se han definido los conceptos de **resistencia cruzada** como aquélla por la que una población es resistente a dos o más herbicidas que actúan en el mismo sitio primario de acción, y de **resistencia múltiple**, como aquélla por la que una población es resistente a dos o más herbicidas que actúan en distintos sitios primarios de acción[4].

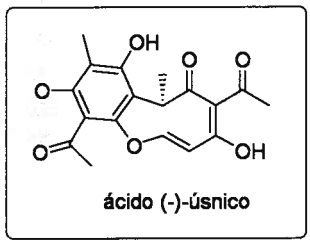
Los métodos para el control de especies resistentes y la prevención, o al menos el retraso en su aparición, de nuevos biotipos pasan por utilizar de

forma integrada distintas formas de control de malas hierbas, conjugando prácticas culturales, rotación de herbicidas, y descubrimiento de nuevos sitios de acción que permitan el desarrollo de materias activas.

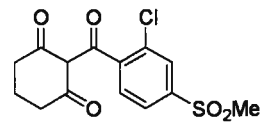
Mecanismos de defensa químico de las plantas, la Alelopatía

En la naturaleza, las plantas están expuestas a factores bióticos y abióticos con los cuales han tenido que coevolucionar para garantizar su supervivencia. A lo largo del proceso evolutivo, los vegetales han desarrollado numerosas rutas de biosíntesis, a través de las cuales sintetizan y acumulan gran variedad de metabolitos secundarios, que responden a las características del medio donde se encuentran[5].

El termino Alelopatía, de origen griego y que significa literalmente "perjuicio mutuo", fue acunado por Molisch en 1937 para designar a la Ciencia que estudia las interacciones de tipo bioquímico, beneficiosas y perjudiciales, que pudieran existir entre las plantas. Este termino ha ido sufriendo diversas modificaciones hasta la acepción actual, que lo define como "*la Ciencia que estudia cualquier proceso que implique metabolites secundarios producidos por plantas, algas, bacterias y hongos que influyan en el crecimiento y desarrollo de sistemas cultivados y biológicos*" y en el que, por tanto, se incluye cualquier interacción de las plantas con su medio ambiente.



ácido (-)-úsnico



sulcotriona

La Alelopatía, como ciencia que estudia las interacciones entre las plantas y los organismos de su entorno mediadas por agentes químicos[6] constituye una valiosa fuente de productos con potencial herbicida. Así, por ejemplo, el ácido (-) úsnico, un metabolito secundario producido por algunos líquenes y que es estructuralmente similar a los herbicidas de tipo tricetona, es un mejor inhibidor *in vitro* que la propia sulcotrion[7].

Estas sustancias son "herbicidas naturales" potenciales generados por una planta para evitar el crecimiento de las que las circundan. Por otra parte, para que los resultados y observaciones de los ensayos en el laboratorio puedan tener efectos sobre su potencial aplicación como agroquímicos, este debe considerar otros factores[8, 9, 10] tales como:

a) Presencia y subsiguiente liberación de aleloquímicos.
b) Inhibición de crecimiento de la planta receptora y la interferencia de los aleloquímicos en procesos fisiológicos fundamentales.

c) Destino final del aleloquímico en el suelo.

d) La dinámica de este aleloquímico en el suelo y su absorción por la planta receptora.

e) Destoxificación de los aleloquímicos adsorbidos por la planta receptora.

f) Efectos aleloquímicos sobre la ecología microbial y dinámica de los nutrientes.

g) Interacción de estos aleloquímicos con sustancias promotoras (nitratos), inhibidoras (ácidos fenólicos) y neutras (glucosa) en el medio.

h) El efecto sobre una tercera planta que participe en detrimento de la receptora.

Los agentes alelopáticos se encuentran presentes en la Naturaleza en pequenas cantidades, por lo que sus niveles de actuación deben ser, en principio, superiores a los de los actuales herbicidas. También, a priori, han de tratarse de productos mas respetuosos con el medio ambiente, biodegradables y con tiempos de persistencia en el suelo no excesivamente largos. En este sentido, los productos naturales aleloquímicos constituyen una fuente de materias activas potenciales extremadamente importante. En efecto, los productos naturales constituyen una fuente atractiva de potenciales productos agroquímicos[11] con una acción biológica más específica[12].

Herbicidas basados en productos naturales

Ante la situación que ofrece el desarrollo de fenómenos de resistencia, además de las problemáticas derivadas del uso intensivo de herbicidas y otros pesticidas sobre el medio ambiente, y los potenciales riesgos para la salud humana, los herbicidas basados en productos naturales se plantean como una alternativa para el control químico de malas hierbas, que es a su vez integrable en métodos de control integrado.

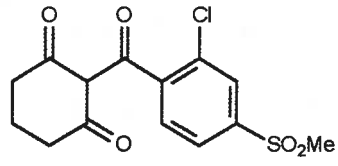
Un análisis de los datos disponibles sobre modos de acción de fitotoxinas naturales[13, 14, 15] permite concluir que estas actúan sobre un gran número de sitios de acción no explotados por herbicidas sintéticos. Este hecho por sí mismo sugiere que es necesario realizar mayores esfuerzos en el descubrimiento de herbicidas basados en productos naturales. La investigación científica encaminada al desarrollo de nuevos herbicidas se ha desarrollado a partir de tres modalidades:

– Determinación sistemática de la actividad fitotóxica de un gran número de compuestos sintéticos, seguida de la optimización de la estructura molecular de los compuestos más activos.

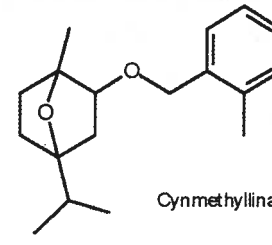
– Diseño de compuestos adecuados para un determinado sitio de acción determinante en el crecimiento y desarrollo de la mala hierba (aproximación biorracional).

– Uso de productos naturales como herbicidas, o como cabezas de serie en el desarrollo de nuevos herbicidas.

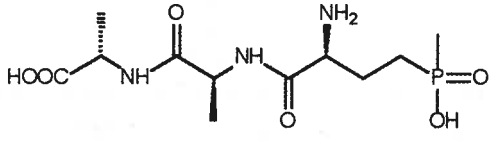
Una gran diversidad de nuevas técnicas experimentales han contribuido a enriquecer cada una de estas aproximaciones. La química combinatoria, en combinación con la teoría de la diversidad química y el "High Throughput Screening" (HTS), da lugar a la producción y ensayo de un mayor número de compuestos. Del mismo modo, las nuevas técnicas de aislamiento y caracterización estructural de productos naturales, especialmente en lo referente a las técnicas de Resonancia Magnética Nuclear, han contribuido a aumentar la velocidad a la que se descubren y evalúan nuevas sustancias químicas de origen natural.



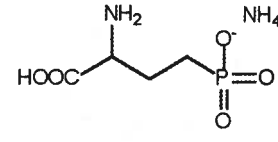
Sulcotriona



Cynmethyllina



Bialaphos



Glufosinato

Muchos metabolitos secundarios proceden de seres vivos que han evolucionado en respuesta a interacciones bióticas. Por tanto, es lógico pensar que tendrán actividad biológica a bajas concentraciones, en comparación con compuestos derivados de desarrollos puramente basados en la síntesis química. Además, la actividad biológica puede producirse por una interacción con sitios de acción diferentes a los que el proceso evolutivo pretendía en un principio. De hecho, el éxito de muchos fármacos de origen biológico ha dependido en gran medida de este hecho. La mayoría de los metabolitos secundarios no han sido todavía descubiertos, y de entre los descubiertos, han sido pocos los evaluados frente a una variedad amplia de actividades biológicas, especialmente fitotoxicidad. La perspectiva de evaluar compues-

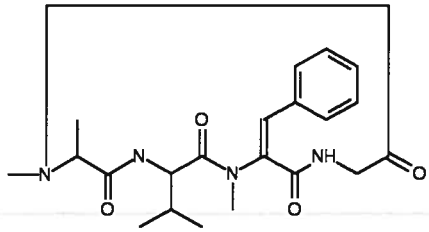
tos no descubiertos o no estudiados con actividad biológica potencial es por tanto interesante.

Respecto a los modos de acción de los pocos herbicidas basados en productos naturales actualmente disponibles (sulcotriona, cinmethyllina, bialaphos y glufosinato entre otros), es importante destacar que tienen modos de acción que implican actuar sobre sitios activos diferentes a los utilizados por los herbicidas comerciales antes de su aparición. Este hecho puede contribuir muy significativamente a minimizar el desarrollo de fenómenos de resistencia en las malas hierbas objetivo.

Los productos naturales ofrecen un grado de diversidad estructural superior a la que ofrecen los programas de desarrollo de nuevas sustancias químicas sintéticas. La mayoría de los productos naturales activos presentan alta solubilidad acuosa y son moléculas no halogenadas, mientras que los herbicidas sintéticos suelen ser moléculas lipófilas que presentan átomos de elementos halógenos con frecuencia. Además, los nuevos productos naturales ofrecen candidatos para el desarrollo de nuevas estrategias sintéticas.

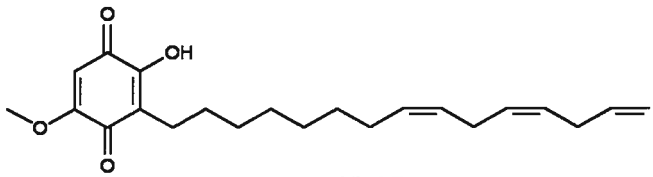
Muchos autores consideran que los productos naturales son más benignos desde el punto de vista medioambiental que la mayoría de los pesticidas sintéticos. Asimismo, es de esperar que sus persistencias en el medioambiente sean menores, ya que probablemente estos compuestos han formado parte del medioambiente durante eras.

Sin embargo, el desarrollo de pesticidas a partir de productos naturales no está exento de dificultades ni problemas. La complejidad estructural que muchas moléculas naturales presentan, contando a menudo con varios centros quirales, hace que la producción industrial de algunos de estos compuestos llegue a ser prohibitiva desde el punto de vista económico. Esto sucede también para los fármacos desarrollados a partir de productos naturales. Además, en muchos casos, la actividad biológica de la molécula disminuye en gran medida si ésta es simplificada. Por ejemplo, los trabajos de relación estructura-actividad llevados a cabo para el potente agente fitotóxico tentoxina no han conducido a una molécula más simple con niveles de actividad aceptables[16,17].



Tentoxina

La actividad herbicida del glufosinato (fosfinotricina) es mejor que la de sus análogos estructurales sintéticos[18]. Por lo tanto, los procesos evolutivos que conducen al desarrollo de estos compuestos por parte de los organismos vivos parece constituir una optimización de su actividad. En

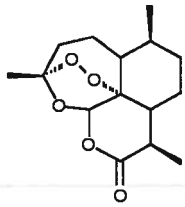


Sorgoleona

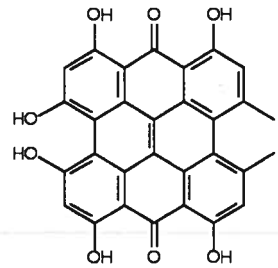
ciertos casos, los productos naturales poseen actividades biológicas diferentes a las que sirvieron de propósito para su evolución. En estos casos, la optimización de estructuras en el laboratorio puede dar compuestos con actividades biológicas mejoradas. En muchos casos, el producto natural es altamente activo sobre el sitio de acción molecular concreto, aunque sus propiedades físico-químicas y su alta biodegradabilidad dan lugar a una pérdida de eficacia como herbicida. Por ejemplo, la sorgoleona, producida por diversas especies del género Sorghum (sorgo), es más activa "in vitro" que la atrazina para la inhibición del fotosistema II[19], mientras que es un herbicida relativamente débil[20].

ESTRATEGIAS EN EL DESCUBRIMIENTO DE PRODUCTOS NATURALES CON ACTIVIDAD HERBICIDA.

Hay dos aproximaciones que pueden usarse para identificar plantas que podrían ser fuentes de compuestos de interés. La actividad alelopática ha sido la aproximación más común[21]. Un ejemplo exitoso de esta estrategia lo constituye el descubrimiento de la sorgoleona a partir de especies y variedades alelopáticas de sorgo[22,23]. La otra estrategia consiste en examinar los compuestos que las plantas utilizan para evitar la autotoxicidad. Ejemplos destacables son la artemisina y la hipericina[24,25] que se acumulan en los tricomas glandulares de la parte aérea de las plantas que los producen. Desde el punto de vista de la química ecológica, el descubrimiento de fitotoxinas procedentes de microorganismos puede producirse estudiando fitotoxinas procedentes de hongos y bacterias que actúen como patógenos de plantas[26]. Esta estrategia tiene como principal inconveniente la dificultad de cultivar los organismos en las condiciones en que se desarrollen las sustancias patógenas correspondientes.



Artemisina



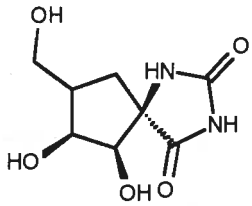
Hipericina

Tras seleccionar una fuente adecuada de compuestos, el método tradicional de descubrimiento de productos naturales es el aislamiento biodirigido, en el que al fraccionamiento cromatográfico de los extractos obtenidos del

organismo sigue un bioensayo, en el que se aceptan las fracciones más activas cuya purificación continúa. El proceso es repetido hasta encontrar productos puros. Las modernas técnicas acopladas de cromatografía y caracterización química (GC-MS, LC-MS y LC-RMN) contribuyen en gran medida a reducir los esfuerzos necesarios, pudiéndose identificar los compuestos antes de ensayarlos.

En la siguiente etapa de desarrollo, una vez determinado un producto natural como candidato adecuado, es necesario desarrollar librerías de análogos sintéticos. Esta necesidad surge cuando el compuesto seleccionado es demasiado complejo estructuralmente (por lo tanto, caro de producir), tiene propiedades físico-químicas inferiores a las deseables para su aplicación final, o tiene efectos indeseables como toxicidad animal, o una eficacia limitada como herbicida. Las librerías de compuestos se emplean en estudios cuantitativos de relación estructura-actividad (QSAR), que proporcionan información útil en el desarrollo de moléculas mejoradas permiten obtener un gran número de derivados en tiempos cortos. Estos desarrollos pueden hacerse conociendo o desconociendo la geometría y propiedades del sitio activo. El conocimiento del sitio activo proporciona una valiosa información sobre los requerimientos estructurales óptimos para la actividad.

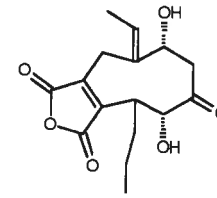
PRODUCTOS NATURALES DE ORIGEN MICROBIANO



Hidantocidina

El desarrollo de herbicidas a partir de productos naturales ha concentrado sus esfuerzos principalmente en fitotoxinas derivadas de microorganismos, con más frecuencia de microorganismos no patógenos procedentes del suelo. Este proceso normalmente ha dado lugar al análisis de un gran número de extractos, sin una idea clara de qué organismo es el que podría producir un candidato adecuado para el desarrollo de moléculas con actividad herbicida. A menudo esta investigación tiene como objetivo encontrar otros usos para compuestos encontrados en el desarrollo de fármacos. Los microorganismos fitopatógenos son una interesantísima fuente de productos naturales con actividad fitotóxica[27] aunque aquellos que son capaces de afectar al desarrollo de malas hierbas han recibido poca atención, con la notable excepción del glufosinato, una versión sintética de la fosfinotricina, un producto de degradación del bialaphos producido por *Streptomyces viridochromogenes* y *Streptomyces hygroscopicus*. La hidantocidina, un nucleótido análogo con buena actividad herbicida, derivado también de *Streptomyces hygroscopicus9* ha recibido considerable atención, siendo objeto de estudios de relación estructura-actividad y diversas patentes[28].

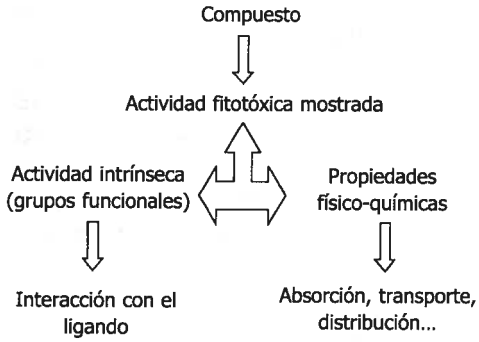
La cornexistina, una fitotoxina procedente del basidiomiceto Paecilomyces variotii, tiene efectos importantes sobre malas hierbas tanto monocotiledóneas como dicotiledóneas, siendo inocuo para el maíz[29].



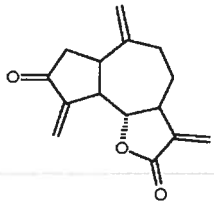
Cornexistina

COMPUESTOS DERIVADOS DE PLANTAS

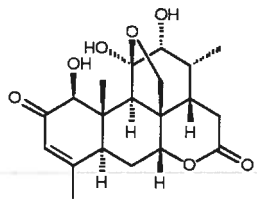
A la hora de estudiar las posibilidades que nos ofrecen las plantas como fuentes de productos naturales que puedan servir como fuentes de nuevos herbicidas caben diferentes estrategias. La primera de ellas es el empleo de la propia planta, ya sea mediante rotación de cultivos, cobertura vegetal o el empleo de los residuos de las mismas una vez concluida la cosecha. Una segunda estrategia sería el empleo de extractos enriquecidos de aquellas especies que han demostrado tener propiedades alelopáticas más acusadas, o, si ello es necesario, la purificación de estos principios activos para su empleo en formulaciones. Tanto en un caso como en el otro tenemos un amplio número de especies que podemos catalogar como alelopáticas, entre las que se encuentran también numerosos cultivos de gran interés agronómico, como el sorgo, el maíz, el trigo, el centeno o el girasol.



Una tercera vía es la identificación de las sustancias que emplea la planta para su defensa química y el estudio de modificaciones sobre estas que permitan las mejoras de las propiedades físico-químicas que mejoren la actividad intrínseca de las moléculas y que permitan, por una lado la preparación de estos principios activos de forma económicamente eficiente y con mayor eficacia que la propia molécula natural. Así es posible modular la degradabilidad, la solubilidad en agua o la facilidad para la penetración a través de las membranas celulares.



Dehidrozaluzanina C

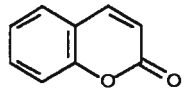


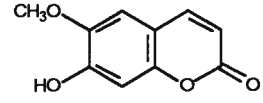
Chaparrinona

Entre los productos naturales de origen vegetal con mayor actividad fitotóxica destacan las lactonas sesquiterpénicas[30] como la artemisina y la guayanolida dehidrozaluzanina C,[31] y diterpénicas, como el quasinoide chaparrinona[32].

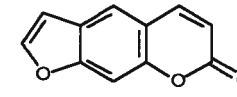
Recientemente se ha publicado un estudio de relaciones estructura-actividad cuantitativas con un importante número y variedad de derivados de dehidrozaluzanina C[33].

Además de los terpenoides, muchas otras familias de productos naturales ofrecen también actividades fitotóxicas que las hacen interesantes como candidatos para el desarrollo de nuevos modelos de herbicidas[34]. Entre ellas, es necesario destacar los flavonoides y las cumarinas, como la propia cumarina, la escopoletina y el psoraleno, que han mostrado interesantes actividades fitotóxicas[35] y que están ampliamente distribuidas por el reino vegetal.

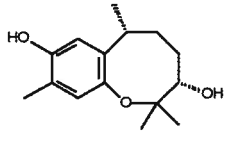

Cumarina



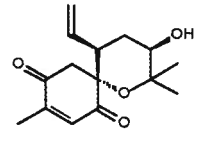
Escopoletina


Psoraleno

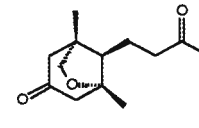
Mención aparte merece la variedad de productos aislados de algunas variedades cultivables de girasol (*Helianthus annuus*), que se ha revelado como una prometedora fuente de agentes aleloquímicos, sobre todo de naturaleza terpenoide. El estudio de esta especie ha mostrado que tanto sus extractos acuosos como aquellos realizados en diferentes disolventes (metanol, etanol, acetato de etilo o diclorometano) han mostrado altos niveles de fitotoxicidad. Estos niveles parecen estar modulados por la edad de la planta, observándose que en el primer estadío de desarrollo los extractos han mostrado efectos activadores de la germinación y el desarrollo de las semillas y las plántulas, mientras que esta actividad se invierte con el crecimiento de la planta transformándose en extractos con altos niveles de inhibición con un máximo cercano al momento de la recolección. Sus extractos son en todos los casos de una gran riqueza en metabolitos secundarios fitotóxicos con una gran variedad estructural. Así, los heliannuoles[36], heliespironas[37], annuiononas[38] y algunas lactonas sesquiterpénicas con esqueleto de guayanolida[39] han mostrado niveles destacables de actividad fitotóxica.

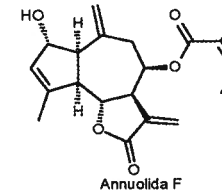


Heliannuol A



Heliespirona A


Annuionona A

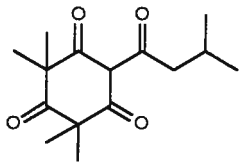


Annuolida F

Los productos naturales comentados, junto con muchos otros, constituyen importantes fuentes de nuevos mecanismos de acción herbicida[40,41].Así, los resultados de diversos estudios de modo de acción realizados sobre cha-

parrinona, hidantocidina y artemisina apuntan hacia modos de acción alternativos o múltiples.

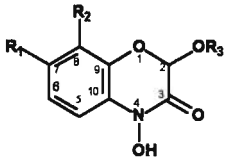
Dentro de lo que sería la tercera estrategia, la modificación de moléculas naturales para la mejora de sus propiedades y su uso como herbicidas podemos citar algunos ejemplos recientes de comercialización de herbicidas basados en productos naturales. Así, la cinmetillina es un herbicida análogo al 1,4-cineol, que ya se ha comercializado en Europa y Asia. Fue descubierto y desarrollado por la compañía Shell Chemicals[42]. El grupo bencilo disminuye en gran medida la volatilidad el cineol, lo que facilita su uso como herbicida. Es un inhibidor moderado del crecimiento de malas hierbas monocotiledóneas.


Leptospermona

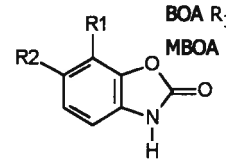
Las tricetonas, un importante nuevo grupo de herbicidas, derivan del producto natural leptospermona, procedente de plantas del género *Callistemon*[43]. Este herbicida posee un nuevo sitio de acción molecular, la p-hidroxifenilpiruvato deoxigenasa, un enzima implicado en la síntesis de plastoquinona. Este sitio está compartido con un nuevo tipo estructural de herbicidas, los isoxazoles, descubiertos por métodos puramente químicos[44].

BENZOXACINONAS Y SUS PRODUCTOS DE DEGRADACIÓN

Tres cultivos de indudable interés agronómico como el maíz[45], el trigo[46] y la cebada[47] presentan numerosos antecedentes como plantas con actividad alelopática. Esta actividad ha sido atribuida a la exudación e incorporación al suelo de ácidos hidroxámicos. La forma glucosidada de los ácidos hidroxámicos (DIMBOAGlc y DIBOA-Glc) es la que habitualmente se encuentra en la planta (esta forma de almacenamiento evitaría fenómenos de autotoxicidad y facilitaría su transporte), mientras que las agliconas son la forma habitual en que estos compuestos son liberados. Por otra parte, estas agliconas se descomponen espontáneamente en solución acuosa a sus benzoxazolinonas.


Ácidos hidroxámicos

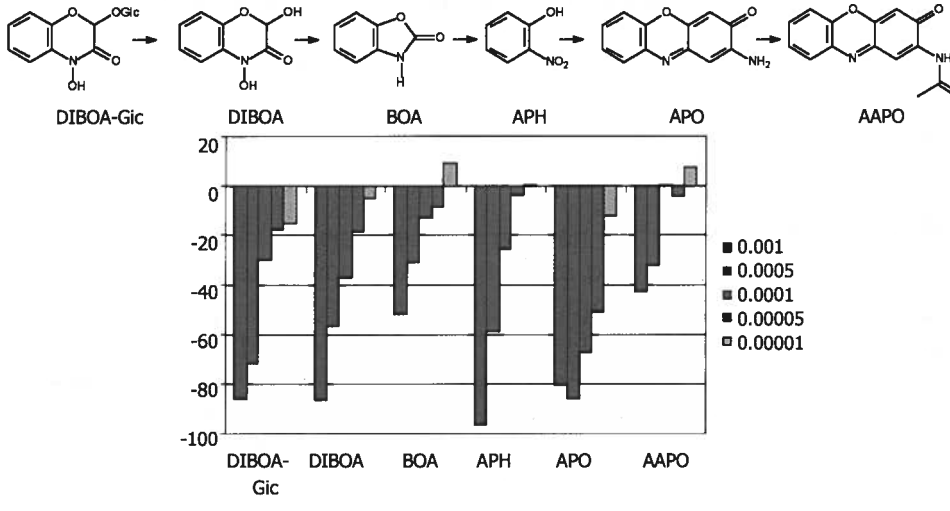
	R_1	R_2	R_3
DIBOA	H	H	H
DIBOA-Glc	H	H	Glc
DIMBOA	OCH3	H	H
DIMBOA-Glc	OCH3	H	Glc
DIM2BOA	OCH3	OCH3	H
DIM2BOA-Glc	OCH3	OCH3	Glc
TRIBOA	OH	H	H


Bemzoxanolinonas

BOA $R_1=R_2=H$

MBOA $R_1=OCH_3$, $R_2=H$

El suelo es un sistema biológicamente activo que sirve de hábitat para microorganismos tales como bacterias y hongos[48]. En muchos casos, se liberan al suelo compuestos orgánicos (metabolitos secundarios) de origen vegetal que pueden ser transformados o metabolizados por estos microorganismos en el suelo o son enlazados a la materia orgánica. La interacción con los microbios puede modular la toxicidad de los compuestos orgánicos, **aumentando o atenuando la actividad biológica** de estos compuestos. Estos metabolitos han sido utilizados como herramientas en el control natural de malas hierbas (ver figura con efecto sobre la raíz de *Lolium rigidum*), donde la liberación prolongada de compuestos al suelo a partir de materia vegetal en descomposición, podría ser una de las vías de dosificación del suelo. La degradación de los metabolitos puede originar una actividad mucho mayor que la observada en los extractos acuosos de dicha planta[49,50]. Los mecanismos por los que se producen estas biotransformaciones dependen en gran medida de la población microbiana del suelo, e incluso por bacterias asociadas a raíces de algunas gramíneas.



Como se indicó anteriormente, estos productos de degradación presentan en muchas ocasiones actividades mayores que los productos directamente exudados por la planta. El conocimiento de estos procesos, facilitaría la comprensión y mejora de los cultivos en rotación, y la obtención de nuevos herbicidas análogos a los productos naturales, cuya biodegradabilidad e inocuidad permitan unos cultivos más seguros, desde el punto de vista medioambiental y de salud.

Se han descrito interesantes propiedades biológicas para los ácidos benzohidroxámicos y las benzoxazolinonas. En concreto, los ácidos benzohidroxámicos han mostrado tener un papel importante en los mecanismos de

defensa química en plantas por su implicación en interacciones planta-planta (DIMBOA y DIBOA han mostrado importantes niveles de fitotoxicidad)[51], así como en las interacciones planta-insecto como agentes disuasores de la alimentación[52]. Así mismo, DIMBOA, DIBOA y sus derivados han mostrado asimismo poseer actividad antifúngica[53]. APO ha mostrado también actividades antitumorales frente a líneas celulares humanas leucemia y tumores sólidos a concentraciones micromolar[54].

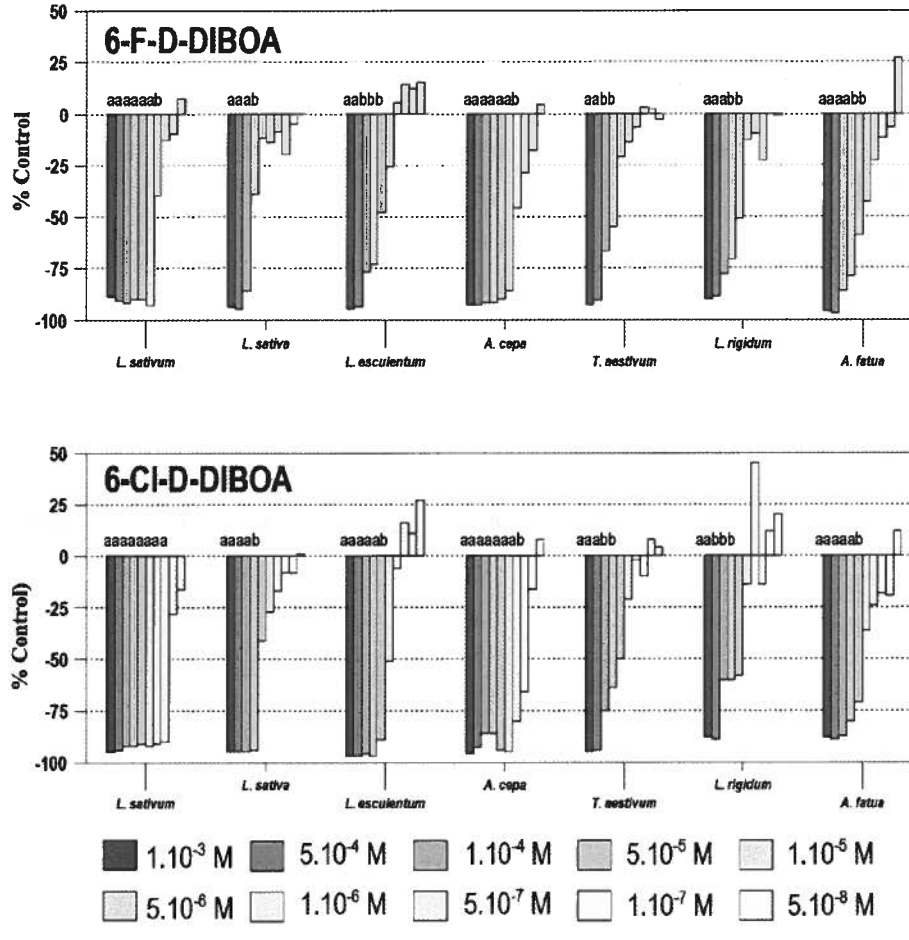
DESARROLLO DE NUEVOS PRODUCTOS AGROQUÍMICOS BASDOS EN BENZOXACINOIDES

Teniendo en cuenta los antecedentes y las interesantes propiedades que desde el punto de vista de sus actividades biológicas poseen los ácidos benzohidroxámicos y sus derivados[55, 56] es de especial interés desarrollar protocolos de síntesis que permitan obtenerlos en cantidad suficiente para su evaluación y el estudio de sus modos de acción. Por otro lado, el desarrollo de nuevas moléculas, con estructuras basadas en las de los compuestos naturales conocidos y con modificaciones que permitan elaborar nuevos modelos de herbicidas mediante la modulación de sus propiedades físicas, químicas y biológicas se plantea como una estrategia eficaz en la búsqueda de nuevos compuestos de interés agrícola

Teniendo en cuenta lo anterior, una serie de modificaciones en el anillo aromático estarían dirigidas a aumentar o disminuir la estabilidad teórica de los compuestos, mediante la introducción de grupos donadores de electrones (hidroxilo y amino) o atractores de electrones (carboxilo y carboxilatos) en las posiciones 5, 6, 7 y 8. Los compuestos pueden clasificarse en cuatro grupos: derivados metoxilados (con grupos metoxilos en las posiciones C-6, C-7 o dos grupos en las posiciones C-7 y C-8); derivados metoxicarbonílicos (en las posiciones C-6 y C-7); derivados fluorados (monosustituidos en las posiciones C-6, C-7 y C-8, disustituidos en las posiciones C-7 y C-8 y un con un grupo trifluorometilo en la posición C-6); y derivados clorados (monosustituidos en las posiciones C-6 y C-8 o disustituidos en las posiciones C-6 y C-8). En todos los ensayos se empleó Logran® como estándar interno para validar los datos de fitotoxicidad obtenidos. Así mismo se incluyó el producto D-DIBOA sin sustituciones para comparar la influencia de los mismos en la actividad de la molécula.

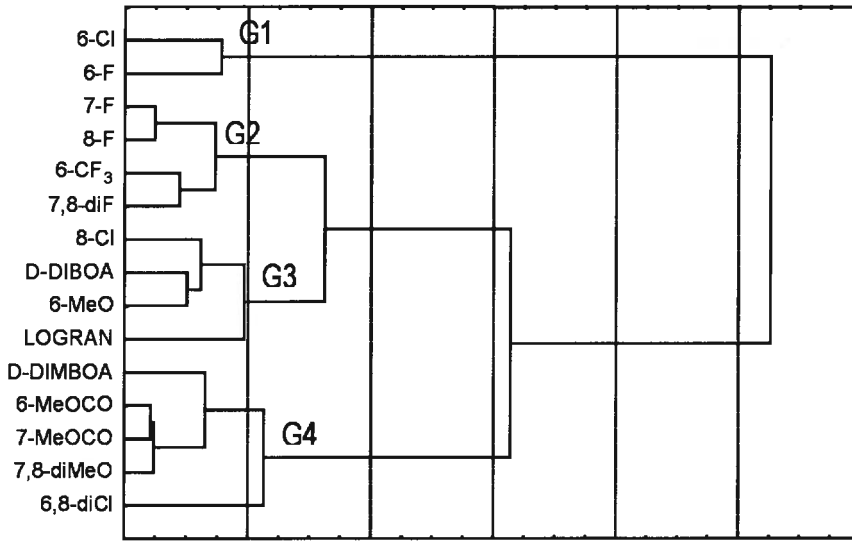
Todos los compuestos que mostraron actividad fueron inhibidores en todos los parámetros evaluados. Éstos fueron germinación, longitud del tallo y longitud de la raíz de las especies cultivadas dicotiledóneas (L*actuca sativa, Lepidium sativum*) y monocotiledóneas (*Allium cepa y Triticum aestivum*), así como de las malas hierbas *Avena fatua* L., y *Lolium rigidum* Gaud.

En términos generales los parámetros de crecimiento se vieron más afectados que las ratios de germinación. No obstante el compuesto 6-Cl-D-DIBOA provocó importantes inhibiciones en este parámetro (IC_{50}=20.4 µM, R^2=0.8103, *L. esculentum*, y 10.3 µM, R^2=0.9754, *L. sativa*). Entre los parámetros de crecimiento, el de la raíz se vio más afectado que el tallo. En general se vieron afectadas todas las especies, especialmente cebolla y berro entre las especies cultivables, mientras que la lechuga y el trigo resultaron ser las especies más tolerantes a este tipo de tratamiento. Los efectos provocados por compuestos como 6-Cl-D-DIBOA y 6-F-D-DIBOA nos forzaron a probar concentraciones muy bajas para poder obtener valores de IC_{50} ($5\cdot10^{-6}$, 10^{-6}, $5\cdot10^{-7}$, 10^{-7} and $5\cdot10^{-8}$ M). En la figura se muestran los valores de inhibición de la longitud de la raíz en todas las especies probadas.



(a) Valores significativamente diferentes a P < 0.01; (b) valores significativamente diferentes a 0.01 < P < 0.05.

En términos generales podemos observar un importante incremento de los efectos fitotóxicos de estos compuestos comparados con los que se observan para las benzoxacinonas que carecen de estos sustituyentes. Con objeto de clarificar los resultados y realizar una comparación de las actividades de los mismos se ha realizado un análisis cluster que se muestra en la figura.



Este análisis está basado en más de 1.500 datos de actividad mostrando cuatro grupos de compuestos principales (G1, G2, G3, and G4). Los tres últimos están agrupados en un clúster de rango superior, lo que indica que los compuestos que forman el primero de éstos (6-Cl, and 6-F-D-DIBOA) son muy diferentes en cuanto a su comportamiento como agentes fitotóxicos. Así, el agrupamiento G1 corresponde a los compuestos más fitotóxicos, G2 contiene compuestos de alta fitotoxicidad, G3 corresponde a los de actividad moderada o baja y G4 a los compuestos no activos.

6-Cl y 6-F-D-DIBOA provocaron efectos en la raíz con valores de IC50 cercanos a 1 μM, como ocurre en *A. cepa* y *L. sativum*. Los efectos sobre la mala hierba A. fatua son en estos casos especialmente relevantes. Así en el caso de los compuestos halogenados sobre la posición C-6 los valores encontrados para el IC50 están por encima de los 60 μM.

En relación a los compuestos correspondientes al grupo G2, todos tienen en común la presencia de flúor en sus estructuras, estando situados estos átomos en las posiciones C-7 y C-8, o como un grupo trifluorometilo en el

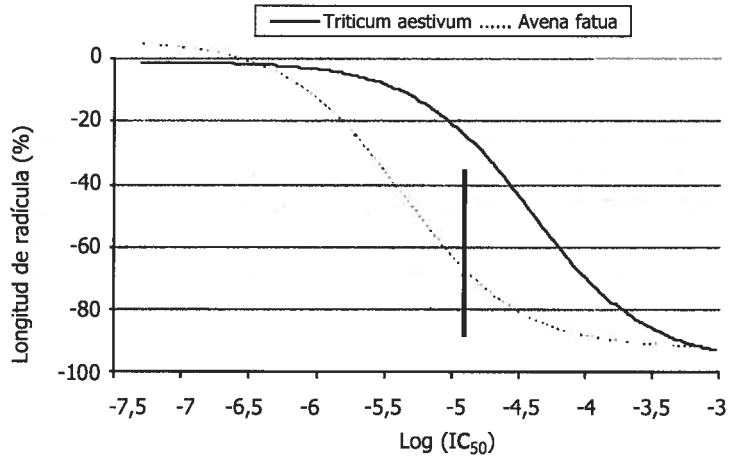
C-6. Los valores de IC50 de estos compuestos varían en un amplio rango de concentraciones, así el trigo resultó ser la especie menos sensible a estos compuestos (248.3-735.1 µM) mientras que los efectos más acusados se dieron para la cebolla y el berro con valores de IC50 por debajo de 50 µM. Uno de los resultados que nos parecen más interesantes es la selectividad que presentan estos compuestos que si afectan de forma significativa a las especies de malas hierbas probadas (*A. fatua* and *L. rigidum*).

SELECTIVIDAD AVENA FATUA-TRIGO.

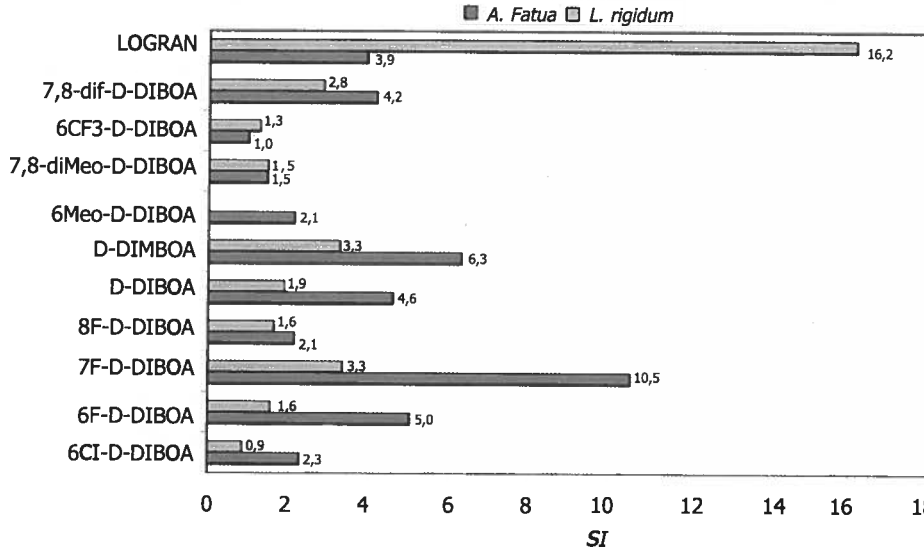
Con objeto de cuantificar y comparar la selectividad observada frente a A. fatua y trigo en los datos de bioactividad, se han tomado los valores de IC50 obtenidos. Para ello se emplea un índice de selectividad referido a las concentraciones de inhibición al 50%, como un conciente de los valores de las mismas para las dos especies:

$$SI_{50} = \frac{IC_{50}\ Wheat}{IC_{50} Wheat\ weed}$$

Así cuanto más alto sea el valor, éste expresará una mayor selectividad frente a la mala hierba.



En la figura se muestran los valores obtenidos para ambas especies de malas hierbas ensayadas.



Si hemos de comparar *L. rigidum*, el herbicida Logran resulta ser el más selectivo de entre todos los compuestos probados. Entre las benzoxacinonas probadas el comportamiento más remarcable corresponde al D-DIMBOA y 7F-D-DIBOA, aunque sus valores IC_{50} fueron más altos que los del Logran. Sin embargo en el caso de la A. fatua el compuesto más selectivo fue el 7F-D-DIBOA, seguido de su isómero 6F-D-DIBOA y el compuesto sin sustituyentes D-DIMBOA. 7F-D-DIBOA tiene un mayor interés ya que su efecto sobre el trigo es muy bajo (IC_{50}=735.1 μM). Así mismo su efecto es significativo sobre ambas malas hierbas. Por tanto podemos encontrarnos ante un nuevo grupo de herbicidas de compuesto derivados de productos naturales con posible aplicación en agricultura que muestran además una importante selectividad, especialmente en cultivos de trigo, donde estos compuestos se muestran más inocuos.

CONCLUSIONES

La Alelopatía nos muestra un variado conjunto de estrategias para el control de las malas hierbas y el manejo de los cultivos. Así podemos emplear plantas Alelopáticas en cultivos en rotación o simultáneos, utilizar residuos vegetales depositados en cubiertas, así como la utilización de agentes alelopáticos naturales o modificados como herbicidas o, incluso, la transferencia

genética de rasgos alelopáticos en cultivos comerciales. La naturaleza nos brinda un enorme potencial de compuestos químicos que poseen una gran variedad estructural, y, lo que es más importante, una enorme variedad de dianas. Será posible en el futuro próximo el empleo de nuevos herbicidas basados en productos naturales con novedosos modos de acción, con una degradabilidad controlada, y con una alta selectividad frente a las especies a las que se pretende combatir. Aún más, las cantidades de herbicidas serán menores, puesto que estos productos han demostrado tener una actividad muy alta a concentraciones mucho menores.

Un mayor conocimiento de la Alelopatía permitirá igualmente minimizar el problema de las malas hierbas en cultivos ecológicos, al emplear las mismas que emplea la naturaleza, facilitando el desarrollo sostenible y económicamente viable.

Los biocomunicadores de origen vegetal o microbiano ostentan, por tanto, un papel ecológico fundamental, al influir en el crecimiento y desarrollo de sistemas biológicos (agentes aleloquímicos), y constituyen una de las principales fuentes de nuevos compuestos, útiles como candidatos para el desarrollo de modelos de herbicidas naturales[57].

AGRADECIMIENTOS

Esta investigación ha sido financiada por el Ministerio de Educación y Ciencia, Spain (MEC; Project No. AGL2006-10570/AGR).

NOTAS

1 Fernández-Quintanilla, C.; Mesa García, J. *El control integrado de malas hierbas.* En: Fundamentos sobre malas hierbas y herbicidas. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Ed. Mundi-Prensa, Madrid, España, 1991.

2 Ryan, G. F. Resistance of common groundsel to simazine and atrazine. *Weed Sci.* 1970,18: 614-616.

3 Heap, I. M. The occurrence of herbicide resistance weeds worldwide. *Pest. Sci.*, 1997, 51: 235-243.

4 Jutsum, A. R. and Graham, J. C. 1995. Managing weed resistance: The role of the agrochemical industry. *The 1995 Brighton Crop Protection Conference–Weeds,* 3:783-790.

5 Callaway, R The detection of neighbours by plant. *Trends in Ecology & Evolution* 2002, 17: 104-105.

6 International Allelopathy Society (IAS), Constitution and Bylaws. 1996. First International Allelopathy Meeting: A Science for the Future. Cádiz, Spain.

7 Romagni, J. G., Meazza, G., Nanyakkara, P. D., Dayan, F. E. The phytotoxic lichem metabolite, usnic acid, is a potent inhibitor of plant *p-hydroxypiruvate* dioxygenase. FEBS Lett. 2000, 480: 301-305.

8 Muller, C (1974) Handbook of vegetation science part VI: Vegetation and environment. (Strain B.R y Billings, eds.) Dr. W. Junk B. Publisher. The Hague.

9 Romeo, J Raising the beam: moving beyond phytotoxicity. *Journal of Chemical Ecology* 2000, 26:2011-2014.

10 Romeo, J., and Weidenhamer, J (1998) Bioassays for allelopathy in terrestrial plants in: Methods in Chemical Ecology. Vol. 2 Bioassay Methods. Pp. 179-211. Haynes, K. and Millar, J., (eds), Kluwer Academia Publishing, Norwell, MA.

11 Vyvian, J. R. Allelochemicals as leads for new herbicides and agrochemicals. *Tetrahedron* 2001, 58: 1631-1646.

12 Duke, S. O., Abbas, H. K. (1995). In: *Allelopathy: Organisms, Processes and Applications, ACS Symp. Ser.* 582, (Inderjit, Dakshini, K. M., Einhellig, F. A., eds.) Washington, D. C.

13 Duke, S. O.; Abbas, H. K.; Amagasa, T.; Tanaka, T. (1996) Phytotoxins of microbial origin with potential for use as herbicides. In: *Crop Protection Agents from Nature: Natural Products and Analogues. Critical Reviews on Applied Chemistry.* (Copping, L. G. ed.), 35: 82-113.

14 Duke, S. O.; Dayan, F. E.; Hernández, A.; Duke, M. V.; Abbas, H. K. (1997) Natural products as leads for new herbicide modes of action. En: *Proceedings Brighton Crop Protection Conference - Weeds.* Brighton, UK, pp579-586.

15 Duke, S. O.; Dayan, F. E.; Rimando, A. M. (1998) Natural products as tools for weed management. In: *Proceedings Japanese Weed Science Society (Suppl.)* pp1-11.

16 Bland, J. M.; Edwards, J. V.; Eaton, S. R.; Lax, A. R. Potential of natural peptidic compounds as leads for novel pesticides. *Pest. Sci.* 1993, 39: 331-340.

17 Edwards, J. V.; Dailey, O. D.; Bland, J. M.; Cutler, H. G. Approaches to structure-function relationships for naturally occurring cyclic peptides. *American Chemical Society Symposium Series* 1988, 380: 35-56.

18 Lydon, J.; Duke, S. O. (1999) Inhibitors of glutamine biosynthesis. In: P*lant Amino Acids: Biochemistry and Biotechnology* (Singh BK ed.). Marcel Dekker, New York, USA, pp 445-464.

19 Streibig, J. C.; Dayan, F. E.; Rimando, A. M.; Duke, S. O. Joint action of natural and synthetic photosystem II inhibitors. *Pest. Sci.* 1999, 55: 137-146.

20 Nimbal, C. I.; Pedersen, J. F.; Yerkes, C. N.; Weston, L. A.; Weller, S. C. Phytotoxicity and distribution of sorgoleone in grain sorghum germoplasm. *J. Agric. Food Chem.* 1996, 44: 1343-1347.

21 Macias, F. A.; Varela, R. M.; Torres, A.; Galindo, J. L. G.; Molinillo, J. M. G. 2002 Allelochemicals from sunflowers: chemistry, bioactivity and applications. In: *Chemical Ecology of Plants: Allelopathy in Aquatic and Terrestrial Ecosystems,* pp73-87.

22 Netzly, D. H.; Butler, L. G. Roots of sorghum exude hydrophobic droplets containing biologically active components. *Crop Sci.* 1986, 26: 775-778.

23 Rimando A. M.; Dayan, F. E.; Czarnota, M. A.; Weston, L. A.; Duke, S. O. A new photosystem II electron transfer inhibitor from *Sorghum bicolor* (L.). *J. Nat. Prod.* 1998, 61: 927-930.

24 Duke, M. V; Paul, R. N.; Elsohly, H. K.; Sturtz, G.; Duke, S. O. Localization of artemisinin and artemisitene in foliar tissues of glanded and glandless biotypes of *Artemisia annua. International Journal of Plant Science* 1994, 155: 365-373.

25 Duke, S. O.; Duke, M. V.; Paul, R. N. (1999). Tissue localization and potential uses of phytochemicals with biological activity. In: *Recent Advances in Allelopathy, Vol. I. A Science for the Future* (Macías F. A., Galindo J. C. G., Cutler H. G. eds). University of Cadiz Press., Cadiz, Spain, pp237-244.

26 Strobel, G.; Kenfield, D.; Bunker, G.; Sugawara, F.; Clardy, J. Phytotoxins as potential herbicides. *Experientia* 1991, 47: 819-826.

27 Abbas, H. K.; Duke, S. O. Phytotoxins from plant pathogens as potential herbicides. *Journal of Toxicology - Toxin Reviews* 1995, 14: 523-543.

28 Nakajima, M.; Itoi, K.; Takamatsu, y. Hydantocidin: a new compound with herbicidal activity. *Journal of Antibiotics* 1991, 44, 293-300.

29 Nakajima, M.; Itoi, K.; Takamatsu, y. Cornexistin: a new fungal metabolite with herbicidal activity. *Journal of Antibiotics* 1989, 42: 1065-1072.

30 Macias, F. A.; Fernandez, A.; Varela, R. M.; Molinillo, J. M. G.; Torres, A.; Alves, Pedro L. C. A. Sesquiterpene lactones as allelochemicals. *J. Nat. Prod.* 2006, 69:795-800.

31 Macias, F. A.; Galindo, J. C. G.; Molinillo, J. M. G.; Castellano, D. Natural products as allelochemicals. 10. Dehydrozaluzanin C: a potent plant growth regulator with potential use as a natural herbicide template. *Phytochemistry* 2000, 54:165-171.

32 Dayan, F. E.; Watson, S. B.; Galindo, J. C. G.; Hernandez, A.; Dou, J.; McChesney, J. D.; Duke, S. O. Phytotoxicity of quassinoids: Physiological responses and structural requirements. *Pest. Biochem. Physiol.* 1999, 65:15-24.

33 Macías, F. A.; Velasco, R. F.; Castellano, D.; Galindo, J. C. G. Application of Hansch's model to guaianolide ester derivatives: A quantitative structure-activity relationship study. *J. Agric. Food Chem.* 2005, 53:3530-3539.

34 Macias, F. A.; Molinillo, J. M. G.; Galindo, J. C. G.; Varela, R. M.; Simonet, A. M.; Castellano, D. The use of allelopathic studies in the search for natural herbicides. *J. Crop. Prod.* 2001, 4:237-255.

35 Aliotta, G.; Cafiero, G. (1999). In: *Principles and practices in plant ecology.* (Inderjit, Dakshini K. M. M., Foy, C. L., eds.); CRC: Boca Raton, FL, pp551-563.

36 Macías, F. A.; Galindo, J. C. G.; Molinillo, J. M. G.; Castellano, D.; Velasco, R. F. Natural products as allelochemicals. 9. Developing new herbicide models from allelochemicals. *Pest. Sci.* 1999, 55: 662-665.

37 Macías, F. A.; Varela, R. M.; Torres, A.; Molinillo, J. M. G. Allelopathic studies in cultivar species. II. Heliespirone A. The first member of a novel family of bioactive sesquiterpenes. *Tetrahedron Lett.* 1998, 39: 427-430.

38 Macías, F. A.; Oliva, R. M.; Varela, R. M.; Torres, A.; Molinillo, J. M. G. Allelopathic studies in cultivar species. 14. Allelochemicals from sunflower leaves cv. Peredovick. *Phytochemistry* 1999, 52: 613-621.

39 Macías, F. A.; Torres, A.; Molinillo, J. M. G.; Varela, R. M.; Castellano, D. Potential allelopathic sesquiterpene lactones from sunflower leaves. *Phytochemistry* 1996, 43: 1205-1215.

40 Duke, S. O.; Romagni, J. G.; Dayan, F. E. Natural products as sources for new mechanisms of herbicidal action. *Crop Protection* 2000, 19: 583-589.

41 Vyvyan, J. R. Allelochemicals as leads for new herbicides and agrochemicals. *Tetrahedron* 2002, 58: 1631-1646.

42 Grayson, B. T.; Williams, K. S., Freehauf, P. A.) The physical and chemical properties of the herbicide cinmethylin (SD 95481). *Pest. Sci.* 1987, 21: 143-153.

43 Lee, D. L.; Prisbylla, M. P.; Cromarthie, T. H. The discovery and structural requirements of inhibitors of p-hydroxyphenylpyruvate dioxygenase. *Weed Sci.* 1997, 45: 601-609.

44 Viviani, E.; Little, J. P.; Pallett, K. E. The mode of action of isoxaflutole II. Characterization of the inhibition of carrot 4-hydroxyphenylpyruvate dioxygenase by the diketonitrile derivative of isoxaflutole. *Pest. Biochem. Physiol.* 1998, 62: 125-134.

45 a) Friebe, Annette; Klever, Wilma; Sikora, Richard; Schnabl, Heide. Allelochemicals in root exudates of maize: effects on root lesion nematode Pratylenchus zeae.Recent *Advances in Phytochemistry* 1998, 32: 71-93. b) Takabayashi, J.; Takahashi, S.; Dicke, M.; Posthumus, M. A. Developmental stage of herbivore *Pseudaletia separata* affects production of herbivore-induced synomone by corn plants. *Journal of Chemical Ecology* 1995, 21: 273-87. c) Turlings, Ted C. J.;Tumlinson, James H. Systemic release of chemical signals by herbivore-injured corn. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 1992, 89: 8399-402. d) Anaya, A. L.; Hernandez-Bautista, B. E.; Jimenez-Estrada, M.; Velasco-Ibarra, L.. Phenylacetic acid as a phytotoxic compound of corn pollen. *Journal of Chemical Ecology* 1992, 18: 897-905.

46 a) Wu, Hanwen; Pratley, James; Haig, Terry. M. Phytotoxic Effects of Wheat Extracts on a Herbicide-Resistant Biotype of Annual Ryegrass (*Lolium rigidum*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2003, 51: 4610-4616. b) Wu, Hanwen; Haig, Terry; Pratley, James; Lemerle, Deirdre; An, Min. Biochemical Basis for Wheat Seedling Allelopathy on the Suppression of Annual Ryegrass (*Lolium rigidum*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry,* 2002, 50:4567-4571. c) Wu, H.; Pratley, J.; Lemerle, D.; Haig, T. Allelopathy in wheat (*Triticum aestivum*). *Annals of Applied Biology* 2001, 139:1-9. d) Wu, Hanwen; Haig, Terry; Pratley, James; Lemerle, Deirdre; An, Min. Allelochemicals in wheat (*Triticum aestivum* L.): production and exudation of 2,4-dihydroxy-7-methoxy-1,4-benzoxazin-3-one. *Journal of Chemical Ecology* 2001, 27: 1691-1700.

47 a) Baghestani, Ali; Lemieux, Claudel; Leroux, Gilles D.; Baziramakenga, Regis; Simard, Regis R. Determination of allelochemicals in spring cereal cultivars of different competitiveness. *Weed Science* 1999, 47:498-504. b) Liu, D. L., Lovett, J. V. Biologically active secondary metabolites of barley I. Developing techniques and assessing allelopathy in barley. *Journal of Chemical Ecology,* 1993, 19: 2217-30. c) Liu, D. L., Lovett, J. V. Biologically active secondary metabolites of barley II. Phytotoxicity of barley allelochemicals. *Journal of Chemical Ecology* 1993, 19:2231-44.

48 Bravo, H New products from the decomposition of 2-hydroxy-1,4-benzoxazin-3-one (HBOA) a natural lactams from cereals and the 7-nitroderivate (HNBOA) *Bol. Soc. Chil. Quim.* 2000, 1-7.

49 Wild, A (1996) Soils and the environment: An introduction. Cambridge Univ. Press, Cambrindge, UK.

50 a) Weaston, L Utilization of allelopathy for weed management in agroecosystems. *Agr. J.* 1996, 88:860-866. b) Inderjit, Keating, K (1999) Allelopathy: principles, procedures, processes, and promises for biological control. *Adv. Agron.* 67:141-231.

51 H. Niemeyer Hydroxamic Acids (4-Hydroxy-1,4-Benzoaxin-3-ones), defence chemicals in the Gramineae. *Phytochemistry* 1988,11: 3349-3358.

52 C. A. Escobar, D. Sicker, and H. M. Niemeyer Evaluation of DIMBOA analogs as antifeedants and antibiotics towards the aphid *Sitobion avenae in artificial diets. Journal of Chemical Ecology* 1999, 25: 1543-1554.

53 Weibull, J.; Niemeyer, H.M. Changes in dihydroxymethoxybenzoxazinone glycoside content in wheat plants infected by three plant pathogenic fungi. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 1995, 47: 201-209.

54 Bolognese, A.; Correale, G.; Manfra, M.; Lavecchia, A.; Mazzoni, O.; Novellino, E.; Barone, V.; Pani, A.; Tramontano, E.; La Colla, P.; Murgioni, C.; Serra, I.; Setzu, G.; Loddo, R. Antitumor Agents.1. Synthesis, Biological Evaluation, and Molecular Modelling of 5H-Pyrido[3,2-a]phenoxazin-5-one, a Compound with Potent Antiproliferative Activity. *Journal of Medicinal Chemistry* 2002, 45:5205-5216.

55 Barnes, J., and Putnam, A Rye residues contribute weed suppression in no-tillage cropping system. *Journal of Chemical Ecology* 1983, 1045-1057.

56 Virtanen, A., Hietala, P., and Wahlroos, O Antimicrobial substances in cereals and fodder plants. *Arch. Biochem. Biophys.* 1957, 69:486-500.

57 Macias, F. A.; Molinillo, J. M. G.; Oliveros-Bastidas, A.; Marin, D.; Chinchilla, D. Allelopathy. A natural strategy for weed control. *Communications in Agricultural and Applied Biological Sciences* 2004, 69:13-23.

NEMATODOS ENTOMOPATÓGENOS COMO BIOINSECTICIDAS

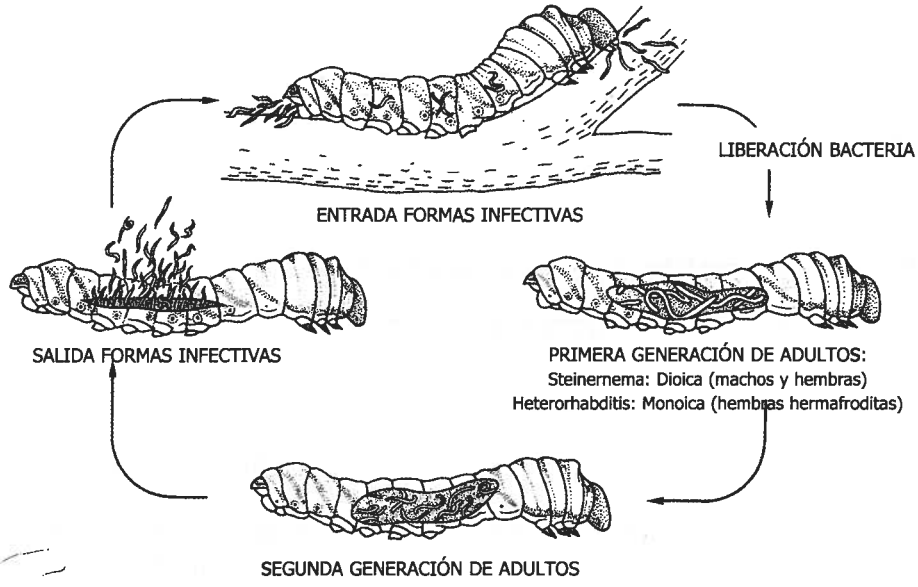
Fernando García del Pino.
Profesor titular
Departamento de Biología Animal, Biología Vegetal y Ecología.
Facultad de Biociencias
Universidad Autónoma de Barcelona

Los nematodos entomopatógenos son parásitos obligados de insectos, que presentan una relación simbiótica con una bacteria que les confiere las particulares características del complejo nematodo-bacteria, y la enorme potencialidad como bioinsecticidas.

Recientemente estos nematodos están recibiendo una mayor atención, debido al desarrollo de métodos de producción económicamente razonables que han permitido su utilización generalizada como bioinsecticidas mediante estrategias inundativas o inoculativas. Otro aspecto que incide en el interés despertado por este agente biológico de control de plagas es que pueden ser manipulados para mejorar su patogenidad y su persistencia, y algunas de las toxinas que producen pueden ser transferidas o expresadas en plantas cultivables o en otros microorganismos.

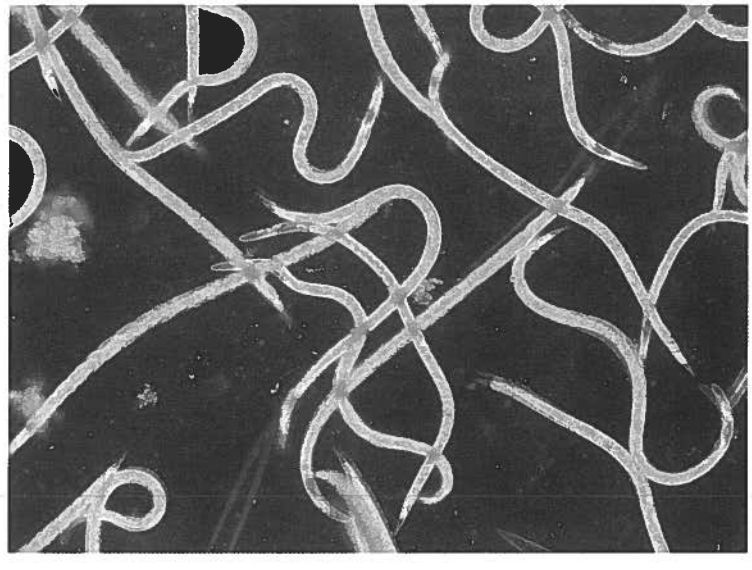
Los nematodos entomopatógenos pertenecen a dos familias de nematodos del orden Rhabditida: la familia Steinernematidae y la familia Heterorhabditidae, presentando ambas familias un ciclo de vida muy similar (figura 1).

Figura 1.- Ciclo biológico de los nematodos entomopatógenos



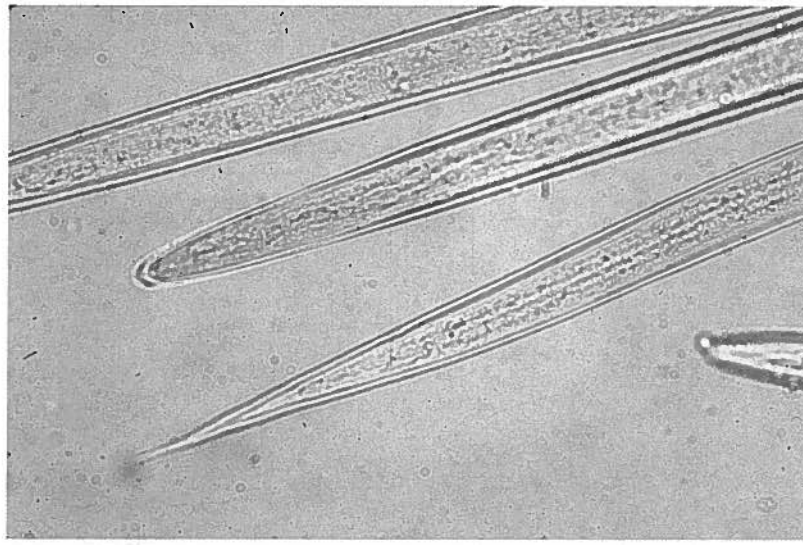
El estadio infectivo de *Steinernema*, que corresponde a un tercer estadio juvenil infectivo, es el único estadio del ciclo de vida de estos nematodos que puede vivir fuera del insecto (figura 2).

Figura 2. Formas infectivas de *Steinernema sp.*



Estas formas infectivas no se alimentan, tienen la boca y el ano cerrado y pueden sobrevivir en el medio durante varios meses. Son las encargadas de localizar el insecto, ya que pueden detectar diversos productos de excreción de los mismos que son utilizados como rastros para su localización. Estas formas infectivas, que presentan una doble cutícula (figura 3), transportan en la parte anterior de su intestino unas 200 células de la bacteria simbionte del género *Xenorhabdus* (Ehlers y Peters, 1995).

Figura 3. Formas infectivas donde se aprecia la doble cutícula.

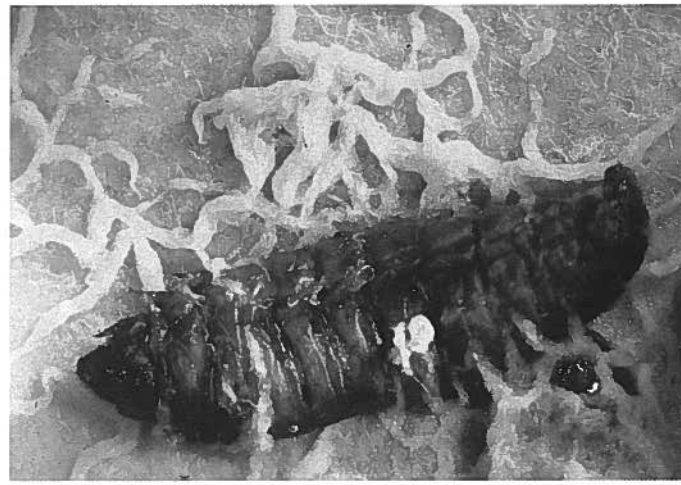


La entrada en el insecto se produce principalmente por las aperturas naturales del mismo (boca, ano y espiráculos). Una vez el nematodo se encuentra en el sistema traqueal o el sistema digestivo del insecto, penetra hacia el hemocele a través de las frágiles paredes de las traqueolas por acción mecánica, o a través de la membrana peritrofica del digestivo, gracias a la presión mecánica y a la secreción de enzimas histolíticos (Abu Hatab *et al*, 1995). Cuando el nematodo alcanza el hemocele libera la bacteria que transportaba, esta liberación se puede producir entre 30 minutos a 5 horas después de la infección (Dunphy y Thurston, 1990; Wang *et al*, 1994). La bacteria se multiplica rápidamente en la hemolinfa del insecto y lo mata por septicemia, generalmente dentro de las 24-48 horas. Es en ese momento cuando el nematodo comienza a alimentarse de la bacteria, y muda sucesivamente hasta alcanzar el cuarto estadio, después del cual se transforman en adultos, machos y hembras de la primera generación. Esta primera generación se reproduce dando lugar a una segunda generación de adultos.

La producción de los nematodos dentro del insecto continúa hasta que se consumen los recursos alimenticios del cadáver del insecto, usualmente permitiendo el desarrollo de dos o hasta tres generaciones. Cuando los recursos comienzan a escasear, el segundo estadio larvario del nematodo deja de alimentarse e incorpora las bacterias en una vesícula presente en su tubo digestivo. Es entonces cuando este segundo estadio larvario muda convirtiéndose en estadio infectivo, manteniendo la cutícula del segundo estadio como funda exterior. En el caso de que los recursos del insecto sean muy limitados, la descendencia de la primera generación dará lugar directamente a las formas infectivas.

Cuando se forman las nuevas formas infectivas éstas saldrán del cadáver del insecto, pasando al medio para localizar un nuevo insecto que parasitar.

Figura 4. Salida de las formas infectivas del nematodo del interior del insecto.



El ciclo de vida de los heterorhabdítidos es similar al de los sterinernemátidos, pero en *Heterorhabditis* la primera generación de adultos es monoica, estando compuesta exclusivamente por hembras hermafroditas. Igualmente en el caso de *Heterorhabditis* la bacteria simbionte pertenece al género *Photorhabdus*, que presenta luminiscencia, en vez de la bacteria *Xenorhabdus* que transportan los nematodos del género *Steinernema*.

CARACTERÍSTICAS DE LOS NEMATODOS ENTOMOPATÓGENOS COMO BIOINSECTICIDAS Y FACTORES QUE DETERMINAN SU EFICACIA

Los nematodos entomopatógenos son letales para muchos insectos, pero son muy seguros para el hombre las plantas y otros animales, no contaminando el medio ambiente. Por este motivo en la aplicación de estos nematodos, a diferencia de los productos químicos, no es necesaria la utilización de máscaras u otros equipos de protección personal, no necesitan plazos de seguridad, y no dejan residuos ni contaminan las aguas subterráneas. Los nematodos no requieren equipos de aplicación especializados, pudiéndose aplicar con los equipos convencionales (pulverizadores, inyectores, mediante el riego, etc.) y son compatibles con muchos plaguicidas químicos, pudiendo ser utilizados conjuntamente. Mientras que muchos otros agentes de control biológico necesitan días e incluso semanas para matar al insecto, los nematodos, con su bacteria simbiótica, matan al insecto en 24-48 h. Otra característica importante de estos nematodos es que encuentran al insecto activamente en hábitats ocultos (suelo y galerías), siendo efectivos donde otros plaguicidas químicos o agentes de control biológico no lo son. Finalmente cabe señalar que los nematodos entomopatógenos se reproducen en el insecto que parasitan, pudiendo dar lugar a un efecto multiplicativo de la dosis inicial aplicada.

Todas estas características determinan que los nematodos entomopatógenos presenten grandes ventajas en el control de plagas de insectos, pero existen diversos factores que, en algunos casos, pueden determinan su eficacia, entre estos factores, se pueden destacar:

Entrada de los nematodos en el insecto

Una vez el nematodo ha localizado al insecto, generalmente, no existen problemas para que pueda entrar en el interior del mismo, sin embargo, en algunas ocasiones se ha podido comprobar como esta entrada se ha visto dificultada por comportamientos del propio insecto. Gaugler *et al*, 1994, pudieron comprobar como *Popillia japónica* desarrolla un comportamiento de acicalamiento o autoaseo (grooming) y comportamientos de evasión que dificultan la entrada de los nematodos al interior del insecto.

La entrada de los nematodos por los espiráculos hacia el sistema traqueal puede verse dificultada en algunos insectos por la presencia de barreras mecánicas como placas protectoras que impidan el paso de los nematodos a través de los mismos. Este fenómeno ha sido observado en diversas larvas de escarabeidos que se desarrollan en el suelo (Forschler y Gardner, 1991) y en larvas de típulas (Peters y Ehlers, 1994). Sin embargo, en otros

casos, como en las larvas de *Cephalicia lariciphila* (Hymenoptera: Pamphiliidae), los espiráculos respiratorios es la vía principal de entrada de los nematodos (Georgis y Hague, 1981).

La boca y el ano son las vías principales de entrada de los nematodos en muchos insectos. Sin embargo, en algunos casos la anchura de la boca puede ser un factor que limite la entrada de los nematodos en el insecto, como ocurre con los gusanos de alambre (Eidt y Thurston, 1995). En otros casos, la presencia de potentes mandíbulas pueden dañar los nematodos que intenten penetrar por esta vía, como ocurre en las larvas de simúlidos (Gaugler y Molloy, 1981). La entrada de los nematodos por el ano puede dificultarse cuando el insecto produce defecaciones frecuentes, así por ejemplo Cui *et al.* (1993) y Georgis y Hague (1981) vieron que tanto en los escarabeidos como en los tipúlidos, la vía de entrada más frecuente era la boca en vez del ano.

La entrada de los nematodos también se puede producir a través de la cutícula del insecto. Los heterorhabdítidos pueden penetrar la cutícula del insecto por presión mecánica, gracias a la presencia en su parte anterior de un diente cuticular. A pesar de que las formas infectivas de los steinernemátidos no presentan dicho diente cuticular, también pueden atravesar la cutícula de algunos insectos. Peters y Ehlers (1994) comprobaron como *Steinernema feltiae* es capaz de atravesar la cutícula de las larvas de las típulas, la cual carece de epicutícula cerosa. Simoes (1998) comprobó como esta penetración de las formas infectivas de los steinernemátidos a través de las exocutículas rudimentarias de ciertos insectos se ve favorecida por la secreción de ciertos enzimas histolíticos .

Interacciones con el sistema inmunitario del insecto

Cuando un nematodo entra en la hemolinfa de un insecto, la respuesta inmediata del sistema inmunitario del mismo es el reconocimiento del nematodo como un agente extraño y la consiguiente encapsulación del mismo. El nematodo queda encerrado en una cápsula que lo inactiva antes de la liberación de la bacteria. Estos fenómenos se han observado en diferentes grupos de insectos (ortópteros, coleópteros, dípteros y lepidópteros). Wang *et al.* (1994) observaron como en Acheta domestica, se producía la encapsulación del nematodo *Steinernema carpocapsae* y *Heterorhabditis bacteriophora*, pero en cambio no se producía la encapsulación de S. scapterisci, especie que ha sido observada frecuentemente en relación con ortópteros. Igualmente el nematodo *S. glaseri*, que se asocia de forma natural con larvas de escarabeidos, no produce la encapsulación en *Popillia japónica*, mientras que otras especies de nematodos como *S. carpocapsae* y *H. bacterio-*

phora si que la producen. Estas observaciones sugieren que los nematodos entomopatógenos son capaces de evitar la encapsulación en aquellos hospedadores similares a los que habitualmente parasitan de forma natural (Dowds y Peters, 2002). Dunphy y Webster (1987) comprobaron como los nematodos son capaces de evitar la encapsulación gracias a la presencia de componentes lipídicos que presenta su cutícula, que evita que sean reconocidos como un cuerpo extraño por parte del sistema inmunitario del insecto. A pesar de que este fenómeno de la encapsulación de los nematodos que penetran en el insecto puede limitar su eficacia, cabe señalar que la capacidad de encapsular nematodos es limitada. Diversos autores han podido comprobar como cuando se produce una entrada múltiple de nematodos en el insecto no todos pueden ser encapsulados, quedando alguno de ellos libres en la hemolinfa lo que produce finalmente la muerte del insecto.

El comportamiento de búsqueda del nematodo

El comportamiento de búsqueda del insecto por parte del nematodo puede ser un factor determinante que afecte la eficacia de los mismos. Así por ejemplo, si se pretende controlar una plaga que se encuentra en las capas más profundas del suelo se deberán utilizar nematodos que se desplacen verticalmente, mientras que si la plaga se encuentra en la superficie del suelo, un nematodo con desplazamientos horizontales puede ser el más efectivo. En este sentido, la distribución vertical de los nematodos ha sido estudiada tanto en el laboratorio como en el campo (Campbell *et al.*, 1996; Ferguson *et al.*, 1995). Estos autores han podido comprobar como *Steinernema carpocapsae* se encuentra frecuentemente en las capas más superficiales del suelo (1-2 cm), mientras que *Heterorhabditis bacteriophora* suele encontrarse en las capas más profundas (desde los 8 cm hasta los 35 cm). Igualmente estudios de laboratorio han señalado que las formas infectivas de *S. carpocapsae* tienden ha moverse hacia arriba (Georgis y Poinar, 1983; Schroeder y Beavers, 1987), mientras que *S. glaseri* y *H. bacteriophora* se mueven principalmente hacia abajo, aunque también se mueven a lo largo de toda la columna de suelo. Evidentemente la posición de cada especie de nematodo en las diferentes capas del suelo, determinará una cierta especifidad por la entomofauna presente en cada estrato.

Otro aspecto relacionado con el comportamiento de búsqueda es la capacidad de movimiento que manifiestan los diferentes nematodos. Así por ejemplo, se han podido establecer unos patrones genéricos de comportamiento. Algunos nematodos presentan un comportamiento de "emboscada". Cuando estos nematodos están en el suelo permanecen inmóviles hasta que detectan la proximidad de un posible hospedador y es entonces cuando se activa el comportamiento de búsqueda que les permite abalanzarse sobre el

insecto que parasitarán. Por el contrario, otros nematodos presentan un comportamiento de "navegante". Estos nematodos cuando están en el suelo están continuamente desplazándose buscando un posible insecto que les sirva de hospedador.

Las diferentes estrategias de búsqueda del hospedador por parte de las formas infectivas de las diferentes especies de nematodos varía en un continuo entre el comportamiento de "emboscada" y el de "navegante" (Campbell y Gaugler, 1993, 1997; Grewal *et al.*, 1994; Lewis *et al.*, 1992, 1993). Dentro de los géneros *Steinernema* y *Heterorhabditis*, existen variaciones considerables en sus comportamientos de búsqueda, que determinan su eficacia contra las distintas plagas. De forma genérica se puede indicar que si se pretende controlar una plaga que se encuentra inmóvil en el suelo alimentándose de las raíces de una planta, será necesario utilizar un nematodo con comportamiento de búsqueda de "navegante", mientras que si se trata de una plaga con movilidad en el suelo sería adecuado utilizar un nematodo con comportamiento de "emboscada".

Supervivencia en el medio

Generalmente los nematodos entomopatógenos son utilizados como bioinsecticidas mediante estrategias inundativas, que implican la liberación de un gran número de nematodos en el medio, con el objetivo de obtener un inmediato control de la plaga. En estas situaciones es necesario mantener una elevada población de nematodos en el campo durante al menos 2-3 semanas (Georgis y Manweiler, 1994). Por este motivo la capacidad de persistencia de los nematodos es un factor que determinará la eficacia de los mismos. La supervivencia de los nematodos en el medio una vez aplicados, varía en función de la especie de nematodo, en relación con su comportamiento, su tasa metabólica y la cantidad de reservas nutritivas que dispone, así como de diversos factores abióticos y bióticos (antagonistas).

Entre los factores abióticos, las características del suelo como la granulometría, pueden determinar la capacidad de movilidad de los nematodos, así como la aireación del suelo y por tanto su supervivencia (Kung *et al.*, 1990).

Otros factores como la temperatura, la humedad, la concentración de sales o de plaguicidas en su entorno, también pueden jugar un papel importante en la supervivencia de los nematodos. Se ha podido comprobar como a temperaturas superiores a 32 ºC, los nematodos entomopatógenos, como otros muchos organismos, tienen dificultades en reproducirse, desarrollarse e incluso sobrevivir (Greval *et al.*, 1994; Zervos *et al.*, 1991). Sin embargo, se están aislando diferentes cepas de nematodos en regiones de clima tropical que manifiestan una mayor tolerancia a las temperaturas elevadas

(Amarasinghe *et al.*, 1994). La humedad es otro factor que puede determinar la supervivencia de los nematodos entomopatógenos Los nematodos necesitan una película de agua alrededor de su cuerpo para poder moverse, por lo que la desecación afecta de manera adversa su movilidad y su supervivencia. Se han realizado diversos estudios que han determinado la diferente tolerancia a la desecación que presentan las distintas especies de *Steinernema* y *Heterorhabditis* (Liu y Glazer, 2000; Solomon *et al.*, 1999).

Entre los factores bióticos que determinan la supervivencia de las formas infectivas de los nematodos entomopatógenos en el medio, enemigos naturales como protozoos, hongos, turbelarios, nematodos, tardígrados, oligoquetos, ácaros, etc., pueden provocar una reducción de las poblaciones de estos nematodos (Small, 1988). Sin embargo, los nematodos tiene diferentes estrategias para poder evadirse del ataque de estos enemigos naturales, así por ejemplo, su comportamiento de búsqueda, ciertas estructuras morfológicas, como la presencia de la doble cutícula, o diversos factores fisiológicos protegen a las formas infectivas del ataque de los hongos nematófagos. Igualmente la presencia de antibióticos producidos por la bacteria simbionte en el interior del insecto genera un ambiente favorable para el desarrollo del nematodo que puede impedir el ataque de muchos antagonistas. Finalmente la elevada capacidad reproductiva de estos nematodos y su rápido ciclo biológico, que permite a las formas infectivas salir rápidamente del interior del insecto parasitado, minimizan tanto el ataque de antagonistas como los posibles efectos de la actividad de los organismos carroñeros.

PRODUCCIÓN, FORMULACIÓN Y APLICACIÓN

Los nematodos entomopatógenos se pueden producir a gran escala en cultivos monoxénicos (cultivos libres de microorganismos a excepción de la bacteria simbiótica) en medios sólidos (Bedding, 1981, 1984) o en medios líquidos mediante métodos de fermentación líquida (Pace *et al.*, 1986). El cultivo a gran escala en medios sólidos implica un elevado coste de producción que limita su desarrollo comercial (Ehlers, 1996). La producción en biorreactores mediante fermentación líquida es una alternativa económicamente competitiva para la producción de estos nematodos. Este método fue desarrollado inicialmente para el cultivo de S. carpocapsae, alcanzándose una producción de $1x10^5$ formas infectivas por ml de medio (Georgis, 1992). Actualmente diversas especies/cepas de nematodos entomopatógenos se producen comercialmente en fermentadores de 1.000 y hasta 40.000 litros en USA, Australia y diversos países de Europa.

Después de la producción de los nematodos, y debido a su carácter de bioinsecticidas, es necesario desarrollar formulaciones estables que garanti-

cen la supervivencia de los nematodos durante el transporte, la distribución y el almacenamiento que exige su comercialización. Los nematodos pueden ser conservados en diferentes sustratos como: esponja de poliuretano, vermiculita, alginato, geles floables, que mantienen la humedad necesaria para su supervivencia, permitiendo su conservación durante algunos meses a una temperatura de 4-8ºC. Últimamente se han desarrollado formulaciones más estables en forma de gránulos dispersables en agua que inducen una anhidrobiosis parcial de los nematodos, reduciendo el consumo de oxígeno y de sus reservas de lípidos, que garantiza una conservación de tres a seis meses.

Los nematodos entomopatógenos deben ser aplicados en las condiciones adecuadas de humedad y temperatura que garanticen su supervivencia en el ambiente donde deben buscar al insecto. Debido a su sensibilidad a la desecación y a la radiación ultravioleta, para prolongar su supervivencia, es deseable realizar la aplicación de los nematodos durante la época de lluvias, con tiempo nublado o durante el anochecer, o incorporar antidesecantes en su formulación. Los nematodos se pueden aplicar en suspensión acuosa mediante pulverización o inyección, siempre y cuando no se rebase una presión de 2000 kPa y la boquilla no sea inferior a 50 µm (Georgis, 1990; Shetlar, 1999), o a través del sistema de irrigación. Cuando se aplican en suspensión acuosa es importante evitar la precipitación de los nematodos durante su aplicación, para ello se deberá mantener una continua agitación de la cuba de aplicación o bien se puede incorporar 0,2% de carboximetil celulosa para evitar su precipitación. También es posible aplicar los nematodos a través del riego o bien mediante la dispersión de cadáveres de insectos parasitados previamente por nematodos.

La dosis de aplicación de los nematodos dependerá de la especie/cepa de nematodo, del insecto a controlar y del ambiente donde se ha de aplicar. La dosis utilizada habitualmente en ensayos de campo a gran escala en tratamientos inundativos, es de $0{,}5x10^6/m^2$, $1x10^9$/ha o $2\text{-}5x10^4$/planta.

DIVERSIDAD DE ESPECIES

La familia Steinernematidae cuenta con dos géneros: el género *Neosteinernema* con una única especie (*N. longicurvicauda*) y el género Steinernema con más de 48 especies conocidas en la actualidad. La familia Heterorhabditida cuenta con un único género *Heterorhabditis* y 11 especies conocidas. Actualmente de todas las especies conocidas, únicamente se comercializan como bioinsecticidas un número limitado de ellas:

– ***Steinernema carpocapsae:*** Esta es la especie más estudiada de todos los nematodos entomopatógenos. Su fácil producción en masa y su capacidad de ser formulada mediante desecación parcial, que le permite ser con-

servada a temperatura ambiente durante diversos meses, ha hecho que sea la especie más utilizada hasta el momento. Presenta un comportamiento de búsqueda del insecto típicamente de "emboscada", permaneciendo erguida sobre su cola (nictating) cerca de la superficie del suelo hasta que pasa un posible hospedador. Por este motivo está principalmente recomendada para el control de insectos que se mueven por la superficie del suelo.

— ***Steinernema feltiae:*** Presenta un comportamiento de búsqueda del hospedador intermedio entre el de "emboscada" y el de "navegante". Existen cepas de este nematodo que pueden mantener la infectabilidad a temperaturas del suelo inferiores a 10 ºC.

– ***Steinernema glaseri:*** Es la especie comercializada cuyas formas infectivas presenta un mayor tamaño, siendo el doble de largas que las de *Steinernema carpocapsae*. Las formas infectivas poseen un comportamiento de búsqueda del insecto típicamente de "navegante", son muy móviles y presentan una fuerte atracción por los diferentes productos de excreción de los insectos. Por ello, este nematodo está mejor adaptado a parasitar insectos con una baja movilidad que se encuentren en las capas inferiores del suelo.

– ***Steinernema riobravis:*** Esta especie es muy patógena para diversos órdenes de insectos. En relación al comportamiento de búsqueda del insecto, presenta una combinación de características propias de las especies con comportamiento de "emboscada" y "navegantes". Está adaptada a las altas temperaturas, su eficacia ha sido demostrada a temperaturas del suelo superiores a 35 ºC. Igualmente presenta una buena tolerancia a las condiciones de sequedad.

– ***Steinernema scapterisci:*** Esta especie de nematodo se utiliza para el control de los grillotopos, siendo un patógeno muy específico de este insecto. Para localizar a los insectos presenta un comportamiento de emboscada que le permite permanecer en las túneles que los grillotopos realizan en el suelo, hasta que éstos pasen y así parasitarlos.

– ***Heterorhabditis bacteriophora:*** Es una especie que presenta una gran versatilidad, pudiendo atacar a diversos grupos de insectos. Tiene un comportamiento de "navegante" en la búsqueda del insecto, por lo que está recomendada para el control de gorgojos que se alimentan de raíces. Particularmente es muy eficaz en el control de los otiorrincos. Es una especie adaptada a temperaturas cálidas, reduciéndose su eficacia cuando la temperatura del suelo está por debajo de los 20 ºC.

– ***Heterorhabditis megidis:*** Este nematodo se comercializa para el control de otiorrincos y otros insectos, principalmente coleópteros, presentando unas características similares a las descritas para *H. bacteriophora.*

– ***Heterorhabditis indica:*** comercializada para el control de curculiónidos de los cítricos

– ***Heterorhabditis marelata:*** comercializada para el control de otiorrincos, principalmente *Otiorhynchus sulcatus.*

– ***Heterorhabditis zealandica:*** comercializada principalmente para el control de gusanos blancos.

Como se puede observar en las características de las especies comerciales indicadas anteriormente, las diversas especies y cepas de nematodos entomopatógenos responden de forma diferentes a los factores que determinan su eficacia. Es por ello que la elección de los nematodos más adecuados a la especie de insecto que se desee controlar, y a las condiciones donde se encuentre dicha plaga, será un aspecto importante a la hora de poder predecir la eficacia que tendrá la utilización de estos nematodos en el campo.

Aunque existen algunos ejemplos en que especies de nematodos exóticas alcanzan un mayor control que las especies autóctonas (Berry *et al.* 1997), generalmente el mayor éxito se obtendrá utilizando el "nematodo autóctono salvaje" más efectivo contra la plaga concreta que se pretende combatir. Por ello, para alcanzar una máxima eficacia en campo, siempre que sea posible, se debería seleccionar, producir y liberar el nematodo autóctono fisiológicamente mejor adaptado para la supresión de la plaga, y seleccionar o producir las condiciones abióticas y bióticas que favorezcan su supervivencia (Bedding *et al.* 1993). Cabe señalar que de las especies que actualmente se comercializan, únicamente en el caso de *Steinernema carpocapsae, Steinernema feltiae* y *Heterorhabditis bacteriophora,* ha sido descrita su presencia en la Península Ibérica en poblaciones naturales.

ENSAYOS DE EFICACIA

Para determinar la virulencia de los nematodos y poder prever la eficacia de los nematodos en pruebas de campo, se han desarrollado diversos de ensayos laboratorio que intentan valorar los diferentes aspectos que determinan esta eficacia.

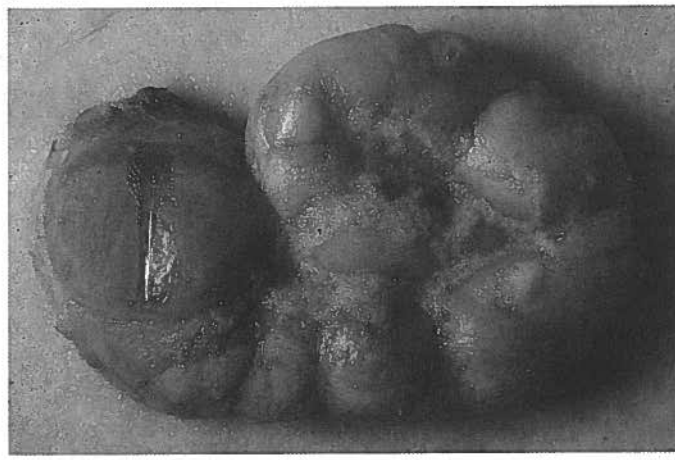
Caroli *et al.* (1996) desarrollaron ensayos para valorar la capacidad de los nematodos de penetrar en el interior del insecto. Los ensayos de tiempo de exposición fueron propuestos por Glazer (1991) para analizar la proporción de nematodos que pueden penetrar en el insecto. Los ensayos en columnas de arena desarrollados por Griffin y Downes (1994) han permitido evaluar la capacidad de los nematodos de localizar y penetrar en el insecto. Finalmente los ensayos "uno-a-uno" de Miller (1989) y los de idoneidad del

hospedador de Lewis *et al.* (1996) permiten evaluar todo el proceso de infección en su conjunto.

La eficacia de los nematodos entomopatógenos en aplicaciones en el campo viene determinada por varios factores asociados con los nematodos (comportamiento del nematodo, grado de invasión, liberación establecimiento y multiplicación de la bacteria, persistencia en el medio, condiciones de producción y almacenamiento, etc.) y el hospedante (su comportamiento y la respuesta de su sistema inmunitario), así como con el ambiente (situación del insecto, temperatura, humedad, pH, composición y textura del suelo, etc.).

Existen numerosos trabajos que demuestran la eficacia de estos nematodos contra plagas que se desarrollan en diferentes hábitats, principalmente en el suelo u otros hábitats crípticos como galerías en el interior de vegetales (figura 5), pero recientemente se están desarrollando metodologías de aplicación y formulados de los nematodos que podrán permitir su utilización en otros tipos de hábitats, donde hasta ahora la eficacia de los nematodos presentaba más dificultades, como es el caso de las aplicaciones foliares contra diversos insectos que se desarrollan sobre el vegetal.

Figura 5.- Larva de gusano cabezudo, *Capnodis tenebrionis* parasitada por nematodos entomopatógenos



REFERENCIAS

ABU HATAB, M. SELVAN, S. y GAUGLER, R. 1995. Role of proteases in penetration of insect gut by the entomopathogenic nematode Steinernema glaseri (Nematoda: Steinernematidae). *Journal of Invertebrate Pathology* 66: 125-130.

AMARASINGHE, L.D., HOMINICK, W.M., BRISCOE, B.R. y REID, A.P. 1994. Occurrence and distribution of entomopathogenic nematode in Sri Lanka. *Journal of Helminthology* 68: 277-286.

APPEL, A.G., BENSON, E.P., ELLENBERGER, J.M. y MANWEILER, S.A. 1993. Laboratory and field evaluation of an entomogenous nematode (Nematoda : Steinernematidae) for german cockroach (Dictyoptera : Blatellidae) control. *J. Econ. Entomol.* 86: 777-784.

BATTISTI, A. 1994. Effects of entomopathogenic nematodes on the spruce web-spinnig sawfly Cephalcia arvensis Panzer and its parasitoids in the field. *Biocontrol. Sci. Technol.* 4: 95-102.

BAUR, M.E., KAYA, H.K., TABASHNIK, B.E. y CHILCUTT, C.F. 1998. Suppression of diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae) with an entomopathogenic nematode (Rhabditida: Steinernematidae) and *Bacillus thuringiensis* Berliner. *J. Econ. Entomol.* 91: 1098-1095.

BEATTIE, G.A.C., SOMSOOK, V., WATSON, D.M., CLIFT, A.D. y JIANG, L. 1995. Field evaluation of *Steinernema carpocapsae* (Weiser) (Rhabditida: Steinernematidae) and selected pesticides and enhancers for control of Phyllocnistis citrella Stainton (Lepidoptera: Gracillariidae). *J. Aust. Ent. Soc.* 34 : 335-342.

BEDDING, R.A. 1981. Low cost in vitro mas production of *Neoaplectana and Heterorhabditis* species (Nematoda) for field control of insect pests. *Nematologica* 27: 109-114.

BEDDING, R.A. 1984. Large scale production, storage, and transport of the insect-parasitic nematodes *Neoaplectana* spp. and *Heterorhabditis* spp. *Ann. Appl. Biol.* 104: 117-120.

BEDDING, R.A., AKHURST, R.J. y KAYA, H.K. 1993. Future prospects for entomogenous and entomopathogenic nematodes. En: N*ematodes and the Biological Control of Insect Pests,* R.A. Bedding, R.J. Akhurst and H.K. Kaya, eds. 157-170. CSIRO Publications, East Melbourne, Victoria, Australia.

BÉLAIR, G. y BOIVIN, G. 1995. Evaluation of Steinernema carpocapsae Weiser for control of carrot weevil adults, *Listronotus oregonensis* (Leconte) (Coleoptera: Curculionidae) in organically grown carrots. *Biocontr. Sci. Technol.* 5: 225-231.

BÉLAIR, G., VINCENT, C. y CHOUINARD, G. 1998. Foliar sprays with *Steinernema carpocapsae* against early-season apple pests. *J. Nematol.* 30: 559-606.

BÉLAIR, G., VINCENT, C., LEMIRE, S. y CODERRE, D. 1999. Laboratory and field assays with entomopatogenic nematodes for the management of oblique banded leafroller *Chroristoneura rosaceana* (Harris) (Tortricidae). *J. Nematol. Suppl.* 31(4S): 684-689.

BELTON, P., RUTHERFORD, T.A., TROTTER, D.B. y WEBSTER, J.M. 1987. *Heterorhabditis heliothidis*: A potential biological control agentof house flies in caged-layers poultry barns. *J. Nematol.* 19:263-266.

Ben-Yakir, D., Efron, D., Chen, M. and Glazer, I. 1998. Evaluation of entomopathogenic nematodes for biocontrol of the European corn borer, *Ostrinia nubilalis,* on sweet corn in Israel. *Phytoparasitica* 26: 101-108.

BERRY, R.E., LIU, J, y REED, G. 1997. Comparison of endemic and exotic entomopathogenic nematodes species for control of Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae). *J. Econo. Entomol.* 90: 1528-1533.

BOSELLI, M., CURTO, G.M. y TACCONI, R. 1977. Field efficacy of entomopathogenic nematodes against the sugar-beet weevil Temnorhinus (=Conorrhynchus) mendicus Gyll. (Coleoptera: Curculionidae). *Biocontr. Sci. Technol.* 7: 231-238.

BRACKEN, G. K. 1990. Susceptibility of first-instar cabbage maggot, Delia radicum (L.) (Anthomyiidae: Diptera), to strains of the entomogenous nematodes *Steinernema feltiae* Filipjev, *S. bibionis* (Bovien), *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar, and *H. heliothidis* (Khan, Brooks and Hirschmann). *Can. Ent.* 122: 633-639.

BUHLER, W.G. y GIBB, T.J. 1994. Persistence of *Steinernema carpocapsae* and S. *glaseri* (Rhabditida: Steinernematidae) as measured by control of black cutworm (Lepidoptera: Noctuidae) larvae in bentgrass. *J. Econ. Entomol.* 87:638-642.

BULLOCK, R.C., PELOSI, R.R. y KILLER, E.E. 1999. Management of citrus root weevils (Coleoptera: Curculionidae) on Florida citrus with soil-applied entomopathogenic nematodes (Nematoda: Rhabditida). *Florida Entomol.* 82: 1-7.

CABANILLAS, H.E. y RAULSTON, J.R. 1995. Impact of *Steinernema riobravis* (Rhabditida: Steinernematidae) on the control of *Helicoverpa zea* (Lepidoptera: Noctuidae) in corn. *J. Econ. Entomol.* 88: 58-64.

CABANILLAS, H.E. y RAULSTON, J.R. 1996. Evaluation of *Steinernema riobravis, S. carpocapsae,* and irrigation timing for the control of corn earworm, *Helicoverpa zea. J. Nematol.* 28: 75-82.

CAMPBELL, J.F. y GAUGLER, R. 1993. Nictation behaviour and its ecological implications in the host search strategies of entomopathogenic nematodes (Heterorhabditidae and Steinernematidae). *Behaviour* 126: 155-169.

CAMPBELL, J.F. y GAUGLER, R. 1997. Inter.-specific variation in entomopathogenic nematode foraging strategy: dichotomy or variation along a continuum?. *Fundamental and Applied Nematology* 20: 393-398.

CAMPBELL, J.F., LEWIS, E.E., YODER, F. y GAUGLER, R. 1996. Spatial and temporal distribution of entomopathogenic nematodes in turf. *Parasitology* 113: 473-482.

CAROLI, L., GLAZER, I. y GAUGLER, R. 1996. Entomopathogenic nematode infectivity assay: multi variable comparison of penetration into different hosts. *Biocontrol Science and Technology* 6: 227-233.

CUI, L., GAUGLER, R. y WANG, y. 1993. Penetration of steinernematid nematodes (Nematoda: Steinernematidae) into Japanese beetle larvae, *Popillia japonica* (Coleoptera: Scarabaeidae). *Journal of Invertebrate Pathology* 62: 73-78.

DOWNING, A.S. 1994. Effects of irrigation and spray volume on efficacy of entomopathogenic nematodes (Rhabditida: Heterorhabditidae) against white grubs (Coleoptera: Scarabeidae). *J. Econom. Entomol.* 87: 643-646.

DOWNS, B.C.A. y PETERS, A. 2002. Virulence Mechanisms. En: Gaugler, R. (ed). *Enthomopathogenic Nematology* 79-98. Cabi Publishing,

DUNCAN, L.W., MCCOY, C.V. y TERRANOVA, A.C. 1996. Estimating sample size and persistence of entomogenous nematodes in sandy soil and their efficacy against the larvae of *Diaprepes abbreviatus* in Florida. J. Nematol. 28: 56-67.

DUNPHY G.B. y WEBSTER, J.M. 1987. Partially characterized components of the epicuticle of dauer juvenile *Steinernema feltiae* and their influence on haemocyte activity in galleria mellonella. *Journal of Parasitology* 73: 584-588.

DUNPHY, G.B. y THURSTON, G.S. 1990. Insect Immunity. En: *Entomopathogenic Nematode in Biological Control.* Gaugler, R. and Kaya, H.K. (eds). 301-323.CRC Press, Boca Raton, Florida.

EHLERS, R-U. 1996. Current and future use of nematodeds in biocontrol: Practice and commercial aspects with regards to regulatory policy issues. *Biocontr. Sci. Technol.* 6: 303-316.

Ehlers, R-U. y Gerwien, A. 1993. Selection of entomopathogenic nematodes (Steinernematidae and Heterorhabditidae, Nematoda) for the biological control of cranefly larvae *Tipula paludosa* (Tipulidae, Diptera). *J. Plant Disseases Protec.* 100: 343-353.

EHLERS, R-U. y PETERS, A. 1995. Entomopathogenic nematodes in biological control : Feasibility, perspectives and possible risks. En: Biological Control: Benefits and risks. H.M.T. Hokkanen & J.M. Lynch (eds.). 119-136. University Press. Cambridge.

EIDT, D.C. y DUNPHY, G.B. 1991. Control of spruce budmoth *Zeiraphera canadensis* Mut. And Free., in white spruce plantations with entomopathogenic nematodes, *Steinernema* spp. *Can Ent.* 123:379-385.

EIDT, D.C. y THURSTON, G.S. 1995. Physical deterrents to infection by entomopathogenic nematodes in wireworm (Coleoptera: Elateridae) and other soil pests. *Canadian Entomologist* 127: 423-429.

EIDT, D.C., ZERVOS, S., PYE, A.E. y FINNEY-CRAWLEY, J.R. 1995. Control of *Hylobius congener* Dalle Torre, shenkling and marschall (Coleoptera: Curculionidae) using entomopathogenic nematodes. *Can. Entomol. 127*: 431-438.

EPSKY, N.D. y CAPINERA, J.L. 1988. Efficacy of entomogenous nematode, *Steinernema feltiae* against a subterranean termite, *Reticulitermes tibialis* (Isoptera: Rhinotermitidae). *J. Econ. Entomol.* 81: 1313-1317.

FEASTER, M.A. y STEINKRAUS, D.C. 1996. Inundative biological control of *Helicoverpa zea* (Lepidoptera: Noctuidae) with the entomopathogenic nematode *Steinernema riobravis* (Rhabditida: Steinernematidae). *Biol. Contr.* 7: 38-43.

FERGUSON, C.S., SCHROEDER, P.C. y SHIELDS, E.J. 1995. Vertical distribution, persistence, and activity of entomopathogenic nematodes (Nematoda: Heterorhabditidae and Steinernematidae) in alfalfa snout beetle (Coleoptera: Curculionidae) infested fields. *Environmental Entomology* 24: 149-158.

FORSCHLER, B.T. y GARDNER, W.A. 1991. Parasitism of Phyllophaga hirticula (Coleoptera: Scarabeidae) by *Heterorhanditis heliothidis* and *Steinernema carpocapsae. Journal of Invertebrate Pathology* 58: 396-407.

GAUGLER , R. y MOLLOY, D. 1981. Instar susceptibilityof Simulium vittatum (Diptera: Simuliidae) to the entomogenous nematode *Neoaplectana carpocapsae. Journal of Nematology* 13: 1-5.

GAUGLER, R., WANG, y. y CAMPBELL, J.F. 1994. Aggressive and evasive behaviours in *Popillia japonica* (Coleoptera: Scarabeidae) larvae: defenses against entomopathogenic nematode attack. *Journal of Invertebrate Pathology* 64: 193-199.

GEORGIS, R. 1990. *Formulation and application technology. En: Entomopathogenic Nematode in Biological* Control. Gaugler, R. and Kaya, H.K. (eds). 173-191. CRC Press, Boca Raton, Florida.

GEORGIS, R. 1992. Present and future prospects for entomopathogenic nematodes products. *Biocontrol. Sci. Technol.* 2. 83-99.

GEORGIS, R. y HAGUE, N.G.M. 1981. A neoaplectanid nematode in the larch sawfly *Cephalcia lariciphila* (Hymenoptera: Pamphiliidae). *Annals of Applied Biology* 99: 171-177.

GEORGIS, R. y HAGUE, N.G.M. 1988. Field evaluation of *Steinernema feltiae* against the web-spinning larch sawfly *Cephalcia lariciphila. J. Nematol.* 20: 317-320.

GEORGIS, R. y MANWEILER, S.A. 1994. Entomopathogenic nematodes: A developing biological control technology. En: Evans, K. (ed.). 63-94. *Agricultural Zoology Reviews. Intersept, Andover.*

GEORGIS, R. y POINAR, G.O. JR. 1983. Effect of soil texture on the distribution and infectivity of *Neoaplectana carpocapsae* (Nematoda: Steinernematidae). *Journal of Nematology* 15: 308-311.

GIBBIN-DAVIS, R.M., PENA, J.E. y DUNCAN, R.E. 1996. Evaluation of an entomopathogenic nematode and chemical insecticides for control of *Metamasius hemipterus sericeus* (Coleoptera: Curculionidae). *J. Entomol. Sci.* 31: 240-251.

GLAZER, I. 1991. Invasion rate as a measure of infectivity of sterinernematid and heterorhabditid nematodes to insect. *Journal of Invertebrate Pathology* 59: 90-92.

GLAZER, I. y GOL'BERG, A. 1993. Field efficacy of entomopathogenic nematodes against the beetle *Maladera matrida* (Coleoptera: Scarabeidae). *Biocontr. Sci. Technol.* 3: 367-376.

GLAZER, I. y WYSOKI, M. 1990. Steinernematid and heterorhabditid nematodes for biological control of the giant looper, *Boarmia selenaria. Phytoparasitica* 18: 9-16.

GLAZER, I., KLEIN, M., NAVON, A. y NACKACHE, y. 1992. Comparison of efficacy of entomopathogenic nematodes combined with antidesiccants applied by canopy sprays against three cotton pests (Lepidoptera: Noctuidae), *J. Econ. Entomol.* 85: 1636-1641.

GOUGE, D.H. y HAGUE, H.G.M. 1995. Glasshouse control of fungus gnats, *Bradysia paupera,* on fuchsias by *Steinernema feltiae. Fundam. Appl. Nematol.* 18: 77-80.

GREWAL, P.S. y RICHARDSON, P.N. 1993. Effects of application rates of *Steinernema feltiae* (Nematoda: Steinernematidae) on biological control of the mushroom fly *Lycoriella auripila* (Diptera: Sciaridae). *Biocontr. Sci. Technol.* 3: 29-40.

GREWAL, P.S., LEWIS, E.E., CAMPBELL, J.F. y GAUGLER, R. 1994. Searching behavior as a predictor of foragins strategy for entomopathogenic nematodes. *Parasitology* 108: 207-215.

GREWAL, P.S., TOMALAK, M., KEIL, C.B.O. y GAUGLER, R. 1993. Evaluation of genetically selected strain of *Steinernema feltiae* against the mushroom sciarid *Lycoriella mali. Ann. Appl. Biol.* 123: 695-702.

GRIFFIN, C.T. AND DOWNES, M.J. 1994. Recognition of low temperature active isolates of the entomopathogenic nematode Heterorhabditis. *Nematologica* 37: 83-91.

HARA, A.H., KAYA, H.K., GAUGLER, R., LEBECK, L.M. y MELLO, C.L. 1993. Entomopathogenic nematodes for biological control of the leafminer, *Liriomyza trifolii (*Dipt.: Agromyziidae). *Entomophaga* 38: 359-369.

HARRIS, A.E., OETTING, R.D. y GARDNER, W.A. 1995. Use of entomopathogenic nematodes and a new monitoring technique for control of fungus gnats, *Bradysia coprophila* (Diptera: Sciaridae), in floriculture. *Biol. Contr.* 5: 412-418.

HOMINICK, W.M., B.R. BRISCOE, F. GARCIA DEL PINO, JIAN HENG, D.J. HUNT, E. KOZODOY, Z. MRACEK, K.B. NGUYEN, A.P. REID, S. SPIRIDOV, P. STOCK, D. STURHAN,

C. WATURU AND M. YOSHIDA. 1997. Biosystematics of entomopathogenic nematodes: current status, protocols and definitions. *Journal of Helminthology* 71: 271-298.

HUEI-JUNG WU. 1988. Biocontrol of squash bug with Neoaplectana carpocapsae (Weiser). *Bull. Inst. Zool. Acad. Sinica* 27: 195-203.

JANSSON, R.K., LECRONE, S.H., GAUGLER, R. y SMART, G.C. 1990. Potential of entomopathogenic nematodes as biological control agents of sweetpotato weevil (Coleoptera: Curculionidae). *J. Econ. Entomol.* 83: 1818-1826.

JOUVENAZ, D.P., LOFGRE, C.S. y MILLER, R.W. 1990. Steinernematid nematodes drenches for control of fire ants, *Solenopsis invicta,* in Florida. Florida *Entomol.* 73: 190-193.

KAHOUNOVÁ, L. y MRÁCEK, Z. 1999. Larval mortality in *Synanthedon myopaeformis* (Lepidoptera) in apple trees sprayed with *Steinernema* sp (Nematoda, Steinernematidae), strain *Hylobius. Acta Entomol. Bohemoslov.* 88: 205-210.

KAIN, D.P. y AGNELLO, A.M. 1999. Pest status of American plum borer (Lepidoptera: Pyralidae) and fruit tree borer control with synthetic insecticides and entomopathogenic nematodes in New York state. *J. Econ. Entomol.* 92:193-200.

KAKOULI-DUARTE, T., LABUSCHAGNE, L. y HAGUE, N.G.M. 1997. Biological control of the black vine weevil, *Otiorhynchus sulcatus* (Coleoptera : Curculionidae) with entomopathogenic nematodes (Nematoda: Rhabditida). *Ann. Appl. Biol.* 131: 11-27.

KUNG, S.P., GAUGLER, R. y KAYA, H.K. 1990. Influence of soil pH and oxygen on entomopathogenic nematode persistence. *Journal of Nematology* 22: 440-445.

LACEY, L.A. y UNRUH, T.R. 1998. Entomopathogenic nematodes for control of codling moth, *Cydia pomonella* (Lepidoptera: Tortricidae): effest of nematode species, concentration, temperature, and humidity. *Biol. Contr.* 13:1-8.

LEGASPI, J.C., LEGASPI, B.C. y SALDANA, R.R. 2000. Evaluation of *Steinernema riobravis* (nematoda: Steinernematidae) against the Mexican rice borer (Lepidoptera: Pyralidae). *J. Entomol. Sci.* 35:141-149.

LEWIS, E.E., GAUGLER, R. y HARRISON, R. 1992. Entomopathogenic nematode host finding: response to host contact cues by cruise and ambush foragers. *Parasitology* 105: 309-319.

LEWIS, E.E., RICCI, M. y GAUGLER, R. 1996. Host recognition behavior reflect host suitability for the entomopathogenic nematode, *Steinernema carpocapsae. Parasitology* 109: 1-7.

LINDEGREN, J.E., WONG, T.T. y MCINNIS, D.O. 1990. Response of Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae) to the entomogenous nematode *Steinernema feltiae* in fields tests in Hawaii. *Environ. Entomol.* 19: 383-386.

LIU QINLANG, CHEN RUIPING, WU RUOGUANG, HUANG JINSHUL, DING BI, KE YUZHU, CHEN BINQUAN, QIN BIN ZHAN y ZHANG JINNING. 1999. Biological control of cotton locust *Chondracris rosea rosea* y *Anoplophora chinensis* (Forster) study on integrated control techniques of pests and diseases in the coastal protection forest of Casuarina. *Natural Enemies of Insects* 21: 97-106.

LIU, Q.-Z y GLAZER. I. 2000. Factors affecting desiccation survival of the entomopathogenic nematodes, *Heterorhabditis bacteriophora* HP88. *Phytoparasitica* 28: 331-340.

MANNION, C.M. y JANSON, R. 1993. Within-root mortality of *Cylas formicarius* (Coleoptera: Apionidae) by entomopathogenic nematodes. *J. Econ. Entomol. 86: 722-729.*

MILLER, R. 1989. Novel pathogenicity assessment technique of steinernematids and heterorhabditids entomopathogenic nematodes. *Journal of Nematology* 21: 574.

MORSE, J.G. y LINDEGREN, J.E. 1996. Suppression of fuller rose beetle (Coleoptera: Curculionidae) on citrus with *Steinernema carpocapsae* (Rhabditida: Steinernematidae). Florida Entomol. 79: 372-384.

MRÁCEK, Z., JISKRA, K. y KAHOUNOVÁ, L. 1993. Efficiency of steinernematid nematodes (Nematoda: Steinernematidae) in controlling larvae of the black vine weevil, *Otiorrynchus sulcatus* (Coleoptera: Curculionidae) in laboratory and field experiments. Eur. *J. Entomol.* 90: 71-76.

MULLENS, B.A., MEYER, J.A. y GEORGIS, R. 1987. Field tests of insect-parasitic nematodes (Rhabditida: Steinernematidae, Heterorhabditidae) against larvae of manure-breeding flies (Diptera: Muscidae) on caged-layer poultry facilities. *J. Econ. Entomol.* 80: 438-442.

PACE, G.W., GROTE, W., PITT, D.E. y PITT, J.M. 1986. Liquid cultures of nematodes, *International Patent Number WO 86/01074.*

Parkman, J.P., Frank, J.H., Nguyen, K.B. y Smart, G.C. Jr. 1994. Inoculative release of *Steinernema scapterisci* (Rhabditida: Steinernematidae) to suppress pest mole crickets (Orthoptera: Gryllotalpidae) on golf courses. *Environ. Entomol.* 23: 1331-1337.

PETERS A. y EHLERS, R-U. 1994. Susceptibility of leatherjackets (*Tipula paludosa* and *Tipula oleracea;* Tipulidae; Nematocera) to the entomopathogenic nematode Steinernema feltiae. *Journal of Invertebrate Pathology* 63: 163-171.

RINKER, D.L., OLTHOFTH, H.A., DANO, J. y ALM, G. 1995. Effects of entomopathogenic nematodes on control of a mushroom-infesting sciarid fly and on mushroom production. *Biocontrol. Sci. Technol.* 5:109-119.

SAMERSOV, V.F., YARCHAKOVSKAYA, S.I. y BEZRUCHENOK, N.N. 1998. Ecologically safe protection of black currant. Zashchita I Karantin Rastenii 9: 11-12.

SCHEEPMAKER, J.W.A., GEELS, F.P., SMITS, P.A. y VAN GRIENSVEN, L.J.L.D. 1997. Control of mushroom pests *Lycoriella auripila* (Diptera: Sciaridae) and *Megaselia halterata* (Diptera: Phoridae) by *Steinernema feltiae* (Nematoda: Steinernematidae) in field experiments. *Ann. Appl. Biol.* 131 : 359-368.

SCHROEDER, W.J. 1992. Entomopathogenic nematodes for control of root weevils of citrus. Florida *Entomol.* 75: 563-567.

SCHROEDER, W.J. y BEAVERS, J.B. 1987. Movement of the entomogenous nematodes of the families *Heterorhabditidae* and *Steinernematidae* in soil. *Journal of Nematology* 19:257-259.

SCHROEDER, P.C., FERGUSON, C.S., SHELTON, A.M., WILSEY, W.T., HOFFMANN, M.P. y PETZOLDT, C. 1996. Greenhouse and field evaluation of entomopathogenic nematodes (Nematoda: Heterorhabditidae and Steinernematidae) for control of cabbage maggot (Diptera: Anthomyiidae) on cabbage. *J. Econ. Entomol.* 89: 1109-1115.

SELVAN, S., GREWAL, P.S., GAUGLER, R. y TOMALAK, M. 1994. Evaluation of steinernematid nematodes against *Popillia japonica* (Coleoptera: Scarabaeidae) larvae: species, strains and rinse after application. *J. Econ. Entomol.* 87: 605-609.

SHANNAG, H.K., WEBB, S.E. y CAPINERA, J.L. 1994. Entomopathogenic nematode effect on pickleworm (Lepidoptera: Pyralidae) under laboratory and field conditions. *J. Econ. Entomol.* 87: 1205-1212.

SHETLAR, D.J. 1999. Application methods in different cropping systems. En: *Proceedings of Workshop: Optimal Use of Insecticidal Nematodes in Pest Management.* Polavarapu, S. (Ed.). 31-36. New Brunswick, NJ.

SHIELDS, E.J., TESTA, A., MILLER, J.M. y FLANDERS, K.L. 1999. Field efficacy and persistence of the entomopathogenic nematodes *Heterorhabditis bacteriophora* "Oswego" and *Heterorhabditis bacteriophora* "NC" on alfalfa snout beetle larvae (Coleoptera: Curculionidae). Environ. Entomol. 28: 128-136.

SIMOES, N. 1998. Pathogenicity of the complex Steinernema carpocapsae-Xenorhabdus nematophilus: molecular aspects related with the virulence. En: *Pathogenicity of Entomopathogenic Nematodes versus Insect Defense Mechanisms: Impact on Selection of Virulent Strains.* Simoes, N., Boemare, N. y Ehlers, R.-U. (eds). 73-83. European Commission, Brussels.

SIMOES, N., LAUMOND C. y BONIFASSI, E. 1993. Effectiveness of Steinernema spp. and *Heterorhabditis bacteriophora* against *Popillia japonica* in the Azores. *J. Nematol.* 25: 480-485.

SIMSER, D. y ROBERTS, S. 1994. Suppression of strawberry root weevil, *Otiorhynchus ovatus*, in cranberries by entomopathogenic nematodes (Nematoda: Steinernematidae and Heterorhabditidae). *Nematologica* 40: 456-462.

SMALL, R.W. 1998. Invertebrate predators. En: *Diseases of Nematodes*, vol. 2. Poinar, G.O. Jr and Jansson, H.-B. (eds). 73-92. CRC Press, Boca Raton, Florida.

SOLOMON, A., PAPERNA, I. y GLAZER I. 1999. Desiccation survival of the entomopathogenic nematode *Steinernema feltiae*: induction of anhydrobiosis. En: *Survival Strategies of Entomopathogenic Nematodes.* Glazer, I., Richardson, P., Boemare, N. y Coudert, F. (eds.). 83-98. EUR 18855 EN Report.

SULISTYANTO, J.D. y EHLERS, R-U. 1996. Efficacy of the entomopathogenic nematodes *Heterorhabditis megidis and Heterorhabditis bacteriophora* for the control of grubs (*Phylloperta horticola* and *Aphodius contaminatus*) in golf course turf. *Biocontr. Sci. Technol.* 6: 247-250.

TOMALAK, M. 1994. Selective breeding of *Steinernema feltiae* (Filipjev) (Nematoda: Steinernematidae) for improved efficacy in control of mushroom fly Lycoriella solani Winnertz (Diptera: Sciaridae). *Biocontr. Sci. Technol.* 4: 187-198.

VÄNNINEM, I, HOKKANEN, H. y TYNI-JUSLIN, J. 1999. Screening of field performance of entomopathogenic fungi and nematodes against cabbage root flies *(Delia radicum* L. and *D. floralis* (Fall.); Diptera, Anthomyiidae). *Acta Agric. Scand. Sect. B, Soil and Plant* Sci. 49: 167-183.

WANG, y., GAUGLER, R. y CUI, L. 1994. Variations in immune response of *Popillia japónica* and *Acheta domestica* to Heterorhanditis bacteriophora and *Steinernema species. Journal of Nematology* 26: 11-18.

WEI HONGYI, YIN YISHOU, XU JUN, ZHAN GENGXIANG, WEU DELONG, SHENG RONG WU y YANG AIQING. 1999. Control of mulberry beetle, *Abirus fortunei* (Baly). *Acta Agri. Universitatis Jiangxiensis* 21: 512-515.

WEST, R.J. y VRAIN, T.C. 1997. Nematode control of black army cutworm (Lepidoptera : Noctuidae) under laboratory and field conditions. Can. Entomol. 129:229-239.

WILLIAMS, E.C. y WALTERS, K.F.A. 2000. Foliar application of the entomopathogenic nematode Steinernema feltiae against leafminers on vegetables. *Biocontr. Sci. Technol.* 10: 61-70.

WILSON, M., NITZSCHE, P. y SCHEARER, P.W. 1999. Entomopathogenic nematodes to control black vine weevil (Coleoptera: Curculionidae) on strawberry. *J. Econ. Entomol.* 92: 651-657.

WRIGHT, P.J. y JACKSON, T.A. 1992. Efficacy of entomogenous nematodes for control of porina (Viseana cervinata) in Canterbury pastures during winter. *New Zealand J. Agr. Res.* 35:435-439.

XU JIELIAN, YANG PING y XIE RUCHUANG. 2000. Studies on the applications of some entomopatogenic nematodes against litchi yponomeutid *Comoritis albicapilla* Moriuti. Acta Phytoph. Sin. 27:27-31.

YANG PING, LIU NANXIN, y LIN JIN YING. 1999. Study on application of entomopathogenic nematodes to control the diamondback moth (*Plutella xylostella*, DBM). *Natural Enemies of Insect* 21: 107-112.

YEH, T. y ALM. S.R. 1995. Evaluation of *Steinernema glaseri* (Nematoda: Steinernematidae) for biological control of Japanese beetle and Oriental beetles (Coleoptera: Scarabaeidae). *J. Econ. Entomol.* 88: 1251-1255.

ZERVOS, S., JOHNSON, S.C. y WEBSTER, J.M. 1991. Effect of temperature and inoculum size on reproduction and development of *Heterorhabditis heliothidis* and *Steinernema glaseri* (Nematoda: Rhabditoidea) in Galleria mellonella. *Canadian Journal of Zoology* 69: 1261-1264.

RESISTENCIA INDUCIDA EN PLANTAS: PRESENTE Y FUTURO

Antonio Molina Fernández y Lucía Jordá Miró
Centro de Biotecnología y Genómica de Plantas (CBGP)
Departamento de Biotecnología, Universidad Politécnica de Madrid (UPM)
E. T. Superior Ingenieros Agrónomos,

INTRODUCCIÓN

El avance en el conocimiento de las bases genéticas y moleculares que controlan los mecanismos de defensa de las plantas frente a patógenos ha permitido cambiar la teoría simplista de que dichos mecanismos, en contraposición a los de los animales, eran inespecíficos y poco compejos. Las plantas disponen de distintas barreras de defensa que se puede clasificar en constitutivas/preexistentes o inducibles tras el reconocimiento del patógeno/plaga. En las plantas este reconocimiento puede ser específico a nivel de especie, como en la resistencia basal y de no-huesped, o a nivel de cultivar o variedad, como ocurre en la resistencia gen a gen (Nürnberger y Brunner, 2002).

Desde hace mas de 50 años se sabe que la mayoría los mecanismos de defensa inducibles se caracterizan por ser, además, sistémicos, es decir, no sólo se activan en el tejido donde se produce el reconocimiento del patógeno/plaga, sino también en el resto de la planta que no ha estado expuesta al patógeno/palga. Esta respuesta sistémica protege a la planta frente a posteriores ataques. Esta propiedad tiene una potencial utilidad agronómica, lo que ha despertado el interés de muchos grupos de investigación públicos y privados en el estudio de las bases moleculares y genéticas de la resistencia inducida. El objetivo último de esta investigación ha sido la identificación y el desarrollo de productos agroquímicos (inductores) capaces de activar la resistencia a patógenos/plagas en especies vegetales de interés agronómico.

En plantas se han caracterizado varios tipos de resistencia sistémica entre los que se pueden destacar: 1) la resistencia sistémica adquirida (SAR), que se activa tras la infección de las plantas por patógenos que producen necrosis (Ryals y col., 1996); 2) la resistencia sistémica inducida (ISR), que esa activada tras la colonización de las raíces por determinadas cepas bacterianas de la rizosfera (Pietersen y Van Loon, 2004); y 3) la resistencia inducida por herida (WIR), que es activada tras el daño que causan en el tejido vegetal los insectos comedores (Kessler y Baldwin, 2002).

En esta comunicación se describen de manera resumida las principales características de estos mecanismos de resistencia inducida, los hitos alcanzados en su desarrollo comercial, y las posibles direcciones futuras de éste área de investigación.

RESISTENCIA SISTEMÁTICA ADQUIRIDA (SAR)

La SAR es el mecanismo de resistencia mejor caracterizado. Esta resistencia se activa local y sistémicamente tras la infección de la planta por patógenos que producen necrosis (virus, bacteria u hongos; Figura 1). La SAR se caracteriza por ser una resistencia de amplio espectro, es decir, que confiere resistencia al patógeno que la ha activado (p. ej. virus TMV), pero también a otros patógenos (p. ej. otros virus, bacterias y hongos). Se ha comprobado que la SAR es un resistencia duradera en condiciones tanto naturales como de laboratorio, y que una vez activada puede ser efectiva durante días e incluso semanas. Todas estas características la hacen muy atractiva desde un punto de vista agronómico.

La activación de la SAR esta acompañada de un incremento endógeno local y sistémico de ácido salicílico (SA; Figura 2). Esta acumulación de SA activa una serie de proteínas reguladoras, como NPR1/NIM, y factores transcripcionales (e.g. TGAs) que controlan la expresión de genes de defensa que codifican proteínas PR (*Patogénesis Related*). La aplicación exógena de SA sobre la superficie de una planta es capaz de inducir una respuesta de defensa similar a la activada en la SAR. En plantas incapaces de sintetizar o acumular SA la SAR no es funcional.

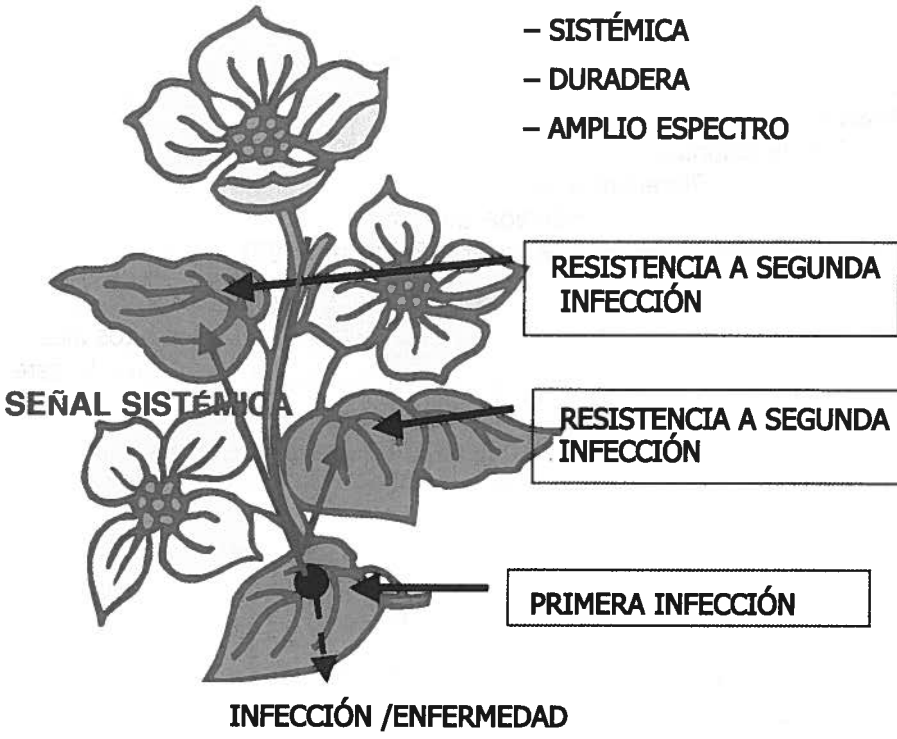


Figura 1. Resistencia sistémica adquirida (SAR).
Se produce su activación tras la necrosis causada por un patógeno confiriendo resistencia frente a una segunda infección. Se desconoce la señal sistemática de la SAR.

Se han identificado análogos estructurales del SA (INA y BION®) que también son capaces de activar la SAR cuando se aplican sobre la superficies de plantas de interés agronómico. Algunos de estos inductores de SAR se han comercializado con éxito dispar dependiendo de la especie vegetal y de las condiciones fisiológicas de la planta.

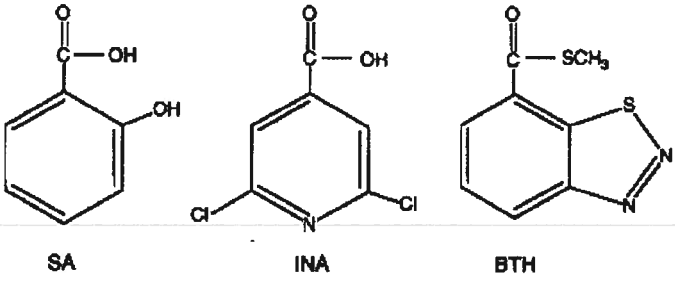


Figura 2. Inductores de SAR)
Estructuras químicas del ácido Salicílio (SA), ácido isonicotínico (INA) y benzotiodiazol (BTH o BION®)

RESISTENCIA SISTÉMICA INDUCIDA (ISR)

La ISR se activa por determinadas cepas bacterianas del suelo que son capaces de colonizar las raíces de las plantas. Al igual que la SAR, la ISR es una resistencia sistémica, de amplio espectro (puede conferir protección frente a bacterias, hongos y algunos virus), y duradera en condiciones de laboratorio y de campo (Figura 3).

La activación de la ISR no depende de un incremento endógeno local y sistémico del SA. Por el contrario dicha resistencia depende de las rutas reguladas por las hormonas etileno (ET) y ácido jasmónico (JA). En plantas que tiene bloqueadas estas rutas del ET y JA la ISR no es operativa. Como en la SAR, la ISR es dependiente de la proteína reguladora NPR1/NIM1, aunque tras la activación de esta resistencia los genes de defensa que se expresan son distintos de los activados en la SAR. Se desconoce por el momento la señal sistémica que activa la ISR en un planta, tras la colonización de sus raíces por las bacterias.

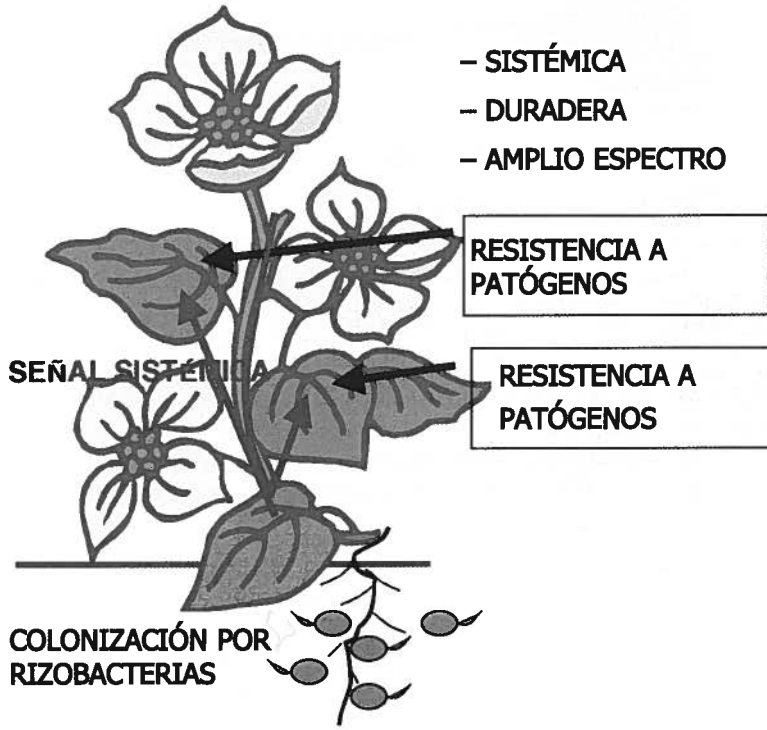


Figura 3. Resistencia sistémica inducida (ISR).
Se produce su activación tras la colonización de las raices por bacterias, confiriendo resistencia frente a difrentes patógenos. Se desconoce la señal sistémica de la ISR

Se han identificado diferentes cepas bacterianas de la rizosfera que son capaces de activar la ISR en diferentes especies de interés agronómico. La potencial utilidad de estas cepas como inductoras de ISR en campo está en fase de desarrollo.

RESISTENCIA INDUCIDA POR HERIDA (WIR)

Esta resistencia se activa tras el ataque de una planta por insectos que causan daño/herida, como los insectos comedores. La WIR es una resistencia sistémica y duradera, pero no esde amplio espectro, ya que protege principalmente frente a otros insectos comedores (Figura 4).

La activación de la WIR depende de la rutasregulada por las hormona JA. Al contrario que la SAR e ISR, se conoce la señal sistémica de la WIR, que es un péptido denominado sistemina. Igualmente se ha identificado el receptor celular de la sistemina que es una RLK (*Receptor–Like Kinase*; Figura 5). La potencial utilidad de la WIR en campo está por determinar.

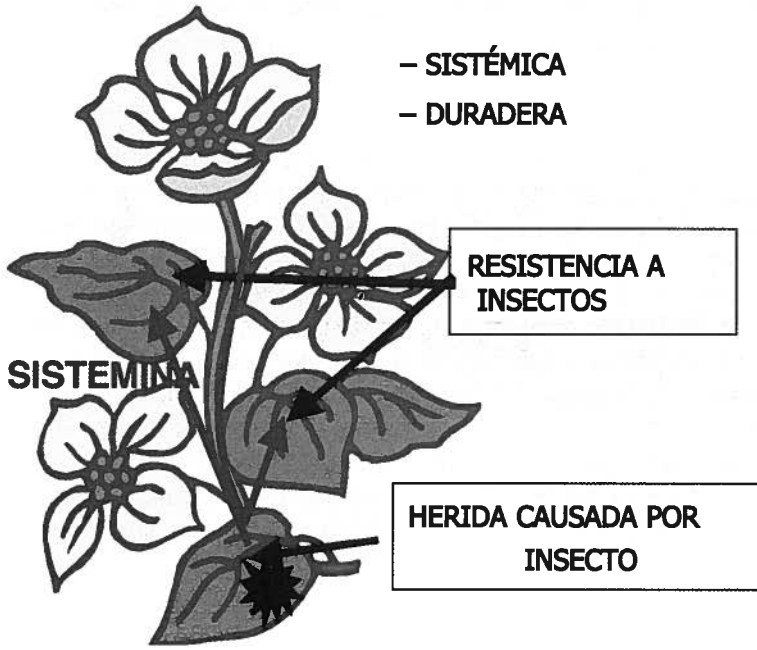


Figura 4. Resistencia inducida por herida (Wir).
Se produce su activación tras el daño/herida producido por un insecto, confiriendo resistencia frente a diferentes insectos comedores. La señal sistémica es la sistemina

RESISTENCIA INDUCIDA POR ELICITORES/MAMPS

La disección genética y bioquímica de las rutas de transducción de señal que regulan la activación de los mecanismos de defensa de las plantas ha permitido demostrar que existen grandes similitudes entre el sistema de defensa de las plantas y el sistema de inmunidad innata (no mediado por anticuerpos) de animales (Nürberger and Brunner, 2002).

La capacidad para discriminar entre lo propio y lo ajeno es una propiedad común de todos lo seres vivos, y una de las claves para que se pueda producir la activación del sistema de inmunidad innata y así poder evitar la infección del organismo por patógenos. Esta función de discriminación la llevan a cabo una familia de proteínas receptoras, con un posible origen evolutivo común, que son capaces de reconocer componentes de los patógenos. Estos componentes de los patógenos se denominaron originalmente ***elicitores***, y mas recientemente se les denomina de manera genérica *MAMPs/PAMPs* (*Microbe Associated Molecular Patterns/Pathogen-Associated Molecular Patterns*). El reconocimiento de los MAMPS/PAMPs por estas proteínas receptoras conduce a la activación de una respuesta de defensa. La finalidad última de este sistema de reconocimiento de alta especificidad es discriminar entre moléculas propias (del huésped, planta o animal) y ajenas (del patógeno).

Los elicitores/MAMPs suelen ser moléculas muy conservadas y esenciales para la fisiología y el ciclo vital del patógeno, siendo característicos de determinados grupos (no sólo de una raza) de patógenos. Entre leste grupo de molécula se pueden incluir los lipopolisacaridos (LPS) presentes en la pared celular de las bacterias Gram-negativas, el peptidoglicano (PGN) de la pared celular de las bacterias Gram-positivas, la flagelina (Fgl22), que es una proteína estructural del flagelo de las bacterias, fragmentos de ADN bacteriano no metilado, y lipopéptidos y componentes de la pared celular (quitina, glucanos y mananos) de hongos (Nürberger y Brunner, 2002). Dada la relevancia funcional de los PAMPs, su variabilidad es inferior a la del resto de moléculas del patógeno, lo que redunda en su alto grado de conservación, y explica que estas moléculas hayan sido elegidas por plantas y animales a lo largo de la evolución como las "huellas delatoras" de los diferentes grupos de patógenos.

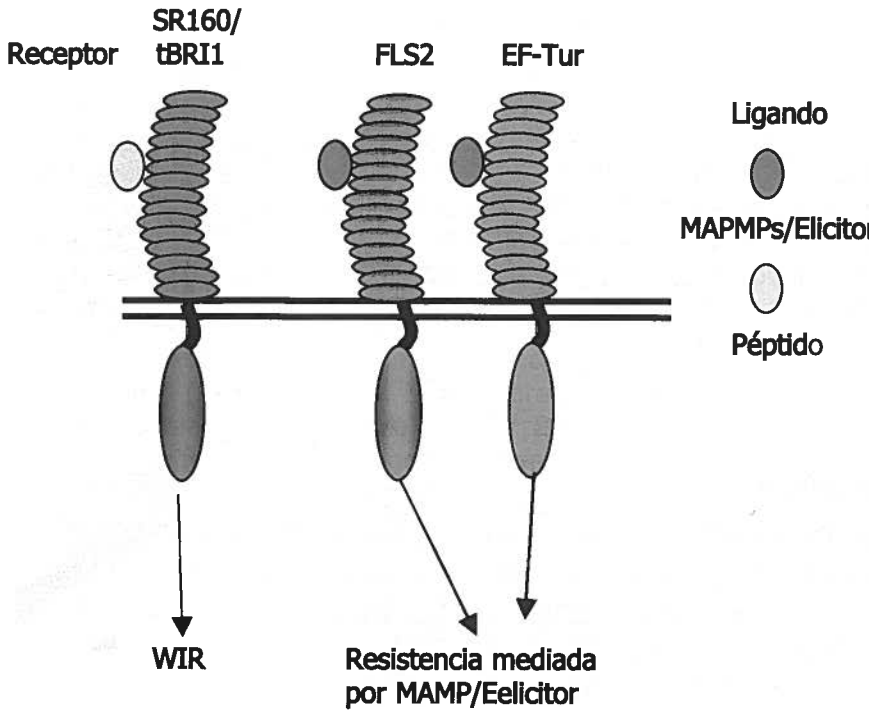


Figura 5. Resistencia inducida por elicitor/MAMPs.
Receptores celulares de tipo RLK (*Receptor-Like Kinases*) reconocen MAMPs/elicitores producidos por los patógenos o péptidos sistetizados por la propia planta tras el daño/herida producido por un insecto. Este reconocimiento activa una ruta de defensa.

En plantas se han identificado varias proteínas receptoras (e.g FLS2) implicadas en el reconocimiento de estos elicitores/MAMPs. fitopatógenas (Figura 5; Nürberger and Brunner, 2002). El reconocimiento del patógeno mediante estas proteínas receptoras provoca una serie de cambios celulares, que conducen a la activación de la expresión de genes de defensa. Hasta el momento este mecanismo de reconocimiento de elicitores/MAMPs no parece depender de las rutas de transducción de señal antes descritas (ET, JA y SA).

En los últimos años el estudio de la potencial utilidad de los elicitores como inductores de resistencia ha generado un gran interés dentro de la comunidad científica pública y privada. Se han identificado un número muy significativo de elicitores, y se ha comprobado la actividad inductora de muchos de ellos en plantas modelo y condiciones controladas de laboratorio. En unos pocos casos (e.g. Messenger®) estos compuestos se han comercializado y utilizado en diferentes especies vegetales.

RESISTENCIA QUÍMICA INDUCIDA (CIR)

Se puede definir esta resistencia como la activada en la planta tras us tratamiento con un producto químico de naturaleza inorgánica u orgánica. Existen en el merado una serie de productos fitosanitarios que son capaces de proteger las plantas frente a las infecciones. Entre ellos se pueden destacar compuestos que están catalogados como fungicidas/bactericidas, aunque no se ha demostrado su actividad in vitro frente a los patógenos que controlan cuando se aplican sobre las plantas. El potencial de algunos de estos compuesto como inductores de resistencia inducida necesita una mejor caracterización.

REFERENCIAS

NÜRBERGER, T. AND BRUNNER, F. (2002). Curr. Opinion Plant Biol. 5: 318-324.

KESSLER y BALDWIN, (2002). A*nnual Review Plant pathology*, 53, 299-328.

RYALS, J. A., NEUENSCHWANDER, U. H., WILLITS, M. G., MOLINA, A., STEINER, H. -Y., AND HUNT, M. D. (1996). *Plant Cell* 8, 1809-1819.

PIETERSE, C. M., AND VAN LOON, L. C. (2004). *Curr. Opinion Plant Biol.*7, 456-464.

AJUSTE DE LA DOSIS DE LOS TRATAMIENTOS FITOSANITARIOS EN CULTIVOS ARBÓREOS (FRUTALES, VIÑEDO Y CÍTRICOS)

Santiago Planas de Martí
Dr. Ingeniero Agrónomo
Departamento Agricultura, Ganadería y Pesca
Generalitat de Catalunya

RESUMEN

Ajustar la dosis de los tratamientos fitosanitarios a las exigencias estrictas del control de plagas y enfermedades constituye un imperativo de la nueva legislación europea. A partir de una amplia base experimental, se ha diseñado un sistema de ayuda para la determinación de la dosis optimizada que tiene en consideración los diferentes factores determinantes de la eficiencia del tratamiento. Para facilitar su empleo, se ha creado un programa de cálculo, DOSA, actualmente disponible en las versiones para viñedo y frutales.

PALABRAS CLAVE

APLICACIÓN DE FITOSANITARIOS, PULVERIZACIÓN, AJUSTE DE DOSIS, FRUTALES, VIÑEDO, CÍTRICOS, CONTROL ELECTRÓNICO, LIDAR, SENSOR ULTRASONIDOS.

ANTECEDENTES

En la estrategia temática sobre los productos fitosanitarios (PF), impulsada en el año 2002 por la Dirección General de Medio Ambiente de la

Comisión Europea, se señalan diferentes objetivos específicos entre los que cabe destacar los siguientes:

- Minimizar los riesgos para la salud y el medio ambiente derivados del uso de PF.
- Mejorar los sistemas de control en el empleo y la aplicación de PF.
- Reducir los niveles de substancias de riesgo, incluyendo medidas de sustitución de las más peligrosas por alternativas más seguras, incluyendo métodos de control no químicos.

Los trabajos desarrollados en el marco de esta estrategia temática han comportado un amplio proceso de consultas a los agentes europeos involucrados con el uso de los PF. Finalmente se ha concluido con la redacción de una propuesta del Parlamento Europeo y la Comisión de nueva directiva por la que se establece el **Marco de la Actuación Comunitaria para conseguir un Uso Sostenible de los Plaguicidas**[1].

La lectura de la propuesta pone de manifiesto el elevado grado de sensibilidad de los agentes y de las autoridades administrativas sobre los riesgos potenciales que entraña el uso de los PF. En este sentido la propuesta establece medidas concretas tales como la implantación de planes de acción nacionales que fijen objetivos concretos de reducción de riesgos y la inspección periódica de los equipos de tratamientos fitosanitarios.

Paralelamente, durante estos últimos años la OEPP[2] y un número creciente de autores (Furness *et al.*, 1998; Walklate *et al.* 2003; Planas *et al.* 2006a) han coincidido en señalar que el actual sistema de recomendación de dosis en los tratamientos fitosanitarios de cultivos arbóreos se encuentra alejado de los criterios de racionalidad y sostenibilidad con los que hoy en día deben abordarse las actuaciones de control de plagas y enfermedades de los cultivos.

Esta situación se evidencia, por ejemplo, cuando los fabricantes tienden a incrementar el margen de error en la recomendación de dosis expresada en la etiqueta de los envases de los PF. De esta forma se intenta mitigar el riesgo jurídico asociado al uso de PF en plantaciones frutales (Walklate *et al.*, 2006). La dosis recomendada es sensiblemente acrecentada al objeto de contrarrestar la incertidumbre de distintos factores que influyen en la eficacia de las aplicaciones:

1. Bruselas, 12.7.2006. COM(2006) 373 final. 2006/0132 (COD). http://ec.europa.eu/environment/ppps/home.htm

2. Reunión del panel de expertos sobre expresión de dosis en cultivos arbóreos (París, 2001) y comunicaciones posteriores.

- la deposición de PF sobre el objetivo
- la presión de la plaga o enfermedad a controlar (dificultad de control)
- las condiciones atmosféricas existentes durante la aplicación

Adicionalmente, la ausencia de un sistema normalizado para la recomendación de dosis a partir de los ensayos de eficacia, realizados en las diversas condiciones en las que vayan a emplearse los PF, también propicia que se establezcan recomendaciones de dosis en la banda de la máxima garantía y no en la del necesario balance global de riesgos y beneficios.

Con toda seguridad, las dosis actualmente recomendadas en las etiquetas, expresadas normalmente en concentración del caldo fitosanitario y, en algunas ocasiones, en cantidad de producto (masa o volumen) por unidad de superficie de cultivo, pueden conllevar dos efectos no deseados:

- determinadas zonas del objetivo tratado reciben cantidades de producto muy superiores a las requeridas para ejercer el nivel de control adecuado
- se produce una importante fracción de pérdidas de PF, por deposición en el suelo y deriva, en ocasiones próxima al 50% (Planas *et al*, 1991) y, consecuentemente, importantes riesgos personales y ambientales.

EL PROBLEMA DE LA VARIABILIDAD

Una de las grandes dificultades a la que nos enfrentamos radica en el hecho de que los tratamientos realizados con los equipos actualmente disponibles (pulverizadores con asistencia de aire) comportan normalmente la obtención de deposiciones de PF sobre el objetivo tratado con una variabilidad muy elevada.

El fenómeno de la variabilidad puede ser analizado a distintos niveles. De una parte, las variaciones existentes entre plantaciones distintas que han sido tratadas según el procedimiento establecido en las etiquetas (*variabilidad inter-plantaciones*). En este caso, las variaciones deben ser atribuidas fundamentalmente a las diferentes características estructurales de las plantaciones, entre otras al volumen y la frondosidad (densidad foliar) de la copa de los árboles (Figura 1). Algunos autores afirman que estas variaciones pueden llegar a suponer deposiciones medias de orden cinco veces superior entre distintas plantaciones (Walklate *et al.*, 2005).

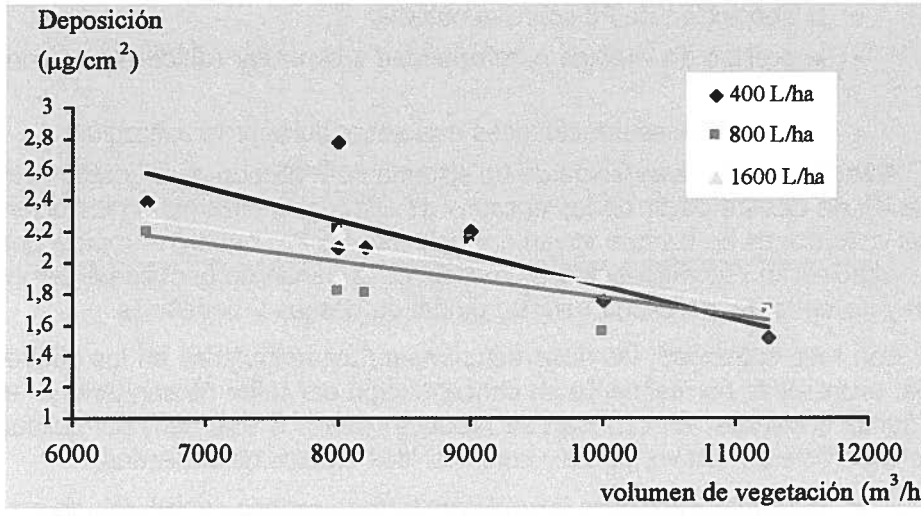


Figura 1. Relación entre el volumen de copa y deposición de producto alcanzada mediante pulverización de idéntica dosis a diferentes volúmenes de caldo (L7ha) en plantaciones regulares de las variedades siguientes: Golden Delicious, Red Chief, Blanquilla y Confrence (Proyecto PULVEXACT. Informe final, 2006)

A otro nivel, se producen también importantes variaciones en el interior de una misma plantación (*variabilidad intra-plantación*), debidos a la propia estructura de la copa y a la existencia de huecos y otras irregularidades propias del desarrollo de los árboles. A pesar de que los sistemas de formación actuales buscan la obtención de paredes o espalderas totalmente regulares, un análisis estructural detallado de estas formaciones pone en evidencia la elevada variabilidad de la copa de los árboles a lo largo de la fila (Figura 2).

Otro factor de la variabilidad es el efecto de resistencia a la penetración que ejercen los órganos de la copa. En un proyecto de investigación anterior, AIR ASSISTED SPRAYERS[3] (Planas, 1997), se determinaron funciones-tipo de penetrabilidad (adaptación a la penetración de la pulverización) de las principales especies arbóreas cultivadas. La penetrabilidad de las distintas especies pone de manifiesto la mayor eficiencia de las plantaciones de manzano (capacidad de retención de la pulverización) frente al resto de cultivos estudiados, así como la dificultad extrema a la penetración que ofrecen los cítricos (Figura 3).

3 Proyecto financiado por el programa marco AIR de la UE (1993-96), realizado con la participación de: Departament d'Agricultura, Ramaderia i Pesca de la Generalitat de Catalunya, Silsoe Research Institute, Università degli Studio di Bologna, Cemagref, Universitat Politècnica de Valencia y Hardi Int. A/S.

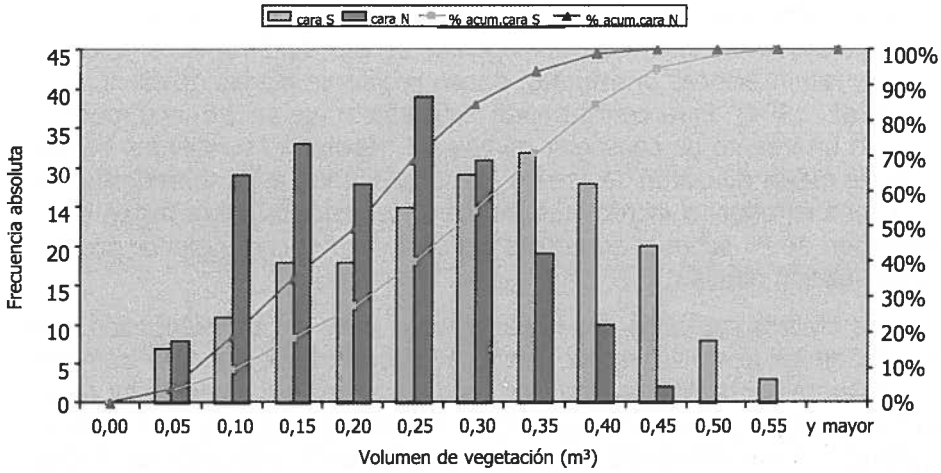


Figura 2. Diagrama de frecuencias absolutas y acumuladas de los volúmenes de vegetación correspondientes a segmentos de 0,20 m de longitud de la fila de una plantación intensiva de perales Conference (Gimenells, 6 de octubre de 2006). Los volúmenes de vegetación se obtuvieron mediante escaneado láser de ambas caras de la fila mediante el equipo LIDAR que se describe más adelante. Se observan marcadas diferencias entre los lados de la fila debidas a su orientación E-O (Escolà, 2006).

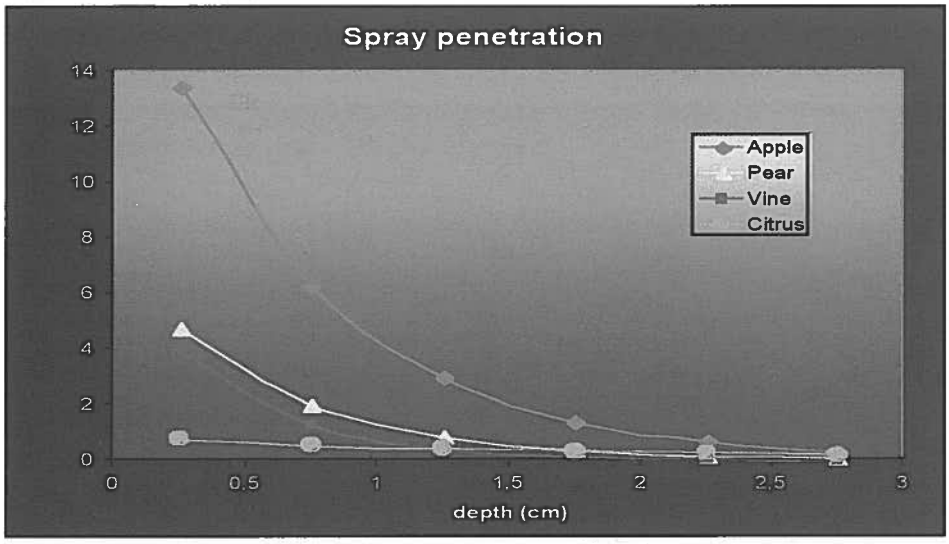


Figura 3. Penetración de la pulverización en la copa de plantaciones doferentes especies. Valores obtenidos mediante análisis de las deosiciones de prducto en hojas (Planas *et al.*, 1977).

Es bien conocido que la morfología y las características aereodinámicas de los naranjos dificultan especialmente el acceso del PF a la zona interior, tronco y ramificaciones principales, donde proliferan plagas de difícil control (Val *et al.*, 1994). Para contrarrestar este efecto, se su ele incrementar la dosis en un intento de conseguir niveles de deposición suficientes en estas zonas de mayor dificultad de acceso. La consecuencia es la sobredosificación de la zona exterior, el incremento del nivel de residuos sobre frutos y de la deposición de PF sobre la superficie del suelo con el consiguiente riesgo de contaminación difusa.

A los efectos causados por la variabilidad *inter e intra-plantación* debemos añadir las alteraciones que conlleva la acción del equipo de tratamientos, concretamente de sus boquillas (pulverización) y del ventilador (turbulencias del flujo de aire empleado para el transporte de las gotas hasta el objetivo). Dichos fenómenos han sido ampliamente valorados en trabajos anteriores que finalmente han permitido realizar recomendaciones concretas sobre las características de los equipos a emplear (Fillat *et al.*, 1993; Planas *et al.*; 1997). El resultado de todo ello es la obtención de variaciones importantes en la deposición final de PF sobre las hojas (Figura 4).

Igualmente, sobre la influencia del equipo de tratamientos fitosanitarios, en las dos últimas décadas se han realizado un número ingente de experiencias comparativas entre diferentes modelos de equipos de tratamientos y sus condiciones operativas. También respecto a los condicionantes meteorológicos se dispone de una importante base teórica y de suficiente número de experiencias que demuestran la influencia de la temperatura y la humedad del aire y el viento.

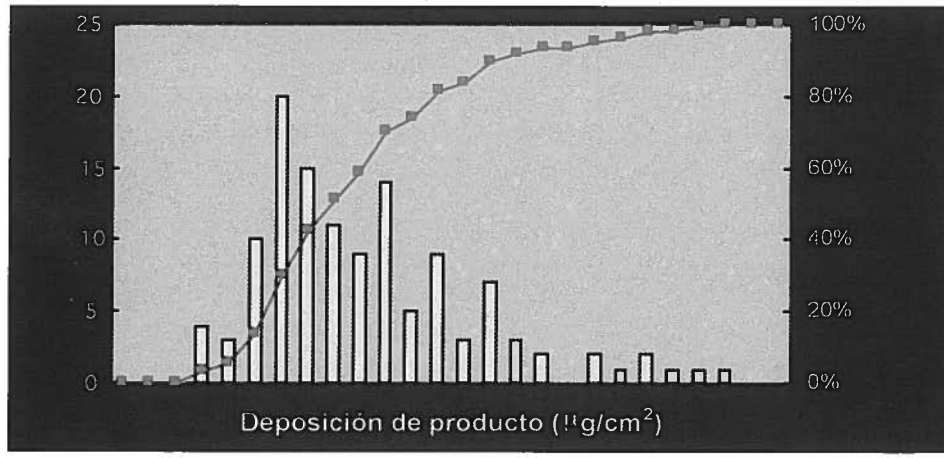


Figura 4. Deposición de producto alcanzada mediante un pulverizdor con asistencia de aire en una plantación intensiva de peral (cv. Blanquilla) formada en seto frutal (Proyecto PULVEXACT).

En este contexto, con el objetivo de contrarrestar las diferentes causas que originan la variabilidad de las deposiciones, en los últimos años diferentes grupos han estado investigando sobre dos líneas principales:

1. Ayuda a la decisión a partir de las características estructurales de las plantaciones.

Esta línea de trabajo se enfrenta fundamentalmente a la variabilidad *inter-plantaciones* anteriormente descrita. Tiene su origen en el criterio de ajuste de dosis conocido por *tree-row-volume* (TRV), propuesto inicialmente por Byers *et al.* (1971) y más tarde empleado en plantaciones frutales, entre otros, por Rüeg *et al.* (1999) y Steefeck *et al.* (2000). Igualmente se han desarrollado sistemas similares para viñedo en espaldera como el diseñado en Australia y conocido como *unit-canopy-row* (UCR) basado también en las características dimensionales de las filas (Furness *et al.*, 1998; Furness *et al.* 2000; Viret *et al.*, 2005).

Hace tiempo que diferentes trabajos vinieron a demostrar la influencia de la frondosidad (densidad foliar) sobre la deposición del PF (Travis *et al.*, 1987; Hall *et al.*, 1991). Ello ha desembocado en el desarrollo de nuevos y más precisos sistemas de dosificación que contabilizan dicho parámetro en el procedimiento de recomendación de dosis (Walklate *et al.*, 2003; Walklate *et al.*, 2006). La contribución realizada por estos autores es especialmente relevante ya que ha iniciado un nuevo campo de desarrollo tecnológico al incorporar sensores láser en la caracterización estructural (dimensiones y frondosidad) de plantaciones frutales. Dichos trabajos se han realizado sobre plantaciones de manzano del Reino Unido, caracterizadas por su porte reducido y su baja frondosidad.

2. Regulación electrónica del pulverizador de acuerdo con valores dimensionales de la plantación

También esta línea de investigación aplicada se remonta a varias décadas atrás. Inicialmente se emplearon sensores de IR. Más recientemente, se han incorporado los primeros sensores electrónicos de ultrasonidos (US) a pulverizadores accionados por tractor (Rosell *et al.* 1996). Últimamente se han materializado algunos desarrollos comerciales, especialmente interesantes para el tratamiento de plantaciones de vegetación discontinua, como es el caso del olivar y los cítricos (Moltó el al., 2001).

EL PROYECTO PULVEXACT[4]

Durante el período 20032005, se ha ejecutado el proyecto de investigación aplicada PULVEXACT cuyo objetivo general ha sido el de reducir la dosis de PF aplicada en los tratamientos de plantaciones frutales, viñedos y cítricos mediante instrumentos de decisión o de control electrónico encaminados a minimizar las variaciones de deposición que anteriormente se han descrito.

El proyecto ha generado dos importantes avances, uno en cada una de las líneas de investigación actualmente planteadas.

1. DOSA, sistema de ayuda a la decisión de dosis

   Se trata de un protocolo de optimización de la dosis fundamentado en la parametrización de los diferentes factores que intervienen en el proceso de pulverización:

   • características estructurales del cultivo,

   • equipo de tratamientos,

   • producto fitosanitario a aplicar,

   • plaga o enfermedad a controlar,

   • condiciones meteorológicas previstas durante la realización del tratamiento,

   El sistema **DOSA** provee el valor optimizado del volumen unitario de caldo a pulverizar (litros/ha). Una vez adoptado dicho valor, a partir de la dosis recomendada en la etiqueta (concentración), se permite calcular la dosis de producto fitosanitario para una determinada superficie de cultivo. El sistema **DOSA** está destinado a los asesores en sanidad vegetal y también a los productores.

2. Electrónica embarcada: mejora de los sistemas de detección y regulación electrónica

   2.1 Empleo de sensores láser. En esta línea de trabajo son destacables las aportaciones iniciales realizadas en el Reino Unido en la caracterización estructural de plantaciones frutales de bajo porte (Walklate *et al.* 2002) utilizando para ello sensores LIDAR, Light Detection and

4. Proyecto financiado por el Plan Nacional I+D+i (AGL2002-04260--CO4). La ejecución ha correspondido al D-epartamento de Agricultura, Ganadería y Pesca de la Generalitat de Catalunya (coord.), al Departamento de I-ngeniería Agroforestal de la Universidad de Lleida, a la Escuela Superior de Agricultura de la Universidad Polit-écnica de Catalunya y al Departamento de Mecanización Agraria de la Universidad Politécnica de Valencia.

Ranging, (Sick AG, Alemania). Puesto que se vislumbre cierta disminución en el coste de estos equipos, se ha despertado interés por su empleo en la caracterización estructural de diferentes cultivos arbóreos (frutales, viñedo y cítricos). Dicha aplicación se ha visto incentivada por su capacidad de resolución en la toma de medidas, muy superior a la conseguida por los sensores US (Figura 5). Ello ha dado lugar a notables avances operativos y a la visualización de importantes beneficios a corto plazo (Rosell *et al.*, 2004) (Sanz *et al.*, 2005).

Figura 5. Dispositivo empleado para la caracterización estrctural de plantaciones, capaz de operar simultáneamente con sensores US y LIDAR. Obsérvense los cinco sensores US, cada uno de los cuales registra datos a su correspondiente nivel y el detalle del cabezal del sensor de láser LIDAR, operando en un plano vertical con un ángulo de incidencia próximo a los 180º (Llorens, 2005)

2.2 Regulación electrónica en tiempo real. Se trata de sistemas de control basados en la detección realizada por sensores de US y en la regulación de flujo mediante válvulas proporcionales de respuesta rápida. Este sistema ha sido ensayado con éxito en la pulverización de plantaciones de manzano, peral y olivar (Escolà, *et al.*, 2006; Solanelles *et al.*, 2006) y viñedo en espaldera (Gil *et al.*, 2006). En todos los casos se alcanzan ahorros importantes de PF.

Tanto el nuevo sistema de ayuda a la decisión, **DOSA**, como las aplicaciones recientes de los sensores de US y LIDAR, permiten ajustar la dosis a las condiciones concretas en las que se realiza el tratamiento para el control de plagas y enfermedades en los cultivos anteriormente mencionados. En ambos casos se propicia una disminución sensible de los riesgos personales y ambientales y una contención de los costes de explotación.

En este trabajo se exponen los avances conseguidos en la primera de las dos líneas expuestas, concretamente el sistema **DOSA** de ayuda a la decisión de dosis. En cuanto a los trabajos y resultados correspondientes a los sistemas de control electrónico, se abordan ampliamente en la contribución de Escolà *et al.* (2007).

LOS FUNDAMENTOS DEL SISTEMA DOSA[5]

El empleo de los criterios anteriores, juntamente con la importante base experimental disponible, ha permitido diseñar un procedimiento de cálculo del volumen óptimo, preciso y práctico, basado en parámetros totalmente cuantificables y al alcance de las personas directamente involucradas en la realización de los tratamientos.

Dicho procedimiento recibe la designación genérica de **DOSA**, disponiéndose en este momento de una primera versión, conocida como **DOSAVIÑA**, que ha sido desarrollada sobre un fichero de cálculo EXCEL® y contrastada posteriormente sobre diferentes variedades de viña por parte de la Universidad Politécnica de Catalunya (Gil, 2003). A posteriori, a partir de la versión inicial, el Centro de Mecanización Agraria de la Generalitat de Catalunya ha implementado en formato similar la versión para plantaciones frutales denominada **DOSAFRUT**. Se ha generado también una versión inicial de la herramienta específica para los tratamientos del olivar, denominada **DOSOLIVO** y la correspondiente para cítricos, **DOSACITRUS**, será previsiblemente desarrollada, en un futuro próximo, por la Universidad Politécnica de Valencia.

Las herramientas **DOSA** se fundamentan en la siguiente hipótesis doble:

a) el volumen de caldo debe ser directamente proporcional a la superficie vegetal a tratar (LAI) y a la dosis unitaria adecuada a las exigencias del control fitosanitario (ver definición de índice de dosificación más adelante).

b) el caldo teóricamente necesario para conseguir este objetivo debe ser incrementado para hacer frente a las pérdidas originadas por el traslado de gotas desde el pulverizador hasta dicho objetivo.

5. DOSA ha sido descrito de forma detallada por Planas *et al*, (2006a).

Esta base de partida queda resumida en la siguiente expresión:

$$V = \frac{2 \times LAI \times D}{E} \times 10^4$$

siendo: ***V*** el volumen unitario de caldo a pulverizar (litros/ha)
LAI el índice de área foliar (adim.)
D el índice de dosificación de caldo (litros/m2)
E la eficiencia de la aplicación

El LAI se calcula a partir de las dimensiones básicas de la fila de árboles (altura, anchura), la forma geométrica de la sección transversal y de un valor tipo de la frondosidad. Para una determinada plantación, el valor del LAI va aumentando a lo largo del ciclo vegetativo hasta llegar al su valor máximo en el momento en que en verano se alcanza el estadio de pleno desarrollo.

El índice de dosificación *(D)*

El índice de dosificación representa el volumen de caldo teóricamente necesario para recubrir la superficie foliar por ambas caras (haz y envés) con una trama de gotas lo suficientemente densa para crear la barrera fitosanitaria necesaria para controlar las plagas y enfermedades.

En la literatura tradicional sobre técnicas de pulverización se establecen valores de 70 gotas/cm^2 como densidad de impactos teóricamente necesaria para ejercer dicho control. En el caso de las herramientas **DOSA**, al efecto de dotar el tratamiento de mayores garantías, se calcula el índice de dosificación suponiendo una densidad de 100 gotas/cm^2.

El segundo componente del índice de dosificación es el tamaño medio de las gotas que consiguen impactar sobre el objetivo. En todos los casos se adopta un valor de referencia equivalente a una población de gotas con un diámetro medio de 200 mm.

A partir de estas premisas, se calcula el índice de dosificación (litros/m2 de superficie foliar) mediante la siguiente expresión:

$$D = 100 \text{ gotas/cm2} \times \frac{4}{3} \times \pi \times \left[\frac{200\mu m}{2}\right]^3 \times 10^{-11}$$

El resultado de la expresión es de 0,004 litros/m^2. Este es pues el valor umbral del índice de dosificación que teóricamente asegura una barrera fitosanitaria suficiente para controlar las plagas y enfermedades.

La eficiencia de la aplicación (E)

La eficiencia de la aplicación fitosanitaria equivale a la proporción de producto que actúa eficazmente en el control de la plaga o enfermedad respecto a la cantidad total aplicada. La fracción de producto que no alcanza el objetivo a tratar o que no se deposita en la forma conveniente sobre el mismo constituye la denominada fracción de pérdidas.

En numerosos trabajos experimentales se ha comprobado que la proporción de pérdidas depende de cuatro factores relevantes:

a) las características estructurales de la plantación,

b) las prestaciones del pulverizador y su regulación adecuada,

c) los parámetros operativos (velocidad de avance y caudal de aire del ventilador)

d) las condiciones meteorológicas (temperatura, humedad y viento).

Más allá de las pérdidas de carácter operativo, existen dos factores adicionales que pueden modificar el volumen unitario de caldo que inicialmente debería ser aplicado. De una parte, la dificultad para que la pulverización alcance el lugar en el que se ubican ciertas plagas, como es el caso del piojo de San José, o el modo específico de interacción del producto fitosanitario con la plaga, por ejemplo la psila del peral, pueden requerir un volumen de caldo adicional. En otros términos, para ejercer un correcto control de las plagas citadas debe incrementarse el "mojado" de los árboles

De forma opuesta, es sabido que el empleo de preparados coadyuvantes adicionados al caldo fitosanitario produce un efecto de reducción de la evaporación de las gotas, a la vez que mejora su adherencia y la absorción del producto. Estas circunstancias conllevan una reducción sensible de las pérdidas de producto y, por tanto, deberían permitir cierta disminución del volumen unitario de caldo a aplicar.

La combinación de todos los factores anteriores permite calcular la proporción total de pérdidas y, complementariamente, la eficiencia global de la aplicación en las condiciones concretas en las que esta se realice. La eficiencia global, E, se calculará pues con arreglo a la siguiente expresión:

$$E = (1 - Pc) \times (1 - Pp) \times (1 - Pb) \times (1 - Po) \times (1 - Pm) \times (1 - R) \times (1 + Co)$$

Donde: ***Pc*** representa la proporción de pérdidas imputables a los efectos estructurales de la plantación

Pp, la proporción de pérdidas imputables al pulverizador (distribución)

Pb, la proporción de pérdidas imputables al pulverizador (boquillas)
Po, la proporción de pérdidas imputables a las condiciones operativas
Pm, la proporción de pérdidas imputables a las condiciones meteorológicas
R, la variación en el volumen de caldo para el control de plagas de especial dificultad
Co, la variación en el volumen de caldo a consecuencia de la adición de coadyuvante

Funcionamiento de las herramientas DOSA

La funcionalidad de los **DOSA** se basa en su simplicidad. Gracias a su interficie amigable para el usuario, la entrada de datos es rápida y se encuentra al alcance de todas las personas involucradas en los tratamientos fitosanitarios. Para ello, el programa dispone de sucesivos menús de entrada, selección de parámetros e información (Anexo).

Finalizada la introducción de datos el programa retorna la siguiente información:

a) a modo de comprobación de los datos entrados, un resumen de las condiciones operativas en las que se prevé realizar la aplicación fitosanitaria,

b) el valor que, de acuerdo con los datos de entrada, adquieren los factores de la eficiencia global,

c) el resultado del cálculo del volumen unitario de caldo

d) al efecto de guiar al usuario en la introducción de medidas correctoras, una representación gráfica del nivel de riesgo correspondiente a los diferentes factores de eficiencia

CONCLUSIONES

El sistema de ayuda de decisión, **DOSA**, para el cálculo del volumen unitario y de la dosis se muestra como un instrumento efectivo por su ajuste a las condiciones concretas en las que se realiza el tratamiento y por la practicidad de su funcionamiento, circunstancia que lo hace altamente interesante para su empleo tanto por parte de asesores técnicos como por parte del personal directamente involucrado en las operaciones.

Los programas **DOSA** mejoran sensiblemente los sistema de recomendación de la dosis disponibles hasta el momento, tales como el TRV, ya que

incorporan el factor frondosidad (densidad foliar). El sistema es pues más realista y, a su vez, más creíble para los agricultores y usuarios en general.

La profundización y la extensión en el empleo de los programas DOSA requieren de nuevas aportaciones en la caracterización estructural de plantaciones. Ello probablemente vendrá de la mano del empleo del equipo LIDAR, en un trabajo sistematizado de caracterización de plantaciones tipo que permita de forma rápida y sencilla realizar una estimación fiable de la frondosidad a partir de las dimensiones básicas de la plantación.

Finalmente se plantea la necesidad de un sistema normalizado para la recomendación de dosis que protocolice los ensayos de eficacia, incluyendo relaciones dosiseficacia en las diferentes condiciones de cultivo en las que previsiblemente vaya a emplearse el PF ensayado y la definición de condiciones de referencia a partir de las cuales pueden establecerse recomendaciones de dosis en las diversa formas estructurales en las que se empleará el PF.

Todos estos trabajos se ajustan por completo a los objetivos fijados por las autoridades europeas en el marco de la propuesta de directiva por la que se establece el Marco de la Actuación Comunitaria para conseguir un Uso Sostenible de los Plaguicidas.

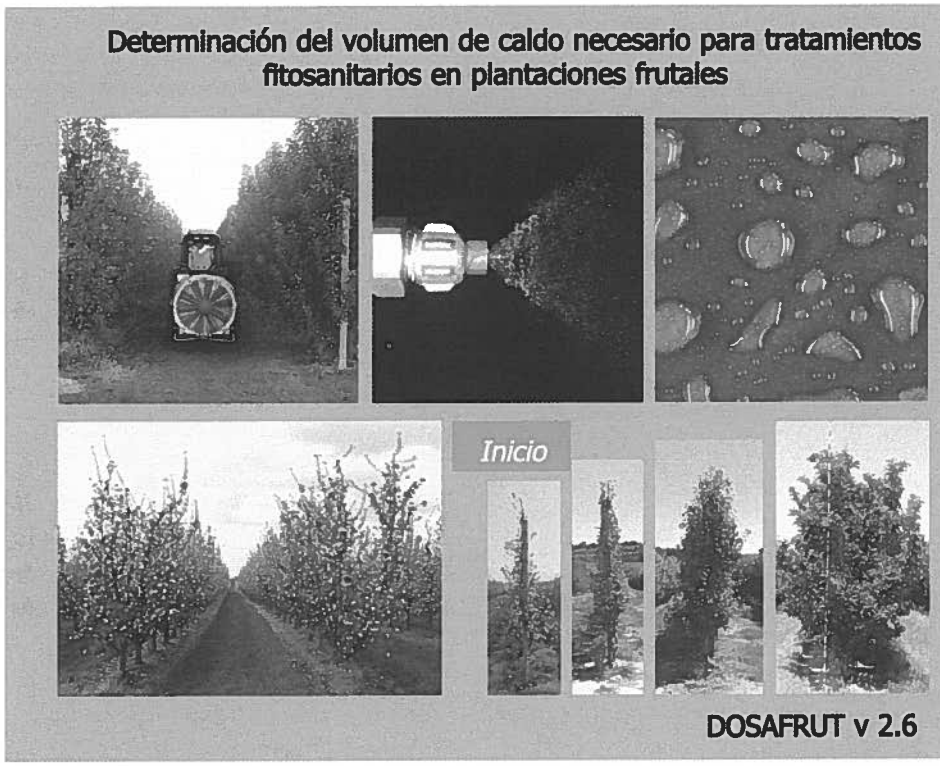
RECONOCIMIENTOS

Los resultados alcanzados por el proyecto **PULVEXACT** han sido posibles gracias a la contribución de todos los investigadores participantes en el proyecto y particularmente de los coordinadores de subproyecto, Dr. Joan Ramon Rosell Polo (Universidad de Lleida), Dr. Emilio Gil Moya (Universidad Politécnica de Catalunya) y Dr. Luis Val Manterola (Universidad Politécnica de Valencia).

En cuanto al sistema de decisión DOSA, su concepción y desarrollo ha sido realizada por el Dr. Emilio Gil Moya. En la posterior adaptación a plantaciones frutales y olivar han intervenido los ingenieros agrónomos Francesc Solanelles Batlle, Felipe Gracia Aguilá y Ferrand Camp FeriaCarod (Centro de Mecanización Agraria de la Generalitat de Catalunya) y Alexandre Escolà Agustí (Universidad de Lleida).

ANEXO

Menús para la introducción de datos, selección de parámetros, cálculo del volumen de aplicación e información del usuario de la herramienta de ayuda a la decisión, DOSA, en la versión correspondiente a plantaciones de manzano y peral, DOSAFRUT.


Determinación del volumen de caldo necesario para tratamientos fitosanitarios en plantaciones frutales
Inicio
DOSAFRUT v 2.6

Menú: Condiciones de la aplicación

Retorno menú inicial

Plantación a tratar

Especie cultivada: Manzano

Marco de plantación (seleccionar)

Ancho de calle (m): 3,8 X Dist. entre árboles (m): 2,1

Desarrollo vegetativo (clickar)

Densidad de plantación: 1.253 pies/ha

Producto a aplicar

La utilización de coadyuvantes mejora la eficiencia de la aplicación y la retención del producto pulverizado

Tipo de producto	Modo de acción	Adición de coadyuvantes
Insecticida, acaricida	Contacto	SI

Grado de dificultat de control de la plaga o enfermedad

Determinadas plagas requieren un volumen unitario de caldo adicional para que el tratamiento sea efectivo. La experiencia demuestra que entre otras, los tratamientos contra la psylla del peral y la araña roja deben seguir esta recomendación.

Plagas que requieren recubrimmto elevado (ej:Psylla, araña roja,...)

Parámetros de la aplicación

La selección de velocidades moderadas, presiones de trabajo medias y caudales de aire acordes con el volumen de vegetación permiten una mejor distribución del producto aplicado y disminuyen las pérdidas

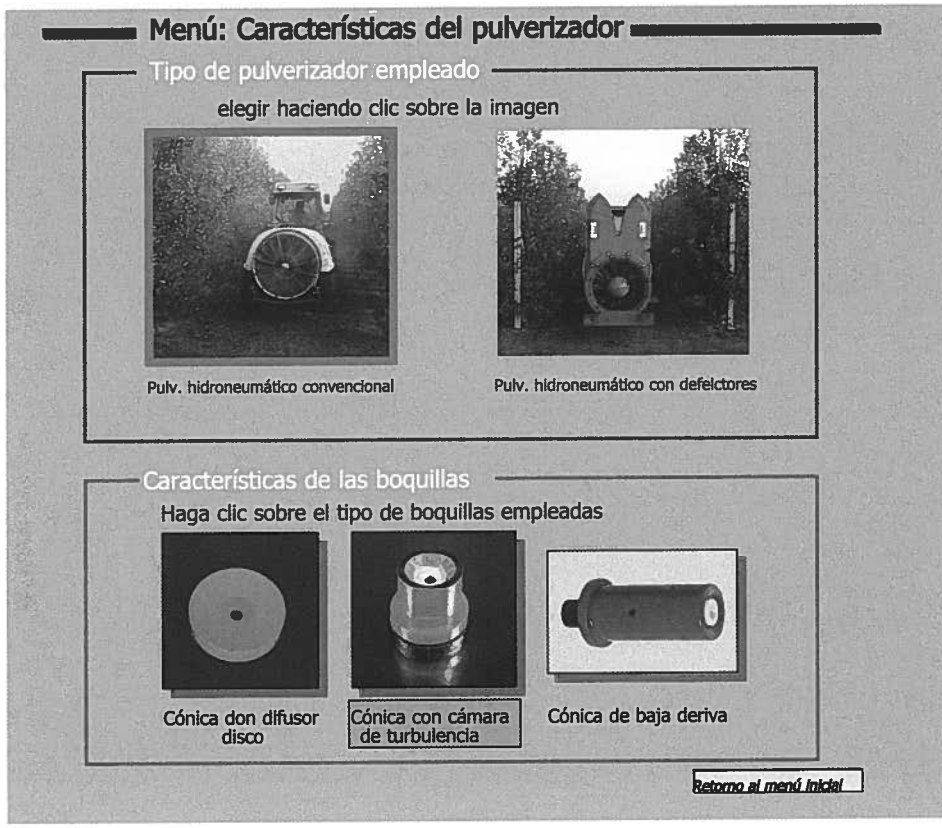
Velocidad de avance	Caudal de aire del ventilador
Entre 3 y 5 km/h	Medio (entre 15.000 m3/h y 30.000 m3/h)

Condiciones meteorológicas

Trabajar bajo condiciones meteorológicas adecuadas: temperatura entre 5 y 25 ºC, humedad relativa entre 50 y 95% y viento en calma. Solamente si la premura del tratamiento lo requiere, de forma excepcional, podrá admitirse su realización con brisa (viento medido en la parte superior de los árboles que no exceda la velocidad de 3 m/s).

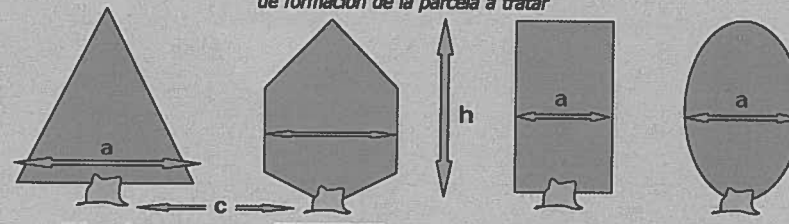
Temperatura	Humedad relativa	Velocidad del viento
Entre 5 ºC y 20 ºC	Superior a 60%	Inferior a 1 m/s

Retorno al menú inicial


Menú: Características del pulverizador
Tipo de pulverizador empleado
elegir haciendo clic sobre la imagen
Pulv. hidroneumático convencional
Pulv. hidroneumático con defelctores
Características de las boquillas
Haga clic sobre el tipo de boquillas empleadas
Cónica don difusor disco
Cónica con cámara de turbulencia
Cónica de baja deriva
Retorno al menú inicial

Menú: Dimensiones de la plantación a tratar

Haga clic sobre el tipo de figura que mejo represente el sistema de formación de la parcela a tratar



Triangular | *Romboidal* | *Rectangular* | *Elíptica*

Dimendiones tomadas

	Romboidal
Altura representativa de la vegetación (h)	4,2
Anchura representativa de la vegetación (a)	1,8
Distancia entre hileras (c)	3,8
Índice de área foliar (si se conoce)	

Instrucciones:
Para conseguir unos resultados más consistentes, se recomienda tomar 6 medidas, 3 de la sección del tronco y tres de la sección entretronco, e introducir los valores medios

Parámetros calculados

V_v = 14.21 m³/ha

$LAI_{estimado}$ = 4,9 m²/m²

Retorno al menú inicial

Resumen: Condiciones de trabajo seleccionadas

Retorno menú inicial

Características del cultivo

Especie cultivada	Manzano
Desarrollo vegetativo	Plena vegetación
Densidad de plantación	1.253 pies/ha

Características del producto

Tipo de producto	Insecticida, acaricida
Modo de acción	Contacto
Uso de coadyuvantes	SI

Parámetros operativos

Velocidad de avance	Entre 3 y 5 km/h
Caudal del ventilador	Medio (entre 15.000 m^3/h y 30.000 m^3/h)

Condiciones meteorológicas

Temperatura	Entre 5ºC y 20ºC
Humedad relativa	Superior a 60%
Velocidad del viento	Inferior a 1 m/s

Características del pulverizador

Tipo de pulverizador	Pulverizador hidroneumático convencional

Características de las boquillas

Tipo de boquillas empleadas Boquilla cónica

Accesibilidad a la plaga o enfermedad

Plaga o enfermedad a controlar	Plagas que requieren recubrimiento elevado (ej:Psylla, araña roja...

Información: Factores de pérdidas y eficiencia

Valoración: Bajo (0) - Alto (5) (Rango) P: Pérdidas E: Eficiencia

Estructura de la plantación (Pc y Ec)

Anchura media de vegetación	3			
Altura de la vegetación	5			
		(0%-15%)	12%	88%

Prestaciones del pulverizador (Pp, Pb y Ep, Eb)

Tipo de pulverizador	5	(0%-35%)	35%	65%
Tipos de boquillas empleadas	3	(0%-30%)	18%	82%

Parámetros operativos (Po y Eo)

Velocidad de avance	0			
Caudal de aire del ventilador	1			
		(0%-20%)	2%	98%

Condiciones meteorológicas (Pm y Em)

Temperatura	0			
Humedad relativa	0			
Velocidad del viento	0	(0%-00%)	0%	100%

Accesibilidad a la planga o enfermedad (R y E_R)

Plaga o enermedad a controlar	5			
		(0%-15%)	15%	85%

Adicción de coadyuvante (Co)

Uso de coadyuvantes	0		
		(0%-5%)	0%

Valor ponderado de la eficiencia (E)

$$E = (1 - Pc) \times (1 - Pp) \times (1 - Pb) \times (1 - Po) \times (1 - Pm) \times (1 - R) \times (1 + Co)$$

39%

Cálculo: Determinación del volumen de aplicación

Indice de Area Foliar

4,9 m^2/ha

0,004 L/m^2

$$V = \frac{2 \times LAI \times D}{E} \times 1{,}E{+}04 = 1055{,}8 \quad L/ha$$

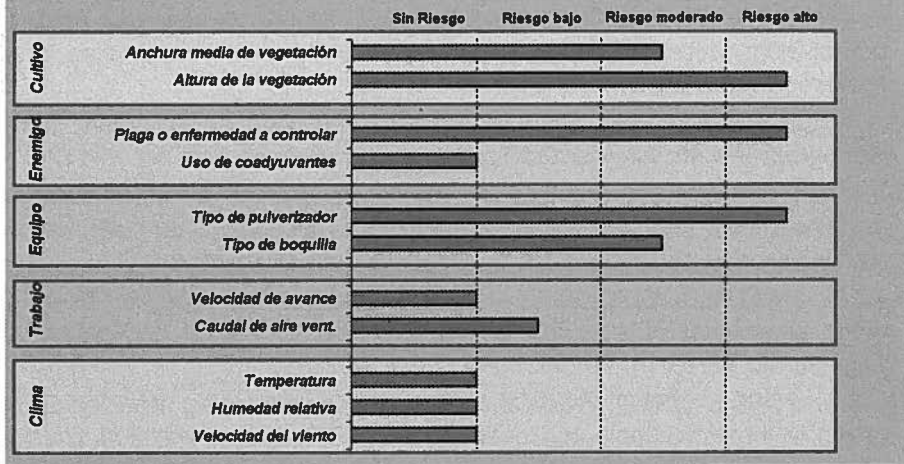
Factor de eficiencia

39%

Volumen unitario de caldo a aplicar: **1000 - 1100** L/ha

Retorno al menú inicial

Información: Representación de los factores de riesgo



Retorno al menú inicial

REFERENCIAS

BYERS RE, HICKEY KD, HILL CH, 1971. Base gallonage per acre. *VA Fruit* 60, 19–23.

ESCOLÀ, A (2006). Comunicación personal.

ESCOLÀ A, CAMP F, SOLANELLES F, PLANAS S, GRACIA F, ROSELL JR, GIL L, VAL L (2006b) Spray application volume test in apple and pear orchards in Catalonia (Spain) and Variable Rate Technology for dose adjustment. *Proc. ASABE Meeting.* Paper 061120. Portland.

ESCOLÀ A, Avances tecnológicos en la aplicación de productos fitosanitarios en cultivos arbóreos. *10º Symposium Nacional de Sanidad Vegetal.* Sevilla. En prensa.

FILLAT A, PLANAS S, BOSCH M, PONS L, SOLANELLES F (1993) Measuring contamination (losses to the soil & drift) of pesticide application in fruit orchards. Proc. Int. Symp. *Frut, Nut & Vegetables.* Valencia.

FURNESS G O, MAGAREY P A, MILLER P H, DREW H J. 1998. Fruit tree and vine sprayer calibration based on canopy size and length of row: unit canopy method. *Crop Protection,* 17, 639644.

FURNESS G O, MAGAREY P A. 2000. Unit canopy row calibration and a new pesticide label format to improve dose consistency on different canopy sizes with spray application to fruit trees and vines in Australia. *Aspects of Applied Biology* 57, Pesticide Application, 309312.

GIL E., (2003) Tratamientos en viña. Equipos y técnicas de aplicación. *Edicions UPC.* Barcelona 169 pg.

GIL E., ESCOLÀ A., ROSELL JR, PLANAS S., VAL L. (2006) Variable rate application of plant protection products in vineyard using ultrasonic sensors. *Crop Protection* (en prensa).

HALL F R, COOPER J A . 1991. Orchard geometry and pesticide placement. BCPC Monograph No 46, Air Assisted Spraying in *Crop Protection,* pp. 171176.

LLORENS J (2005). Posada a punt d'un sistema d'adquisició de dades basat en un sensor làser LMS 200 per la caracterització geomètrica de cultius arboris. Universidad de Lleida. ETSIAL. Proyecto final de carrera.

MOLTÓ E., MARTÍN B., GUTIÉRREZ A. (2001). Pesticide loss reduction by automatic adaptation of spraying on globular trees. *Journal of Agricultural Engineering Research.* 78 (1): 3541. ISSN: 00218634

PLANAS S., PONS L. (1991). Practical considerations concerning pesticide application in intensive apple and pear orchards. Brit. *Crop Protection Council. Monog.* 46, 45 52.

PLANAS S. (1997) Reduction of pesticide inputs to fruit and vineyard crop production by improving the control, operation and desuign of spray application equipment. AIR CT 931304 Air Assisted Sprayers. Research Project CE DGVI. Final report.

PLANAS S, GIL E, ESCOLÀ A, CAMP F. (2006a) DOSA, instrumento para la optimización de las dosis de los tratamientos fitosanitarios en cultivos arbóreos. *Phytoma Espanya* (182) 4350

ROSELL J R, NOGUÉS A, PLANAS S .(1996). An experimental selective orchard spraying system based on the electronic control of applied flow rate. EurAgEng Paper No. 96A120. *AgEng,* Madrid.

ROSELL JR, SANZ R, ESCOLÀ A, PALACÍN J, SISÓ JM, RIBES M, MASIP J, ARNÓ J, LLORENS J, VALLÈS JM, MASSANA P, GRACIA FJ, SOLANELLES F, CAMP F, GIL E, VAL L, PLANAS S (2004). Progresos en la determinación de las características estructurales de las plantas mediante un escáner láser para su utilización en la aplicación de fitosanitarios de forma proporcional a las características de las plantaciones. *Fruticultura Profesional* 147, pp. 1220.

RÜEGG J, VIRET O, RAISIGL U. (1999). Adaptation of spray dosage in stonefruit orchards on the basis of tree row volume. *Bulletin EPPO/OEPP Bulletin*, 29, 103110.

SANZ R, LLORENS J, RIBESDASI, M, MASIP J, ARNÓ J, VALLÉS JM, ESCOLA A, MASSANA P, CAMP F, PALACÍN J, SOLANELLES F, GIL E, PLANAS S, VAL L, ROSELL JR. (2005) First results of a nondestructiveLIDAR sistem for the characterization of tree crops as a suport for the optimizationof pesticide treatments. Proc. 8th *Workshop on Spray application techniques in fruit growing*. Barcelona.

SOLANELLES, F, ESCOLÀ, A, PLANAS, J. R. ROSELL, F. CAMP, F. GRACIA. (2006). An Electronic Control System for Proportional Pesticide Application to the Canopy Width in Tree Crops. *Biosystems Engineering*. In press.

Steefek R, Reisenzein H, Persen U. (2000).TreeRowVolume a new way for the registration of plantprotective agents in orchards? Results of 3year field trials in austrian apple orchards. Proceedings of the International Conference on Integrated Fruit Production. Eds. Müller, Polensy, Verheyden, Webster, ISHS *Acta Horticulturae*, 525, 195200.

TRAVIS J W, SKROCH W A, SUTTON T B. (1987). Effect of canopy density on pesticide deposition and distribution on apple trees. *Plant Dis.* 71, 613615.

VAL L, PALACIOS P, JUSTE F, SEGURA A, IBÁÑEZ R. (1994). The use of airassisted equipments spraying citrus orchards in the Valencia region. Proceedings of *IV International Symposium of Fruit, Nut and Vegetable Production Engineering.* Juste F (ed), Vol. 1, pp. 187194.

VIRET O, SIEGFRIED W, WOHLHAUSER R (2005) Crop adapted spraying in viticulture. Leaf volume dependant pesticide dosage for a precise and ecological application. Proc. 8th Workshop on Spray Application Techniques in *Fruit Growing.* Barcelona (Spain).

WALKLATE PJ, CROSS JV, RICHARDSON GM, MURRAY RA, BAKER DE. (2002). Comparison of different spray volume deposition models using LIDAR. Measurements of apple orchards. *Biosystems Engineering* 82 (3), 253–267

WALKLATE, PJ, CROSS, JV, RICHARDSON, GM, BAKER, DE, MURRAY, RA. (2003). Pesticide application rate. Adjustment to de Crop Enviroment (PACE). Proc. 7th Workshop on Spray Application Techniques in *Fruit Growing*. Cuneo.

WALKLATE, PJ, CROSS, JV (2003). Orchard spraying: opportunities to reduce rates. Horticultural Development Council. Facsheet 20/05.

WALKLATE, PJ, CROSS, JV, RICHARDSON, GM, BAKER, DE, MURRAY, RA. (2006). Optimising the adjustment of labelrecommended dose rate for orchard spraying. *Crop Protection 25* (2006) 1080–1086.

AVANCES TECNOLÓGICOS EN LA APLICACIÓN DE PRODUCTOS FITOSANITARIOS EN CULTIVOS ARBÓREOS

Alexandre Escolà Agustí
Ingeniero Agrónomo y Profesor Colaborador
Departamento de Ingeniería Agroforestal
Universidad de Lérida

RESUMEN

Desde 1996, el Departamento de Ingeniería Agroforestal de la Universitat de Lleida y el Centre de Mecanització Agrària del Departament d'Agricultura, Ramadería i Pesca de la Generalitat de Catalunya han trabajado conjuntamente en el desarrollo de un pulverizador para plantaciones frutales. Este pulverizador es capaz de variar el caudal pulverizado en tiempo real en el marco de la Tecnología de Aplicación Variable de lo que se conoce como Agricultura de Precisión. El objetivo es conseguir un ajuste dinámico de la dosis proporcional al volumen de vegetación estimado a partir de dos técnicas sensoriales: los ultrasonidos y el láser. En el presente trabajo se presentan los resultados de varios ensayos en los que, mayormente, se cumplen satisfactoriamente los objetivos.

INTRODUCCIÓN

La aplicación de productos fitosanitarios es una actividad agrícola hasta la fecha imprescindible en el manejo de las explotaciones para la obtención de productos de calidad. Sin embargo, se trata de una actividad con un riesgo elevado de contaminación de las personas y del medio ambiente si no se realiza correctamente. Una correcta aplicación de fitosanitarios pasa por una adecuada protección del operario, una adecuada manipulación del producto, una regulación precisa del pulverizador y una minuciosa selección de los parámetros que intervienen en el proceso de pulverización.

Entre los muchos parámetros a tener en cuenta, uno de los más importantes es la dosis de aplicación. Actualmente, en la etiquetas de los productos fitosanitarios destinados a los tratamientos de cultivos arbóreos se pueden encontrar recomendaciones de cantidad de producto (masa o volumen) por unidad de superficie de parcela y por unidad de volumen en el depósito del pulverizador. Ello puede ocasionar problemas de sobredosificación o subdosificiación por el hecho de que no existen dos hectáreas iguales en cuanto a "cantidad" de vegetación o por no seleccionar correctamente el volumen de caldo a aplicar por hectárea.

Ante esta problemática se plantean dos posibles líneas de trabajo. La primera es mejorar la expresión de la dosis teniendo en cuenta el máximo número de variables posible para llegar a ajustar una dosis única para toda la plantación. La segunda línea de trabajo es modificar la dosis de manera dinámica, en tiempo real, de manera que se ajuste al volumen de vegetación que "va pasando" enfrente del pulverizador en el marco de lo que se denomina Tecnología de Aplicación Variable dentro de la Agricultura de Precisión.

Estas dos mismas líneas de trabajo fueron abordadas en el marco del proyecto PULVEXACT, financiado por el Ministerio de Educación y Ciencia a través de su Plan Nacional de I+D+i entre los años 2002 y 2006, en el que participaron el Departament d'Agricultura, Ramaderia i Pesca de la Generalitat de Catalunya, la Universitat de Lleida, la Universitat Politècnica de Catalunya y la Universitat Politècnica de València.

Sin embargo, ya en el año 1996, el Centre de Mecanització Agrària del Departament d'Agricultura, Ramaderia i Pesca de la Generalitat de Catalunya i el Departament d'Enginyeria Agroforestal de la Universitat de Lleida, empezaron a desarrollar un prototipo de pulverizador capaz de modificar el caudal pulverizado en función de una estimación del volumen de vegetación a partir de lecturas de sensores de ultrasonidos. Actualmente se han realizado varios ensayos y se han utilizado otros sensores y se puede afirmar que el sistema funciona y que tiene un potencial de ahorro de producto importante, siempre dependiendo de las características de la plantación.

ANTECEDENTES

Los primeros diseños se realizaron a finales de los años 70 en equipos de aplicación para cultivos bajos y hortícolas. En estos primeros estadios de evolución se desarrollaron sensores de presión, sensores para la detección de vegetación, electroválvulas y elementos electrónicos de decisión. Después de investigaciones y ensayos llegó el turno de la maquinaria de

aplicación para cultivos arbóreos y arbustivos con sus características diferenciales.

En 1986, Porras y otros desarrollan un pulverizador equipado con un sensor infrarrojo para la detección de la vegetación. Dicho sensor consistía en un par emisor-receptor que requería la interceptación del haz infrarrojo entre ambos para actuar. Este tipo de sistemas de detección presentaba graves inconvenientes estructurales en la situación del par emisor-receptor para la detección. Las pruebas realizadas en olivos, dispuestos en distintos marcos de plantación, permitieron ahorrar entre un 39% y un 62% de producto aunque se registraron errores de funcionamiento en presencia de copas poco densas o no uniformes.

Una alternativa a dichos sistemas fue propuesta en 1987 por Giles y otros en Estados Unidos, quienes desarrollaron un sistema reflectivo a base de detectores ultrasónicos (Figura 1) para detectar la pre-sen-cia de árboles frutales. Este tipo de sensores de vegetación, mejorados con los avances tecnológicos correspondientes, son los que se siguen utilizando en la actualidad. En la versión más sencilla, una barra vertical conteniendo varios sensores detectaba la presencia del follaje del árbol a diferentes alturas. A partir de los datos obtenidos, se podía estimar la altura del árbol y se accionaban arcos de boquillas independientes correspondientes a las distintas alturas detectadas. Operando de este modo se redujo el volumen de líquido aplicado entre un 10% y 17 % y entre un 20 y 27 % en plantaciones de melocotoneros y manzanos, respectivamente. Además, este sistema no supuso reducción alguna de la deposición del pesticida en el árbol.

Posteriormente, los mismos investigadores desarrollaron una variante más avanzada del anterior sistema, en la que mediante un algoritmo más elaborado, los datos de los sensores servían para calcular el tamaño y el centroide del árbol para optimizar la localización óptima y la cantidad de producto a aplicar. Este control incrementó los ahorros obtenidos hasta un 28 ÷ 34 % y 36 ÷ 52 % en melocotoneros y manzanos, respectivamente. Como era de esperar, los ahorros estaban altamente relacionados con las condiciones de las plantaciones (Giles *et al.* 1989). Así, los ahorros obtenidos disminuían a medida que la uniformidad en tamaño y forma aumentaba y a medida que la proporción de ausencias o de árboles replantados disminuían.

Ya en 1997, los italianos Balsari y Tamagnone diseñaron un prototipo para pulverizar en función de la presencia de vegetación discriminando el árbol en tres alturas. A tal efecto, el pulverizador se equipó con tres sensores por lado que controlaban una electroválvula TODO/NADA cada uno. Además, la máquina incorporaba un radar para determinar la velocidad real de avance y evitar pulverizar a velocidades inadecuadas. Según los autores, se consiguieron ahorros del 25% respecto a tratamientos en plantaciones

intensivas de frutales sin detener la pulverización al final de las filas y de entre un 3% y un 8% respecto a tratamientos tradicionales realizados de forma correcta. Los autores consideraron que el incremento de coste que representaba el embarque del sistema en la máquina podía recuperarse en 3 o 5 años.

Los sistemas convencionales de aplicación de productos fitosanitarios están normalmente diseñados poniendo gran énfasis en la uniformidad de distribución (vertical y/u horizontal, según el caso) del producto a la salida del pulverizador. Sin embargo, la distribución real de la masa vegetal a tratar puede ser altamente desigual. Mediante el uso de sistemas de detección de la vegetación y el posterior control del caudal del pulverizador es posible localizar el producto en las zonas con presencia de masa vegetal y no aplicar allá donde ésta se halle ausente, como ya se ha descrito, pero también es posible ajustar la dosis a la "cantidad" de vegetación que se presenta al pulverizador. La mayoría de los autores de los sistemas descritos anteriormente ya apuntaban en las conclusiones de sus trabajos la necesidad de caracterizar la vegetación para ajustar más eficientemente el volumen pulverizado. Los sistemas de detección y control en tiempo real aplican una cantidad de producto adaptada a la plantación en el momento de realización del tratamiento. El desarrollo de tales sistemas requiere el uso de sensores, algoritmos de regulación y actuadores con unos tiempos de respuesta rápidos y una alta resolución espacial.

En 1999, Martín y colaboradores crearon un modelo de pulverizador capaz de realizar aplicaciones con una cierta proporcionalidad a la vegetación detectada. El funcionamiento del equipo continúa basándose en electroválvulas ON/OFF que actúan a partir de las señales de los sensores de ultrasonidos. La diferencia radica en la posibilidad de emitir tres caudales distintos: caudal máximo, caudal medio y caudal cero. El pulverizador responde a la presencia/ausencia de vegetación y, además, discrimina un umbral de vegetación a partir del cual se pasa del caudal medio al máximo y viceversa. Con este sistema, el grupo de investigadores liderado por Moltó (2001) registró ahorros del 37% de producto con respecto a un tratamiento convencional.

La proporcionalidad continua la empezó a desarrollar Rosell y otros en 1996 en una colaboración entre la Universitat de Lleida y el Centre de Mecanització Agrària de la Generalitat de Catalunya. Esta colaboración continuó con los trabajos de Solanelles *et al.* (2002) y Escolà *et al.* (2002) y sigue aún hoy vigente.

En la Figura 1 se observan los distintos modelos de ajuste de caudal de caldo pulverizado para una misma fila de árboles.

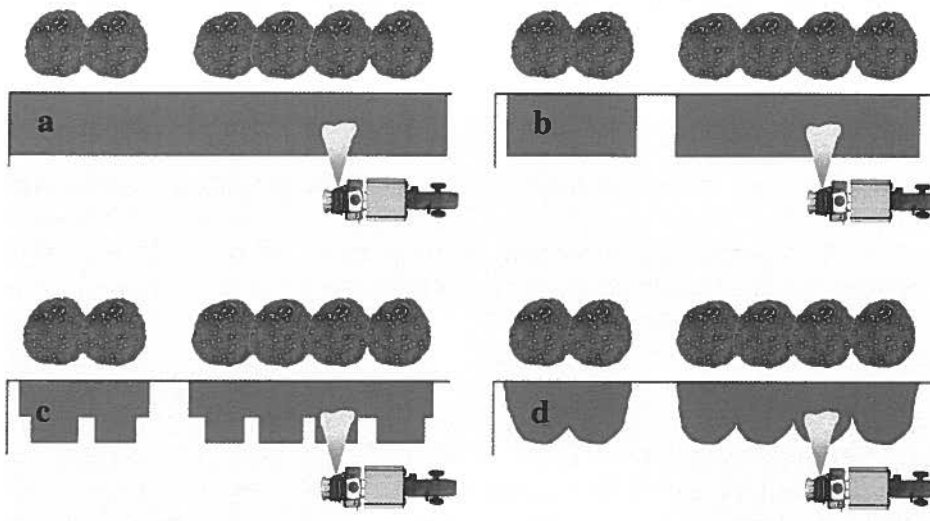


Figura 1.- Modelos de ajuste de caudal de caldo pulverizado para una misma fila de árboles. a) Aplicación convencional a caudal constante. b) Aplicación selectiva en base a la información de sensores que detectan presencia de vegetación. c) Aplicación proporcional discreta con dos niveles de caudal en base a la información de sensores que cuantifican la vegetación. d) Aplicación proporcional continua.

OBJETIVOS

El objetivo de la tecnología descrita es determinar la dosis de producto necesaria para cada punto de la parcela en función del volumen de vegetación estimado por los sensores y pulverizar el caudal de caldo necesario para mantener lo más constante posible la relación entre el volumen de caldo pulverizado y el volumen de vegetación. Todo ello en el marco de la Tecnología de Aplicación Variable que plantea la Agricultura de Precisión.

MATERIALES Y MÉTODOS

El resultado de la investigación realizada es un prototipo equipado con sensores para la caracterización in situ de la vegetación y con tecnología de aplicación variable para el ajuste de la dosis de producto en tiempo real. El prototipo se ha bautizado con el nombre de FLUXPRO y actualmente está montado sobre un pulverizador Arrow F 1000 de la empresa Ilemo-Hardi, S.A. para que funcione de forma proporcional por uno de sus lados (Figura 2). Aunque las nuevas tecnologías de medida y caracterización de la vegetación y de regulación de procesos se pueden incorporar en cualquier pul-

verizador, es conveniente señalar que lo lógico es implementar estas mejoras en equipos lo más evolucionados posible.

Figura 2.- Prototipo de pulverizador Fluxpro equipado con sensores para la caracterización de la vegetación y con tecnología de aplicación variable para el ajuste de la dosis de producto en tiempo real.

El funcionamiento de prototipo se realiza en 3 etapas fundamentales que se desarrollan en los siguientes apartados:

- Caracterización de la vegetación.
- Ajuste de la dosis de producto.
- Actuación (regulación del caudal pulverizado).

Ensayos de campo

Los resultados en los que se basa este trabajo son 3 ensayos realizados en plantaciones frutales de la Estació Experimental de Lleida que el Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentàries (IRTA) tiene en Gimenells. Dos de los ensayos se realizaron en plantaciones de manzano *Malus communis* L. cv. 'Top Red' y peral *Pyrus communis* L. cv. 'Conference' basados en la técnica de los ultrasonidos. El tercer ensayo se realizó en la misma plantación

de peral pero utilizando la técnica láser LIDAR (Figura 3). Todos los ensayos se realizaron en plena vegetación. En la Tabla 1 se describen las características de los ensayos.

Figura 3.- Plantaciones de *Malus communis* L. cv. 'Top Red' y *Pyrus communis* L. cv. 'Conference' en las que se realizaron los ensayos con el prototipo de pulverizador variable Fluxpro.

Tabla 1.- Características principales de los ensayos realizados con las dos técnicas sensoriales (ultrasonidos y LIDAR).

ENSAYO	Variable con ultrasonidos	Variable con LIDAR
Marca de boquillas	ALBUZ	
Modelo de boquillas	ATR naranja	
Boquillas por lado	9	
Velocidad de avance (km h^{-1})	4,68	1,80
Velocidad toma de fuerza (r min^{-1})	430	
Flujo de aire (m3 h-1)	40000	

Cada ensayo consiste en la realización de 3 aplicaciones sobre la misma vegetación utilizando quelatos metálicos de zinc, manganeso y hierro como trazadores. Una de las aplicaciones es un tratamiento convencional a caudal constante y las otras dos, en sendas aplicaciones variables con configuraciones distintas. Los 3 tratamientos se realizan con el mismo pulverizador modificando solamente el modo de funcionamiento, convencional o variable, mediante software.

De cada aplicación se conocen los parámetros de funcionamiento del prototipo (mediante registro electrónico de todas las variables de proceso) y las deposiciones alcanzados (mediante lavado de las hojas con un volumen de agua desmineralizada conocido y posterior análisis de las concentraciones de metales en dichos volúmenes con la técnica de espectroscopia de emisión de plasma acoplado inductivamente) en el Laboratori Agrari del Departament d'Agricultura, Ramaderia i Pesca de la Generalitat de Catalunya.

El parámetro utilizado para comparar los tratamientos es la eficiencia de aplicación, entendida como relación entre la cantidad de trazador depositado sobre la vegetación y la cantidad total de trazador aplicado (Ecuación 1).

$$E=\frac{\overline{D}.\ LAI}{C_D.V_A} \qquad \text{(Ecuación 1)}$$

Donde E es la eficiencia de aplicación, D es la deposición media de trazador (masa de trazador por unidad de superficie de hoja), C_D es la concentración de trazador en el caldo del depósito del pulverizador y V_A es el volumen de aplicación (volumen de caldo por unidad de superficie de parcela).

Caracterización de la vegetación

Actualmente el parámetro que emplea el prototipo para caracterizar la vegetación y ajustar la dosis es el volumen de vegetación. Para cuantificar este parámetro mediante sensores se pueden utilizar dos técnicas sensoriales: los ultrasonidos y el láser (Figura 4) utilizando tecnología LIDAR (del inglés, LIght Detection And Ranging), técnica descrita en Sanz *et al.*, 2005.

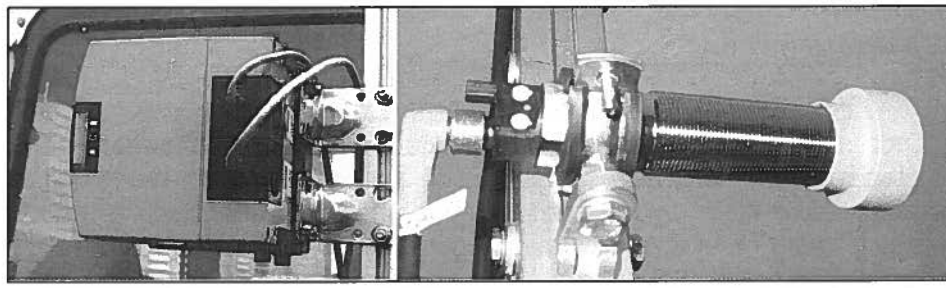


Figura 4.- Sensores utilizados en la caracterización de la vegetación. A la izquierda, sensor láser que utiliza la tecnología LIDAR. A la derecha, sensor de ultrasonidos.

Ambas técnicas sirven para estimar la sección transversal de la copa hasta el eje de la fila en un punto determinado. Tal como se observa en la Figura 5.a, los sensores de ultrasonidos son capaces de medir la distancia entre ellos y la vegetación. A partir de esta información se puede estimar la semi-sección de copa de forma más precisa cuantos más sensores se utilicen. El sensor LIDAR, en cambio, realiza un barrido vertical de 180 puntos (un punto por cada grado de la vertical) dando como resultado la distancia del sensor a la vegetación para cada posición del rayo, en grados. Procesando esta información, se puede estimar el volumen de vegetación con mucha más resolución que con los sensores de ultrasonidos, como indica la Figura 5.b.

En ensayos realizados con sensores de ultrasonidos, es posible realizar una lectura cada 10 cm en el sentido de avance de pulverizador. En los ensayos en los que se empleó el LIDAR, debido al mayor volumen de datos generado, las lecturas se realizan cada 20 cm. La estimación del volumen de vegetación es el resultado del producto entre la semi-sección de vegetación detectada y la distancia recorrida hasta la siguiente lectura.

Aparte de las diferencias obvias en cuanto a la resolución vertical de las dos técnicas, existe otra característica a tener muy en cuenta en la aplicación de una técnica u otra. Se trata del diámetro del impacto de las ondas de ultrasonidos y del rayo láser. Dicho diámetro varía en función de la distancia a la se encuentra el objeto que genera el rebote, en esta aplicación, las hojas de la copa de los árboles. En la Tabla 2 se relacionan los citados diámetros para el caso de los ultrasonidos y del láser a 4 distancias diferentes a las que podemos encontrar vegetación.

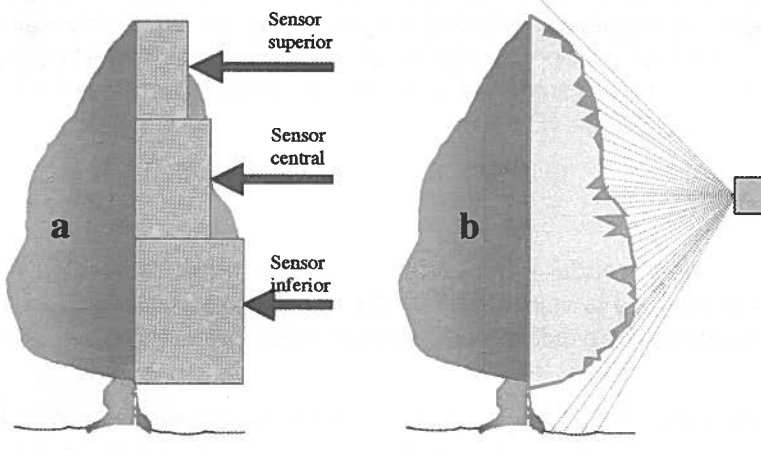


Figura 5.- Técnicas sensoriales utilizadas en la estimación del volumen de vegetación. a) Mediante el uso de 3 sensores de ultrasonidos. b) Mediante el uso de un sensor láser con tecnología LIDAR (LIght Detection And Ranging).

Tabla 2.- Diámetros de impacto de los haces de ultrasonidos y láser para diferentes distancias en el rango de las posibles en la caracterización de plantaciones frutales.

Distancia entre sensor y vegetación (cm)	Diámetro del impacto en ultrasonidos (cm)	Diámetro del impacto en láser (cm)
50	4,36	1,88
100	8,72	2,08
150	13,09	2,29
200	17,45	2,50

El diámetro de impacto del haz láser es mucho menor que el ultrasónico. Esto da capacidad al sensor LIDAR para representar mejor la vegetación ya que le es posible penetrar en la copa a través de huecos de diámetro reducido que pasan "desapercibidos" al sensor de ultrasonidos dándose incluso el caso que el haz láser atraviese completamente la copa del árbol sin producirse ningún impacto sobre la vegetación. Este hecho permite estimar secciones transversales de forma mucho más precisa teniendo en cuenta, de alguna manera, la frondosidad de la copa.

Ajuste de la dosis

El objetivo actual del prototipo es dosificar en función del volumen de vegetación estimado a partir de las lecturas de una técnica sensorial u otra. La consigna de regulación del sistema es aplicar un valor determinado de caldo, a una concentración constante, por cada metro cúbico de copa, lo que se traduce en una determinada cantidad de materia activa por unidad de volumen de vegetación (Ecuación 2).

$$Q = S.\ v.\ i \qquad \text{(Ecuación 2)}$$

Donde Q es el caudal a pulverizar, S es la mitad de la sección transversal de la copa, v es la velocidad de avance del pulverizador e i el coeficiente de aplicación expresado en volumen de caldo por unidad de volumen de copa.

El coeficiente de aplicación i es un coeficiente experimental que expresa el volumen de caldo necesario para pulverizar correctamente un metro cúbico de vegetación. El hecho de utilizar este coeficiente para la dosificación ya implica una mejora frente a los sistemas establecidos basados en una recomendación genérica por unidad de superficie de explotación (sin tener en

cuenta parámetros elementales como el marco de plantación, la edad de los árboles, la frondosidad, etc.) o en una concentración de formulado en el depósito (dejando a criterio del operador el volumen de aplicación, y por tanto la dosis, con el que se va a distribuir la materia activa). Sin embargo, la implantación de este sistema implicaría diseñar un protocolo preciso para la medición de los volúmenes de copa y establecer experimentalmente los coeficientes i para los distintos géneros, especies y hasta cultivares.

Actuación

Los elementos que finalmente modifican el comportamiento del proceso para ajustarlo a la consigna, son 3 electroválvulas proporcionales de solenoide, una para cada sector del arco de pulverización que pulveriza de forma variable (Figura 6). Cada electroválvula regula el caudal pulverizado por 3 boquillas Albuz, modelo ATR naranja en función de una señal de mando enviada desde el dispositivo electrónico de regulación del sistema.

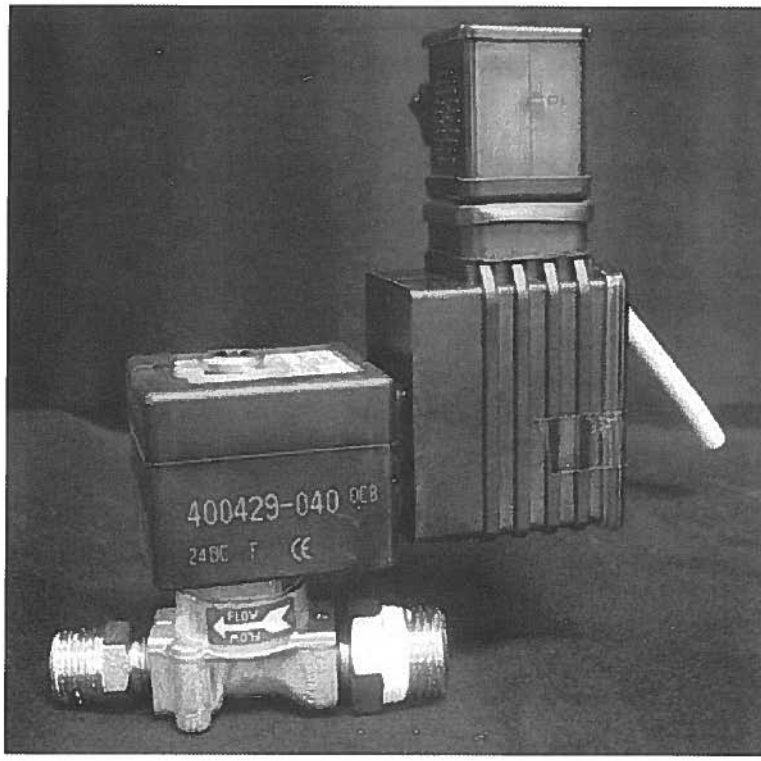


Figura 6.- Electroválvula proporcional de solenoide utilizada

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el momento de la elaboración del presente documento no se dispone de los datos de deposiciones del tercer ensayo por estar todavía en fase de análisis. La información será aportada durante la ponencia dentro de los actos del 10º Symposium Nacional de Sanidad Vegetal.

En los ensayos con los sensores de ultrasonidos caracterizando la vegetación, el parámetro de comparación con el tratamiento convencional, la eficiencia de aplicación, muestra mejoras importantes en la plantación de la cv. 'Conference' pero no en la plantación de la cv. 'Top Red' (Tabla 3). El motivo podría ser atribuible a la diferente conformación de las copas de los árboles. La cv. 'Top Red' presentaba una copa mayor, más densa y más regular mientras que la copa del peral era menor, más irregular y presentaba más huecos.

A partir de los registros electrónicos del prototipo, se observa claramente que el caudal pulverizado guarda una clara proporcionalidad con la vegetación detectada por los sensores de ultrasonidos (Figura 7). El volumen de vegetación tratado fue de 89,16 m^3 y se aplicaron 6,11 L en modo convencional y 3,98 L en modo variable, resultando un ahorro del 34,86% de caldo.

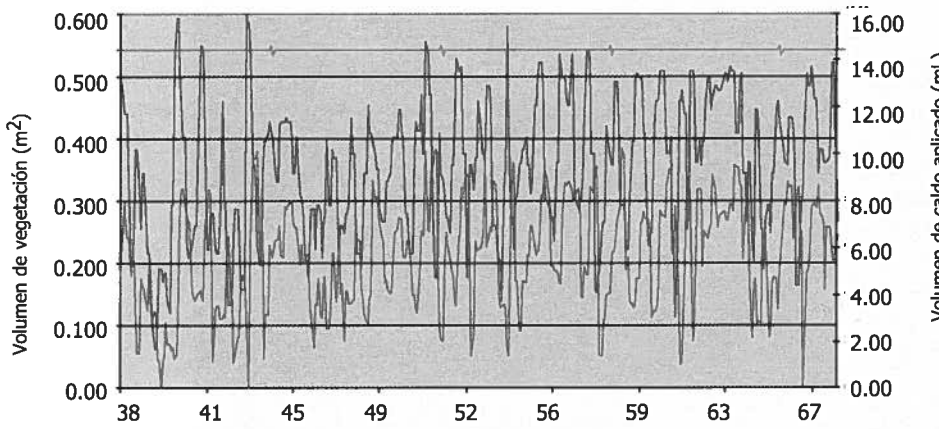


Figura 7.- Representación gráfica de los registros de volumen de vegetación (curva verde) y volúmenes pulverizados en modo convencional (curva roja) y en modo variable (curva azul) durante la aplicación en uno de los lados de la fila en la plantación de *Pyrus communis* L. cv. 'Conference'.

Tabla 3.- Resultados de los ensayos realizados con sensores de ultrasonidos en las plantaciones de *Malus communis* L. cv. 'Top Red' y *Pyrus communis* L. cv. 'Conference'.

APLICACIÓN		Variable 1	Variable 2	Convencional
Coeficiente de aplicación (L m-3)				
	Conference	0,035	0,040	0,056
	Top Red	0,030	0,040	0,050
Volumen de aplicación (L ha-1)				
	Conference	492	484	772
	Top Red	465	544	722
Ahorro de producto (%)				
	Conference	31,8	32,9	--
	Top Red	35,5	24,6	--
Concentración de trazador (mg L-1)			3.000	
Dosis de aplicación (g ha-1)				
	Conference	1476	1452	2166
	Top Red	1395	1632	2166
Deposición media (mg cm-2)				
	Conference	3,59b	3,65b	4,65a
	Top Red	3,52b	2,46b	5,31a
Reducción de deposición (%)				
	Conference	22,8	21,5	--
	Top Red	33,7	34,8	--
Eficiencia de aplicación (adim.)				
	Conference	0,243-LAI	0,251-LAI	0,215-LAI
	Top Red	0,252-LAI	0,212-LAI	0,245-LAI
Incremento de eficiencia (%)				
	Conference	13,30	17,09	--
	Top Red	2,93	-13,52	--
Pérdidas al suelo (%)				
	Conference	9,08	10,74	9,79
	Top Red	5,02	4,60	7,65

En cuanto a las aplicaciones realizadas utilizando el sensor LIDAR para la caracterización de la vegetación, sin disponer todavía de los resultados de deposición podemos, sin embargo, analizar el comportamiento de los sensores de caracterización de la vegetación y del prototipo en general.

En la Figura 8 se representan las curvas de vegetación estimada a partir de los sensores de ultrasonidos y a partir del sensor LIDAR. La estimación de los ultrasonidos es claramente superior a la de LIDAR a causa de su escasa resolución vertical. En el caso representado, que corresponde a la aplicación de ida, el sensor láser estimó el volumen de vegetación en 54,78 m3 mientras que los sensores ultrasónicos lo estimaron en 105,02 m3, una sobreestimación de más del 47,8 %. Y si tenemos en cuenta que, por razones de seguridad en la aplicación, el volumen estimado mediante láser se mayora por software y que el volumen "real" de vegetación es de 42,53 m^3, la diferencia respecto a los sensores de ultrasonidos es de casi del 60%.

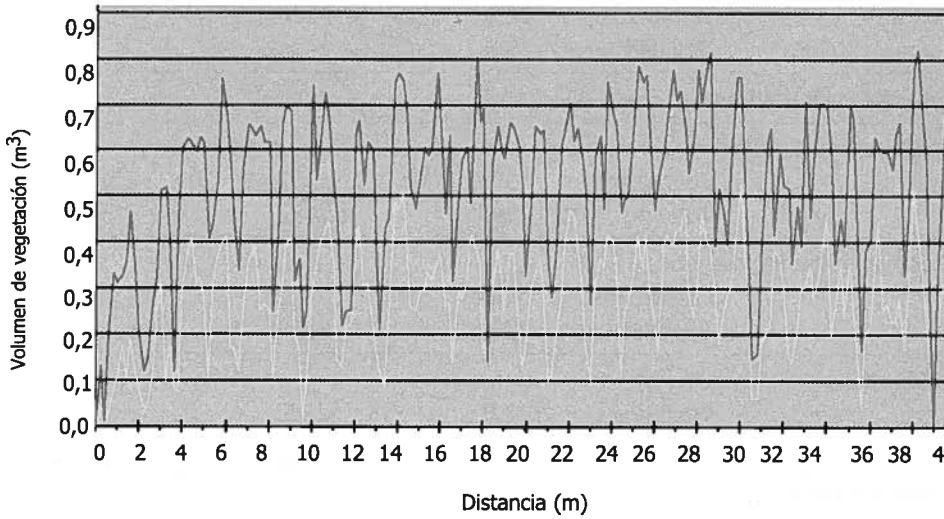


Figura 8.- Representación gráfica de los volúmenes de vegetación estimados mediante ultrasonidos (curva verde oscuro) y láser (curva verde claro) para el caso de la aplicación de ida de la aplicación variable en *Pyrus communis* L. cv. 'Conference'.

En al Figura 9 se muestran los registros digitales de volumen de vegetación detectado mediante LIDAR y caudales variable y convencional aplicados en el mismo caso descrito para la Figura 8. En la Tabla 4 se recogen los valores referentes en el global de la aplicación (ida y vuelta).

Tabla 4.- Resultados del ensayo realizado con el sensor LIDAR en la plantación de *Pyrus communis* L. cv. 'Conference'.

APLICACIÓN	Variable	Convencional
Volumen de vegetación (m3)	94,23	
Coeficiente de variación (%)	48,30	
Volumen aplicado (L)	14,20	25,50
Coeficiente de aplicación (L m-3)	0,151	0,270
Volumen de aplicación (L ha-1)	887	1594
Ahorro de producto (%)	44,33 -	

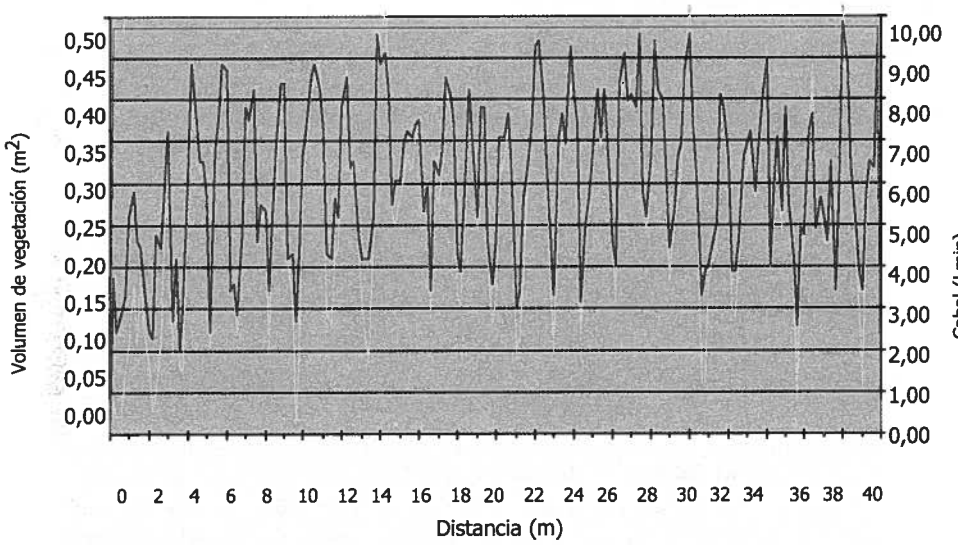


Figura 9.- Representación gráfica del volumen de vegetación LIDAR (curva verde) y los caudales variable (curva azul) y convencional (curva roja) para uno de los lados de la fila de *Pyrus communis* L. cv. 'Conference'.

Es evidente la proporcionalidad existente entre el volumen de vegetación y el caudal pulverizado cuando se observa la Figura 9. También se aprecia claramente la diferencia entre las curvas de caudal variable y de caudal continuo. La aplicación convencional se diseña para que las zonas con mayor vegetación reciban un volumen de caldo suficiente. En los puntos con menor vegetación existe sobredosificación mientras que en la aplicación variable, el caudal (y por tanto la dosis) se ajusta a las variaciones que presenta la vege-

tación. Cabe remarcar que la variabilidad de la vegetación, aún en plantaciones en palmeta como las estudiadas, es realmente elevada y justificaría soluciones como el prototipo desarrollado (Tabla 4).

La consigna para la regulación de la aplicación variable en este ensayo fue la de dosificar a partir de un coeficiente de aplicación de 0,125 L de caldo por unidad de volumen de copa. En las Figuras 10 y 11 se representan los valores registrados de este coeficiente en el tratamiento de ida. Mientras el coeficiente de la aplicación variable permanece próximo a la consigna, el correspondiente a la aplicación convencional aumenta su valor con facilidad cada vez que disminuye la vegetación pulverizada. El aumento del coeficiente en modo variable se justifica porque a volúmenes bajos de vegetación se pulveriza un caudal mínimo de seguridad mayor que el correspondiente para evitar comportamientos indeseados de las electroválvulas al trabajar en la parte más baja del rango.

El valor promedio del coeficiente de aplicación para todo el tratamiento variable y, en consecuencia el volumen de aplicación, resultan ser casi la mitad de los valores obtenidos en la aplicación convencional a caudal constante, cosa que valida el comportamiento del prototipo (Tabla 4).

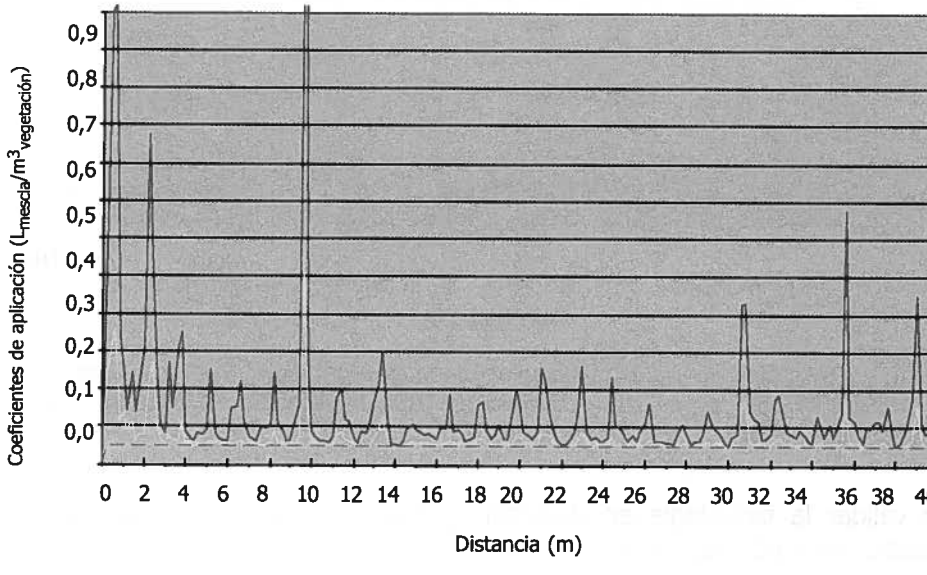


Figura 10.- Representación gráfica de los valores del coeficiente de aplicación obtenidos en modo variable (curva verde claro) y en modo convencional (curva verde oscuro) en la aplicación de ida.

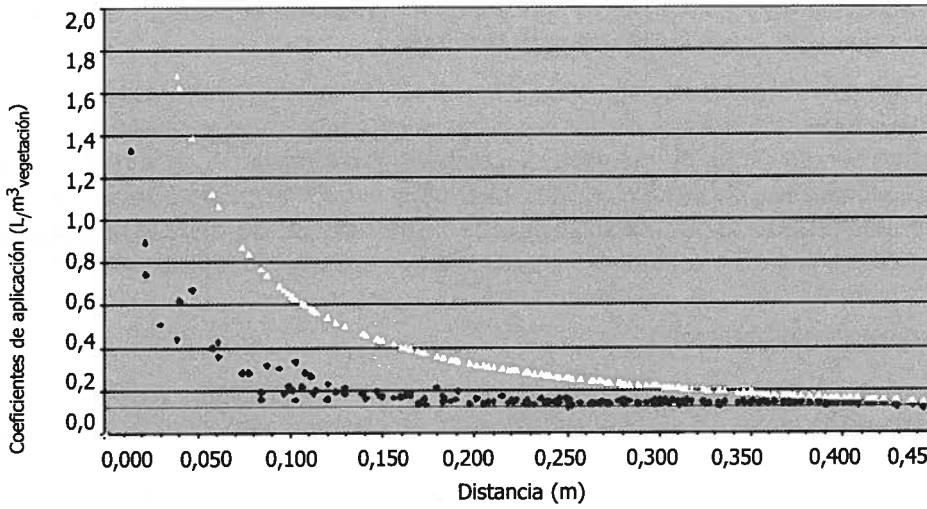


Figura 11.- Gráfico de dispersión del coeficiente de aplicación en función del volumen de vegetación para el caso variable (puntos azules) y el caso convencional (puntos amarillos). La curva roja marca el coeficiente consigna.

CONCLUSIONES

En cuanto a la caracterización de la vegetación, las dos técnicas se han comportado correctamente en la estimación de la vegetación aunque la tecnología LIDAR se presenta como mucho más precisa. Debe tenerse muy en cuenta el sistema con el que mide el volumen de copa ya que cada técnica estima la vegetación con un grado de precisión distinto. Si la dosificación se realizara a partir del volumen de vegetación debería especificarse qué técnica se utilizaría para su medida ya sea el láser, los ultrasonidos o medidas manuales.

En cuanto al ajuste de la dosis, se ha demostrado que el prototipo se comporta correctamente en la plantación de *Pyrus communis* L. cv. 'Conference' y en una de las aplicaciones en *Malus communis* L. cv. 'Top Red'. Se debe seguir trabajando en distintos tipos de plantaciones con el fin de validar la tecnología en distintas situaciones: sistemas de formación, estadios vegetativos, densidades foliares, etc.

En cuanto a la expresión de la dosis, el criterio de variar el caudal pulverizado a fin de mantener el coeficiente de aplicación constante se ha demostrado válido pero implicaría tipificar *todas* las plantaciones antes de poder ser adoptado universalmente como criterio de dosificación. Se debe seguir trabajando para encontrar un sistema de dosificación fácilmente adaptable

a las explotaciones actuales y que tenga en cuenta la densidad o la superficie foliar que presente el volumen estimado.

En cuanto a la actuación, la electroválvula se ha mostrado fiable para las condiciones de trabajo de los ensayos pero presenta algunas limitaciones como son su rango de presiones y caudales, poco adecuado a la realidad de las aplicaciones de productos fitosanitarios, y el hecho que para variar el caudal pulverizado debe modificar la presión de trabajo. Se debe seguir trabajando en el diseño de una electroválvula que supere estos inconvenientes.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo no hubiera sido posible sin la colaboración y esfuerzo de todo el personal del Centre de Mecanització Agrària, de compañeros como Ferran y Jordi y de alumnos como Xavier. Asimismo, se agradece la colaboración de la empresa Ilemo-Hardi, S.A., de la Estació Experimental de Lleida del Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentàries (IRTA), del Laboratori Agrari del Departament d'Agricultura, Ramaderia i Pesca de la Generalitat de Catalunya y la financiación del Ministerio de Educación y Ciencia, a través de su Plan Nacional de I+D+I.

REFERENCIAS

BALSARI P, TAMAGNONE M, 1997. An automatic spray control for airblast sprayers: First results. Precision Agriculture, 1997-2. Pp: 619-626.

ESCOLÀ A, SOLANELLES F, PLANAS S, ROSELL JR. 2002. Electronic control system for proportional spray application to the canopy volume in tree crops. Eurageng Conference. Budapest. Paper No, 02-AE-010.

GILES DK, DELWICHE MJ, DODD RB, 1987. Control of orchard spraying based on electronic sensing of target characteristics. Transactions of ASAE. Vol. 30. Pp: 1624-1630,1636.

GILES DK, DELWICHE MJ, DODD RB. 1989. Sprayer control by sensing orchard crop characteristics: orchard architecture and spray liquid savings. Journal of Agricultural Engineering Research. Vol. 43, Pp: 271-289.

MARTÍN, B. 1999. Control electrónico en dos modelos de equipos de tratamientos fitosanitarios en arboricultura. Tesis doctoral. Universidad Politécnica de Valencia. 133 pp.

MOLTÓ M, MARTÍN B, GUTIÉRREZ A. 2001. Pesticide loss reduction by automatic adaptation of spraying on globular trees. Journal of Agricultural Engineering Research. Vol. 78(1). Pp: 35-41.

PORRAS A, GOMEZ J, ARNAL JM, TOBES B, LORITE S. 1986. Mejoras producidas por la electrónica en las máquinas de pulverización. 2º Symposium Nacional de Agroquímicos. Sevilla, Pp: 378-388.

ROSELL JR, NOGUÉS A, PLANAS S. 1996. An experimental selective orchard spraying system based on the electronic control of applied flow rate. Eurageng Conference. Madrid .Paper No. 96A-120.

SANZ R, LLORENS J, RIBES-DASI M, MASIP J, ARNÓ J, VALLÉS JM, ESCOLÀ A, MASANA P, CAMP F, PALACÍN J, SOLANELLES F, GIL E, PLANAS S, VAL L, ROSELL JR. 2005. First results of a non-destructive LIDAR system for the characterization of tree crops as a support for the optimization of pesticide treatments. VIII Workshop on Spray Application Techniques in Fruit Growing. Actas del congreso. Barcelona,

SOLANELLES F, PLANAS S, ESCOLÀ A, ROSELL JR. 2002. Spray application efficiency of an electronic control system for proportional application to the canopy volume. Aspects of Applied Biology. Vol. 66. Pp: 139-146.

NUEVAS TÉCNICAS DE APLICACIÓN DE PRODUCTOS FITOSANITARIOS EN INVERNADEROS

Julián Sánchez-Hermosilla López
Dpto. Ingeniería Rural. Universidad de Almería.
Francisco Rodríguez Díaz
Dpto. Lenguajes y Computación. Universidad de Almería

INTRODUCCIÓN

La superficie de invernaderos existente en España es de 50.339 ha (MAPA, 2004), y suponen un 0,20% de la superficie total cultivada; de ellas, aproximadamente un 89% se destinan a la producción de hortalizas (44.798 ha), y se localizan fundamentalmente en el litoral mediterráneo. La provincia de Almería, con 26.958 ha (FIAPA, 2004), es la zona con mayor superficie invernada dedicada a la producción de hortalizas. Una producción que en la campaña 2002/03 ascendió en Almería a 2.613.651 tn (Instituto Cajamar, 2003), y supuso en torno al 20% de total de hortalizas producidas en España. Este dato, junto con la contribución de los invernaderos a la Producción Final Agraria española, que se cifra en el 15%, da una idea de la alta rentabilidad de este sistema productivo, y de su importancia dentro del panorama agrícola español.

El desarrollo de este sistema productivo no se ha debido sólo al empleo de invernaderos, o a la existencia de una climatología favorable, también ha influido la incorporación de tecnologías avanzadas, como los sistemas de control del clima, nuevos materiales de cobertura, sistemas de riego y fertirrigación de alta eficiencia, nuevas estructuras de invernadero, técnicas de cultivo sin suelo, etc.

La alta densidad de plantación, junto con las elevadas temperaturas y humedades, propias del interior de los invernaderos, hace que aparezcan problemas de plagas y enfermedades con mayor facilidad que en los cultivos al aire libre.

El control de plagas y enfermedades en los cultivos de invernadero se realiza fundamentalmente mediante la aplicación de productos químicos, aunque en los últimos años se están introduciendo nuevos métodos menos agresivos para el medio ambiente y la salud de las personas, como son la lucha integrada y la aplicación de productos químicos de baja peligrosidad. Sin embargo, debido a la escasa difusión que todavía tienen estos métodos, junto con la creciente preocupación por el empleo de productos fitosanitarios, como consecuencia de los efectos negativos que originan, hacen imprescindible realizar tratamientos optimizados desde un punto de vista técnico y agronómico. Entendiendo por tratamiento optimizado aquel que proporciona unas deposiciones cercanas al umbral de control de la plaga o enfermedad, uniformemente distribuidas en la masa vegetal, minimizando las pérdidas en el suelo y por deriva.

EQUIPOS DE TRATAMIENTOS EN INVERNADEROS

Los tratamientos fitosanitarios en los invernaderos se realizan fundamentalmente mediante sistemas manuales poco tecnificados, en los que resulta compleja su regulación y con los que la calidad del tratamiento depende en gran medida de la pericia del operario.

Los equipos más empleados son las pistolas o lanzas pulverizadoras manuales (Figura 1), trabajando a altas presiones (20-40 bar). Estas se acoplan a un sistema fijo de pulverización, consistente en una red de tuberías distribuidas por el invernadero, por las que circula el caldo fitosanitario a presión, procedente de un depósito situado en una instalación externa al invernadero, donde también se encuentra la bomba. También hay equipos en los que las pistolas o lanzas se acoplan a carretillas manuales que se desplazan por el pasillo central del invernadero, portando el depósito de caldo y la motobomba. Se trata de equipos de bajo coste, fácil mantenimiento, versátiles y adecuados para controlar problemas fitosanitarios puntuales y localizados. Sin embargo, los tratamientos realizados con estos equipos, se caracterizan por su baja eficacia, debido a las elevadas pérdidas de producto en el suelo y a la falta de uniformidad.

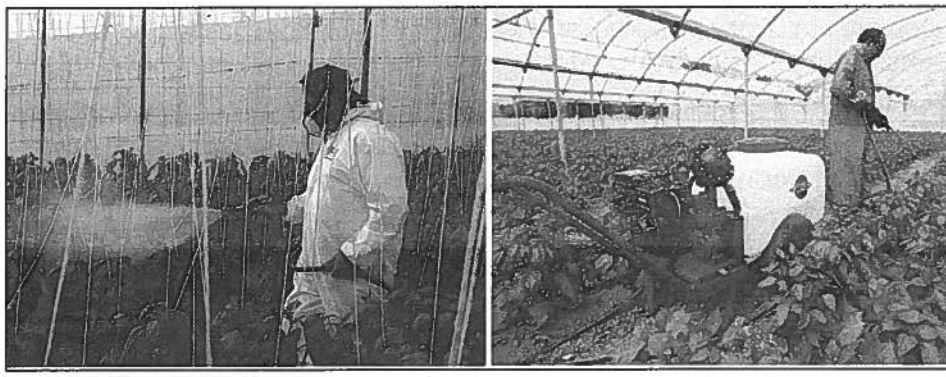


Figura 1. Pistola pulverizadora manual

Aunque minoritariamente, también se emplean en los invernaderos los pulverizadores hidroneumáticos tipo cañón atomizador (Figura 2). Son equipos técnicamente más evolucionados que las pistolas o lanzas manuales. Su uso se ha incrementado en los últimos años, debido fundamentalmente al ahorro de tiempo que supone la realización del tratamiento. Sin embargo, hay estudios (Garzón *et al.*, 2000) que demuestran que estos equipos son menos eficaces que las pistolas cuando se trabaja en cultivos tutorados, con una alta densidad de vegetación y configurados en líneas, debido la baja uniformidad longitudinal y transversal de la distribución de fitosanitario dentro de las líneas de cultivo, al empleo de mayor gasto y a unas importantes pérdidas en el suelo.

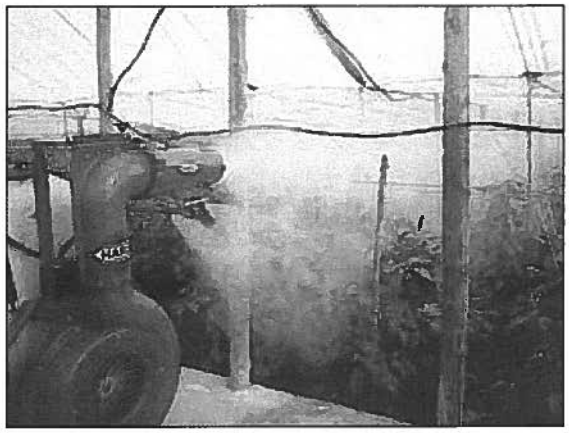


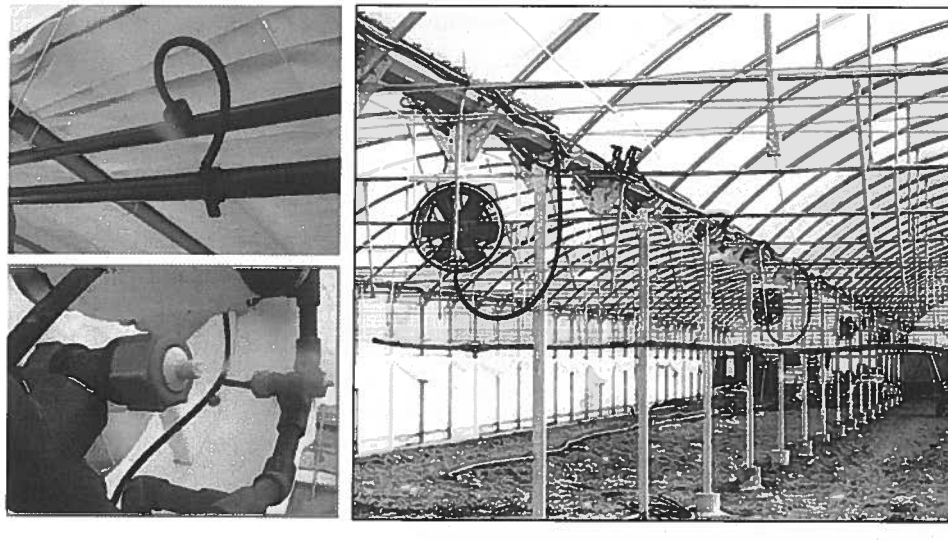
Figura 2. Cañón atomizador

Otros sistemas de aplicación, todavía con escasa implantación, son las instalaciones fijas de nebulización, que también se emplean para el control de la temperatura en el invernadero (Figura 3). Están constituidos por dos redes de tuberías distribuidas por el interior del invernadero. Por una de ellas circula el caldo fitosanitario a baja presión (2-3 bar), procedente de un depósito, e impulsado por una bomba situados en una instalación externa al invernadero. Por la otra circula aire a presión (6-7 bar) generado por un compresor, y está dotada de unas boquillas distribuidas

regularmente. Estas boquillas se conectan con la red de caldo fitosanitario mediante unos pequeños conductos, de tal manera que el choque con la vena líquida con la corriente de aire origina la división en finas gotas.

La principal ventaja de estos sistemas es la automatización de las aplicaciones, que permite realizarlas en el momento más adecuado, sin la presencia de operarios en el invernadero y con la frecuencia que se considere oportuno. Sin embargo estos sistemas originan distribuciones poco uniformes, sobre todo cuando la vegetación está muy desarrollada. En esta situación las gotas tienen dificultad para alcanzar las partes bajas de la planta y el envés de las hojas. También se concentra más caldo en las proximidades de los puntos de emisión (boquillas). Para evitar este inconveniente, algunas instalaciones de nebulización incorporan ventiladores con el objetivo de distribuir mejor las gotas el volumen del invernadero. Otro inconveniente de estos sistemas es que se regulan para tratar todo el volumen del invernadero, sin tener en cuenta las zonas donde no hay vegetación (pasillos, zonas entre líneas, etc.), dando lugar a importantes depósitos en el suelo y a un mayor gasto fitosanitario del necesario.

Figura 3. Instalaciones fijas de nebulización



En algunos invernaderos se emplean nebulizadores portátiles que se colocan estratégicamente en determinadas zonas del invernadero. Estos equipos tienen las mismas ventajas e inconvenientes que las instalaciones fijas de nebulización.

Finalmente, en los últimos años están apareciendo en el mercado equipos autopropulsados, dotados de barras pulverizadoras verticales que se desplazan entre las líneas de cultivo (Figura 4). Son equipos que permiten un mejor control de variables como la presión y la velocidad de trabajo. Esto se traduce en aplicaciones más eficaces, con menores pérdidas en el suelo y con menores riesgos de exposición de los aplicacdores (Sánchez-Hermosilla *et al*, 2003, Nyutten *et al.* 2004)

En general, a pesar de existir equipos de aplicación técnicamente avanzados (instalaciones de nebulización y equipos autopropulsados), su empleo es muy escaso y se utilizan mayoritariamente las pistolas y lanzas pulverizadoras. Esto unido a las condiciones en las que se desarrollan los cultivos en los invernaderos (alta densidad de plantación, humedades y temperaturas elevadas, escasa renovación del aire,...), originan una serie de problemas asociados a los tratamientos fitosanitarios en este sistema productivo, como son:

1. Baja eficacia de los tratamientos
2. Elevados riesgos de contaminación ambiental.
3. Riesgos para la salud de los operarios.

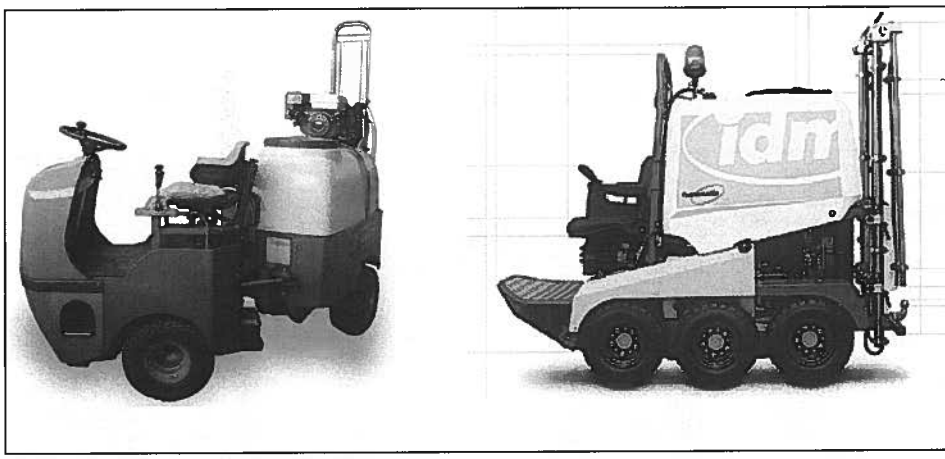


Figura 4. Pulverizadores autopruisados (www.carretillasamate.com, www.fumimatic.com)

OPTIMIZACIÓN DE LA PULVERIZACIÓN

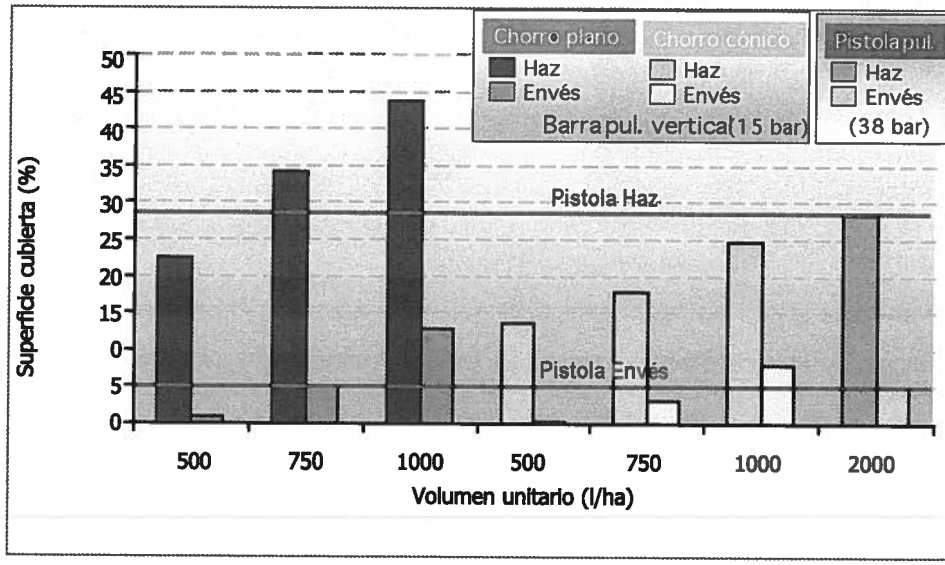
Dados los importantes inconvenientes que presentan los tratamientos fitosanitarios en los invernaderos, es necesario conocer el comportamiento de los diferentes equipos así como la configuración de los mismos para poder realizar una aplicación optimizada desde el punto de vista técnico y agronómico. En este sentido se deben tener en cuenta aspectos como: el equipo de tratamiento utilizado, tipo y orientación de las boquillas, volumen unitario de aplicación y la presión de trabajo.

Influencia del equipo de tratamiento

El tipo de equipo utilizado en las aplicaciones fitosanitarias tiene una gran influencia sobre la calidad de las mismas. Sánchez-Hermosilla *et al.* (2003) comparan las aplicaciones realizadas con una pistola pulverizadora y con un equipo pulverizador dotado de una barra pulverizadora vertical.

Los resultados muestran que el equipo dotado con una barra pulverizadora vertical con boquillas de abanico representa un importante avance respecto a las pistolas tradicionales (Figura 5), ya que permite obtener índices de cobertura en hojas similares, con volúmenes de aplicación sensiblemente inferiores (63 %), y a presiones más bajas (15 bar), además de originar menores deposiciones en el suelo.

Figura 5. Comparación barra pulverizadora vertical vs. pistola pulverizadora



Influencia del tipo de boquilla

Los equipos empleados en los invernaderos están equipados con boquillas de abanico o con boquillas de chorro cónico. Los aplicadores no utilizan ningún criterio a la hora de emplear un tipo de boquilla u otro. Sin embargo hay estudios que confirma un mejor comportamiento de las boquillas de abanico en los cultivos hortícolas en invernadero. Planas *et al.* (2001) comprueban que una pistola equipada con una boquilla de abanico doble, origina deposiciones en las hojas del cultivo similares, a las debidas a la misma pistola equipada con una boquilla de chorro cónico, pero distribuyendo un volumen unitario 2 veces más pequeño, y originando menores pérdidas en el suelo y menores riesgos de exposición del aplicador.

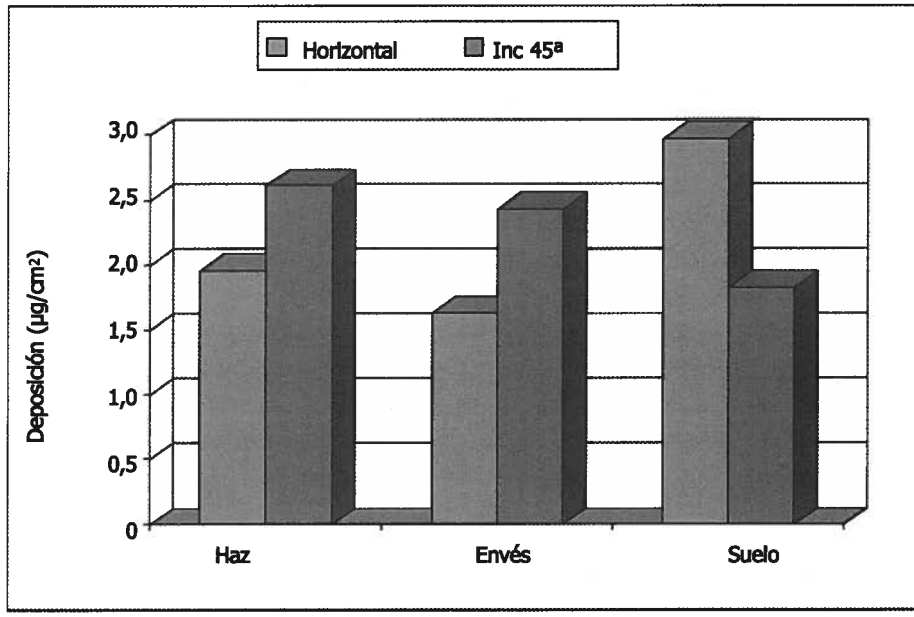
Sánchez-Hermosilla *et al.* (2003) también comprueban que las aplicaciones realizadas con una barra pulverizadora vertical equipada con boquillas de abanico, origina un índice de cobertura medio en la masa vegetal, aproximadamente 2 veces superior, al de la misma barra equipada con boquillas de chorro cónico.

Influencia de la orientación de las boquillas

Otro aspecto a tener en cuenta en la optimización de los tratamientos fitosanitarios en invernadero, es la orientación de las boquillas. Se han realizado estudios (Lee *et al.*, 2000; Mejías, 2004) en los que se han comparado las pulverizaciones realizadas con las boquillas dispuestas horizontalmente y formando un ángulo de 45º. Todos ellos ponen de manifiesto que el empleo de boquillas inclinadas origina una mayor deposición en el cultivo, mejor distribución del caldo entre el haz y el envés y menores pérdidas en el suelo (Figura 6).

Además el empleo de la asistencia de aire no mejora la deposición en el cultivo, como lo demuestran los resultados obtenidos por Lee *et al.* (2000), comparando una barra pulverizadora vertical con diferentes configuraciones. Se obtiene mayor deposición con las boquillas de abanico inclinadas 45º respecto a la horizontal, que con los tratamientos realizados con asistencia de aire. La uniformidad de las aplicaciones y la relación entre la deposición entre el haz y el envés son similares tanto con la boquillas inclinadas como en la barra asistida por aire. Por lo que respecta a la deposición en el suelo en todas las combinaciones analizadas resultaron similares.

Figura 6. Deposiciones originadas con las boquillas colocadas horizontalmente e inclinadas 45º



Influencia de la presión de trabajo

Como se ha comentado anteriormente en los invernaderos se utilizan pistolas pulverizadoras trabajando a presiones comprendidas entre 20-40 bar. Existe una creencia, por parte de los aplicadores, que las presiones elevadas originan una mejor cobertura de la masa vegetal y un mejor control de los problemas fitosanitarios. Sin embargo, se ha comprobado que con presiones inferiores a 10 bar se consiguen buenas deposiciones de fitosanitario en la masa vegetal. En este sentido, Van Os *et al.* (2004), ensayan una barra pulverizadora en un cultivo de tomate en diferentes estadios de desarrollo, empleando 3 presiones diferentes (2,5-5-10 y 15 bar), y observan como al reducir la presión de 15 a 5 bar se reduce sensiblemente la deposición de caldo fitosanitario en el suelo, mientras que se obtiene una deposición adecuada en las hojas. Por el contrario, la presión de 2,5 bar originó una deposición insuficiente en la hojas.

Determinación del volumen de aplicación

Otro aspecto a tener en cuenta en la optimización de los tratamientos en invernaderos es tener algún criterio racional para determinar el volumen unitario a aplicar en cada momento. El hecho de tratarse de cultivos en línea,

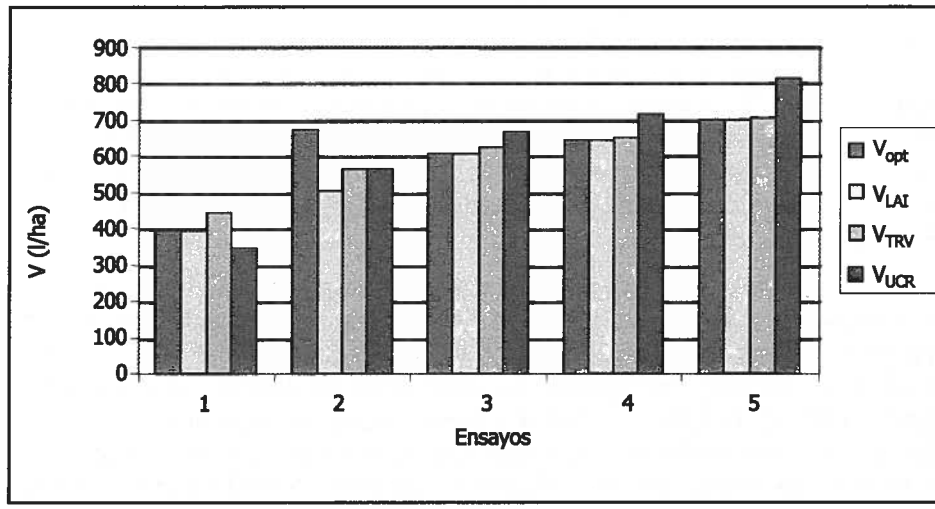
con una masa vegetal tridimensional cuyo volumen varía de forma importante a lo largo del ciclo, hace que no sea útil la práctica de distribuir un volumen por unidad de superficie. Un aspecto importante que supone la mejora en la aplicación de fitosanitarios en cultivos en línea, es el uso de técnicas de Pulverización Adaptada al Cultivo (Crop Adapted Sparying, CAS) (Felber, 1997). El objetivo es mantener constante la deposición de materia activa en la masa vegetal, independientemente de la altura o porte del cultivo. Se ha comprobado que se puede reducir un 50% el volumen de aplicación, mediante el manejo adaptado al estado vegetativo del cultivo (Furness *et al*, 1998).

La puesta en práctica de una pulverización adaptada al cultivo, requiere el conocimiento previo del volumen de la masa vegetal existente en una superficie determinada. Buyers *et al.* (1971) proponen el método de TRV (Tree Row Volume) consistente en determinar el volumen de aplicación, comparando el volumen de vegetación por unidad de superficie con el volumen de un cultivo definido como estándar. A pesar de que se considera que el volumen de vegetación por unidad de superficie, permite estimar con fiabilidad el índice de área foliar de la vegetación, el método del TRV no se ha generalizado, posiblemente debido a que es complicado y difícil de entender su aplicación práctica (Furness *et al.*, 1998). Otro inconveniente, es que el TRV no tiene en cuenta la densidad de la vegetación, que es un factor determinante para la deposición y eficacia del tratamiento (Cross *et al.*, 2001).

Un método simplificado fue propuesto por Furness *et al.* (1998), denominado Unit Canopy Row (UCR). Consiste en utilizar como base para la determinación del volumen de aplicación el volumen máximo retenido en un UCR. El UCR se define como una unidad de masa vegetal de 1 m de latura, 1 m de anchura y 100 m de longitud (1 UCR=100 m^3). Este método expresa el volumen de aplicación en l/100m de fila, es independiente del espacio entre filas y centra la pulverización en la fila de cultivo y no en la superficie entre ellas (Bjugstad y Stensvand, 2002).

Estos métodos, junto con el método del recubrimiento óptimo, basado en el índice de área foliar (Leaf Area Index, LAI) y el tamaño de la población de gotas, han sido analizados en un cultivo de pimiento en invernadero por Medina *et al.* (2004). Los resultados muestran que el LAI, es el parámetro más adecuado para estimar el volumen unitario de aplicación (Figura 7). Sin embargo, resulta un índice poco práctico, ya que su tanto su cálculo como su aplicación resulta complejo a nivel de campo. Por otra parte, tanto el UCR como el TRV, son parámetros más fáciles de medir en campo y más comprensibles por los agricultores. Además, permiten estimar el volumen de aplicación cometiendo unos errores respecto al volumen considerado óptimo de 13,1% para el caso del UCR y 8,5% para el TRV, que están dentro de unos límites que pueden considerarse tolerables.

Figura 7. Volumen de aplicación óptimo (Vopt) y volúmenes de aplicación estimados a partir del LAI (VLAI), del TRV (VTRV) y el UCR (VUCR)



RIESGOS DE EXPOSICIÓN

Los riesgos de exposición de los aplicadores, inherentes a la realización de cualquier tratamiento fitosanitario, se ven incrementados en los invernaderos por la frecuencia con la que se realizan los tratamientos y las condiciones ambientales existentes en el interior de los mismos. Por término medio se realizan entre 12 y 16 aplicaciones por ciclo de cultivo (Cabello, 1996), lo que supone tener que realizar una aplicación cada 10-15 días.

El riesgo de exposición aumenta si tenemos en cuenta el desconocimiento general de la peligrosidad y toxicidad de los productos empleados por parte del agricultor, así como el empleo reducido de las medidas de protección deseables para el desarrollo de estos trabajos. Si bien, hay que destacar que los intensos trabajos que se están realizando desde instituciones públicas y privadas están dando sus resultados como así lo refleja el estudio realizado dentro del proyecto The Safe Use Iniciative (ECPA, 2005), en el que se analizan diferentes aspectos relacionados con los riesgos para la salud derivados del empleo de fitosanitarios en invernaderos. En la Tabla 1 se recoge como ha evolucionado el uso de algunas de las medidas de protección individual, que deben emplearse para la realización de una aplicación fitosanitaria. Se observa, como el uso de los diferentes medios de protección ha aumentado con los años, pero todavía hay número importante de aplicadores que no los utilizan.

Tabla 1. Empleo de los medios de protección individual (%)

Año	1998(1)	2002(2)	2005(2)
Traje	22	42	62
Guantes	30	40	61
Botas	12	60	79

Fuentes: (1) Sánchez-Hermosilla *et al.*, 1999
(2) The Safe Use Iniciative (ECPA, 2005)

Desde el punto de vista de la exposición también es importante el equipo de aplicación empleado, así como una correcta utilización del mismo. En este sentido, Nyutten *et al.* (2004) realizan un estudio, centrado en el análisis de la exposición a la que se someten los operarios realizando aplicaciónes con diferentes equipos. Tomando como referencia la exposición obtenida para una pistola pulverizadora (100%), se observó como con la lanza desplazada en el sentido de la aplicación la exposición fue 2 veces superior. Sin embargo la misma lanza desplazada en el sentido contrario a la aplicación reducía, aproximadamente 3 veces, la cantidad de caldo recibida por el operario. Los menores riesgos de exposición se obtuvieron con la utilización de una barra pulverizadora manual desplazada entre las líneas de cultivo y con el empleo de un equipo autopropulsado. En estos casos la cantidad de caldo fitosanitario recibida por el operario se redujo en 25 y 70 veces para la barra vertical y el pulverizador autopropulsado respectivamente.

Estos resultados dejan de manifiesto la importancia de utilizar adecuadamente un equipo, así como la ventaja que supone el empleo de una barra pulverizadora vertical que se desplace entre las líneas de cultivo, a la hora de reducir los riesgos de exposición.

RECOMENDACIONES

A modo de resumen destacar, de todo lo comentado anteriormente, que para la optimización de los tratamientos fitosanitarios en invernadero hay que tener presente los siguientes aspectos:

- El empleo de barras pulverizadoras verticales originan:
  - Mayor deposición en la masa vegetal.
  - Mejor penetración en la masa vegetal.
  - Mayor uniformidad de las aplicaciones.
  - Menor volumen de aplicación.
  - Menor riesgo de exposición.

- Las boquillas de abanico garantizan mayor deposición en la masa vegetal y menores pérdidas en el suelo.
- La inclinación de las boquillas formando 45º respecto a la horizontal, origina una mejor penetración y uniformidad de las distribuciones.
- El empleo de presiones superiores a 10 bar, no mejora la deposición en la masa vegetal y por contra incrementan las pérdidas de fitosanitario por deposición en el suelo.

FITOROBOT. EQUIPO PULVERIZADOR AUTÓNOMO

Teniendo en cuenta los diferentes aspectos comentados anteriormente, es evidente la necesidad de aumentar el conocimiento sobre del funcionamiento y eficacia de las máquinas pulverizadoras en los invernaderos, con el fin de conseguir un uso más racional de los productos fitosanitarios y por tanto, una agricultura menos agresiva con el medio ambiente, ayudando así a la sostenibilidad del sistema.

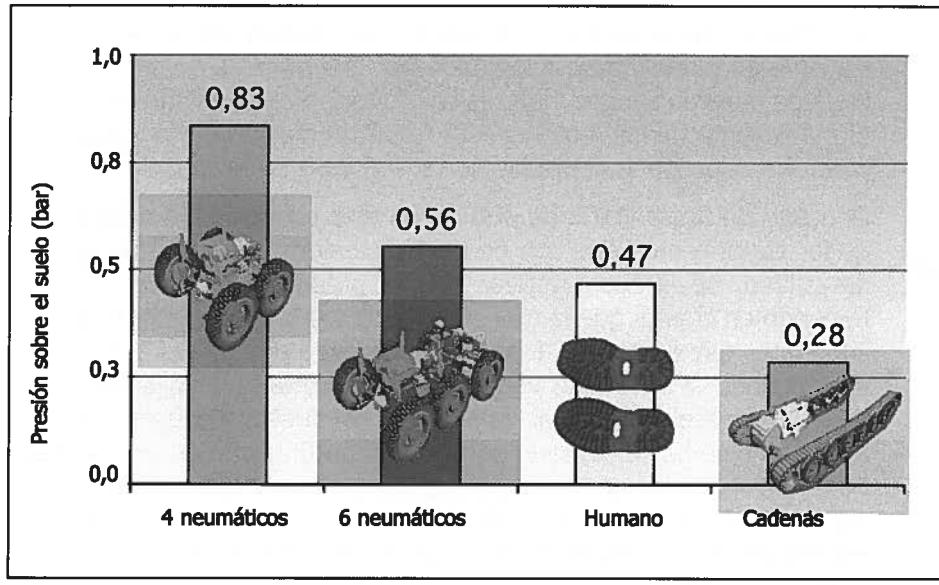
En este sentido, desde la Universidad de Almería y en concreto desde un equipo de investigación multidisciplinar formado por investigadores pertenecientes a los grupos de investigación *"Tecnologías de la producción agraria en zonas semiáridas"* y *"Automática, Electrónica y Robótica"*, se está trabajando en un proyecto de I+D cuyo objetivo se centra en el desarrollo y evaluación de un prototipo de pulverizador autónomo, denominado FITOROBOT. Se trata de un equipo dotado de una barra pulverizadora vertical y que se desplaza entre las líneas de cultivo, sin la presencia del operario en el interior del invernadero. Además dispone de un sistema de control que permite la regulación de variables operacionales (presión, velocidad de trabajo,...), con el objetivo realizar una aplicación constante a lo largo de toda la línea de cultivo (Sánchez-Hermosilla *et al.*, 2005).

Desde el punto de vista morfológico las características más destacables del FITOROBOT son las siguientes:

- Reducidas dimensiones y alta maniobrabilidad. Estas son dos características fundamentales si se tiene en cuenta que en el interior del invernadero existe un gran número de obstáculos (postes, líneas de vegetación,...), que definen zonas y pasillos estrechos para circular con equipos. El FITOROBOT tiene una anchura de 70 cm, una longitud de 170 cm y se apoya sobre un sistema de rodadura de orugas. Estas dimensiones y el empleo de orugas hacen que el equipo pueda maniobrar en espacios angostos, y en suelos muy suelos, como son los enarenados empleados mayoritariamente en los invernaderos del sudeste español.

- Sistema de transmisión flexible y fácilmente automatizable. De esta forma el equipo adapta la velocidad de trabajo para aplicar un volumen constante en toda la línea de cultivo. Además de poder automatizar el movimiento de la máquina. El equipo está dotado de un sistema de transmisión hidrostático, constituido por dos bombas de caudal variable, que mueven sendos motores colocados en cada una de las orugas. El movimiento de los motores está regulado mediante dos válvulas de control proporcional, activadas por el software de navegación.
- Depósito de fitosanitario de 400 l. Con esta capacidad la mayor parte de los tratamientos que son necesarios realizar a lo largo de un ciclo de cultivo, se pueden realizar con la preparación de una mezcla, teniendo en cuenta que la mayor parte de los invernaderos tienen una superficie aproximada de 1 ha, y que tan sólo al final del ciclo de cultivo, cuando el desarrollo vegetativo es importante (LAI superiores a 2-2,5), es necesario aplicar volúmenes unitarios superiores a los 700 l/ha, como se ha comentado anteriormente. El hecho de no tener que llenar en repetidas acasiones el depósito, supone aporta una serie de ventajas, como el ahorro de tiempo y la reducción de los riesgos de exposición que se producen durante la preparación de la mezcla fitosanitario y el llenado del depósito.
- Baja compactación del suelo. El movimiento mediante orugas, además de conferir una alta capacidad de maniobra, también tiene efectos beneficiosos desde el punto de vista agronómico, ya que compacta menos el suelo que cualquier otro sistema de rodadura. En la Figura 8 se representa la presión ejercida en el suelo por un vehículo de 750 kg (peso aproximado del FITOROBOT), dotado con diferentes sistemas de rodadura, y la ejercida por un humano de peso y talla media. Se observa como el sistema de orugas ejerce una presión aproximadamente 3 veces inferior a la de un vehículo de 4 ruedas, 2 veces inferior a la de un vehículo de 6 ruedas, y 1,7 veces inferior a la del humano desplazándose entre las líneas de cultivo.

Figura 8. Presión ejercida en el suelo por diferentes sistemas de rodadura para un vehículo de 750 kg, y por un humano de peso y talla media.

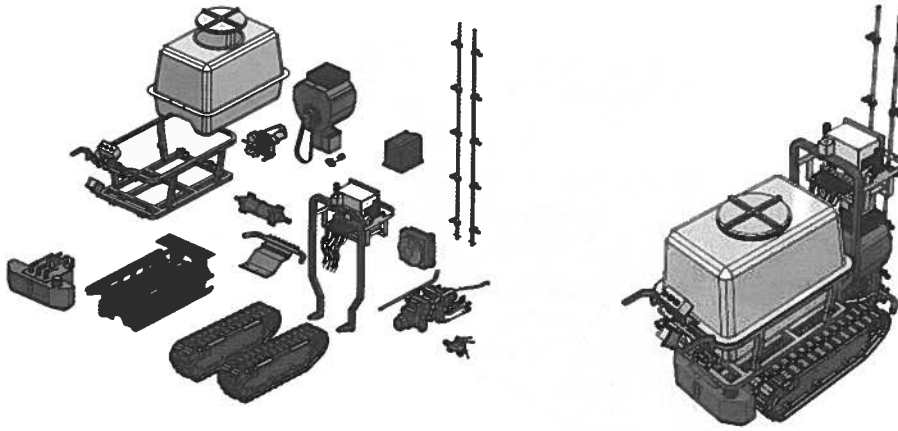


El diseño mecánico del vehículo se ha realizado mediante ingeniería CAD-CAE lo que ha permitido minimizar volúmenes y pesos (teniendo en cuenta los materiales de fabricación), y optimizar la disposición de los elementos en su interior (Figura 9).

El prototipo esta dotado de un sistema sensorial, compuesto por dos conjuntos de sensores. Uno encargado de controlar y regular la pulverización, y otro destinado a la navegación el equipo dentro del invernadero (González *et al.*, 2006).

El sistema encargo de regular la pulverización está compuesto por un sensor de presión y uno de caudal. En combinación con la velocidad del vehículo, medida con un radar y el control sobre una válvula reguladora de presión, el equipo mantiene constante el volumen de aplicación, previamente establecido, a lo largo de las líneas de cultivo, teniendo en cuanta la relación existente entre las distintas variables operacionales que intervienen en la pulverizaron (Guzmán, *et al*, 2004).

Figura 9. Diseño CAD-CAE del prototipo.

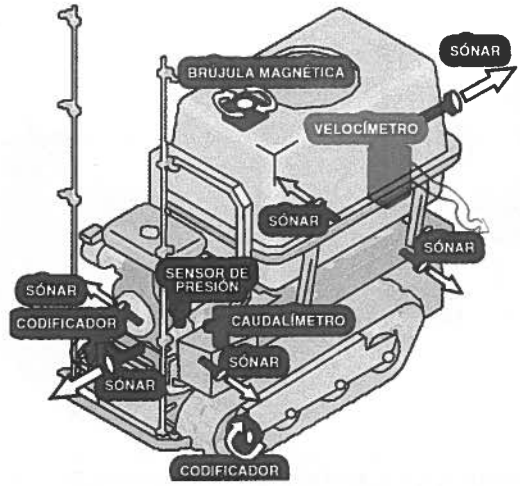


Por lo que respecta al sistema de navegación, es el encargado de detectar los pasillos dentro del invernadero y actuar sobre las electroválvulas del sistema de transmisión, para mover el equipo dentro del invernadero de forma autónoma. Este sistema está compuesto por los siguientes sensores (Figura 10):

- *Sónares:* están colocados en los laterales del equipo y en la parte frontal y trasera. La función de los sónares laterales es detectar la distancia a las líneas de cultivo y poder centrar la posición del equipo dentro de la línea de trabajo y detectar el final de las mismas. Por otra parte, los sónares frontal y trasero, tienen como misión detectar las paredes del invernadero.
- *Brújula magnética*: indica el rumbo que tienen el equipo dentro del invernadero y los cambios de dirección de debe realizar para cambiar de pasillo.
- *Codificadores*: colocados en cada una de las cadenas, con el objetivo de determinar su velocidad y posición.

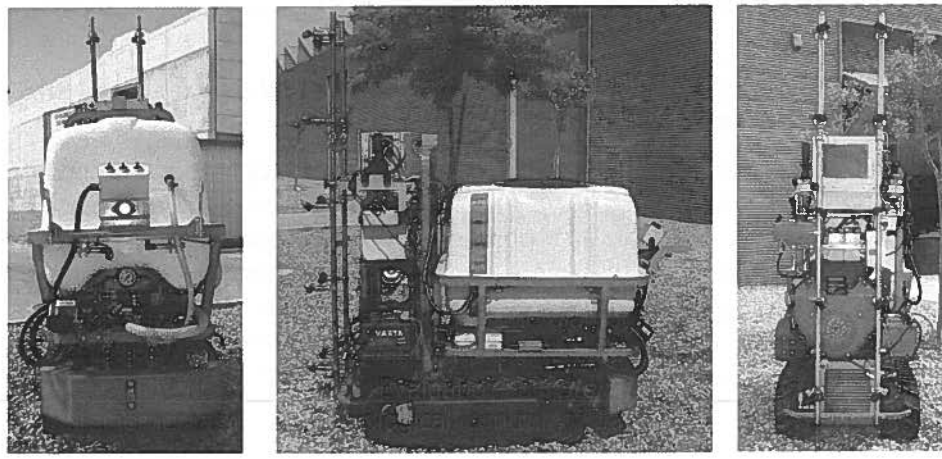
Como conclusión, destacar que el prototipo de pulverizador autónomo que se ha descrito y que actualmente está en fase de pruebas y regulación (Figura 11), se ha diseñado incorporando todos los elementos necesarios para poder realizar los tratamientos fitosanitarios en condiciones optimas, teniendo en cuenta los diferentes aspectos que se han comentado en los puntos anteriores (empleo de una barra pulverizadora vertical, boquillas de abanico, regulación de la presión, volumen de aplicación constante,...).

Figura 10. Localización de los sensores



Por otra parte, indicar que los ensayos preliminares realizados con el prototipo han dado unos resultados satisfactorios, disminuyendo de manera considerable la cantidad de caldo fitosanitario aplicado, las pérdidas en el suelo, así como el tiempo de ejecución de los tratamientos. Esto redunda en una reducción de los riesgos medioambientales y además, si se tiene en cuenta que no es necesaria la presencia del operario dentro del invernadero, también en una reducción de los riesgos para la salud.

Fig. 11. Equipo pulverizador autónomo. FITORROBOT



REFERENCIAS

BJUGSTAD, N. Y STENSVAND, A., 2002. Pesticide dosage in three-dimensional crops in Norway. Aspects of Applied Biology, Pesticide Application (66):345-352.

BUYERS, R. E.; HICKEY, K. D.; HILL, C. H., 1971. Base gallonage per acre. Virginia Fruit, 60: 19-23.

CABELLO T. 1996. Utilización de pesticidas en cultivos en invernaderos del sur de España y análisis de los riesgos toxicológicos y medio ambientales. Phytoma España 75: 11-19.

CROSS, J. V., WALKJATE, P. J., MURRAY, R A, Y RICHARDSON, G. M., 2001. Spray deposits and losses in different sized apple trees from an axial fan orchard sprayer: 1. Effects of spray liquid flow rate. Crop Protection 20: 13-30.

ECPA, 2005. The Safe Use Iciciative.

FELBER, H., 1997. Pulverización adaptada al cultivo (Crop Adapted Spraying) 1: Adaptación del volumen decaído y la dosis a los parámetros de cultivo". Phytoma España, 92: 14-20

FIAPA, 2004, Estudio multitemporal sobre la evolución de la superficie invernada en la provincia de Almería por términos municipales desde 1984 hasta 2004.

FUMESS, P. A, MAGAREY, P. A, MILLER, P. H., Y DREW, H. J., 1998. Fruit tree and vine sprayer calibration based on canopy size and length of row: unit canopy row method. Crop Protection 18(8):639-644.

GARZÓN, E.; LOPEZ, L.; SANCHEZ-HERMOSILLA, J.; BARRANCO, P.; AGÜERA, I.; CABELLO, T., 2000. Eficacia técnica de la aplicación de fitosanitarios con cañón atomizador. Vida Rural 112: 44-48.

GONZÁLEZ, R., SÁNCHEZ-HERMOSILLA, J., DONAIRE, J., 2006. Algoritmo de navegación reactiva de robots móviles para tareas bajo invernadero. XXVII Jornadas de Automática.

GUZMÁN, J.L.; MEDINA, R.; SÁNCHEZ-HERMOSILLA, J.; RODRÍGUEZ, F.; BERENGUEL, M., 2004. "Pressure control of a mobile spraying system". Spanish Journal of Agricultural Research; 2(2); pp. 181-. 190.

INSTITUTO CAJAMAR, 2003. Análisis de la campaña hortofrutícola en Almería. Campaña 2002/2003.

LEE, A.W., MILLAR, P.C.H., POWER, J.D., 2000. The application of pesticide sprays to tomato crops. Aspects of Applied Biology (57): 383-389

MAPA, 2004. Anuario de estadística agroalimentaria.

MEDINA, R.; SÁNCHEZ-HERMOSILLA, J.; AGÜERA, F.; GÁZQUEZ, J.C., 2004. Adapted application of pesticides to the growth of a greenhouse tomato crop. Proceedings of International Conference in Agricultural Engineering

MEJÍAS, V., 2004. Racionalización de las aplicaciones de productos fitosanitarioas en cultivo de pimiento. Proyecto Fin de Carrera. Escuela Politécnica Superior. Universidad de Almería.

NUYTTENS, D., WINDEY, S., SONCK, B. 2004. Optimisation of a Vertical Spray Boom for Greenhouse Spray Applications. Biosystems Engineering 89 (4), 417–423

PLANAS, S., FILLAT, A., ESCOLÁ, A. 2001. Avances en la aplicación de fitosanitarios en cultivos protegidos. AG01 0326. I Congreso de Agroingeniería. Valencia.

SÁNCHEZ-HERMOSILLA, J.; MEDINA, R.; GÁZQUEZ; J.C., 2003. Improvements in pesticide application in greenhouses. Workshop on Spray Application Techniques in Fruit Growing.

SÁNCHEZ-HERMOSILLA, J.; PÉREZ, R.; GARZÓN, E., 1999. Seguridad en la aplicación de productos fitosanitarios. Agricultura. Revista agropecuaria. 996-1000

SÁNCHEZ-HERMOSILLA, J.; RODRÍGUEZ, F.; BERENGUEL, M. MORALES, D.P.; GUZMÁN, J.L., 2005. "Mobile robot for spraying in greenhouses." Proceedings of the 8th Workshop on Spray Application Techniques in Fruit Growing, Barcelona (España).

VAN OS, E.A., MICHIELSEN, J.M.G.P., CORVER, F.J.M., VAN DEN BERG, J.V., BRUINS, M.A., PORSKAMP, H.A.J. AND VAN DE ZANDE, J.C. 2005. Reduction of spray pressure leads to less emission and better deposition of spray liquid at high-volume spraying in greenhouse tomato. Acta Hort. (ISHS) 691:187-194.

UN AUTÓMATA PARA EL CONTROL DE MALAS HIERBAS EN CULTIVOS EXTENSIVOS (MAÍZ): SAAPIN

A. Cirujeda, D. Abadía*, J. Peña, R. del Hoyo*, J. Paniagua*, T. Seco*, J. Aibar, C. Zaragoza
Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón
**Instituto Tecnológico de Aragón.*

RESUMEN

En el Proyecto SAAPIN (Sistema Autónomo para Agricultura de Precisión e Integrada) se trabaja para obtener un vehículo agrícola capaz de desplazarse de forma autónoma por un campo de maíz, obteniendo información del entorno, basada en sistemas de posicionamiento y de georeferencia, sistemas de visión y odometría. Este vehículo deberá arrastrar un segundo conjunto de aperos que, dotados de otra serie de sensores, realizarán la función de reconocimiento del cultivo y de las malas hierbas y que procederá al desherbado mecánico de las plantas no deseadas.

Para realizar este trabajo se ha procedido a una primera fase de simulación, en la que se han evaluado diferentes estrategias de navegación. Una vez escogidos los sensores necesarios, se han acoplado al tractor y se han realizado las adaptaciones necesarias en él. En cuanto al conjunto de aperos de escarda, se está trabajando en optimizar un sistema de reconocimiento del cultivo y de las malas hierbas basado en un sistema de visión y procesado de imágenes mediante diversos descriptores morfológicos. El apero escardador estará formado por cepillos rotatorios de eje vertical que eliminarán malas hierbas cercanas a las plantas de maíz de forma selectiva.

Este trabajo está enmarcado dentro de una línea de agricultura de precisión y ecológica, pues se persigue la utilización óptima de los recursos, así como una reducción del impacto ambiental de las prácticas de escarda.

PALABRAS CLAVE: robótica agrícola, escarda, desherbado.

INTRODUCCIÓN

Una de las tareas más penosas, onerosas y perennes del agricultor es la eliminación de las malas hierbas en las parcelas agrícolas. Por ello este proyecto pretende obtener un sistema de desherbado de precisión a base de medios mecánicos no contaminantes y que, mediante la robótica, reduzca la necesidad de la mano de obra, cada vez más costosa y escasa (Melander *et al.*, 2005). El interés por los métodos de escarda de precisión se debe no sólo a la búsqueda de mayores rendimientos, sino también a una demanda social. La sociedad actual, muy sensibilizada con la protección del medio ambiente, demanda una reducción progresiva del uso de fitosanitarios, en particular de aquellos que causan un mayor impacto ambiental y cuya presencia de residuos en los alimentos o en el agua potable sea más probable.

Al mismo tiempo, la robótica ha dado soluciones que han aumentado la productividad en el sector industrial durante las últimas décadas, pero la agricultura no ha sufrido todavía un proceso de expansión equiparable. Para poder integrar esta tecnología en los campos de cultivo hace falta poder obtener gran cantidad de información del entorno y ser capaz de tratarla. Actualmente existen sensores que permiten conocer posiciones absolutas (GPS), posiciones relativas (balizas y tags), orientaciones, aceleraciones, velocidades propias y del entorno, inclinaciones e, incluso, reconocer tipos de elementos (visión).

La utilización de un vehículo autónomo para el desarrollo de la agricultura de precisión permite liberar al agricultor de tareas penosas y repetitivas. El trabajo aquí desarrollado puede ser extendido fácilmente a otras actividades agrícolas tales como abonado o siembra. El control que aporta la automatización será beneficioso para el medio ambiente y para el propio cultivo.

Ejemplos de robótica agrícola en protección vegetal

A continuación se exponen algunos ejemplos que son de utilidad para dar una visión general de los antecedentes en robótica agrícola.

Nos encontramos con el robot ROJO (Figura 1), en el que trabajan el Instituto de Automática Industrial (IAI) del CSIC junto con la Universidad de Málaga, en el que se plantea un aparato capaz de navegar por GPS en un entorno de exteriores parcialmente conocido y de aplicar productos fitosanitarios (García-Pérez *et al.*, 2000).

Figura 1: Robot ROJO

Otro ejemplo es el proyecto de investigación financiado por la NASA, el USDA Agricultural Research Service y la compañía John Deere (Figura 2), en el cual se trabaja en la adaptación de un tractor para su navegación autónoma entre hileras de árboles frutales y se procede a la aplicación de productos fitosanitarios. El tractor pretende incorporar en la fase última del proyecto sensores de odometría, navegación basada en GPS, sistemas de visión para soporte a la navegación y a la detección de obstáculos (Stenz *et al.*, 2002).

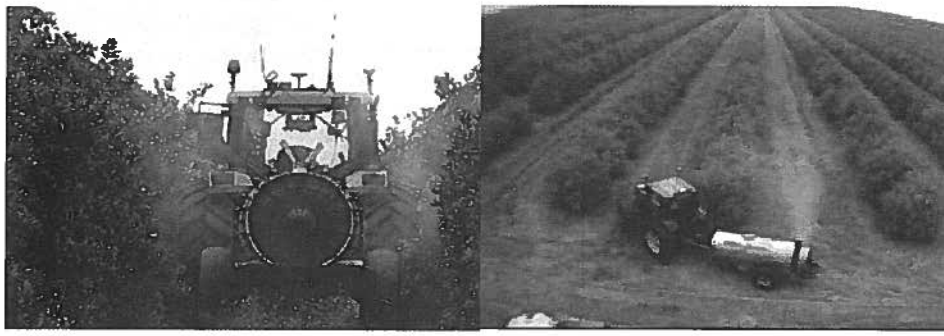


Figura 2: Tractor robotizado del proyecto de John Deere.

Otro proyecto interesante es el MECH-WEED Project, financiado por el Swedish Board of Agriculture y por Stiftelsen Lantbruksforskning, que se enmarca en la línea de visión artificial y reconocimiento de hileras. Utiliza un vehículo autónomo que recorre campos de hileras de cultivo distinguiendo las plantas cultivadas de las malas hierbas mediante cámaras con técnicas de clasificación por reconocimiento de patrones (Figura 3) (Åstrand y Boerveldt, 2002).

Figura 3: Robot MECH-WEED circulando en campo.

Finalmente, cabe citar el proyecto CROPSCOUT donde se está trabajando en un robot autónomo capaz de hacer un seguimiento a través hileras de cultivos empleando para ello sistemas de visión, de ultrasonidos, infrarrojos y giróscopos. Este proyecto está siendo desarrollado a nivel de prototipo por el grupo holandés de Agrotechnology & Food Innovations de Wageningen (Figura 4) (Henten *et al.*, 2005).

En robótica, uno de los métodos más ampliamente usados para estimar la posición de un robot es la odometría. Se trata de una técnica de posicionamiento que emplea información de sensores para obtener una aproximación de la posición real de un sistema móvil respecto una posición inicial en cada instante. Sin embargo, la idea fundamental de la odometría es la integración de información del movimiento a lo largo del tiempo, lo cual conlleva una inevitable acumulación de errores. En concreto, la acumulación de errores de orientación causa grandes errores en la estimación de la posición, los cuales van aumentando con la distancia recorrida por el robot. Por ello, sólo se cuenta con ella en aquellos casos en los que no se disponga de un sensor de mayor fiabilidad (Borenstein *et al.*, 1996).

Figura 4: Robot CROPSCOUT.

Otros dos ejemplos son el prototipo diseñado por Lee *et al.* (1999) similar al que se pretende desarrollar en el presente Proyecto, pero que trabaja en el cultivo de tomate y que usa herbicidas para el control de malas hierbas, y el de Gerhards y Oebel (2006) que han desarrollado un sistema de tratamiento herbicida localizado con pulverizadores convencionales distinguiendo diferentes grupos de malas hierbas del cereal de invierno.

Técnicas de reconocimiento basadas en visión automática

Las técnicas de reconocimiento se pueden basar en características espectrales, morfológicas y de textura de las plantas.

En el primer grupo entran las técnicas que distinguen entre plantas y suelo. Éstas son usadas para realizar aplicaciones de productos fitosanitarios únicamente cuando hay presencia de plantas, sin diferencias de qué tipo de planta se trata, evitando aplicaciones innecesarias sobre el suelo.

Diferentes parámetros morfológicos son empleados para distinguir entre plantas de diferentes especies. Gerhards y Oebel (2006) emplearon los parámetros de área foliar, compacidad, diámetros de Ferret y descriptores de Fourier sobre el contorno transformado. Lee *et al.* (1999) emplearon área foliar, compacidad, elongación, logaritmo del ratio de altura y anchura, ratio de longitud / perímetro y el ratio de perímetro / anchura.

En cuanto a las técnicas basadas en diferencias en textura, se encuentran menos referencias en la literatura, aunque Tsheko y Favier (1998) las emplearon y encontraron aciertos superiores al 70%.

Existen ambos enfoques en cuanto al objeto a identificar: se puede aspirar a identificar las plantas de cultivo o a distinguir tanto el cultivo como las malas hierbas en grupos. A título de ejemplo, Sogaard y Norremark (2004) basaron su trabajo en distinguir las plantas de remolacha azucarera; Gerhards y Oebel (2006), en cambio, trabajaron distinguiendo cultivo y malas hierbas específicas: remolacha azucarera y trigo, malas hierbas gramíneas, *Galium aparine, Matricaria chamomilla* y otras malas hierbas dicotiledóneas, en general. Como ejemplo de otro enfoque distinto cabe citar el trabajo de Philipp *et al.* (2004), que distinguieron dicotiledóneas de monocotiledóneas basándose en otra serie de índices, obteniendo un mayor acierto con el primer grupo de malas hierbas (99%) frente al 75% de aciertos con monocotiledóneas.

OBJETIVOS

Enmarcado dentro de la agricultura ecológica y de precisión surge el proyecto SAAPIN (Sistema Autónomo para Agricultura de Precisión e Integrada), cuyo objetivo es la obtención de un vehículo agrícola capaz de desplazarse autónomamente por parcelas agrícolas pudiendo realizar actividades de desherbado sin necesidad de intervención humana. El proyecto SAAPIN es financiado mediante el programa de Proyectos Multidisciplinares del Gobierno de Aragón desde 2004. Se ha desarrollado inicialmente un sistema para la medida de la salinidad en el suelo y su cartografía, del que no se va a tratar en este trabajo

Dentro de este proyecto se pretende que el vehículo y aperos asociados lleven a cabo las siguientes operaciones o procesos, empleando las metodologías y tecnologías más sencillas posibles:

1. Que el robot se desplace por el campo de maíz de forma autónoma reconociendo las filas del cultivo.
2. Que el sistema discrimine las plantas de maíz de las arvenses dentro de la fila de cultivo usando técnicas de proceso de imágenes. Este proceso se llevará a cabo en estados de desarrollo del maíz entre 3 y 4 hojas (< 25 cm).
3. Que el apero asociado realice un desherbado selectivo dentro de la fila de cultivo. La escarda entre filas es más sencilla y se puede realizar con un cultivador.

Así pues, se pretende proponer un sistema de escarda, que pueda servir tanto a los agricultores ecológicos como a aquellos convencionales que deseen diversificar sus procedimientos de manejo por cualquier razón (producción integrada, aparición de resistencias, problemas de contaminación, zonas vulnerables, etc.).

Se ha escogido el cultivo de maíz por su importancia para el campo aragonés. Además, este cultivo tiene cierto futuro como fuente agroenergética para la producción de bioalcohol y su escarda química está teniendo dificultades con la sustitución de la atrazina, la aparición de resistencias y la contaminación de acuíferos.

Materiales y métodos

La metodología que se ha utilizado a lo largo del proyecto descompone el proceso en varias fases, centrándose las primeras en análisis de requerimientos y especificaciones del sistema, para pasar a una posterior fase de diseño y desarrollo, teniendo en cuenta los resultados obtenidos en las pruebas realizadas en campo.

Para realizar estas operaciones se ha procedido primero a la selección de una plataforma capaz de desplazarse por entornos agrícolas, para proceder a su adaptación mediante los sensores, elementos y actuadores necesarios. Una vez obtenida esta plataforma las funcionalidades del sistema serán llevadas a cabo mediante la incorporación del apero.

La concepción del sistema autónomo se ha basado en la adaptación de un vehículo comercial de bajo coste que permita arrastrar un apero que incorpore los procesos de reconocimiento de las malas hierbas y las operaciones de escarda.

Para poder proceder a la selección del vehículo se tuvieron en cuenta los siguientes criterios:

- Transmisión automática asistida (de cara a facilitar un control autónomo).
- Dirección asistida hidráulica (idem).
- Potencia mínima necesaria para remolcar un apero (> 10 CV).
- Anchura máxima del vehículo en torno a 1 m, debido a que el ancho entre hileras de maíz está en torno a unos 75 – 80 cm. Teniendo una anchura del vehículo de 1 m, el vehículo podrá navegar por entre las hileras con una rueda de cada eje a cada lado de la hilera, dejando la hilera a desherbar justo debajo de la parte central.
- Altura mínima sobre el suelo > 25 cm, ya que es la altura máxima que presentarán las plantas de maíz cuando se acometan las últimas operaciones de escarda.
- Posibilidad de enganche de aperos.
- Posibilidad de circular inicialmente a velocidades en torno a 2 km/h, para poder realizar operaciones de escarda. El vehículo deberá circular lentamente reconociendo las plantas de maíz y procediendo a la eliminación de las malas hierbas.
- Posibilidad de frenado / arranque automático.
- Posibilidad espacial para la incorporación de sensores.

Teniendo en cuenta los requerimientos planteados se determinó que por el tamaño podían elegirse como plataformas un mini tractor / tractor cortacésped o un quad. Se eligió un tractor cortacésped por la facilidad de enganchar aperos, por la estabilidad de la plataforma y por el menor coste. Teniendo en cuenta las dimensiones del vehículo y la potencia necesaria para remolcar un apero, se seleccionaron diferentes modelos de tractores cortacésped (Troy-Bilt, Honda, Sabo, Solo, Stihl, Yard-Man y John Deere), eligiéndose finalmente como plataforma el tractor John Deere modelo LX289.

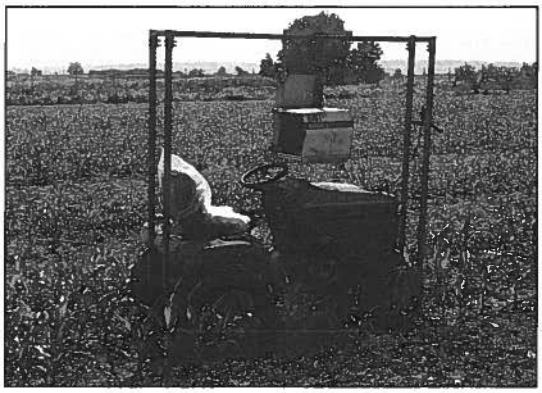


Figura 5: Minitractor cortacésped modelo John Deere LX 289 escogido para el Proyecto. Foto realizada durante pruebas de campo en cultivo de maíz en las instalaciones del CITA, en Montañana, Zaragoza.

Adaptación del vehículo

Para que dicho vehículo pueda desplazarse autónomamente se tuvieron que realizar diferentes adaptaciones mecánicas y fue necesario dotarle de los sistemas de control avanzados necesarios para recorrer extensiones autónomamente (odometría).

La primera adaptación fue relativa a la dirección del vehículo con el fin de poder ser operada sin intervención humana. Para ello se escogió un motor que permitiera llevar la dirección de la posición central a cada uno de los extremos en tiempos en torno al segundo para poder realizar las maniobras con un tiempo de respuesta breve. El conjunto seleccionado de motor, junto a un reductor planetario, fue el ofrecido por Maxon.

La segunda actuación fue sobre la transmisión hidrostática encargada de fijar la velocidad a la que se desplaza el vehículo para automatizar la tracción del robot para que circulara a velocidad constante, pero con posibilidad de realizar marcha atrás y de frenado. Para ello se escogió un motor lineal de la empresa Vascat.

Acoplamiento de sensores

Tras realizar unas primeras pruebas en campo se decidió tapar todo el sistema de visión con una estructura cerrada para evitar sombras que dificultan el reconocimiento de las plantas de maíz y de frenar el viento que al mover las plantas dificulta la realización de las tareas. Esta decisión obliga a su vez a diseñar la iluminación interior mediante la concatenación de leds de luz blanca, elegidas por su bajo consumo energético y por su baja emisión de calor. Debido a la presencia de otros mecanismos que desprenden calor también fue necesario diseñar un sistema de ventilación de la estructura.

Para evitar posibles accidentes se prevé instalar un inclinómetro antivuelco, así como un sensor de ultrasonidos que evitará el choque del robot con obstáculos inesperados (aspersores, árboles, arquetas de riego).

También fueron necesarias otras actuaciones sobre el minitractor para poder incorporar los sistemas de visión, los sistemas de odometría (responsables de registrar el desplazamiento angular de las ruedas), el sistema de alimentación compuesto por baterías, dos plataformas de control, el armario eléctrico conteniendo los cuadros aislados de polvo y el alternador.

En la parte inferior del tractor se prevé colocar unas rejas o vertederas para despejar la zona de escarda de piedras o posibles terrones.

En cuanto al uso de sensores, éstos deben permitir obtener la información sobre la posición y velocidad del vehículo, así como del entorno suficientemente buena como para llevar a cabo la navegación siguiendo las hile-

ras de los cultivos de maíz, detectando los lindes del campo e incluso detectando obstáculos por delante del vehículo. Otros sensores deberán aportar información sobre las plantas para posibilitar el reconocimiento de las plantas de maíz.

Para posibilitar la navegación dentro del campo se empleará una cámara fotográfica industrial de altas prestaciones con la finalidad de reconocer las hileras. En las cabeceras del campo la navegación se realizará en base a odometría, GPS y brújula. Los sensores necesarios para ello deberán proveer información sobre el desplazamiento angular de las ruedas, pudiendo obtener de esta forma el desplazamiento lineal experimentado. Se seleccionaron sensores inductivos que detectan los pulsos generados por discos dentados acoplados en las ruedas del tractor y también se incorporó un lector GPS, que provee información sobre la posición georeferenciada a nivel global.

Por el otro lado, se necesita un sistema de visión para el reconocimiento de las plantas de maíz y las malas hierbas. Actualmente se están estudiando diversas posibilidades.

Entorno de simulación

Previo a la adaptación del minitractor en campo se ha desarrollado un entorno de simulación para evaluar diversas estrategias de navegación, gestionar el movimiento de un vehículo agrícola a través de campos de cultivo, para analizar las prestaciones del sistema y para determinar cuáles son los sensores más apropiados para todos y cada uno de los procesos.

Para ello se ha modelizado adecuadamente la plataforma tractora, los sensores, el apero (dimensiones aproximadas) y el entorno de trabajo. Con estas premisas se ha procedido a diseñar estrategias de navegación para que se puedan realizar las operaciones de escarda.

El simulador ha tenido en cuenta la definición del campo de cultivo (dimensiones y separación de filas de cultivo). Gracias al simulador se han podido realizar las siguientes aproximaciones:

- Elección de los sensores: se ha llevado a cabo una emulación básica de los mismos, aportando información sobre cómo afectan a cada una de las estrategias utilizadas.
- Se ha elaborado un planificador de trayectorias.
- Se ha desarrollado un sistema de navegación capaz de seguir las trayectorias que debe ser comprobado en campo una vez se hayan llevado a cabo todas las adaptaciones en el robot.

- En el simulador se dispone de un entorno gráfico de visualización y de configuración de la simulación realizada.
- Existe la posibilidad de guardar resultados y reutilizarlos posteriormente.

Muestreos en campo

Con el objetivo de evaluar la posibilidad de realizar un reconocimiento de las plantas de maíz basada en distancias entre plantas de maíz, se han realizado mediciones de las mismas durante la primavera de 2006 en 8 campos de maíz comerciales en distintas zonas de Aragón (Ejea de los Caballeros, Montañana, Almudévar y Lascasas). Se escogieron campos que fueron sembrados con distintos tipos de sembradoras, para comprobar la precisión real de las mismas. Para ello se marcaron diez tramos lineales de un metro de longitud en cada campo y se midió la distancia tanto entre las diferentes plantas como la desviación de cada planta con la línea marcada.

Durante esta fase se detectaron también posibles problemas que pudieran surgir en la circulación del prototipo en el campo y en el desherbado mecánico previsto.

Elección del sistema de escarda

A diferencia de trabajos realizados por otros equipos como, por ejemplo, del grupo alemán (Gerhards y Oebel, 2006), en los que el método de escarda se basa en el uso localizado de herbicidas, en el presente trabajo se pretende realizar un desherbado mecánico, para poder utilizarse como alternativas a los herbicidas y en agricultura ecológica.

El apero deberá ser capaz de eliminar las malas hierbas que crezcan entre las plantas de maíz, por lo que deberá estar sujeto a un soporte que lo acerque o separe de la fila cuando se detecte una mala hierba a eliminar. Se deberá considerar el desfase de tiempo entre el reconocimiento de las plantas y la actuación que dependerá tanto del tiempo de procesado de las imágenes como de la velocidad del apero.

De entre los aperos más frecuentemente utilizados en control físico (van der Schans y Bleeker, 2006) y discutidos por Norremark y Griepentrog (2004) se escogió un cepillo de eje vertical, ya que presenta las siguientes ventajas:

- Su velocidad de rotación es independiente de la velocidad de avance del robot.
- Es un apero que consigue una elevada eficacia sobre la mayoría de malas hierbas.

- La mayor eficacia se consigue en tamaños de las malas hierbas entre el estado de plántula y de 4 hojas, y esto se corresponde con el momento de tratamiento en el que se quiere realizar (altura del maíz menor a 25 cm).
- Se trata de un mecanismo sencillo y de un tamaño adaptable al mini-tractor.
- En caso de desgaste de las varillas es sencillo conseguir repuestos.
- Frente al uso de rejas o discos metálicos de cultivador se trata de un método más dirigido y menos agresivo para el suelo y se espera una mayor selectividad respecto a las plantas de maíz.
- Frente a la piroescarda presenta la ventaja de una mayor sencillez de manejo, mayor espectro de control de las malas hierbas y mayor posibilidad de dirigir el desherbado. Otra ventaja es un probable menor consumo de combustible fósil.
- Frente al uso de herbicidas presenta la ventaja de poder ser empleado en condiciones de viento. También posibilita el desherbado en zonas próximas a cursos de agua, susceptibles a contaminaciones.

Una dificultad que se consideran para el montaje es la necesidad de trabajar con un cepillo de reducido diámetro con el fin de poder introducirlo entre plantas de maíz sin dañarlas. Otra dificultad es el ajuste de la presión necesaria del cepillo sobre el suelo para tener suficiente eficacia sin alterarlo demasiado. Por supuesto, la eficacia de este apero no es completa, aunque se pretende maximizarla.

Resultados y discusión

Se ha seleccionado la plataforma tractora realizando las adaptaciones necesarias para su navegación autónoma.

Gracias a la simulación se ha desarrollado el modelo de vehículo, el conjunto de sensores necesarios, así como los entornos agrícolas de acuerdo a los objetivos integrando información sensorial proveniente del propio campo.

Relativo al sistema de navegación se ha obtenido una versión simulada donde se integra la información proveniente de los sensores seleccionados (sistema de visión, GPS, desplazamientos relativos angulares de las ruedas), se planifican trayectorias y se procede a seguir las hileras de maíz comandando el movimiento de la plataforma tractora. Se han analizado diferentes algoritmos para recorrer la superficie de cultivo autónomamente, analizando aspectos tales como la robustez y la tolerancia ante fallos de integración sensorial.

Por otro lado, se han desarrollado y analizado dos estrategias diferentes de navegación, llegando a la conclusión de que para la navegación entre hileras es mejor un sistema abierto en el que se planifiquen las trayectorias en cada momento, siendo necesarios, como mínimo, un localizador local o global para obtener la posición, una brújula que permita orientarse y una cámara para mejorar las precisiones durante el guiado entre hileras y corregir los posibles errores del campo, tales como hileras desviadas o mal situadas.

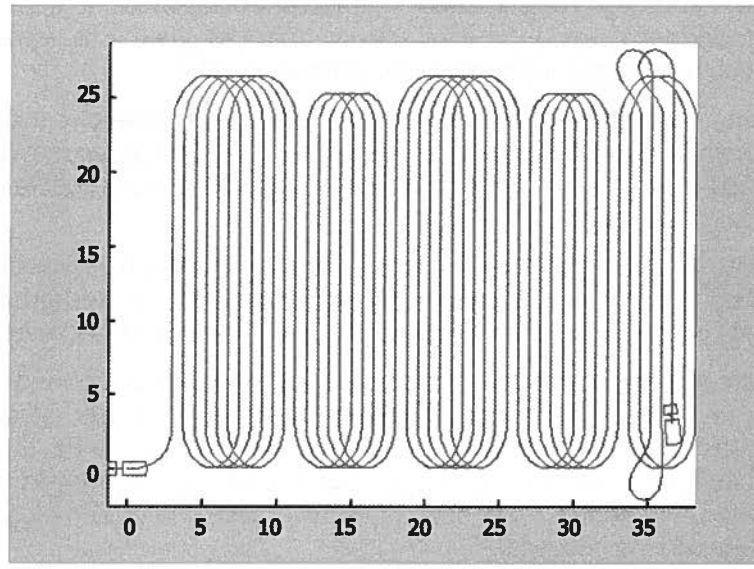


Figura 6: Trayectorias generadas por el entorno de simulación.

En el trabajo de campo se ha comprobado como las distancias entre filas comerciales de maíz se mantienen en general muy constantes mientras que la distancia entre plantas es muy irregular, especialmente en suelos pedregosos. Por ello, se considera imprescindible basar el reconocimiento de las plantas de maíz en parámetros morfológicos de las mismas y no se considera posible basarlo en parámetros geométricos de siembra del maíz.

Para realizar el reconocimiento de las plantas de maíz se cuenta con una primera versión basada en un sistema de visión. Para ello se renunció a usar cámaras que funcionan en espectros concretos como las empleadas por Gerhards y Oebel (2006) y, como ya se ha comentado, se empleó una cámara fotográfica industrial sin especiales complicaciones para abaratar el sistema. El reconocimiento se basó en reglas de identificación de patrones de maíz para discriminar las malas hierbas. En una primera fase se procedió a

clasificar la fracción de la imagen que corresponde a plantas de acuerdo al color de cada píxel.

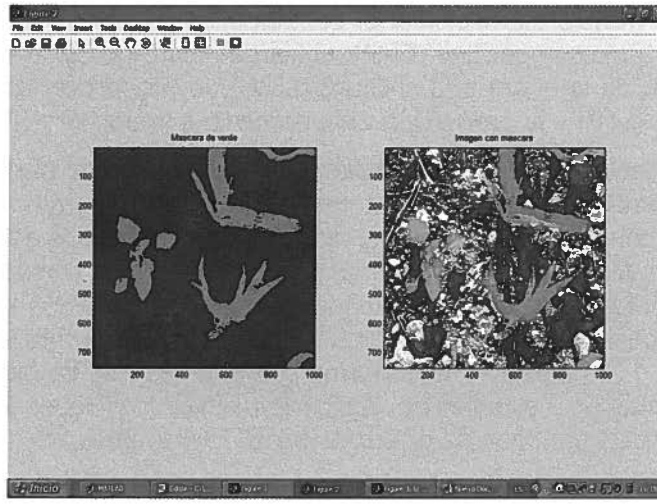


Figura 7: Imagen filtrada con la fracción verde seleccionada (izquierda) y superpuesta a la foto original (derecha).

Los píxeles de color verde se agruparon como objetos y se procedió a un filtrado de la imagen en base al tamaño para descartar los menos significativos.

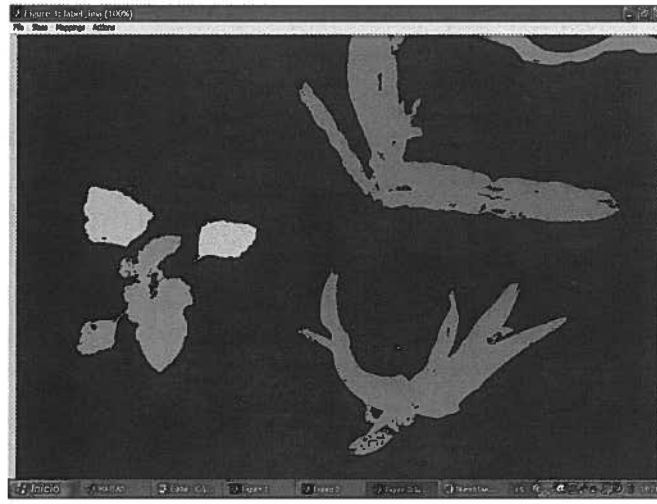


Figura 8: Imagen en la que el programa ha agrupado los distintos objetos de color verde.

Finalmente, cada uno de estos objetos fueron clasificados por medidas basadas en 47 descriptores morfológicos. De entre ellos se seleccionaron los siguientes, por aportar información más fiable:

Área, eje mayor, eje secundario, centroide, el área en proporción de la longitud (ATL), la compacidad (CMP), el alargamiento (ELG), el logaritmo de la proporción de la altura a la anchura (LHW), la proporción de la longitud al perímetro (LTP) y la proporción del perímetro a la anchura (PTB).

Una vez determinados, se procedió al reconocimiento de plantas de maíz de otras usando diferentes algoritmos. Se eligió el algoritmo basado en redes neuronales por ser el más preciso. Mediante el uso de estos parámetros se aspira a alcanzar un porcentaje de acierto elevado, comparable al 61-82% conseguido por Tian (1995) (citado por Lee *et al.*, 1999) usando también cuatro parámetros. Otros autores basan el reconocimiento en una comparación de 4 a 5 parámetros de forma con una base de datos de referencia y 25 plantas en 3 estadios de desarrollo (Gerhards y Oebel, 2006). Estos autores lograron una tasa de acierto entre el 73 y el 86%.

Problemas que se han detectado

Respecto al guiado del robot se han detectado situaciones en campo que pueden limitar el correcto movimiento del robot.

Éstas son las siguientes:

- En los finales de parcelas se observaron curvas y solapamientos de líneas de siembra que dificultan la orientación del robot mediante el sistema de visión, por lo que será necesario utilizar otro tipo de sensores de posición y orientación para el guiado en estas zonas.
- La presencia de obstáculos como aspersores fijos en la parcela, puede causar la falta de espacio para el movimiento del mismo.
- En algunos casos, la presencia de arquetas de riego podía impedir el paso del robot.
- Mediante el sistema de guiado por reconocimiento de la fila se hace imposible plantear el uso de este robot en campos regados con pivots. Para ello será necesario diseñar otro sistema diferente de guiado.

Respecto a la capacidad de distinguir las plantas de cultivo de las malas hierbas se ha decidido acoplar una cámara lateral para complementar la decisión. Las imágenes obtenidas verticalmente arrojan, con frecuencia, solapamientos de plantas de maíz y de malas hierbas que dificultan el reconocimiento del cultivo, como lo encontraron también Gerhards y Oebel (2006) para estados de desarrollo avanzados en cultivo de cereal de invierno.

Figura 9: Ejemplo de solapamiento producido entre la planta de cultivo y de maíz que dificulta el reconocimiento de las plantas.

Otra dificultad que se ha encontrado es que a la hora de agrupar los píxeles verdes en objetos, a menudo quedan separadas partes de una misma planta al aparentar una conexión muy delgada con el resto de la planta y que es descartada como 'verde' en el proceso de filtrado (Figura 8). Es necesaria una buena calibración del filtrado de imágenes en base a fotos tomadas con iluminación artificial, sin sombras, para ajustar bien la toma de imágenes que faciliten el reconocimiento de las plantas.

También se ha constatado la dificultad de encontrar parámetros morfológicos para distinguir una planta extremadamente parecida al maíz del cultivo como es *Sorghum halepense.*

Respecto al tipo de suelos se ha constatado la presencia de suelos muy pedregosos, en los que los cepillos de desherbado pueden sufrir un importante desgaste y falta de eficacia.

Próximas actuaciones

En cuanto se haya finalizado la adaptación del minitractor a los cambios necesarios y la instalación de los sensores descritos se comprobará el movimiento del robot en campo con los algoritmos de navegación, integrando información sensorial para proceder a los giros en los finales de las líneas.

En caso de que fuera necesario, se procederá a la adaptación del algoritmo diseñado en el entorno de simulación.

Seguidamente, se comprobará el grado de aciertos en el reconocimiento de plantas de maíz y de malas hierbas con imágenes tomadas con la misma luz con la que se realizará el entorno cubierto del minitractor para asemejar las imágenes de prueba con las imágenes reales a tomar en campo.

En la fase final se comprobará la capacidad de desherbado en campo y el daño producido sobre las plantas de cultivo, es decir, la eficacia y la selectividad de la escarda.

CONCLUSIONES

El Proyecto SAAPIN avanza hacia la obtención de un vehículo agrícola capaz de desplazarse de forma autónoma por un campo de maíz desherbando mecánicamente entre las plantas. En la actualidad se perfecciona un sistema de visión artificial para la discriminación de plantas, así como en el posicionamiento georeferenciado del vehículo. Se prevé realizar numerosos ensayos de campo los próximos años para tener el primer prototipo a finales de 2008.

AGRADECIMIENTOS

A Fernando Arrieta, capataz de la Unidad de Sanidad Vegetal del CITA, por su valiosa ayuda. Al Programa de Proyecto Multidisciplinares del Departamento de Ciencia, Tecnología y Universidad del Gobierno de Aragón que financia este Proyecto (PM107/2006).

REFERENCIAS

ÅSTRAND B. Y BOERVELDT A.J. (2002). An Agricultural Mobile Robot with vision-based perception for mechanical weed control. Autonomous Robots 13, 21-35.

J. BORENSTEIN, H. R. EVERETT, AND L. FENG (1996). Where am I? Sensors and Methods for Mobile Robot Positioning, University of Michigan.

GARCÍA-PÉREZ A.L., GARCÍA-ALEGRE Mª.C., CAÑAS J.Mª Y GUINEA D. (2000). Automatización del robot Rojo y Control Fuzzy del sistema de actuación electropneumático para avance y giro. Departamento de Sistemas IAI-CSIS, TR 06/009.

GERHARDS R. Y OEBEL H. (2006). Practical experience with a system for site-specific weed control in arable crops using real-time image analysis and GPS-controlled patch spraying. Weed Research 46 (3),185-196.

HENTEN E.J. VAN, TUJIL B.A.J. VAN, HEMMING J., ACHTEN V.T.J. Y BALENDONCK M.R. (2005). Cropscout- a mini field-robot for research on precision agriculture. En: Proceedings of the 2nd Field Robot Event 2004. Wageningen University, The Netherlands, 47-60.

LEE W.S., SLAUGHTER D.C. Y GILES D.K. (1999). Robotic weed control system for tomatoes. Precision Agriculture 1, 95-113.

MELANDER B., RASMUSSEN I.A., BÀRBERI P. (2005). Integrating physical and cultural methods of weed control – examples from European research. Weed Science 53 (3), 369-381.

NORREMARK M. Y GRIEPENTROG H.W. (2004). Physical methods to control weeds within crop rows. AgEng 2004. Published in De Baerdemaaker, Josse, Eds. AgEng 2004, Leuven, Belgium. Paper on CD 287, 8 pp.

PHILIPP I., NORDMEYER H. Y RATH T. (2004). Comparison of vision based and manual weed mapping in sugar beet. AgEng 2004. Published in De Baerdemaaker, Josse, Eds. AgEng 2004, Leuven, Belgium. Paper on CD 353, 8 pp.

SOGAARD H.T. Y NORREMARK M (2004). Robotic localisation of sugar beets by use of RTK-GPS, computer vision and seed maps. AgEng 2004. Leuven, Belgium.

STENZ A., DIMA C.J., WELLINGTON C. HERMAN H.J. Y STAGER D. (2002). A System for semi-autonomous tractor operations. Autonomous Robot, vol 13, nº1, 87-103.

TSHEKO R. Y FAVIER J.F. (1998). Discrimination of crop and weed leaves using texture and shape. AgEng 1998, Oslo, Noruega.

VAN DER SCHANS D. Y BLEEKER P. (2006) Practical weed control in arable farming and outdoor vegetable cultivation without chemicals. Wageningen UP. Applied Research, Lelystad, Netherlands, 77págs.

PROCEDIMIENTO DE AUTORIZACIÓN Y REGISTRO DE ORGANISMOS DE LUCHA BIOLÓGICA

Gerardo Sánchez Peña
Jefe del Servicio de Protección de los Montes Contra Agentes Nocivos
Dirección General para la Biodiversidad
Ministerio de Medio Ambiente

RESUMEN

Se examina el marco legal actual español en el que se inscribe el registro y autorización de organismos de lucha biológica. Por su carácter exógeno, son analizados tanto la reglamentación de ámbito internacional (FAO), como los códigos de conducta y la propuesta de guía sobre requerimientos de información necesarios para la regulación de estos organismos en un país (EPPO), incluyendo las actividades de la comisión para la armonización internacional de esta regulación. Finalmente, se hace una recapitulación de la historia en España de estas introducciones, y se enmarca la situación y propuestas a corto plazo.

PALABRAS CLAVE

Lucha biológica, agentes de control, IBCA, OEPP, OILB

INTRODUCCIÓN

Una de las herramientas con mayor potencial de desarrollo futuro en la sanidad vegetal son los organismos de control biológico. Podemos definirlos como *cualquier tipo de enemigos potenciales naturales, antagonistas o competidores, así como cualquier otra entidad biótica capaz de reproducirse, que*

pueda ser usado para control de plagas. Su aparente inocuidad frente a productos químicos de síntesis, su potencial respeto al medio ambiente, y al mantenimiento de la biodiversidad, y la presumible ausencia de efectos colaterales destacables (residuos, fototoxicidad...), ha hecho que exista un creciente interés en esta herramienta, que puede contribuir decisivamente al control integrado y al desarrollo de procedimientos de manejo agrícola y forestal sostenibles. Sin embargo existen toda una serie de riesgos inherentes derivados de un posible impacto negativo en el agrosistema, y de graves disrupciones en el equilibrio natural de plagas/predatores. Por todo ello es fundamental el desarrollo de una metodología robusta de control y testado de dichos organismos antes de su introducción y liberación en un país.

La legislación sobre la introducción de agentes invertebrados de control biológico con vistas a su liberación como organismos de lucha biológica (en adelante IBCA), se encuentra hoy en día en fase de armonización a nivel internacional. El precedente más conocido es seguramente el Código de conducta para la importación y liberación de estos organismos, editado por la FAO en 1996, cuya estructura y contenidos legislativos necesitan de un fuerte soporte científico-técnico. En esta dirección se han desarrollado los sucesivos grupos de trabajo de la EPPO, cuyo resultado más palpable hoy en día es la redacción de una Guía sobre los requisitos de información que serían necesarios para la regulación de estos organismos. Con posterioridad diversas comisiones de estudios están avanzando hacia una verdadera armonización a escala internacional, cuyos resultados se esperan a corto plazo.

El marco legal español viene determinado por la Ley 43/2002 de Sanidad Vegetal (BOE, 2002). Dicha Ley dedica su Capítulo IV del Título III, en particular el artículo 44 a los Medios biológicos de defensa fitosanitaria:

Artículo 44. Medios biológicos.

1. *La introducción en el territorio nacional, distribución y liberación de organismos de control biológico exóticos requerirán la autorización previa del Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, previo informe del Ministerio de Medio Ambiente sobre el posible impacto ambiental y afección a la biodiversidad, tanto cuando su fin sea la realización de ensayos de campo para investigación y desarrollo, como cuando sea la liberación para control biológico o su utilización como producto fitosanitario biológico, de conformidad con la normativa que reglamentariamente se establezca.*

2. *La cría o producción y la distribución, comercialización y liberación de organismos de control biológico no exóticos requerirá la comunicación previa al Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, conforme a las normas que reglamentariamente se establezcan.*

3. *Las autorizaciones a que se refiere el apartado 1 y las comunicaciones previas a que se refiere el apartado 2 se inscribirán en el Registro Oficial de Productos y Material Fitosanitario.*

Es este por tanto el punto de partida y referencia para los procedimiento de autorización y registro en España. Destacan en el articulado varias cuestiones:

- por un lado un cierto grado de responsabilidad compartida en el procedimiento de autorización. El Ministerio de Agricultura decide en último término teniendo en cuenta el informe del Ministerio de Medio Ambiente sobre impacto ambiental y afección a la biodiversidad. En este marco es por tanto fundamental el desarrollo de una **rutina coherente y armonizada de evaluación**, cuestión que será analizada más adelante en profundidad a la vista de los trabajos en el marco FAO y OEPP.
- La referencia, tanto en los organismos de control biológico alóctonos (punto 1), como en los autóctonos (punto 2) a unas **normas que reglamentariamente se establezcan.**
- El resultado final del proceso: su *inscripción en el Registro Oficial.*

EL CONTEXTO LEGAL INTERNACIONAL: EL MARCO FAO

En 1996 la Secretaría de la Convención Internacional de Protección Fitosanitaria de la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) publica, en el marco de su serie Normas Internacionales para Medidas Fitosanitarias (reglamentación para la importación) el *Código de Conducta para la Importación y Liberación de Agentes Exóticos de Control Biológico* (Secretaría, 1996). El objetivo de dicho Código es proporcionar unas directrices para la armonización a nivel internacional de las medidas fitosanitarias en este ámbito. Las indicaciones cubren las posibles responsabilidades tanto de las autoridades nacionales reguladoras como las de los exportadores e importadores de los agentes de control biológico, en el área de investigación y en el de liberación en el medio ambiente. El objetivo del código es la importación de agentes exóticos de control biológico capaces de reproducirse (parasitoides, predatores, parásitos, artrópodos fitófagos y patógenos), en sus aspectos de:

- importación y liberación de IBCAs para investigación
- importación y liberación de IBCAs para control biológico
- importación y liberación de IBCAs como plaguicidas biológicos (organismos que puedan multiplicarse)

El Código FAO es un documento de referencia, enfocado sobre todo a las responsabilidades de cada uno de los agentes que intervienen en el proce-

so comercial, por tanto los procedimientos técnicos que pueden servir de apoyatura a este proceso no son desarrollados, existiendo únicamente una serie de referencias a documentos externos de la propia FAO al final de la Guía, muchos de los cuales no están tampoco desarrollados de una forma concreta. La gran validez de la Guía radia en que establece por vez primera una ruta a seguir en el ámbito regional, dando la oportunidad a que autoridades regionales o nacionales establecieran una normativa concreta sobre este esquema. Quizás el ejemplo más desarrollado de un desarrollo posterior de la Guía pueda encontrarse en las Normas Regionales de la NAPPO (organización norteamericana de protección de las plantas, que agrupa a Canadá, Estados Unidos y México), sobre Medidas Fitosanitarias (Secretaría, 2000), que desarrollan la siguiente plantilla-modelo a seguir:

Resumen de los Requisitos

Este apartado debe contener la información que se solicita para la acción que se propone cubriendo como mínimo los siguientes aspectos: biología, situación reglamentaria, distribución e impacto económico de la plaga objetivo; biología, origen, organismo hospedante conocido, especies relacionadas en el área de introducción propuesta y procedimientos de cuarentena para el agente de control biológico y los efectos que se esperan tener después de la liberación, además de los registros científicos publicados e inéditos importantes tanto del objetivo que se busca, como del organismo que se va a liberar.

Requisitos Generales

Cada petición deberá ir precedida de un resumen. Una petición para solicitar la liberación de un agente entomófago exótico para el control biológico de insectos plagas y ácaros en el país deberá incluir la siguiente información:

1. Acciones que se Proponen

1.1 Propósito de la liberación.

1.2 Necesidad de la liberación.

1.3 Razones de la selección del agente.

1.4 Ubicación específica del lugar donde se criará al agente de control biológico/instalación de cuarentena y personal calificado que opera la instalación.

1.5 Fecha de la liberación.

1.6 Métodos que se utilizarán (cría, multiplicación, liberación, etc.)

1.7 Manejo y tratamientos de los desechos de cualquier material hospedante y patógenos, parásitos e hiperparasitoides del agente que acompaña a los envíos de importación.

1.8 Agencias y/o personas que participarán en la liberación y verifica ción.

2. *Información sobre la Plaga Objetivo*

2.1 Taxonomía: nombre científico, clasificación completa, sinónimo, nombres comunes (si hay alguno) y caracterización suficiente que permita un reconocimiento inequívoco.

2.2 Impacto económico de la plaga y los beneficios del organismo objetivo.

2.3 Especies de importancia económica y ecológica en el país de introducción (introducidas y nativas) relacionas (filogenéticamente y/o en procesos ecológicos) con la plaga objetivo

2.4 Distribución de la plaga

2.5 Situación reglamentaria y/o de la plaga objetivo en las legislación nacional 2.6 Conocimiento de la situación de otros organismos de control biológico (nativos e introducidos) que atacan a la plaga.

3. *Información sobre los Agentes de Control Biológico*

3.1 Taxonomía: nombre científico, sinónimo, nombres comunes.

3.2 Métodos utilizados para identificar al agente.

3.3 Ubicación de los especimenes muestra.

3.4 Distribución geográfica natural, otras áreas de introducción y otra distribución que puedan alcanzar en el país donde se pretende su introducción (también las preferencias en el hábitat y los requisitos climáticos del agente.)

3.5 Origen del cultivo/agente en la naturaleza (nombre del colector, nombre del que lo identifica.)

3.6 Interacción del hospedante/agente de biocontrol (parasitoide, patógeno, parásito, competidor, antagonista, etc.)

3.7 Historial de la vida (incluyendo la capacidad de dispersión y daño ocasionado en el insecto o ácaro hospedante.)

3.8 Organismo hospedante conocido basado en información científica válida, incluyendo si existe datos de los hospedantes provenientes de especimenes de museos y otros registros.

3.9 Historial de usos anteriores del agente de control biológico.

3.10 Patógenos, parásitos, hiperparasitoides del agente y cómo eliminarlos de un cultivo del agente.

3.11 Un Procedimiento de Operación Normalizado que especifique cómo se manejará el agente durante la cuarentena.

3.12 Otros géneros estrechamente relacionados, especies hermanas o especies muy similares en el país donde se pretende la introducción.

4. *Impacto Ambiental y Económico de la Liberación que se propone*

4.1 Impacto conocido en los vertebrados, incluyendo a los seres humanos.

4.2 Impacto directo del organismo (p. ej. resultados que se esperan en el agente objetivo, resultados directos en los agentes que no son objetivo.)

4.3 Resultados en el medio ambiente físico donde se propone la introducción (p. ej. recursos del agua, suelo y del aire.)

4.4 Resultados indirectos (p. ej. posibles efectos en los organismos que dependen de las especies objetivo, o que no son objetivo, incluyendo la posible competencia con los agentes de control biológico residentes.)

4.5 Posibles resultados directos e indirectos en las especies amenazadas o en peligro de extinción en el país donde se propone la introducción.

Hay que hacer notar que esta plantilla modelo desarrollada por la NAPPO requiere un volumen de información previa e investigación muy alto, adecuado a las particularidades de lo que la región norteamericana representa en cuanto a grado de "virginidad" y aislamiento ante especies alóctonas. Este no es el caso de Europa, un continente que históricamente ha estado sometido a un proceso de colonización e intercambio biológico mucho mayor (Crosby, 1999). Por tanto el marco regulador no puede ser tan estricto en alguno de sus planteamientos. Asimismo dado el diferente marco geográfico de los conceptos políticos y biológicos, las referencias en la plantilla a "país", sería más acorde situarlas en un ámbito regional, Europeo en nuestro caso.

EL DESARROLLO DE UNA NORMATIVA REGIONAL EN EUROPA: LA GUÍA DE LA OECD

De forma similar al planteamiento realizado en el ámbito norteamericano NAPPO, en Europa también dio comienzo un intento de acción normalizado-

ra. Incluso el origen puede considerarse común: durante la reunión de febrero de 1999 en Canadá representantes de Países Bajos, Italia, Reino Unido, Finlandia, Suecia, Noruega y Suiza se plantearon un enfoque armonizado a escala europea para la regulación de los IBCAs. Un primer acuerdo reconoció lo beneficioso de este enfoque, apoyado por una posible reglamentación no excesivamente restricitiva. Para cumplir los objetivos propuestos se constituyó una comisión de expertos en el marco del Grupo de Trabajo de Pesticidas, que tras sucesivas reuniones entre los años 2000 y 2002, articuló un documento de referencia para los estados enmarcados en el área de la OECD.

La Guía de requisitos de información para la regulación de agentes invertebrados de control biológico (OECD, 2003) constituye el esquema técnico legal que complementa la normativa FAO antes comentada a escala europea, y puede servir de base a posteriores desarrollos reglamentarios nacionales o de la Unión Europea.

Su esquema se basa en una plantilla tipo que cubre los requisitos de información necesarios para la introducción de un IBCA, para su liberación y para su seguimiento posterior, básicamente centrados en la identificación clara y diáfana del agente a introducir, y los estudios sobre la seguridad en cuanto a sus efectos en la salud humana, riesgos medioambientales y eficacia del organismo. No obstante la propia Guía abre la puerta sobre que el detalle de la información a suministrar pueda ser objeto de un acuerdo previo con las la autoridad competente.

Esquemáticamente el dossier cuya plantilla tipo en inglés se reproduce a continuación consta los siguientes puntos:

- Información para el seguimiento de la caracterización e identificación
  - Identificación (detalle, medios, fuentes y nota sobre si ha habido manipulación genética u otra modificación)
  - Biología y ecología del agente (descripción del ciclo vital, alimentación, plantas y otros organismos hospedantes, distribución nativa del agente y ecología)
- Información para el seguimiento sobre su seguridad y efectos en la salud humana
- Información para el seguimiento de los riesgos medioambientales
  - Efectos directos (rango de hospedantes, prelación intraespecífica, competición y desplazamiento de otras especies, potencial de hibridación con agentes autóctonos, efectos en plantas)
  - Información disponible sobre el potencial para el establecimiento y dispersión del agente de control biológico (potencial de establecimiento y de dispersión)

- Información disponible sobre posibles efectos indirectos
- Información disponible sobre beneficios medioambientales comparado con la situación presente
- Resumen de la información para el seguimiento de riesgos medioambientales

– Información para el seguimiento de la eficacia, control de calidad y beneficios de su uso

- Eficacia
- Métodos para la evaluación del control de calidad
- Beneficios de su uso

PLANTILLA TIPO DE INFORME TIPO PARA LA AUTORIZACIÓN Y REGISTRO DE LOS ORGANISMOS DE LUCHA BIOLÓGICA EXÓTICOS (OECD, 2003)

1. Information required for characterisation and identification	
1.1	(a) Accurate identification, including name of identifier or, where necessary, sufficient characterisation of the agent to allow its unam biguous recognition: • order, family, genus, species (including scientific authority) and, where appropriate, subspecies, strain, type (synonyms should be included); • letter from recognised (by receiving country) scientific authority stating the identity of the organism; • general diagnostic description of all life stages of the agent, including details on any taxonomic difficulties with the group (e.g. species complexes, cryptic species, poorly studied group); and • known molecular information (e.g. unique microsatellite markers) used for diagnosis, especially of species complexes or cryptic species.
	(b) Deposition of voucher specimens in an internationally recognised collection facility before the release of a new agent: • name and location of institution(s) where voucher specimens are to be deposited.
1.2	(a) Information on origin of organism (species or lower taxonomic level): • if field collected, see 1.2 (b) below; and • if from laboratory culture, information on the number of

	individuals in the founder population, and the number of generations in the culture.
	(b) Where the culture was originally collected: • latitude, longitude of field location; • description of original habitat and host(s) from which collection was made; and • description of time of year when collection was made.
	(c) Immediate source of organism (where it was produced): • name of organisation providing organism; and • country, city where production facility is located.
1.3	Available information on distribution, dispersal, biology, host range/specificity, host preference, natural enemies, physical requirements for establishment and distribution, requirements for sur vival and reproduction: • known geographical and ecological areas where agent naturally occurs; • known regions where agent has been introduced intentionally or accidentally; • potential for dispersal (e.g. good/poor flier, presence of alternate hosts in the wild, known migratory behaviour); • detailed description of biology, including description of all life stages, reproductive potential, • details on natural enemies known to attack the agent; • details on hosts, habitats and climatic conditions favourable for establishment and dispersal of the agent; • biological (including extreme) conditions in which there is potential for agent survival and reproduction; • list of known hosts other than the target; • list of non-target organisms that have been tested; • details on the methodology used to determine host range, including experimental design, experimental conditions of tests, rearing methods for non-target species, life stage(s) tested, statistical tests used, etc.; and • statement of potential host range, including limitations of testing methods.
1.4	Natural enemies of candidate agent or contaminants of candidate agent or rearing hosts/prey, and procedures required for their elimination from lab colonies if necessary: • details on the biology of predators, parasitoids (hyperparasitoids), pathogens or commensal species in the native habitat that might be carried on the candidate agent or rearing hosts/prey to the region of introduction; and

	• procedures used to ensure purity of the agent before shipment to the recipient (e.g. washing surface of cocoons/mummies with fungicide, removal of individuals with mites).
1.5	Available information on specific characteristics of strain (e.g. resistance to pesticides, mutants): • description of special characteristics (e.g. pesticide resistance, cold hardiness, aggressive searching capacity of the source culture).
2. Information for assessment of safety and effects on human health	
2.1	Provide available information on relevant hazards to human and animal health that may be posed by the use of IBCAs during and following introduction (for example, allergy, skin irritation, disease vectors).
2.2	Summary of information for assessment of safety and effects on human health.
3. Information for assessment of environmental risks	
3.1	Identify any potential hazards posed to the environment by IBCAs, including:
	(a) available information on the role of the agent in original ecosystem, the type of natural enemy (parasitoid, predator, pathogen), type of organisms it attacks, effect of attack on target and non-targets, intraguild effects, higher up trophic level effects, and effects on ecosystem;
	(b) available information on existing natural enemies of the target organism in the area of release; (c) available information on non-target effects from previous use of IBCAs in biological control.
3.2	Host range testing (a) Available information and/or data on possible direct effects: • on non-target host/prey related to target host (phylogenetically or ecologically related); • on non-related non-target hosts, such as threatened and endangered species; • concerning competition or displacement of organisms; • concerning potential for interbreeding with indigenous natural enemy strains or biotypes; • on plants (target crop and non-target plants).

	(b) Available information and/or data on potential of establis hment and dispersal of biological control agent.
	(c) Available information on and/or data on possible indirect effects.
	(d) Available information (from rearing facility or from the field) on the ability of the IBCA to carry viruses or micro-organisms that can negatively affect non-target organisms.
3.3	Available information, and/or data on potential host/ prey range in areas of release and potential distribution of the IBCA.
3.4	Available information on environmental benefits (e.g. beneficial effects of release of IBCAs compared to current or alternative control methods).
3.5	Summary of information for assessment of environmental risks.
4. Information for assessment of efficacy	
4.1	Information relevant for determining the efficacy of an IBCA should be provided.
4.2	Information on methods for the evaluation of quality and purity (quality control) of IBCAs.
4.3	Information on benefits of use of IBCAs.
4.4	Summary of information for assessment of efficacy.

El Informe añade a esta plantilla una nota a pie de página, recomendando a las compañías productas de IBCAs que informen además sobre cualquier efecto adverso en organismos que no son objetivos de su control.

Un factor crítico en el proceso de evaluación es el análisis del riesgo potencial que supone la introducción de un IBCAs en un territorio. Para hacer frente a esta cuestión la Asociación Internacional de productores de organismos de biocontrol, IBMA, propusó el siguiente esquema de actuación y rutina de seguimiento (del original de IBMA, 2001):

Step 1

Petri dish black box
Non-choice Test

Are non-target attack species attacked? — No → Low hazard rating

Yes

↓

Step 2

Petri dish behavioural
Non-choice Test

Are non-target attack species attacked? — No, or only at end of observation → Low hazard rating

Yes, constant fixed rate of attack

↓

Step 3

Petri dish behavioural
Choice Test

Are non-target attack species attacked? — No, or low attack rate and no shift in host preference → Low hazard rating

Yes, easy attack, or switch in host preference for non-target

↓

Step 4

Large cage behavioural
Choice Test

Are non-target attack species attacked? — No, or low attack rate and no shift in host preference → Low hazard rating

Yes, easy attack, or switch in host preference for non-target

→ ***High hazard rating***

↓

Step 5

Field test (if possible) black box
Choice Test

Are non-target attack species attacked? — No → Low hazard rating

Yes

↓

High hazard rating

LA SITUACIÓN ACTUAL EN EL ÁMBITO INTERNACIONAL

Tanto el Código NAPPO como el OECD pueden ser considerados elementos básicos de referencia y de recomendación de buenas prácticas para la reglamentación de los IBCAs. Junto a ellos están los siguientes estándares desarrollados por la EPPO, más en el ámbito de recomendación que en el regulatorio, sobre el uso seguro de organismos de control biológico:

EPPO PM 6/1 (1): First import of exotic biological control agents for research under contained conditions (EPPO, 2002)

EPPO PM 6/2 (1): Import and release of exotic biological control agents (EPPO, 2002a)

EPPO PM 6/3 (2): List of biological control agents widely used in the EPPO region (EPPO, 2002b)

El incremento de las propuestas de importación de IBCA y la no existencia de normativas nacionales específicas hacen que muchos de los países apliquen subsidiariamente reglamentos establecidos con otro fin, o se enfrenten a situaciones de vacío legal en el ámbito internacional e interno. La demanda de productores y distribuidores canalizada a través del IBMA (International Biocontrol Manufacters Association) se ha concretado en diversos documentos de trabajo, y en la constitución, bajo el ámbito de la Sección Paleártica Oeste de la IOBC (Organización Internacional de Lucha Biológica) de la Comisión para la armonización de los agentes invertebrados de control biológico (CHIBCA). Sus objetivos pueden resumirse en:

- recoger la información sobre el estado de los requisitos de reglamentación en los países
- organizar un taller con los países, usuarios y productores
- producir un documento compilador de las normativas, guías y recomendaciones existentes (FAO, EPPO, OECD)
- actualizar y mejorar la lista EPPO de organismos seguros de uso extensivo (EPPO PM 6/3(2))
- proporcionar una plataforma de consulta e intercambio de información entre los países
- proponer un grupo permanente de expertos consultor para la reglamentación en IBCAs.

Tras la constitución del grupo a inicios del 2004, se han realizado varios mítines y está en curso la constitución de una Acción europea COST. Las actividades previstas a corto plazo se enmarcan en una colaboración activa entre la Unión Europea y el OIBC a través de la citada Comisión, y los resultados que previsiblemente habrán de generarse entre 2006 y 2007, de acuerdo con los objetivos antes enunciados (BIGLER, 2005).

LA SITUACIÓN EN ESPAÑA: HISTORIA, PRESENTE Y FUTURO

La primera introducción documentada de un agente invertebrado de control biológico en España data de 1908, estando citadas desde entonces sesenta y cuatro especies mas (JACAS, 2006). Una evaluación realizada del proceso de introducción demostró que en la mayoría de las ocasiones se realizaron no resultarían aceptables hoy en día, ni desde un punto de vista técnico ni medioambiental, por lo que es urgente el diseño o la adecuación a la realidad española de un protocolo técnico que permita evaluar posibles especies candidatas.

Parece conveniente volver al principio de este texto, y re-evaluar la situación legislativa española, en el marco de la Ley de Sanidad Vegetal actualmente vigente (BOE, 2002), y las cuestiones derivadas de su articulado:

- la necesidad de desarrollo de una rutina coherente y armonizada de evaluación,
- el establecimiento de un protocolo y unas normas reglamentarias que fijen el camino técnico y el legislativo.

Actualmente a falta de una normativa definida, el proceso se basa en una rutina a veces no suficientemente clara para los participantes. Legislativamente en principio el organismo importador debería solicitar el permiso pertinente al organismo competente de la Comunidad Autónoma donde se pretende hacer la experiencia o la suelta controlada, y este elevarla al Ministerio de Agricultura (MAPYA, junto a un dossier técnico justificativo. El análisis de dicho dossier por el MAPYA (Dirección General de Agricultura) y su trámite paralelo al Ministerio de Medio Ambiente (Dirección General para la Biodiversidad) para el análisis de impacto medioambiental y en la biodiversidad, daría como resultado los elementos que permitieran al MAPYA establecer un dictamen razonado, y comunicárselo al organismo solicitante y a la Comunidad Autónoma concernida.

Queda por dilucidar el dossier técnico que acompañaría a la solicitud. A falta de una normativa oficial sobre el tema, el principio de precaución aconseja que se use como modelo alguna de las Guías internacionales comentadas en este artículo. En todo caso resulta necesario que cualquier tipo de petición vaya acompañada de un dossier técnico robusto que garantice la fiabilidad, éxito y bondad ambiental de la introducción.

REFERENCIAS

Definiciones

EILENBERG, J., HAJEK, A. AND LOMER, C. (2001). "Suggestions for unifying the terminology in biological control" *BioControl* 46 (4): 387-400.

FAO (2001). *Glossary of phytosanitary terms, international standards for phytosanitary measures.* Secretariat of the International Plant Protection Convention, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, ISPM Pub. No. 5: 62 p.

LENTEREN, J.C. VAN (2000). "Measures of Success in Biological Control Of Arthropods By Augmentation Of Natural Enemies". In: *Measures of Success in Biological Control,* S. Wratten and G. Gurr (eds.). Kluwer Academic Publishers, Dordrecht: 77-103. Version 4, J.C. van Lenteren, December 2001.

Eficacia y control de calidad

EPPO (1989). "EPPO guidelines for Efficacy Evaluation of Plant Protection Products", OEPP/EPPO *Bulletin* 19, 184-264.

EPPO (1990). "EPPO Guideline No. 152", OEPP/EPPO *Bulletin* 20, 551-579.

FAO (1995). *Guidelines of Efficacy Data for the Registration of Pesticides for Plant Protection*, FAO, Rome, 1995.

LENTEREN, J.C. VAN AND M.G. TOMMASINI (1999). "Mass production, storage, shipment and quality control of natural enemies". *In Integrated Pest and Disease Management in Greenhouse Crops*, R. Albajes, M.L. Gullino, J.C. van Lenteren and Y. Elad (eds.). Kluwer Publishers, Dordrecht: 276-294.

LENTEREN, J.C. VAN (ed.) (2003). *Quality and Production of Biological Control Agents: Theory and Testing Procedures.* CABI, Wallingford.

Testado del rango de posibles hospedantes

BARRATT, B.I.P., FERGUSON, C.M., MCNEILL, M.R., AND GOLDSON, S.L. (1999). "Parasitoid host specificity testing to predict host range". In *Host specificity testing in Austalasia: towards improved assays for biological control* (eds. T.M. Withers, L. Barton Browne and J.N. Stanley), pp. 70-83. CRC for Tropical Pest Management, Brisbane, Australia.

DIJKEN, M.J. VAN, M. KOLE, J.C. VAN LENTEREN AND A.M. BRAND (1986). "Host-preference studies with Trichogramma evanescens Westwood (Hym., Trichogrammatidae) for Mamestra brassicae, Pieris brassicae and Pieris rapae". *Journal of Applied Entomology* 101: 64-85.

FOLLETT, P.A., J. DUAN, R.H. MESSING AND V.P. JONES (2000). "Parasitoid drift after biological control introductions: re-examining Pandora's box". *American Entomologist* 46: 82-94.

SANDS, D.P.A. (1988). "Guidelines for testing host specificity of agents for biological control of arthropod pests". In *Proceedings of the 6th Australian*

Applied Entomological Conference (eds. M.P. Zalucki, R.A.I. Drew and G.G. White), Brisbane: 556-560.

Métodos de control de riesgos asociados

LONDSDALE, W.M., D.T. BRIESE AND J.M. CULLEN (2000). "Risk analysis and weed biological control". In *Evaluating Indirect Ecological Effects of Biological Control* (eds. E. Wajnberg, J.K. Scott and P.C. Quimby): 185-210.

WAPSHERE, A.J. (1974). "A strategy for testing the safety of organisms for biological weed control". *Annals of Applied Biology* 77: 201-211.

Predacción intraespecífica

ROSENHEIM, J.J., H.K. KAYA, L.E. EHLER, J.J. MAROIS AND B.A. JAFFEE (1995). "Intraguild predation among biological-control agents: theory and evidence". *Biological Control* 5: 303-335.

Competición y desplazamiento entre especies

BELLOWS, T.S. AND M.P. HASSELL (1999). "Theories and mechanisms of natural population regulation". In **Handbook of Biological Control** (eds. T.S. Bellows and T.W. Fisher), Academic Press, San Diego: 17-44.

Análisis de riesgos

HICKSON, R, A. MOEED AND D. HANNAH (2000). "HSNO, ERMA and risk management". *New Zealand Science Review*, 57: 72-77.

LENTEREN, J.C. VAN (2001). "Harvesting safely from biodiversity: natural enemies as sustainable and environmentally friendly solutions for pest control". In *Balancing Nature: Assessing the Impact of Importing Non-Native Biological Control Agents* (eds. J.A. Lockwood, F.G. Howarth and M.F. Purcell). Thomas Say Publications in Entomology: Proceedings, Entomological Society of America, Lanham, Maryland: 15-30.

LENTEREN, J.C. VAN, BABENDREIER, D., BIGLER, F., BURGIO, G., HOKKANEN, H.M.T., KUSKE, S., LOOMANS, A.J.M., MENZLER-HOKKANEN, I., RIJN, P.C.J. VAN, THOMAS, M.B., TOMASSINI, M.C., ZENG, Q.Q. (2003). "Environmental risk assessment of exotic natural enemies used in inundative biological control". *Biocontrol.* Biocontrol 48: 3-38.

LYNCH, L.D., H. M. T. HOKKANEN, D. BABENDREIER, F. BIGLER, G. BURGIO, Z.-H. GAO, S. KUSKE, A. LOOMANS, I. MENZLER-HOKKANEN, M. B. THOMAS, G. TOMMASINI, J. WAAGE, J. C. VAN LENTEREN, Q.-Q. ZENG (2000). "Indirect effects in the biological control of arthropods with arthropods". In *Evaluating Indirect Ecological Effects of Biological Control* (Eds. E. Wajnberg, J.C. Scott and P.C. Quimby). CABI Publishing, Wallingford: 99-125.

ZADOKS, J.C. (1999). "Risk analysis of beneficial microorganisms – wild types and genetically modified". In *KEMI Proceedings: Microbiological plant protection products –Workshop on the scientific basis for risk assessment,* Stockholm, Sweden 26-28 October, 1998. Solna (Sweden), National Chemicals Inspectorate : 9-38.

Documentos de referencia y enfoques

AUSTRALIAN QUARANTINE AND INSPECTION SERVICE (1998). "Code of Conduct for the Import and Release of Exotic Biological Control Agents" (Australia), http://www.aqis.gov.au/docs/appolicy/part1a2.htm, 9 December.

BIGLER, F. (1997). "Use and Registration of Macroorganisms for Biological Crop Protection", *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin* 27, 95-102.

EUROPEAN AND MEDITERRANEAN PLANT PROTECTION ORGANIZATION (1998). "Guidelines for the Safety and Efficacy of Biological Control: First Introduction of Exotic Biological Control Agents for Research Under Contained Conditions". EPPO.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (1996). *International Standards for Phytosanitary Measures: Code of Conduct for the Import and Release of Exotic Biological Control Agents.* FAO, February.

MINISTRY OF AGRICULTURE, FORESTRY AND FISHERIES (MAAF), *Guidelines for Evaluating Environmental Effects of Macroorganisms* (Japan).

NATIONAL CHEMICALS INSPECTORATE (1994). A *Guide to the Completion of the Application Form for Approval of a Biological Pesticide: Nematodes, Insects, and Arachnids.* (Sweden), 16 November.

NORTH AMERICAN PLANT PROTECTION ORGANIZATION (1998). "NAPPO Standards for Phytosanitary Measures: Guidelines for Petition for Release of Non-native Phytophagous Agents for the Biological Control of Weeds", *NAPPO Document 978-017,* August.

NORWEGIAN AGRICULTURAL INSPECTION SERVICE (1999). *Proposal for Regulation of Beneficial Organisms (Macroorganisms) for Use in Biological Control* (Norway), 21 June.

STATE PHYTOSANITARY ADMINISTRATION, *Regulation of the Biological Products Based on Macroorganisms in the Czech Republic.* (Czech Republic).

FEDERAL OFFICE OF AGRICULTURE (1996). *Examen et autorisation pour le commerce de macroorganismes (auxiliaires) considérés comme des produits pour le traitement des plantes.* (Switzerland), November.

Bibliografía

BIGLER F. *et al.*, 2005: *Guidelines on information requirements for import and release of invertebrate biological control agents in European countries.* Biocontrol News and Information, 26 (4). Zurich.

BOE, 2002: *Ley 43/2002 de 20 de noviembre de Sanidad Vegetal. BOE 279 de 21 de noviembre* (40970-40988). Madrid.

CROSBY A.W., 1999: *Imperialismo ecológico, la expansión biológica en Europa 900-1900.* Ed. Crítica, Barcelona.

EPPO, 2002a: EPPO *Standards, Safe use of biological control.* EPPO Bulletin 32 443-445. Paris.

EPPO, 2002b: EPPO *Standards, Safe use of biological control: List of biological control agents widely used in the EPPO region.* EPPO Bulletin 32 447-461. Paris.

IBMA, 2001: Guidance for Registration Requeriments for IBCAs. In: http://www.ibma.ch

JACAS J.A. *et al.*, 2006: *History and future of introduction of exotic arthropod biological control agents in Spain: a dilemma.* Biocontrol, 51. Zurich.

OECD Environment Directorate, 2003: *Guidance for Information Requeriments for Regulation of Invertebrades as Biological Control Agents (IBCAs).* Series on Pesticides no. 21. OECD Environment, Health and Safety Publications. Paris.

SECRETARÍA DE LA CONVENCIÓN INTERNACIONAL DE PROTECCIÓN FITOSANITARIA, 1996: *Código de Conducta para la Importación y Liberación de Agentes Exóticos de Control Biológico.* Normas Internacionales para Medidas Fitosanitarias nº 3. FAO. Roma.

SECRETARÍA DE LA ORGANIZACIÓN NORTEAMERICANA DE PROTECCIÓN A LAS PLANTAS, 2000: *Directrices sobre la Petición para la Liberación de Agentes Entomófagos Exóticos para el Control Biológico de Plagas.* Normas Regionales de la NAPPO sobre Medidas Fitosanitarias (NRMF) 12. Otawa.

LA VERTICILOSIS DEL OLIVO: SITUACIÓN ACTUAL Y ESTRATEGIAS DE LUCHA

Blanco-López, M.A., López-Escudero, F.J.
Universidad de Córdoba

INTRODUCCIÓN.

Aunque las zonas climáticas apropiadas para el olivo (*Olea europaea* L.) se encuentran delimitadas por las latitudes de 30º y 45º de los hemisferios Norte y Sur, realmente el 98% del cultivo se concentra en el área Mediterránea. Los datos disponibles indican que España es el productor principal con un 25,4 % de la superficie dedicada a este cultivo en todo el Mundo y con una tendencia creciente desde 1988, de la que es particularmente responsable Andalucía, donde se cultiva en torno al 62% del olivar español (Civantos, 2004).

En la actualidad una de las principales limitaciones del cultivo y especialmente de las nuevas plantaciones es la Verticilosis. A pesar de ser una enfermedad relativamente nueva, escasamente conocida antes de los años 80 del pasado siglo, hoy es reconocida como la principal amenaza del cultivo en todas las áreas olivareras del mundo.

La Verticilosis del olivo (VO) fue identificada por vez primera en Italia en 1940. Después fue diagnosticada en Grecia (1958), Chipre (1959), California (1959), Arizona (1963), Francia (1972), Turquía (1972), Siria (1988), etc. En España se observó por primera vez de forma aislada en 1975 (Blanco-López et. al 1984; Caballero *et al.*, 1980). Desde entonces, la enfermedad se ha extendido considerablemente, en mayor medida por el establecimiento de nuevas plantaciones con cultivares susceptibles en suelos infestados por el patógeno y por el uso de material vegetal y sustratos infectados. La gravedad de la situación propició que el Ministerio de Agricultura en 1999 des-

arrollara el Real Decreto 1678/1999 por el que se establecen los requisitos de control y certificación de la calidad de las plantas de vivero de olivo que incluye la obligatoriedad de utilizar sustratos para la plantación libres de *V. dahliae* (Anónimo, 1999).

IMPORTANCIA Y DISTRIBUCION

Desde las primeras observaciones sobre la aparición de la enfermedad, la situación ha cambiado espectacularmente. Aunque es difícil estimar las pérdidas que ocasiona, quizá la información más detallasda fue obtenida en Grecia, donde inspecciones realizadas durante los años 1974-76, en cultivos de las variedades susceptibles Konservolia y Kalamon, reflejaban una incidencia de enfermedad entre el 1 y 7% de los árboles, estimando las pérdidas totales de cosecha debidas a ésta enfermedad en el 1% de la producción total de olivo del país (Thanassoloupoulos *et al.*, 1979). En Marruecos, un 57.8% de los campos muestreados estaban afectados de Verticilosis, con incidencias de 10-30% de árboles enfermos (Serrhini y Zeroual, 1995). En Siria, la incidencia varió entre el 0.85-5.32% de los árboles inspeccionados, con pérdidas de la producción total estimadas en torno al 2% (Al-Ahmad y Mosli, 1993). En España, los muestreos realizados señalan un aumento de la incidencia y extensión de la enfermedad en el tiempo. En inspecciones efectuadas en los años 1980-1983, encontramos el 38,5% de 122 plantaciones de menos de 15 años, con una incidencia superior en ocasiones al 70% de plantas enfermas, aunque los ataques más frecuentes se presentaban en porcentajes inferiores al 10%.

Posteriormente, en el periodo 1994-1996, prospecciones efectuadas para determinar la causa de muerte de olivos jóvenes en Andalucía (Sánchez-Hernández *et al.*, 1998), se determinó que el 48% en 1994-95 y el 26% en 1996 era causada por Verticilosis, a pesar de que en un principio habían sido excluidos aquellos campos en que la información previa estimaba que ésta podía ser la causa. Desde entonces la enfermedad ha continuado creciendo de forma paralela al aumento de la superficie e intensidad del cultivo (Trapero-Casas y Blanco-López, 2004). Este hecho queda plenamente ilustrado en la provincia de Cádiz, donde no se había detectado la enfermedad en los años 80, (Blanco-López *et al.* 1984), y actualmente en la Comarca de la Sierra tiene una incidencia media del 43,28% de campos afectados según prospecciones aleatorias con una incidencia media del 1,05 % de árboles afectados, lo que extrapolado a toda la zona implicaría un total de 13.000 árboles enfermos o muertos (León Gallego, 2000). De forma similar ha ocurrido en la provincia de Granada, donde el 31.7% de las plantaciones prospectadas mostraron síntomas de la enfermedad. Prospecciones recientes en plantaciones afectadas por VO en el Valle del Guadalquivir sobre 9000 árbo-

les, han revelado una incidencia media del 20,5 %. Esta incidencia ascendió en las provincias de Jaén, Córdoba y Sevilla a valores del 26, 24 y 12% respectivamente (Roca, datos no publicados). Una muestra de la importancia de la Verticilosis se indica en la Tabla 1.

Tabla 1. Importancia de la Verticilosis del olivo.

País/Zona	Año	Incidencia de enfermedad en Campos (%)	Olivos (%)
Grecia	1979	2-3 (1%muertos)	
España/Andalucía	1980-83	38,5 (22 campos)	
España/Andalucía	1994-96	36 (139 campos)	
España/Andalucía	2001		20.5 (9000 olivos)
España/Cádiz	2000	43,24	(111 campos) 1,05
España/Córdoba	2001		24 (3300 olivos)
España/Jaén	2001		26 (2700 olivos)
España/Sevilla	2001		12 (3000 olivos)
Siria	1990		0,85-4,5
Marruecos	1991	60 (128 campos)	
Iran		2000-2003	11,9

Tradicionalmente, la mayor incidencia de la enfermedad se produce en plantaciones jóvenes, a partir del segundo o tercer año de plantación (Al-Ahmad y Mosli, 1993; Blanco-López *et al.*, 1984; Serrhini y Zeroual, 1995; Sánchez-Hernández *et al.*, 1998). No obstante no es ocasional la existencia de plantas centenarias afectadas que llegan a morir en escaso tiempo, siendo cada vez mas frecuente la aparición de plantas enfermas en zonas tradicionales del cultivo donde hasta hace unos años la enfermedad era puramente anecdótica.

En resumen, aunque la Verticilosis del olivo es una enfermedad relativamente nueva, hoy es reconocida como la principal amenaza del cultivo, no tanto por su extensión e importancia, sino por la dificultad de su control. Tenemos muchas preguntas, algunas de difícil respuesta: ¿Porqué la enfermedad está avanzando y afectando a nuevas zonas de cultivo con ataques cada vez más severos?, ¿como podríamos luchar contra ella de una forma

económica, eficaz y ambientalmente respetuosa?. La respuesta, como en otras enfermedades, requiere comprender la biología y epidemiología del patógeno: donde y como sobrevive, como se dispersa y llega a la planta, como penetra y se multiplica en ella, y qué factores ambientales bióticos ó abióticos influyen en todos estos modificando la enfermedad.

Sintomatología

Aunque la VO no se manifiesta siempre con los mismos síntomas, en Andalucía se han descrito dos complejos sintomatológicos denominados "Apoplejía" y "Decaimiento lento" (Blanco-López *et al.*, 1984). La Apoplejía consiste en una necrosis o muerte rápida de ramas y brotes o de la planta completa (Figura 1). Este síndrome se manifiesta inicialmente por la pérdida de color verde intenso de las hojas de las ramas afectadas, que toman progresivamente un tono pajizo y finalmente sufren un abarquillamiento hacia el envés. Aunque las hojas permanecen firmemente adheridas, en árboles muy jóvenes se puede producir una defoliación parcial de las ramas afectadas. Este complejo de síntomas suele producirse durante el otoño o invierno (Trapero-Casas y Blanco-López, 2004). El Decaimiento lento ocurre principalmente durante la primavera y a veces durante el otoño. En primavera, se caracteriza por la necrosis de las inflorescencias y en el otoño por la necrosis de frutos. En ambos casos quedan momificados en el árbol. En el decaimiento lento, las hojas de los brotes adquieren un color verde mate y normalmente se desprenden antes de secarse completamente. En el extremo apical de los brotes afectados suelen quedar algunas hojas adheridas que finalmente se secan. También es frecuente la aparición de un color morado en la superficie de las ramas afectadas, produciéndose en ocasiones, una coloración marrón o rojiza en los tejidos vasculares. Ambos síndromes pueden aparecer en el mismo árbol y afectar parcial o totalmente a la planta. Frecuentemente las plantas jóvenes pueden morir a consecuencia de la infección, aunque en otros casos en los que la raíz de la planta no muere, el olivo rebrota normalmente, pudiendo de nuevo manifestar la enfermedad en los años siguientes (Trapero-Casas y Blanco-López, 2004).

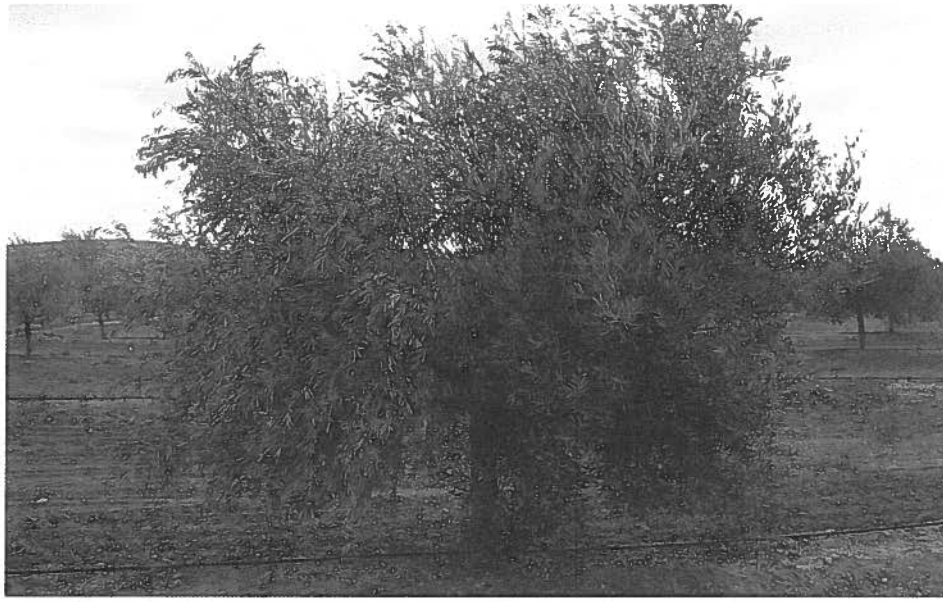


Figura 1. Árbol afectado sectorialmente con Apoplejía.

Los síntomas de la VO pueden confundirse con otros producidos por causas diversas: podredumbres radicales causadas por otros hongos de suelo, asfixia radical, deficiencias nutricionales, daños por manejo inadecuado, agentes abióticos o insectos. Por ello, para el diagnóstico de esta enfermedad es necesario es uso de las técnicas disponibles que ponen de manifiesto la infección por el patógeno.

Etiología

La Verticilosis del olivo está causada por el hongo Hifomiceto *Verticilliun dahliae* Kleb. El género *Verticillium* fue establecido por Nees von Esenbeck en 1816 en base a la morfología de sus conidióforos: erectos, septados y ramificados verticiladamente (generalmente 3-4 fiálidas por verticilo). Han sido identificadas varias especies en el género, de las cuales las más importantes son *V. dahliae* y *V. albo-atrum. V. albo-atrum* fue descrito en 1879 por Reinke y Berthold como agente causal de la marchitez de la patata. Un poco más tarde, en 1913, Klebahn describió por primera vez a *V. dahliae* en plantas de dalia afectadas de marchitez. Ambas especies del género Verticillium, causan la mayoría de las enfermedades vasculares en los cultivos, particularmente en las regiones templadas y tropicales del mundo (Isaac, 1967; Pegg, 1974; Pegg y Brady, 2002). Ambas especies son necró-

trofos obligados, es decir, tienen escasa capacidad saprofítica; prácticamente son simbiontes obligados que se alimentan de células muertas de plantas vivas, por lo que también son reconocidos en la fitopatología como invasores de suelo o habitantes de raíces, caracterizados por poseer una fase parasítica extensa sobre los tejidos del huésped y una fase saprofítica reducida en el suelo. En adelante nos referiremos exclusivamente a *V. dahliae* puesto que es el único de las dos especies mencionadas que causa infecciones vasculares en olivo. *V. dahliae* tiene conidias pequeñas producidas en fiálidas y unas estructuras vegetativas multicelulares denominadas microesclerocios. Las conidias son responsables en parte, de la colonización de la planta y los microesclerocios de la infección y de la supervivencia en el tiempo del patógeno

Variabilidad patogénica y gama de huéspedes

V. dahliae es un hongo poco especializado en cuanto a la capacidad de causar infección en diversas especies. Ello significa que la mayoría de sus aislados son capaces de infectar especies vegetales diversas. Así, aislados procedentes de berenjena, pimiento algodón o tomate, pueden resultar patogénicos sobre olivo o viceversa. No obstante, en algunos casos existe cierta adaptación o preferencia patogénica como en olivo, algodón, tomate o cártamo en el que algunos aislados son más virulentos que otros. Existen otros casos con un nivel superior de especialización, como en tomate, en el que se han descrito razas (Bender y Shoemaker, 1984).

Para el tema que nos ocupa, ha adquirido especial importancia la existencia de aislados o patotipos de *V. dahliae* que tienen una virulencia excepcional sobre algunos huéspedes. En algodón y olivo, se han identificado los patotipos defoliantes (causan defoliación y muerte en cultivares resistentes y susceptibles a los no defoliantes) y no defoliantes (causan muerte sin defoliación en cultivares susceptibles y síntomas ligeros en los resistentes) (Schnathorst y Mathre, 1966a,b). Estos aislados se diferencian esencialmente por la severidad de las reacciones de las plantas infectadas por ellos. Los aislados defoliantes resultan más virulentos que los no defoliantes, producen mas enfermedad y en menor tiempo que los no defoliantes. En Andalucía, existen ambas poblaciones de aislados en las áreas del cultivo del algodón y del olivo (Bejarano-Alcázar *et al.*, 1996, López-Escudero y Blanco-López, 2001a; Rodríguez-Jurado *et al.*,1993). Aunque afortunadamente los patotipos de virulencia moderada son los más frecuentes actualmente en las zonas de olivar, sin embargo, el aislado defoliante que en los años 80 estaba localizado en las Marismas del Guadalquivir, se está extendiendo y amenazando las plantaciones del olivar (López-Escudero y Blanco-López, 2001a).

La importancia aplicada de este hecho se refleja en los resultados de investigaciones recientes realizadas en microparcelas infestadas con diferentes niveles de densidad de inóculo en el suelo. Un año después de la plantación del cultivar susceptible Picual, aparecían las primeras plantas enfermas con solo 0,04 Microesclerocios por gramo de suelo (MSg) y en torno al 20% con 10 MSg. Por el contrario aún no había aparecido la enfermedad con los niveles superiores de inóculo del aislado no defoliante (López-Escudero y Blanco-López, 2001b).

También existen diferencias morfológicas y fisiológicas entre los patotipos, como la temperatura óptima de crecimiento o capacidad para metabolizar diferentes compuestos como la sanguinaria (Bejarano-Alcázar *et al.*,1996; López-Escudero *et al.*, 2003; López-Escudero y Blanco-López, 2005a). Además existen diferencias genéticas reflejadas en estudios de compatibilidad vegetativa que han mostrado que los aislados defoliantes y no defoliantes de *V. dahliae* pertenecen a grupos diferentes, demostrándose así la estrecha relación existente entre grupos de compatibilidad vegetativa y patogenicidad en algunas poblaciones (Korolev *et al.*,2000; Joaquim y Rowe, 1991) Esta variabilidad de los aislados se pueden distinguir mediante el empleo de cebadores arbitrarios individuales que amplifican polimorfismos de ADN en la reacción en cadena de la polimerasa (Mercado-Blanco *et al.*, 2003; Pérez-Artés *et al.*, 2003).

Entre los huéspedes de *V. dahliae* se incluyen especies cultivadas y malas hierbas herbáceas y leñosas (Hiemstra y Harris, 1998; Pegg y Brady, 2002; Thanassoulopoulos *et al*, 1981). Además, es capaz de infectar las células epidérmicas de plantas resistentes a la infección vascular, como algunos cereales y gramíneas silvestres (Benson y Ashworth, 1976; Levy e Isaac, 1976). Los principales huéspedes de *V. dahliae* se ilustran en la Tabla 2.

Tabla 2. Principales especies huéspedes de Verticillium dahliae

Cultivos herbáceos extensivos	Alfalfa, algodón, cártamo, garbanzo, girasol, remolacha, soja.
Especies y cultivos leñosos y arbustivos	Aguacate, albaricoque, almendro, cacao, café, cerezo, chirimoyo, ciruelo, fresno, kiwi, melocotonero, olivo, olmo, peral, pistacho, vid,
Cultivos hortícolas	Berenjena, fresa, melón, patata, pepino, pimiento, rábano, sandía, tomate.
Ornamentales	Clavel, crisantemo, dalia, rosal.

Malas hierbas

Anagallis (murajes), *Capsella bursa pastoris* (bolsa de pastor), *Diplotaxis erucoides* (jaramago blanco), *Diplotaxis muralis* (jaramago amarillo), *Erodium* (agujas), *lamium* (conejitos), *Malva* sp. (malva), *Medicago* (alfalfa silvestre), *Portulaca oleracea* (verdolaga), *Senecio vulgaris* (hierba cana), *Solanum nigrum* (tomatito), *Veronica persea* (verónica), *Xanthium* sp

Ciclo de patogénesis

El ciclo de la enfermedad comienza y termina con los microesclerocios del patógeno. Los microesclerocios son las estructuras de supervivencia del hongo, que tienen la capacidad de soportar condiciones adversas del ambiente físico y biológico del suelo, y permanecer viables durante periodos de tiempo prolongados de hasta 15 años (Wilhelm, 1955). Los microesclerocios además, inician la infección de la planta a través de las raíces, alcanzando los haces vasculares, produciendo micelio y nuevas esporas (Pegg y Brady, 2002). Cuando la colonización es extensa, ayudada por el transporte de las esporas por la corriente de transpiración del xilema, se desencadena la expresión de los síntomas (marchitez y desecación de brotes, defoliación en verde, deshidratación de las inflorescencias, etc.). El resultado final es la formación de microesclerocios en todos los tejidos infectados de la planta. Transcurrido el tiempo necesario para la muerte y descomposición de los tejidos infectados, los microesclerocios libres o embebidos en los restos se incorporan al suelo. De esta forma se cierra el ciclo de la enfermedad y el inóculo (microescleriocios), está preparado para causar un nuevo ciclo de infección (Figura 2).

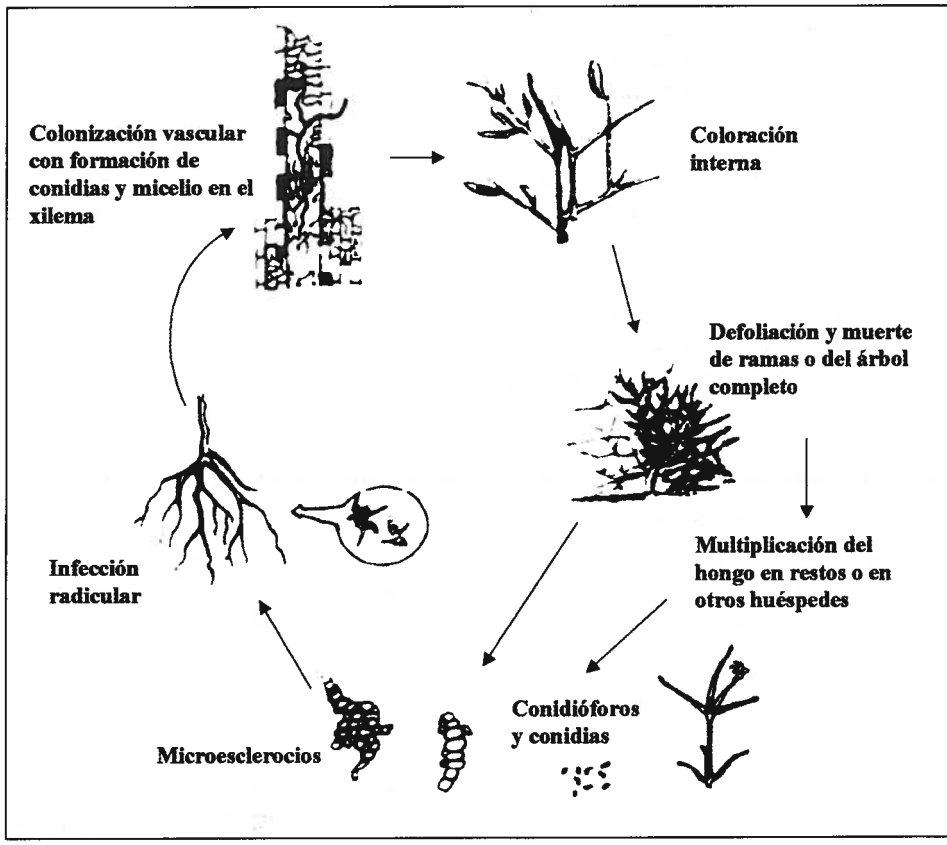


Figura 2. Ciclo biológico de *Verticillium dahliae* (Trapero-Casas y Blanco-López, 2004)

Epidemiología

La epidemiología es la parte de la Patología Vegetal que estudia la enfermedad en el campo, su evolución en el tiempo y la influencia de los factores que determinan su progreso. La esencia de la epidemiología está en el ciclo del patógeno. Es por ello que su conocimiento es básico para desarrollar estrategias de control. *V. dahliae* es un patógeno con un desarrollo epidémico denominado monocíclico. Este tipo de patógenos se caracterizan, entre otros por los siguientes aspectos:

1. Cada propágulo infeccioso realiza un solo ciclo de infección anual, por lo que la densidad de inóculo (cantidad de microesclerocios existentes en el suelo por unidad de peso) permanece constante a lo largo del año.

2. La tasa de infección refleja la eficacia del inóculo y está determinada por factores del huésped (nivel de susceptibilidad, edad, nutrición, etc), patógeno (densidad de inóculo, virulencia) o ambiente (temperatura del aire, humedad, tipo de suelo, etc.).

Estos factores determinan la importancia de la enfermedad. La densidad de inóculo inicial es un factor que evoluciona lentamente, pero la tasa de infección, por su naturaleza, es un factor variable, por lo que las predicciones de riesgo y cuantificación de epidémias son difíciles de evaluar en cultivos herbáceos anuales (Bejarano *et al.*, 1995; Pullman y DeVay, 1982) y más aún en especies leñosas como el olivo (López Escudero y Blanco-López, 2001b; López Escudero y Blanco-López, 2006b).

Factores que influyen en ciclo del patógeno y en la patogénesis

El desarrollo de enfermedad que se produce en un olivar está relacionado como se ha dicho por factores ligados al patógeno, huésped y ambiente. Una forma ordenada de describir los posibles factores que favorecen la enfermedad puede ser describiendo las fases del ciclo de patogénesis. Sin entrar en demasiados detalles que ampliarían excesivamente el documento, se pueden incluir:

1. Supervivencia

Como ya se ha mencionado, los microesclerocios se forman en los tejidos moribundos o muertos de las plantas infectadas, especialmente en hojas y peciolos y otros tejidos herbáceos (Evans *et al.*, 1966; Tjamos y Botseas, 1987; Tjamos y Tsougriani, 1990; Wilhelm y Taylor, 1965). Por ello, es especialmente importante tener en cuenta el aporte de inóculo al suelo que se produce por las hojas caídas de los árboles afectados. Más tarde, los microesclerocios son liberados al suelo, cuando los restos vegetales son descompuestos por la actividad microbiana (Trapero-Casas y Blanco-López, 2004). También puede aumentar el inóculo en el suelo por la llegada del patógeno a la zona de infección.

Los cultivos susceptibles previos a la plantación de olivar es probablemente la causa más importante de la extensión de la Verticilosis en España. Algunos cultivos aumentan de forma eficiente la densidad de inóculo de *V. dahliae* en el suelo, lo que ha sido demostrado en muchos cultivos como algodonero, patata y tomate u olivo (Bejarano-Alcázar *et al.*, 1996; Evans *et al.*, 1966 ;Pegg, 1974; Tjamos y Botseas, 1987; Tjamos y Tsougriani, 1990). Como referencia indicativa pueden utilizarse los datos obtenidos en campos experimentales infestados de las Marismas del Guadalquivir, en el que tras 1 año de cultivo de algodonero, la densidad de inóculo aumentó entre 6 y 13 por gramo de suelo (Bejarano Alcazar *et al.*, 1994).

2. Dispersión

Quizá la segunda causa en importancia que puede explicar la rapidez y extensión de la Verticilosis es el uso de material de plantación infectado: injertos, yemas, brotes, estaquillas o cualquier parte de la planta infectada (Thanassoulopoulos, 1993). Sin embargo, no es la única vía y cada vez se están descubriendo nuevas formas de dispersión. Aunque *V. dahliae* es un hongo de dispersión lenta, tiene capacidad para dispersarse asociado al movimiento de suelo infestado (lluvia, viento, etc.), con aperos y herramientas, estiércol infestado, agua de riego o asociado a restos de tejidos, especialmente hojas o por las operaciones de poda (Blanco-López y Jiménez-Díaz, 1995; Easton *et al.*, 1969; García-Cabello, 2006; López-Escudero y Blanco-López, 1999; López-Escudero y Blanco-López, 2005b; Thanassoulopoulos *et al.*, 1980; 1981; Wilhem y Taylor, 1965).

3. Penetración.

V. dahliae penetra directamente las células epidérmicas de la raíz, pero la penetración se ve favorecida por las heridas. Las heridas producidas de forma natural, por el laboreo del suelo, por daños en el trasplante, por organismos del suelo, nematodos u otras causas, favorecen la infección y contribuyen a una rápida colonización vascular (Al-Ahmad y Mosli, 1993; Serrhini y Zeroual, 1995; Tjamos, 1993).

4. Infección y enfermedad

Una vez producida la infección son numerosos los factores que influyen en el desarrollo de la enfermedad, si bien en muchos casos el modo de acción es desconocido. Entre los factores más importantes hay que destacar la resistencia huésped y la virulencia del patógeno.

Los trabajos iniciales de Rodríguez Jurado sobre el desarrollo de la infección y enfermedad en Picual y Oblonga, pusieron de manifiesto que el cultivar Picual era susceptible al aislado no defoliante (V4) y extremadamente susceptible al aislado defoliante (V117), mientras que el cultivar Oblonga resultó resistente al no defoliante y moderadamente resistente al defoliante. El aislado más virulento colonizó las plantas más rápida e intensamente que el menos virulento (Rodríguez Jurado, 1993). Desde entonces, se ha identificado la resistencia o susceptibilidad de más de 100 cultivares de olivo a ambos patotipos, de los que cabe destacar la resistencia expresada por Empeltre, Frantoio y Changlot Real frente al resto de cultivares (López-Escudero, 1999; López-Escudero *et al*, 2004; 2006; Martos-Moreno, 2003; Martos-Moreno *et al.*, 2006; Raya-Ortega, 2005).

Adicionalmente, en estudios de resistencia de combinaciones patrón-injerto, las variedades desarrolladas sobre su propia raíz son más suscepti-

bles que cuando fueron injertados sobre 'Empeltre', 'Frantoio' u 'Oblonga' tanto en plantas infectadas artificialmente (Porras-Soriano *et al.*, 2003) como en campos naturalmente infestados con mezclas de aislados (Martos-Moreno *et al*, 2001; 2002; Martos-Moreno, 2003). Sin embargo, la respuesta de individuos procedentes de combinaciones patrón-injerto puede ser superada, en condiciones de campo, como consecuencia de los factores modificadores: ambiente, virulencia y cantidad de patógeno en el suelo y manejo inadecuado.

El riego favorece las verticilosis en general y la del olivo en particular. Es un hecho indiscutible que la enfermedad es más severa en campos regados que en secano (Jiménez-Díaz *et al.*, 1984; Jiménez-Díaz *et al.*, 1998), sin embargo la naturaleza del fenómeno no es bien conocida, pudiendo ser debida tanto a la llegada de inóculo a través del agua, a la acción del riego sobre el incremento del inóculo del suelo, o al efecto favorable del riego sobre la enfermedad (López-Escudero y Blanco-López, 2005b; García-Cabello, 2006)

La temperatura óptima de *V. dahliae* se sitúa entre 22 y 25ºC que es coincidente con la óptima para el desarrollo de la mayoría de las Verticilosis (Garber y Presley, 1971). En olivo, la severidad de las infecciones también se favorece por temperaturas en el aire de 20-25ºC (Wilhelm y Taylor, 1965). No obstante durante el verano cuando las temperaturas se elevan por encima de los 25ºC, el patógeno interrumpe su crecimiento en la planta y el desarrollo de síntomas se detiene.

Los factores biológicos influyen en todas las fases del ciclo del patógeno que hemos ido describiendo, sin embargo es en el proceso de infección y en el desarrollo de la enfermedad cuando tienen mayor importancia y la investigación está dedicando mayor esfuerzo. En las estrategias de control biológico se ampliará el contenido de la información disponible para evitar repeticiones innecesarias.

Control

El control de la VO es difícil debido a las características específicas del patógeno (Tabla 3) y su ciclo de vida (Figura 2). Por ello, es fácilmente deducible que la VO es una enfermedad difícil de combatir debiéndose aplicar una estrategia de lucha integrada, básicamente preventiva, que ha quedado reflejada en publicaciones anteriores según esquemas de fácil interpretación (Figura 3; Blanco-López y Jiménez-Díaz, 1995).

Tabla 3. Características epidemiológicas del agente

Supervivencia prolongada en el suelo mediante microesclerocios.
Extensa gama de especies huéspedes cultivadas o no
Amplia variabilidad patogénica
Periodo prolongado de exposición a la infección
Infección sistémica de la planta y localización en el xilema

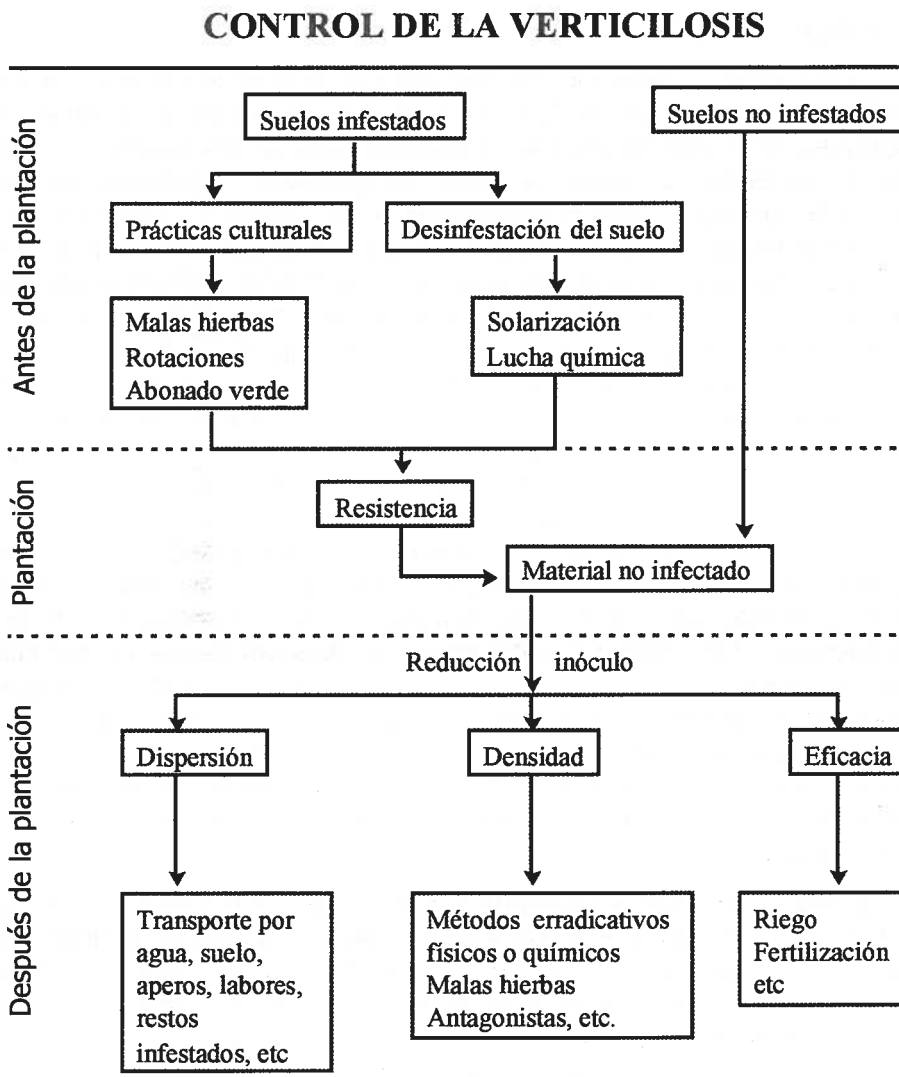


Figura 3. Estrategia de lucha integrada contra la Verticilosis del olivo (Blanco-López y Jiménez-Díaz, 1995, Trapero-Casas y Blanco-López, 2004)

Cualquiera de las medidas de lucha a aplicar para el control de la Verticilosis, pueden tener un efecto epidemiológico diferente: reducen la densidad de inóculo inicial o bien la tasa de infección. En cualquier caso, la forma de desarrollo de las estrategias de lucha contra la VO, será mediante la aplicación de los diferentes métodos que indicamos a continuación. Se han agrupado por el tipo de técnicas o prácticas, dentro de cada epígrafe, independientemente de su modo de acción, eficacia o efecto epidemiológico.

Prácticas culturales

Estos métodos pueden ser de gran eficacia, aunque difícilmente cuantificable. Algunos métodos reducen la población del patógeno en tanto que otros reducen la tasa de infección. Los métodos culturales pueden ser métodos de exclusión que evitan el acceso del patógeno: desinfestar arados y aperos de labranza, evitar el emplazamiento de huertos o cultivos susceptibles entre líneas o en la proximidad. Otros son métodos erradicativos: rotación con cultivos no susceptibles antes de la plantación: poda de ramas afectadas, destrucción de restos infestados de plantas enfermas, control de malas hierbas, abonado en verde como el enterrado de ciertas especies de leguminosas, pasto de Sudan o la aplicación de restos orgánicos. En cuanto a la aplicación de estos sustratos tiene un efecto beneficioso adicional puesto que mejoran la estructura física del suelo, incrementan o activan la población de organismos antagonistas o liberan compuestos químicos con acción fungicida o fungistática. De esta forma han resultado muy eficaces en algunos casos en la erradicación de *V. dahliae* en el suelo la aplicación de restos de *Brassicae oleraceae, Cistus albidus, C. salvifolius, C. ladanifer, C. aurantium, Diplotaxis* spp., *Lavandula stoechas, Sorghum halapense, Thymus mastichina* y *Zea maydis,* o de plantas con altos contenidos de nitrógeno para la formación de amoniaco (NH3) o ácido nitroso (HNO2), compost, alperujo, etc. (Chebâani *et al.* 2002, DeVay y Pullman, 1984; Diánez *et al.*, 2004; Goicoechea *et al.* 2004; Lazarovits *et al.*, 2000; Tenuta y Lazarovits, 2004). Aunque los resultados en condiciones controladas han sido exitosos, sin embargo, los resultados en campo o no se han investigado o han resultado variables.

El riego es otro factor importante en el manejo de la Verticilosis, favoreciendo la enfermedad con la aplicación de dosis o frecuencias de riego excesivas o en determinados momentos susceptibles para la infección (Blanco López y DeVay, 1987). Se recomienda reducir el riego y aplicarlo en el verano, periodo desfavorable para la actividad del patógeno, así como disminuir el uso de abonos nitrogenados y realizar un abonado equilibrado (Trapero-Casas y Blanco-López, 2004). Otros métodos de evasión como el mínimo laboreo para reducir heridas y dispersar el patógeno son sin duda apropia-

dos, pero difícil de estimar el efecto cuantitativo que puedan tener sobre el control de la enfermedad. Sin embargo, estos métodos culturales puede aumentar la recuperación natural de la enfermedad. Este hecho ha sido puesto de manifiesto en parcelas experiemntales del cultivar susceptible Picual, establecidas en suelos infestados, en las que la incidencia general de enfermedad se redujo significativamente a lo largo de 6 años de observaciones utilizando simplemente los métodos culturales mencionados (Blanco López *et al.*, 1990). El efecto evasivo y erradicativo de estas prácticas ha motivado la reducción de la enfermedad, hecho que se ha confirmado posteriormente, al descubrir que la base científica de esta recuperación es debida a la necesidad del patógeno de causar nuevas infecciones (López-Escudero, 1999; López- Escudero y Blanco-López, 2005c).

Métodos físicos y químicos

La solarización durante el verano con láminas de polietileno transparente, es eficaz para controlar patógenos de suelo, evitar su distribución y favorecer la recuperación de la planta (Blanco-López *et al.*, 1992; Jiménez–Díaz *et al.*, 1992; López-Escudero y Blanco-López, 2001a; Tjamos *et al.*, 1991).

El control químico en aplicación sobre la planta, de enorme eficacia e importancia en otras enfermedades, no ha tenido un efecto similar sobre la VO. Aunque existen compuestos químicos de eficacia probada *in vitro*, el habitat de supervivencia e infección del patógeno, hacen que los métodos químicos y especialmente los métodos terapéuticos hayan resultado de escasa o nula eficacia para el control de la enfermedad. Sin embargo para la desinfestación del suelo existen compuestos como el Bromuro de Metilo, Cloropicrina, Metam Sodio u otros compuestos que liberan metilisotiocianato que resultan eficaces contra *V. dahliae*, aunque tienen grandes limitaciones ambientales y económicas. El Metam sodio puede aplicarse solo o en combinación con la solarización para la desinfestación localizada del suelo en problemas de replanteo. Otros fungicidas como Carbendazima o Fosetil-Al en aplicación foliar o inyección al tronco o estos y Permanganato potásico, aplicado al suelo en el riego, ha tenido escaso éxito (Sánchez-Alcalá, 2005), aunque algunos autores han señalado la reducción del patógeno en el suelo a grandes dosis (Santos-Palanco, 1998) o su eficacia curativa (Gallego-Álvarez, 1994).

Métodos biológicos

Numerosos los intentos pero pocos los éxitos en el biocontrol contra las Verticilosis. En patata por ejemplo, se ha señalado un efecto diferencial dependiente de los cultivares, es decir la eficacia del tratamiento dependió

del cultivar empleado. En muchos casos se ha demostrado la eficacia en estudios in vitro e incluso in vivo en condiciones controladas o invernadero, en tanto que han fallado en condiciones de campo. Actualmente se está incentivando la investigación sobre la eficacia del uso o activación de organismos antagonistas sobre las Verticilosis con éxito variable. El efecto antagonista sobre patógenos de suelo y en particular sobre *V. dahliae* puede ser atribuido a alguno o varios de los siguientes factores: a) inhibición de la formación de microesclerocios en los tejidos infectados; b) destrucción de los microesclerocios formados en dichos tejidos; c) reducción o destrucción del inóculo en el suelo por la acción de agentes antagonistas; d) inhibición de la germinación de los microesclerocios por antagonistas e) prevención de la infección de la raíz de la planta y f) aumento de la resistencia de la planta. Para ello se han utilizado con éxito variable de forma única o en combinación con otros agentes biológicos o medio físicos, algunos de los siguientes agentes fúngicos o bacterianos: *Trichoderma, Penicillium, Aspergillus, Gliocladium roseum, Talaromyces flavus Aspergillus terreus, Bacillus* sp *Pseudomonas fluorescens*, etc. (Chebâani *et al.* 2002; Grondona *et al.*, 2004; Mercado-Blanco *et al.* 2004; Tjamos *et al.*, 1991). La actividad antagonista que ejercen puede ser muy variada, ocasionando la reducción de la germinación de los microesclerocios y el crecimiento de las hifas por la acción de compuestos diversos como quitinasas o glucosa-oxidasas (Madi *et al.* 1997). Otra perspectiva de control mediante organismos antagonistas es el uso de aislados no patogénicos de *V. dahliae* que protegen a la planta, interfieren o inducen resistencia frente a la infección posterior con aislados más virulentos, produciéndose una menor cantidad de enfermedad que en las plantas no inoculadas previamente (Martos-Moreno, 2003). Esta capacidad de proteger o inducir resistencia de aislados no patogénicos de *V. dahliae* ha sido demostrada también contra otras enfermedades vasculares como la grafiosis del olmo (Solla y Gil, 2003).

En sentido amplio, dentro de los métodos de control biológico pueden incluirse también cualquiera de las formas de uso de resistencia, desde los cultivares resistentes a la protección de la planta mediante organismos antagonistas o resistencia inducida ya mencionadas.

La resistencia es la capacidad de la planta de prevenir, retardar o restringir la penetración y posterior desarrollo del patógeno en los tejidos del huésped. En olivo se dispone de una fuente de variabilidad genética muy amplia para buscar resistencia a este patógeno. En España se han identificado más de 250 variedades de olivo, encontrándose la mayor parte de ellas en el Banco Mundial de Germoplasma del Centro de Investigación y Formación Agraria y Pesquera y de la Producción Ecológica (IFAPA) de Córdoba junto a otras extranjeras. Los trabajos desarrollados desde 1994 en el Departamento de Agronomía de la Universidad de Córdoba, han permiti-

do, entre otros aspectos, desarrollar, validar y estandarizar los métodos de evaluación de resistencia del olivo a *V. dahliae* (Blanco-López *et al.*, 1998), gracias a los cuales se ha evaluado la resistencia de más de 100 cultivares, nacionales y extranjeros de interés, en condiciones de ambiente controlado, que favorecen el desarrollo de la enfermedad y algunos de ellos en condiciones de campo (López-Escudero, 1999; López-Escudero *et al.*, 2004; Martos-Moreno, 2003; Raya-Ortega, 2005; Rodríguez-Jurado, 1993). Todas las variedades evaluadas hasta el momento han manifestado mayor susceptibilidad al aislado defoliante que al no defoliante. La mayoría de las variedades son extremadamente susceptibles o susceptibles a éste aislado, incluyendo en estas categorías las de mayor difusión comercial ('Picual', 'Cornicabra' y 'Picudo'). Los cultivares 'Frantoio', 'Oblonga', 'Empeltre', 'Changlot Real' y 'Dolce Agogia' han mostrado una reacción resistente al aislado defoliante, expresada por menor severidad y retraso en aparición de síntomas, mayor recuperación de la infección y ausencia o escaso número de plantas muertas. (Blanco-López *et al.*, 1998; López-Escudero, 1999; López-Escudero *et al.*, 2004; Martos-Moreno, 2003; Raya-Ortega, 2005). Aunque la resistencia de los cultivares de olivo a *V. dahliae*, determinada por la metodología de evaluación en condiciones controladas puede ser extrapolada a condiciones de campo, la respuesta de dichos cultivares puede modificarse por el ambiente y el potencial de inóculo, superando en condiciones extremas la resistencia de los cultivares (Blanco-López *et al.*, 1998).

El uso de portainjertos resistentes, aporta un elemento adicional para el control de la VO. En los experimentos en condiciones controladas y en campo, utilizando como portainjertos los cultivares 'Empeltre', 'Frantoio' u 'Oblonga', los árboles injertados permanecieron asintomáticos, en algunos casos hasta 16 años y en cualquier caso con incidencias inferiores a los correspondientes testigos no injertados (Martos-Moreno 2003; Porras Soriano *et al.*2003). En particular, cultivares susceptibles o extremadamente susceptibles injertados sobre 'Oblonga', como 'Cornicabra' y 'Picudo' u 'Hojiblanca' y 'Lechín de Granada', no manifestaron síntomas durante tres años, en tanto que la incidencia de enfermedad en los mismos cultivares no injertados osciló entre el 14.3 y 85.7 %.

Nuevas perspectivas de control

No cabe duda de que la extensión e incremento de la VO en los últimos años, continuará durante los próximos, aunque es difícil establecer con precisión el ritmo de este proceso. De forma similar, podemos predecir que la probabilidad de descubrir un método curativo prodigioso será muy baja. Es posible que en un futuro próximo, gran parte de los temas de investigación sobre el control de la VO, vayan dirigidos a líneas de investigación, en

muchos casos ya iniciadas y de las que se han obtenido algunos resultados de gran interés. Algunas de estas líneas pueden ser:

1. Resistencia. Identificación de resistencia en Bancos de Germoplasma de Olivo y en material silvestre (acebuche). Incorporación de resistencia mediante programas de mejora. Utilización de portainjertos o cultivares resistentes. Sin duda, esta es la línea de investigación más esperanzadora que puede proporcionar un control apropiado manteniendo los recursos agrícolas de forma sostenible.
2. Control biológico. El uso de los antagonistas biológicos contra la Verticilosis en olivo no ha hecho nada más que iniciarse. El estudio de los mecanismos de acción de los tratamientos biológicos, puede conducir al descubrimiento de moléculas bioactivas nuevas, que se puedan utilizar para controlar la Verticilosis. Probablemente esta será una de las principales líneas futuras de investigación que ayudará a controlar ésta enfermedad.
3. Prácticas de cultivo. Realmente relacionada con la anterior. La aplicación de sustratos orgánicos, cubiertas vegetales, abonado verde, etc. Sin duda puede contribuir a reducir la población del patógeno y por consiguiente la enfermedad en olivares afectados. Es por tanto necesaria la investigación para descubrir el mecanismo de la acción de estos tratamientos y confirmar el potencial de control de los mismos.
4. Establecimiento de métodos predictivos basados en el uso de técnicas de detección y cuantificación precoz del patógeno y establecimiento de niveles de riesgo, necesarios para la toma de decisiones previas a la plantación.
5. Mejora de los métodos excluyentes: certificación de material vegetal y exclusión y erradicación del patógeno mediante medios físicos y/o químicos.

El resultado de estas líneas sin duda proporcionará métodos de lucha que pueden integrarse reestableciendo el equilibrio del olivo y sus parásitos, que reduzca las pérdidas por debajo de un nivel permisible y compatible con el medio ambiente.

REFERENCIAS

AL-AHMAD, M. A., AND MOSLI, M. N. 1993. Verticillium wilt of olive in Syria. EPPO Bull. 23:521-529.

ANÓNIMO, 1999. Real Decreto 1678/1999 de 29 de Octubre (BOE 276, 18 de Noviembre de 1999).

BEJARANO-ALCÁZAR, J., BLANCO-LÓPEZ, M. A., MELERO-VARA, J. M. AND JIMÉNEZ-DÍAZ, R. M. 1994. Influence of crop rotation on population of defoliating and nondefoliating pathotypes of *Verticillium dahliae* in field soils. 6th Verticillium Symposium. Dead Sea, Israel.

BEJARANO-ALCÁZAR, J., MELERO-VARA, J. M., BLANCO-LÓPEZ, M. A. AND JIMÉNEZ-DÍAZ, R. M. 1995. Influence of inoculum density of defoliating and nondefoliating pathotypes of Verticillium dahliae on epidemics of Verticillium wilt of cotton in southern Spain. Phytopathology 85: 1474-1481.

BEJARANO-ALCÁZAR, J., BLANCO-LÓPEZ, M.A., MELERO-VARA, J.M., JIMÉNEZ-DÍAZ, R.M. 1996. Etiology, importante and distribution of Verticillium Wilt of cotton in Southern Spain. Plant Disease 80: 1233-1238.

BENDER, C.G. AND SHOEMAKER, P.B., 1984. Prevalence of Verticillium wilt of tomato and virulence of *Verticillium dahliae* race 1 and race 2 isolates in western North Carolina. Plant Dis. 68: 305-309.

BENSON, D. M. AND ASHWORTH, L. J. JR. 1976. Survival of *Verticillium albo-atrum* on nonsuscept roots and residues in field soil. Phytopathology 66: 883-887.

BLANCO-LÓPEZ, M. A. Y JIMÉNEZ-DÍAZ, R. M. 1995. Una propuesta de lucha integrada contra la Verticilosis del olivo. Fruticultura Profesional 70: 52-57.

BLANCO-LÓPEZ, M.A., JIMÉNEZ-DIAZ, R.M. Y CABALLERO, J.M. 1984. Symptomatology, incidente and distribution of Verticillium wilt of olive trees in Andalucia. Phytopathologia Mediterranea 23 :1-8.

BLANCO-LÓPEZ, M.A, DEVAY, J.E. 1987. Effect of different irrigation regimes on Verticillium wilt, proline content and Leaf water potential in cotton, Proceedings VII Congress of the Mediterranean Phytopahtological Union, Granada, España

BLANCO LÓPEZ, M.A., RODRÍGUEZ JURADO, D. JIMÉNEZ DÍAZ, R.M. 1990. Incidence and seasonal variation of Verticillium wilt in olive orchards. 5th International Verticillium Symposium, Leningrad, USSR , Abstr, pg: 5

BLANCO LÓPEZ, M.A., JIMÉNEZ DÍAZ, R.M., MELERO VARA, J.M., BEJARANO ALCAZAR, J. 1992 Integrated control of Verticillium wiltof cotton by soil solarization and tolerant cultivars E.S. Tjamos *et al.*(Eds.) Biological control of Plant Diseases New York, Plenun Press, New York. Vol 230 pp: 63-67

BLANCO-LÓPEZ, M.A., HIEMSTRA, J., HARRIS, D., LÓPEZ-ESCUDERO, F. J. Y ANTONIOU, P., 1998. Selection and screening for host resistance, p. 51-54. In: Hiemstra J. and D. Harris (eds.). Compendium of Verticillium Wilt in Tree Species. Ponsen & Looijen, Wageningen, The Netherlands.

CABALLERO, J.M., PÉREZ-HERNÁNDEZ, J., BLANCO-LÓPEZ, M.A., JIMÉNEZ-DÍAZ, R.M. 1980. Olive, a new host of *Verticillium dahliae* in Spain. En: Proc. 5th Congr. Medit. Phytopath. Union. Patras. P. 50.

CHEBÂANI, M., CASTILLO, P., YÉLAMOS, J., DIÁNEZ, F., SANTOS, M., VILLAESCUSA, J., BLANCO, R., TRILLAS, I., AVILÉS, M., TELLO, J.C., 2002.

Microbiota antagonista (hongos, bacterias, actinomicetes y levaduras) en el compostado de residuos de olivo (alperujo). XI Congreso de la Sociedad Española de Fitopatología. Almería. Pp.276.

CIVANTOS, L. 2004. La olivicultura en el mundo y en España, p. 17-35. In: Barranco D., R. Fernández-Escobar, and L. Rallo (eds). El cultivo del olivo. Junta de Andalucía y Ediciones Mundi-Prensa, Madrid, Spain. 800 pp.

DEVAY, J.E. AND PULLMAN, G.S., 1984. Epidemiology and ecology of diseases caused by Verticillium species, with emphasis on Verticillium wilt cotton. Phytopatología Mediteranea Vol. XXIII, 1984, pag. 95.108.

DIÁNEZ, F., SANTOS, M., BOIX, A., MARTÍNEZ, R. E., DE CARA, M., TELLO, J. C. 2004. Efecto supresor del extracto acuoso del compost de orujo de vid frente a hongos fitopatógenos edáficos. XII Congreso de la Sociedad Española de Fitopatología. Lloret de Mar (Girona). pp. 233.

EASTON, G. D., NAGLE, M. E. AND BAILEY, D. L. 1969. A method of estimating *Verticillium albo-atrum* propagules in field soil and irrigation water. Phytopathology 59: 1171-1172.

EVANS, G., SNYDER, W. C. AND WILHELM, S. 1966. Inoculum increase of the Verticillium wilt fungus in cotton. Phytopathology 56: 590-594.

GALLEGO ÁLVAREZ, F. J., 1994. La Verticilosis del olivo. Control mediante inyecciones en el tronco de carbendazima. Fruticultura Profesional 62: 18-22.

GARBER, R. H. AND PRESLEY, J. T. 1971. Relation of air temperature to development of *Verticillium* wilt on cotton in the field. Phytopathology 61: 204-207.

GARCÍA-CABELLO, S. 2006. Distribución de Verticillium dahliae a través del agua de riego. Trabajo Profesional Fin de Carrera, Universidad de Córdoba. 110 pp.

GOICOECHEA, N., AGUIRREOLEA, J., GARCÍA-MINA, J. M. 2004. Alleviation of Verticillium wilt in pepper (*Capsicum annuum* L.) by using the organic amendment COA H of natural origin. Scientia Horticulturae 101: 23-37.

GRONDONA, I., RODRÍGUEZ, A.M., GÓMEZ, M. I., AZPILICUETA, A., LLOBELL, A., MONTE, E. 2004. Desarrollo de TUSAL®: un biofungicida a base de cepas de *Trichoderma harzianum* y *T. viride* para el control de hongos fitopatógenos. XII Congreso de la Sociedad Española de Fitopatología. Lloret de Mar (Girona).pp. 297.

HIEMSTRA, J.A., HARRIS D.C. 1998 (eds.). A compendium of Verticillium wilts in tree species. Ponsen & Looijen, Wageningen.

ISAAC, I. 1967. Speciation in *Verticillium.* Annual Review of Phytopathology 5: 201-222.

JIMÉNEZ DÍAZ, R.M., BASALLOTE UREBA, M.J. BEJARANO ALCAZAR, J. BLANCO LÓPEZ, M.A. GÓMEZ VÁZQUES, J. GONZÁLEZ TORRES, R. MELERO VARA J.M. 1992. La solarización en la lucha contra hongos del suelo Hortofruticultura 3(9):53-61

JIMÉNEZ-DÍAZ, R.M., TJAMOS, E.C., CIRULLI, M. 1998. *Verticillium* wilt of major tree host: olive. In: Hiemstra, J.A., Harris, D.C. (eds.). A Compendium of

Verticillium Wilt in Tree Species (Pp. 13-16).

JOAQUIM, T. R. AND ROWE, R. 1991. Vegetative compatibility and virulence of strains of *Verticillium dahliae* from soil and potato plants. Phytopathology 81: 552-558.

KOROLEV, N., KATAN, J. AND KATAN, T. 2000. Vegetative compatibility groups of *Verticillium dahliae* in Israel: their distribution and association with pathogenicity. Phytopathology 90: 529-536.

LAZAROVITS, G., CONN, K., TENUTA, M. 2000. Control of *Verticillium dahliae* with soil amendments: Efficacy and mode of action. In: Advances in Verticillium research and disease management Tjamos, E.C., Rowe, R.C., Heale, J.B., Fravel, D.R.(eds.). APS Press. 357pp.

LEÓN-GALLEGO, M. 2000. Etiología e importancia de la "seca" del olivar en la comarca de la Sierra de Cádiz. Trabajo Profesional Fin de Carrera. Univ. de Córdoba. 114 Pp.

LEVY, J. AND ISAAC, I. 1976. Colonization of host tissue of varying resistance to *Verticillium dahliae.* Trans. Br. Mycol. Soc. 67: 91-94.

LÓPEZ-ESCUDERO, F. J. 1999. Evaluación de la resistencia de olivo a las variantes patogénicas de *Verticillium dahliae* y eficacia de la solarización en el control de la verticilosis. Tesis Doctoral, Universidad de Córdoba, España.

LÓPEZ-ESCUDERO, F. J. AND BLANCO-LÓPEZ, M. A. 1999. First report of transmission of *Verticillium dahliae* by infested manure in olive orchards in Anndalucia (Southern Spain). Plant Dis. 83: 1178.

LÓPEZ-ESCUDERO, F.J., BLANCO-LÓPEZ, M.A. 2001a. Effect of a single or double soil solarization to control Verticillium wilt in established olive orchards. Plant Dis. 85: 489-495.

LÓPEZ-ESCUDERO, F.J., BLANCO-LÓPEZ, M.A., 2001b. Epidemiological studies on Verticillium wilt of olive in artificially infested microplots. Abstracts of Papers of the 8th International *Verticillium* Symposium, Pag.62.

LÓPEZ ESCUDERO, F. J., MARTOS-MORENO, C Y BLANCO LÓPEZ M. A. 2003. Análisis y significado epidemiológico de la población de *Verticillium dahliae* en el suelo. 60 pp. Servicio de Publicaciones de la Universidad de Córdoba. España. 60 pp.

LÓPEZ ESCUDERO, F. J.; DEL RÍO, C.; CABALLERO, J. M., BLANCO LÓPEZ, M. A. 2004. Evaluation of olive cultivars for resistance to *Verticillium dahliae.* 2004. European Journal of Plant Pathology 110: 79-85.

LÓPEZ-ESCUDERO, F. J. AND M. A. BLANCO-LÓPEZ, 2005a. Isolation and morphologic characterization of microsclerotia of *Verticillium dahliae* isolate from soil. Biotechnology, 4: 296-304.

LÓPEZ-ESCUDERO, F.J., BLANCO-LÓPEZ, M.A. 2005b. Effects of drip irrigation on population of *Verticillim dahliae* in olive orchards. Journal of Phytopathology. Blackwell Publishing, Berlin.

LÓPEZ ESCUDERO, F. J., BLANCO LÓPEZ, M. A. 2005c. Recovery of young olive trees from *Verticillium dahliae*. European Journal of Plant Pathology 113: 367-375.

LÓPEZ ESCUDERO, F. J.; DEL RÍO, C.; CABALLERO, J. M., BLANCO LÓPEZ, M. A., 2006. Response of olive cultivars to stem puncture inoculation with a defoliating pathotype of *Verticillium dahliae*. Hortscience. Aceptado, en prensa.

MADI L., KATAN T., KATAN J., HENIS Y. 1997. Biological control of Sclerotium rolfsii and *Verticillium dahliae* by *Talaromyces flavus* is mediated by different mechanisms, Phytopathology 87 (10): 1054-1060.

MARTOS-MORENO C. 2003. Resistencia de cultivares de olivo al aislado defoliante de *Verticillium dahliae* Kleb. Y reducción de la enfermedad por la infección previa con el aislado defoliante. Tesis Doctoral, Universidad de Córdoba, 234 pp.

MARTOS-MORENO, C., CABALLERO, J. M., DEL RÍO, C. AND BLANCO-LÓPEZ, M. A. 2001. Epidemiological behavior of olive cultivars in orchard infested with mixtures of defoliating and non-defoliating isolates of *Verticillium dahliae*. Abstracts of the 8th Internat. Verticillium Symposium, p. 67. Córdoba, November.

MARTOS-MORENO, C.; LÓPEZ ESCUDERO, F. J.; BLANCO LÓPEZ, M. A. 2002. Comportamiento epidémico de variedades de olivo en campos comerciales infestados con *Verticillium dahliae*. Libro de resúmenes del XI Congreso Nacional de la Sociedad Española de Fitopatología. Almería. Pp. 224.

MARTOS-MORENO, C., LÓPEZ ESCUDERO, F. J., BLANCO LÓPEZ, M. A. 2006. Resistance of Olive Cultivars to the Defoliating Isolate of *Verticillium dahliae*. Hortscience 41: 1-4.

MERCADO-BLANCO, J., RODRÍGUEZ-JURADO, D., PARRILLA-ARAUJO, S., AND JIMÉNEZ-DÍAZ, R.M. 2003. Simultaneous detection of the defoliating and nondefoliating *Verticillium dahliae* pathotypes in infected olive plants by duplex, nested polymerase chain reaction. Plant Disease 87: 1487-1494.

MERCADO BLANCO, J., RODRÍGUEZ-JURADO, D., HERVÁS, A., JIMÉNEZ-DÍAZ, R. M. 2004. Supresión of Verticillium wilt in olive planting stocks by root-associated fluorescent Pseudomonas spp. Biological Control 30: 474-486.

PEGG, G. F. 1974. The impact of Verticillium diseases in agriculture. Phytopathol. Mediterr. 23, 176-192.

PEGG, G.F., BRADY, B.L. 2002. Verticillium wilts. Cromwell Press, Trowbrige.

Pérez-Artés E., Ruz-Carrillo A. and Jiménez-Díaz R. M. 2003. Detection of defoliating and non-defoliating pathotypes of *Verticillium dahliae* in soil by nested-PCR. Phytopathologia Mediterranea 42: 296.

Porras Soriano, A., Soriano Martín, M.L., Porras Piedra, A. 2003. GRAFTING OLIVE cv Cornicabra on rootstocks tolerant to *Verticillium dahliae* reduces their susceptibility. Crop Proteccion 22: 369-374.

PULLMAN, G. S. AND DEVAY, J. E. 1982. Epidemiology of Verticillium wilt of cotton: A relationship between inoculum density and disease progression. Phytopathology 72: 549-554.

RAYA-ORTEGA M.C. 2005. Resistencia en olivo a Phytophthora spp. y *Verticillium dahliae*. Tesis Doctoral. ETSIAM, Universidad de Córdoba. 394 pp.

RODRÍGUEZ JURADO, D. 1993. Interacciones huésped-parásito en la marchitez del olivo (*Olea europaea* L.) inducida por *Verticillium dahliae* Kleb. Tesis Doctoral. Univ. Córdoba. 324 pp.

RODRÍGUEZ-JURADO D., BLANCO-LÓPEZ, M. A., RAPOPORT, H. F., AND JIMÉNEZ-DÍAZ R. M. 1993. Present status of Verticillium wilt of olive in Andalucía (southern of Spain). EPPO Bull. 23: 513-516.

SÁNCHEZ-ALCALÁ, I. 2005. Evaluación de la eficacia de sustancias fungicidas para el control de la verticilosis y de la podredumbre radicular del olivo, Trabajo Profesional Fin de Carrera. ETSIAM, Universidad de Córdoba. 201 pp.

SÁNCHEZ-HERNÁNDEZ, M.E., RUIZ-DÁVILA, A., PÉREZ DE ALGABA, A., BLANCO-LÓPEZ, M.A., TRAPERO-CASAS, A. 1998. Ocurrente and etiology of death of young olive trees in southern Spain. Eur.J. Plant Pathol. 104: 347-357.

SANTOS-PALANCO, J. A. 1998. Evaluación de la eficacia de los fungicidas Beltanol –L y Fosbel–80–PM en el control de la verticilosis y de la podredumbre radicular del olivo (Olea europaea L.) causadas por *Verticillium dahliae* Kleb. y Phytophthora megasperma Drechs. Trabajo Profesional Fin de Carrera. ETSIAM, Universidad de Córdoba. 184 pp.

SERRHINI, M. N. AND ZEROUAL, A. 1995. La Verticilosis del olivo en Marruecos. Olivae 58:58-61.

SCHNATHORST, W.C., MATHRE, D.E. 1966a. Host range and differentiation of a severe form of Verticillium albo-atrum in cotton. Phytopathology 56: 1155-1161.

SCHNATHORST, W. C. AND MATHRE, D. E. 1966b. Cross-protection in cotton with strain of Verticillium albo-atrum. Phytopathology 56: 1204-1209.

Solla A. y Gil. 2003. Evaluating *Verticillium dahliae* for biological control of ophiostoma novo-ulmi in Ulmus minor. Plant pathology, vol. 52 (5): 579-585

TENUTA, M., LAZAROVITS, G. 2004. Soil properties associated with the variable effectiveness of meat and bone to kill microsclerotia of *Verticillium dahliae*. Applied Soil Ecology 25: 219-236.

THANASSOULOPOULOS, C. C. 1993. Spread of Verticillium wilt by nursery plants in olive groves in the Halkidiki area (Greece). Bulletin OEPP/EPPO 23: 517-520.

THANASSOULOPOULOS, C.C., BIRIS, D.A. AND TJAMOS, E.C. 1979. Survey of Verticillium wilt of olive trees in Greece. Plant. Dis. Reptr. 63: 936-940.

THANASSOULOPOULOS, C. C., BIRIS, D. A. AND TJAMOS, E. C. 1980. Dissemination of Verticillium propagules in olive orchards by irrigation water. Proc. 5th Congr. Mediterranean Phytopathol. Union, Patras, pp. 52-53.

THANASSOULOPOULOS, C. C., BIRIS, D. A. AND TJAMOS, E. C. 1981. Weed hosts as inoculum source of Verticillium in olive orchards. Phytopath. Medit. 20: 164-168.

TJAMOS, E. C. AND BOTSEAS, D. 1987. Occurrence of *Verticillium dahliae* in leaves of verticillium wilted olive-trees. Can. J. Plant. Path. 9: 86.

TJAMOS, E. C. AND TSOUGRIANI, H. 1990. Formation of *Verticillium dahliae* microsclerotia in partially disintegrated leaves of Verticillium affected olive trees. 5th International Verticillium Symposium, Leningrad (SU). pp. 20.

TJAMOS, E. C., BIRIS, D. A. AND PAPLOMATAS, E. J. 1991. Recovery of olive trees with Verticillium wilt after individual application of soil solarization in established olive orchards. Plant Dis. 75: 557-562.

TJAMOS, E. C. 1993. Prospects and strategies in controlling Verticillium wilt of olive. Bulletin OEPP/EPPO 23: 505-512.

TRAPERO-CASAS, A., BLANCO-LÓPEZ, M.A. 2004. Enfermedades. In: El cultivo del olivo. D. Barranco, R. Fernández-Escobar y L. Rallo (eds.). Mundi-Prensa y Junta de Andalucía, Madrid. Pp. 557-614.

WILHELM, S. 1955. Longevity of the Verticillium wilt fungus in the laboratory and field. Phytopathology 45:180-181.

WILHELM, S. AND TAYLOR, J. B. 1965. Control of Verticillium wilt of olive through natural recovery and resistance. Phytopathology 55: 310-316.

CONTROL DE ENFERMEDADES FÚNGICAS MEDIANTE EL USO DE BACTERIAS EN CULTIVOS DE ARROZ

Manuel Megías, Marta S. Dardanelli, Jorge Ojeda, Inmaculada del Castillo
Departamento de Microbiología y Parasitología
Facultad de Farmacia. Universidad de Sevilla
Manuel Aguilar-Portero
CIFA "Las Torres-Tomejil". IFAPA. Junta de Andalucía
Francisco Montes, Manuel Cano
Federación de Arroceros de Sevilla
Khalid Akdi, M. Dolores Gomiz
AMC Chemical, S.L.
Beatriz Ramos-Solano, José A. Lucas y F. Javier Gutíerrez-Mañero
Departamento de Ciencias Ambientales y Recursos Naturales
Facultad de Farmacia. Universidad San Pablo-CEU

RESUMEN

La pyriculariosis producida por el hongo ascomiceto en forma teleomórfica *Magnaporthe grisea* (forma anamórfica *Pyricularia grisea*) y la helmintosporiosis producida por Bipolaris spp., son las dos enfermedades más importantes en el cultivo del arroz en las marismas del río Guadalquivir, siendo la primera la que mayor repercusión económica produce en todo el mundo, así como en dicha zona. En 1997, la pyriculariosis afectó de forma devastadora a todos los cultivares utilizados en nuestras latitudes llegando a ocasionar el 15 % de pérdidas de la producción y unos costes económicos de más de 10 millones de euros. Su elevado poder destructivo hace que su control se convierta en una de las mayores preocupaciones de los arroceros en zonas templadas y una prioridad para nuestra zona.

Estudios llevados a cabo por la Federación de Arroceros de Sevilla (FAS) durante las campañas de arroz del, 2003 al 2005 (Memoria General: Producción integrada de arroz, 2005. Federación de Arroceros de Sevilla)

para conocer la etiología e importancia de las enfermedades en el arrozal sevillano, ponen de manifiesto que las infecciones producidas por *Pyricularia grisea* y *Bipolaris* spp., se distribuyen por toda la marisma afectando a todos los órganos de la planta, hecho que tiene lugar cuando las condiciones climáticas son favorables para las infecciones.

Para el manejo integrado de ambas enfermedades y su control eficaz en el cultivo del arroz en Sevilla, se combinan métodos culturales y preventivos (químicos) y no se pueden omitir ninguno de ellos de forma aislada, pues no se alcanzarían resultados satisfactorios, aunque no se debe olvidar los aspectos ecológicos en el control de las enfermedades.

Con el objetivo de estudiar el control de estas enfermedades, se llevaron a cabo pruebas en una finca experimental de arroz en el término municipal de Utrera (Sevilla), en donde se realizaron y valoraron diversos parámetros en ensayos de eficacia en bloques al azar, evaluando productos de origen químico y de origen biológico (*Chryseobacterium balustinum* AUR9 y *Pseudomonas fluorescens* AUR6), y otros ensayos de eficacia donde sólo se estudio el efecto de productos biológicos.

INTRODUCCIÓN

El arroz sigue manteniendo, en términos generales, su condición de cultivo de subsistencia, y permite alimentar a una gran parte de la población mundial. La producción arrocera en la CEE (Comunidad Económica Europea) se centra en los países del Mediterráneo, destacando Italia y España con un 55,91% y un 26,72% respectivamente del total comunitario. La producción media del arrozal sevillano se estima en unas 321.422 Tm de arroz-cáscara con unos rendimientos de 8.613,98 Kg/ha (FAS, 2005) lo que representa más del 40% del total nacional. En un año de pluviometría suficiente, Andalucía se erige como la primera Comunidad productora de arroz en España. Concentra unas 36.071 ha de cultivo en el estuario del río Guadalquivir, en Sevilla, en zonas ubicadas dentro de los limites del Parque Nacional de Doñana. Desde el año 2003 casi la totalidad de la superficie arrocera se encuentra acogida al sistema de Producción Integrada, que es un paso intermedio entre la agricultura tradicional y ecológica, definida como un sistema de producción agrícola de alta calidad que utiliza mecanismos de regulación naturales, que sean respetuosos con el medio ambiente, mantengan la rentabilidad de las explotaciones agrícolas, y las exigencias sociales de acuerdo con los requisitos que se establezcan para cada producto en el correspondiente Reglamento de Producción. Uno de los intereses fundamentales de este sistema de producción es reducir el uso de insumos en los cultivos de arroz, incluidos los fungicidas utilizados en el control de las enfermedades producidas por hongos.

Las enfermedades que principalmente afectan a los arrozales sevillanos son de origen fúngico y en ocasiones pueden mermar significativamente las producciones, tales como la pyriculariosis, que en 1997 produjo una reducción de la cosecha en un 15% con una consecuencia económica de gran importancia (datos no publicados, FAS) y la helmintosporiosis cuya repercusión en las marismas del Guadalquivir es de menor importancia, aunque no así en otras zonas arroceras españolas, tales como Valencia y el delta del Ebro.

La presencia de la enfermedad fúngica en los cultivos de arroz en España fue citada por primera vez en 1968 (Benlloch, 1975), pero no fue hasta 1978 cuando se tienen noticias de su aparición en el arroz del Valle del Guadalquivir (Marín-Sánchez y Jiménez-Díaz, 1981). Estudios llevados a cabo por Marín-Sánchez en 1979, para conocer la etiología e importancia de Pyricularia grisea ponen de manifiesto que las infecciones se distribuyen por toda la marisma afectando a todos los órganos de la planta y ocasionando pérdidas de rendimiento severas (100%), cuando la incidencia igualó o superó el 90% de las plantas afectadas, hecho que tiene lugar cuando las condiciones climáticas son favorables para las infecciones (Yeh *et al.*,1989).

La pyriculariosis (quemadura del arroz) es una enfermedad producida por el ascomiceto: forma anamórfica, *Pyricularia grisea* = *Pyricularia oryzae*, y forma teleomórfica: *Magnaporthe grises* (Figura 1).

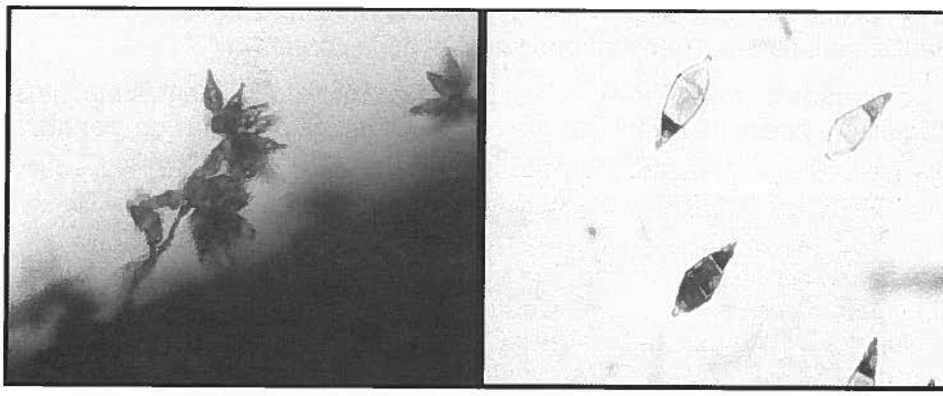


Figura 1: Fotografías de *P. grisea*

El hongo produce manchas puntuales o lesiones en hojas, nudos, panículas y collar de las hojas. Las lesiones foliares pueden ser desde manchas con forma de diamante (romboidales), alargadas o puntuales. El centro de la mancha es normalmente grisáceo y el margen marrón o marrón-rojizo.

Induce manchas en dos tipos, el tipo S (sensible), llamadas lesiones agudas, y el tipo R (resistente), llamadas lesiones crónicas y atribuidas a una reacción de hipersensibilidad de la planta huésped. Tanto las lesiones agudas como las crónicas se pueden dar en una misma variedad indistintamente, dependiendo de las condiciones ambientales, de la respuesta del huésped y de la raza del hongo.

El hongo ataca frecuentemente al nudo de la base de la panícula y al raquis de ésta y si esto ocurre en un estado temprano de desarrollo de la planta, los granos de la parte basal pueden no llenar, dándole un aspecto característico de color pajizo, y si ataca en el nudo de la base de la panícula ésta se rompe y queda colgando. Cuando se infecta un nudo, se rompe el tejido y la parte de tallo por encima del nudo atacado normalmente muere.

Su desarrollo se ve favorecido con siembras tardías, excesos de abonado nitrogenado, temperaturas del orden de 25-28 ºC y humedad relativa superior al 93% (por debajo del 90% de humedad relativa el hongo no puede completar su ciclo infectivo) y agua libre (rocío) sobre la hoja.

La helmintosporiosis (mancha marrón) es una enfermedad producida por el hongo en su forma anomórfica: *Helminthosporium oryzae = Drechslera oryzae = Bipolaris oryzae*, y se denomina en su forma teleomórfica: *Cochliobolus miyabeanus = Ophiobolus miyabeanus* (Figura 2). Esta es una enfermedad citada como muy importante en otras zonas arroceras, pero en las Marismas del Guadalquivir en las pasadas campañas ha tenido una incidencia de baja a nula en los rendimientos de la cosecha.

Los síntomas más visibles se ven en hojas y glumas de plantas maduras. También aparecen en plántulas y en el raquis de las panículas de plantas al final del ciclo. Es una enfermedad típica de transmisión por semilla.

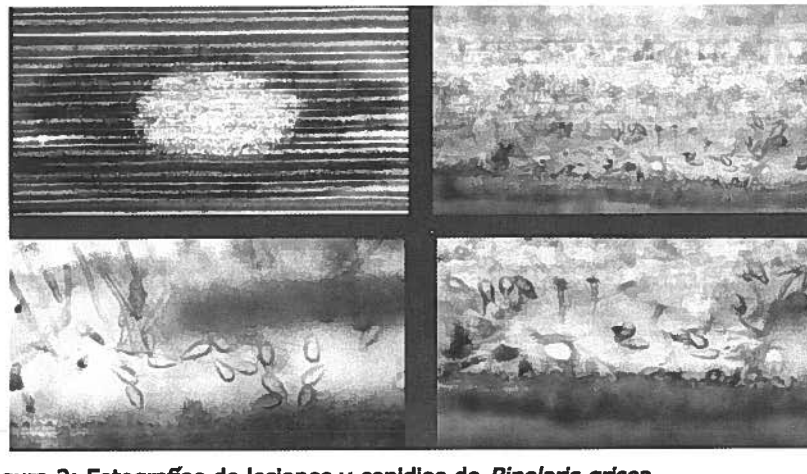


Figura 2: Fotografías de lesiones y conidios de *Bipolaris grisea*.

Las manchas que produce son parecidas a las pequeñas que puede presentar *Pyricularia*, circulares y púrpuras o marrón oscuro, pero todas de tamaño homogéneo, unos 0,5 cm, y distribuidas uniformemente por la hoja, tallo y panículas, aunque en variedades muy sensibles pueden alcanzar hasta 3 cm. y mostrar un centro claro. Algunas manchas pequeñas suelen confundirse con las causadas por *Bipolaris* spp., pero la pyriculariosis genera manchas que originan lesiones más largas y que se desarrollan más rápidamente.

Estos síntomas son más acusados cuando el arroz es cultivado en condiciones de carencias nutricionales, o condiciones de suelos desfavorables.

De las especies del hongo descritas en Andalucía, *D. oryzae, D. sororkiana, D. cynodontis, D. hawaiiensis,* y *D. biseptata*, sólo dos han sido diagnosticadas por la FAS: *D. oryzae* y *D. cynodontis*. Durante la campaña 2005 se detectó un aumento considerable de la enfermedad, en comparación con las anteriores campañas, pero sin repercusión en la producción de arroz.

Las estrategias de control para estas enfermedades se basan actualmente en el uso de variedades resistentes (sobre todo para el caso de pyriculariosis) y el uso de fungicidas químicos.

Para el control de helmintosporiosis se recomiendan como medidas de control los tratamientos de semilla y el mantener un buen estado nutricional del suelo, mientras que para la pyriculariosis, en zonas con ambientes desfavorables para el hongo bastaría con el empleo de variedades resistentes. En los años en los cuales las condiciones son muy favorables para el desarrollo del hongo estas medidas se deben acompañar con otras culturales, tales como: adelantar la fecha de siembra para disminuir la exposición del cultivo a condiciones favorables para el hongo, llevar un buen control de la fertilización nitrogenada y fosfórica aportada y el empleo de fungicidas. A diferencia de otras zonas arroceras de España, el perfil varietal en las Marismas del Guadalquivir está muy poco diversificado, en la campaña 2005 cerca del 71 % de la superficie sembrada corresponde a la variedad Puntal siendo ligeramente inferior en campañas anteriores.

Esta es una de las enfermedades que más preocupa a los arroceros de las Marismas del Guadalquivir y la necesidad del sector arrocero por conocer y controlar al patógeno, es tema de investigación prioritario. La Patología Vegetal, como ciencia integradora y aplicada cuya razón de ser es reducir, y en lo posible evitar, las pérdidas económicas o de rendimiento que ocasionan las enfermedades en los cultivos de plantas (Jiménez-Díaz, 2001), se constituye en una herramienta fundamental. En base a este hecho, es relevante el desarrollo de trabajos que la FAS y sus socios científicos puedan realizar para el control de todos los patógenos que ataquen el cultivo de arroz.

Los manejos actuales para mantener los sistemas de producción agrícola junto con las nuevas prioridades ambientales, han modificado seriamente el panorama del sector agroalimentario internacional. En este sentido los agentes biológicos, dirigidos tanto a incrementar la producción (biofertilización) como a evitar el ataque de agentes patógenos (en términos generales biocontrol), están adquiriendo una importancia vital en los sistemas de producción vegetal. (Swaminathan, 1991; Van Elsas *et al.*, 1998; Glick *et al.*, 1999; Sturz, *et al* 2000; Gutiérrez Mañero *et al.*, 2001; Probanza *et al*, 2001).

El conocimiento de la rizosfera ha generado cambios conceptuales muy importantes en el área de la ecología y de la fisiología vegetal. Actualmente se considera demostrado que la planta selecciona en su propio beneficio las bacterias más próximas a la superficie de las raíces. Dichas bacterias reciben el nombre de *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* (o por su acrónimo PGPRs) (Kloepper *et al*, 1989). La selección impuesta por la planta se produce a través de la exudación radical (Whipps y Lynch, 1985), y es el resultado de una coadaptación evolutiva (Wiehe y Höflicht, 1995). Las bacterias rizosféricas seleccionadas tienen un papel vital en el mantenimiento de la salud de la planta y en su normal desarrollo (Lucas García *et al*, 2001). En base a este concepto, se están desarrollando métodos biotecnológicos consistentes en el empleo de bacterias seleccionadas de la rizosfera para conseguir reducir los *inputs* químicos y mantener o mejorar la producción.

El empleo de estas bacterias requiere una inversión científica en el proceso de búsqueda y selección, que probablemente equivale a la inversión que requiere un microorganismo genéticamente modificado. Sin embargo, el empleo de estos microorganismos tiene la enorme ventaja de que son capaces de realizar funciones de momento inalcanzables por microorganismos genéticamente modificados, debido a la intervención de sistemas de genes de funcionamiento y regulación compleja. Por otra parte, son microorganismos aislados de ambientes naturales y que, por lo tanto, no implican ningún riesgo ambiental.

Los beneficios de una cepa bacteriana rizosférica pueden resumirse en dos aspectos fundamentales:

1. Efecto sobre el crecimiento de la planta. Afecta a la fisiología de la planta, bien por mecanismos hormonales, bien por producción de metabolitos que mejoran la nutrición de la planta. En este sentido podemos destacar los trabajos realizados por Glick *et al.* (1999); Kloepper *et al.* (1988); Gutiérrez Mañero *et al.* (1996), Gutierrez Mañero *et al.* (2001) y Vazquez et. al. (2000).

2. Protección frente a plagas. Evitando o previniendo los efectos perjudiciales de los organismos patógenos. Sobre este aspecto existen dos mecanismos posibles de acción:

* *Biocontrol.* Incluye sistemas de protección en los que la bacteria ejerce su efecto ocupando el mismo nicho que el agente patógeno. Normalmente se trata de un efecto mediado por antibióticos, sideróforos o enzimas que afecten a la integridad del hongo (Pauliz y Bélanger, 2001).

* *Inducción de resistencia sistémica (IRS).* Consiste en la estimulación del metabolismo implicado en procesos de defensa antes de que se produzca contacto con el agente patógeno. Esta respuesta permite a la planta adquirir resistencia frente al ataque de agentes patógenos. En el caso de rizobacterias está mediada por señales en las que participan el etileno y el ácido jasmónico (van Loon *et al*, 1998. Pieterse *et al.*, 2001). Al mismo tiempo se produce una elicitación metabólica referida básicamente a la ruta biosintética de sikimatos, por lo que el principal marcador de resistencia sistémica suele ser un incremento de la actividad en las enzimas fenilalanina-amino-liasa, peroxidasas y oxidoreductasas (Chen *et al.*, 2000)

Para la realización de este trabajo se llevaron a cabo pruebas destinadas a la evaluación de los productos de uso comercial para el control de las necrosis totales producidas por lesiones fúngicas, helmintosporiosis o pyricuriosis, que se desarrollen en el cultivo del arroz. Por otro lado, estudiaremos la determinación de la eficiencia del control mediante el empleo de fungicidas o microorganismos de biocontrol: momento/s de aplicación, número de tratamientos, forma de aplicación. Esto permitirá conocer por un lado mas detalles de los patógenos de arroz y por otro lado establecer medidas de control combinadas para el control de los mismos.

Material y Métodos

Materiales utilizados

1.– Plantas: Oryza sativa, variedad Baixet.

2.– Bacterias: Chryseobacterium balustinum AUR9 y Pseudomonas aeruginosa AUR6.

3.– Inoculantes bacterianos realizados por AMC Chemical S.L. en medios de cultivos propios de producción industrial.

4.– Productos químicos fungicidas: Folicur ® (Tebuconazol 25% [EW] P/V) e Impact ® (Flutriazol).

5.– Protocolo de ensayos para el control de las enfermedades fúngicas del arroz en Sevilla.

5.1.– Ensayo de eficacia de fungicidas de origen químico y biológico.

a.-Determinación de la eficacia de los productos químicos contra

pyriculariosis y helmintosporiosis empleando para ello dosis de los productos recomendados por las casas comerciales.

b.–Estudio de la eficacia de los productos biológicos (inoculantes mixtos "AUR6-AUR9") contra pyriculariosis y helmintosporiosis.

Los experimentos se realizaron en las parcelas de experimentación de la FAS en el término municipal de Utrera (margen izquierda del río Guadalquivir). Para los tratamientos de fungicidas e inoculantes bacterianos se empleó una mochila de gas de aplicaciones experimentales con una barra de 1 metro de ancho con 5 boquillas cónicas de cerámicas rojas "Albuz", separadas entre sí a 25 cm logrando un ancho de tratamiento de 1,25 metros. La dosis de caldo aplicable fue de 500 l/ha. Los inoculantes bacterianos se prepararon para que la aplicación permitiese una concentración de un millón de microorganismos por gramos de suelo o materia vegetal.

El diseño del ensayo fue en bloques completos al azar con 5 repeticiones con un tamaño de parcelas de 20 m2 y una valoración previa al tratamiento (aplicaciones cada 15 días a partir de una severidad inicial de 0,5-1 %) hasta el final del cultivo.Se mantienen protegidos con los productos durante todo el ciclo fenológico del arroz a partir de la primera aplicación y con repeticiones cada 15 días.

Los tratamientos biológicos se realizaron con inoculantes mixtos con las estirpes bacterianas AUR6 y AUR9. Se comenzó a tratar a partir del 0,5% de severidad en hoja, manteniendo el cultivo protegido con los productos durante todo el ciclo a partir de la primera aplicación y repetición cada 15 días.

5.2.–Seguimiento del inoculante en las parcelas de experimentación.

Se realizará el seguimiento del inoculante mediante el aislamiento de células viables de las muestras elegidas (suelo, rizosfera, raíz y parte aérea, bacterias epifíticas y endofíticas) en medio de cultivo TSA y posterior identificación de las bacterias por la técnica de PCR-BOX.

Las muestras de suelo, rizosfera, raíz o parte aérea se tomaron en diferentes momentos del experimento (antes de la inundación, cada 15 días y antes de cada inoculación y a la finalización de la recogida de la cosecha).

5.3.–Monitoreo de severidad de la enfermedad a nivel foliar.

Se midieron las Necrosis totales (Nt) observadas de parámetros de incidencia y severidad en Hoja Bandera (HB), HB-1, HB-2, HB-3); incidencia y severidad en cuello de panícula; incidencia en nudo

tanto por Pyricularia grisea como por Bipolaris spp. La escala empleada fue la de J. P. Marín, 2001 (comunicación personal). Para el análisis de los datos se calcularon las curvas de progreso epidémico de cada estructura vegetal valorada y se calcularon las áreas bajo la poligonal epidémica (AUDPC) empleando el programa EPIDEMIAS© v. 2.0 (F. Montes y R. González, 2005. Comunicación personal) como gestor de base de datos epidémicos para el cálculo de las AUDPC. Finalmente, se realizaron análisis estadísticos con el programa STATGRAPHICS v. 4.0.

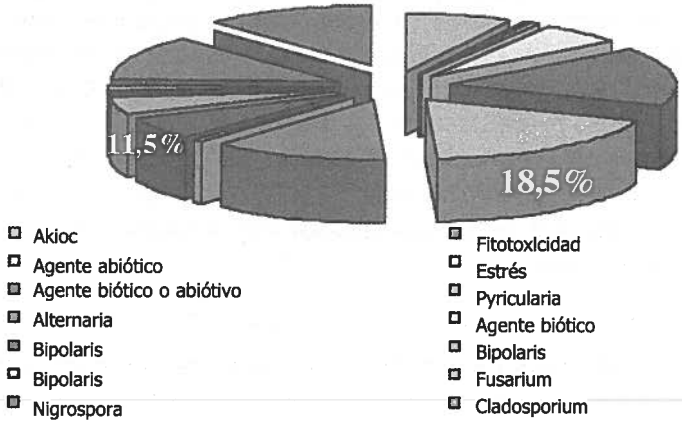
5.4.– Parámetros biológicos de evaluación del cultivo.

Se evaluaron los siguientes parámetros biológicos: tomando como unidad de muestreo 10 espigas por parcela elemental, la incidencia y severidad de pyriculariosis y de helmintosporiosis en hoja, tallo y panicula. Finalmente se valoró la producción y rendimiento de cosecha en cada parcela elemental.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Actualmente, entre el 15% y el 50% de las pérdidas de rendimientos que se generan en la Agricultura es debido al efecto de los patógenos y dentro de los agentes que producen las principales enfermedades en las cosechas, el 75% de ellos son hongos. En los campos de producción de arroz de las Marismas del Guadalquivir durante la campaña del 2005, el seguimiento de las enfermedades fúngicas han indicado que el 30% de las incidencias de enfermedad se ha debido a la presencia de *Pyricularia grisea* en el 18,5% de los casos y de *Bipolaris* spp en al menos un 11,5% de las muestras analizadas.

Figura 3: Agentes bióticos y abióticos encontrados en los arrozales sevillanos



Durante esta última campaña los técnicos de las APIs que controlan la Producción Integrada, han recomendado el tratamiento frente a *Pyricularia* en el 39,62% de la superficie cultivada, un 21,97% menos que en la campaña anterior. Es interesante indicar que la pyriculariosis es endémica en estas zonas de cultivo, y que desde 1997 que afecto de forma devastadora a todos los cultivares de arroz, se ha controlado la aparición de la enfermedad con la aplicación de fungicidas de forma preventiva en aquellos casos en los que estuvieran presente los condicionantes que inducen a la enfermedad. Las patologías producidas por especies de *Bipolaris* en las marismas del Guadalquivir no suponen una amenaza en la merma de la producción, aunque están presente en los cultivos. Aunque en esta zona arrocera, no genera un problema la enfermedad, si es de gran interés en otras zonas españolas, tales como Valencia y el Delta del Ebro donde las áreas afectadas llegan al 20% de los cultivos y obliga a tratar al menos tres veces con fungicidas. Por consiguiente, la utilización de fungicidas es muy elevada en la producción de arroz. El riesgo del uso continuado de agentes químicos, adicional a los problemas de contaminación medioambiental, es la posibilidad de provocar resistencia inducida a la enfermedad (Oostendorp *et al.*, 2001).

Actualmente, el Control Integrado de Plagas potencia el uso de microorganismos para la disminución de las patologías que afectan a las cosechas, permitiendo una protección biológica frente a las enfermedades. Se están utilizando tanto hongos como bacterias de origen natural, no manipuladas genéticamente y se ha propuesto para las bacterias que realizan control biológico la denominación de bacterias promotoras del crecimiento y/o salud de la planta (PHPR), aunque en la bibliografía internacional aun se les denomina bajo el epígrafe de bacterias PGPRs.

Dado estos antecedentes y siguiendo las recomendaciones propuesta por la Unión Europea en su deseo de disminuir drásticamente el uso de pesticidas, para 2008 deben de eliminarse el 60% de los que estaban autorizados su uso hasta 1991, en los cultivos europeos y de esta forma activar una Agricultura Sostenible y mas respetuosa con el Medio Ambiente. En adición, la aplicación de pesticidas en la Agricultura española representa un gasto de 600 millones de euros. El interés de disminuir el uso de pesticidas no es solo económico, sino social, ya que se calcula que el uso de pesticidas en el mundo es responsable de unas 220.000 muertes anuales y genera unos 25 millones de envenenamientos. Por todo lo indicado, consideramos interesante realizar estas investigaciones para poder controlar los problemas intrínsecos de las enfermedades fúngicas desde un punto de vista del control biológico de la producción de arroz disminuyendo en lo posible el uso de fungicidas.

1.–Estudio de la incidencia de la enfermedad en la aplicación de agentes químicos.

En al Figura 4 se muestra el estudio de la severidad de las necrosis totales en hojas (panel A) y en panículas (panel C) y en los paneles B y D, se muestran las áreas bajo la poligonal epidémica (ABPE) de las necrosis totales en hoja y panícula respectivamente, a lo largo de los diferentes momentos de aplicación, índice de los estados fenológicos del cultivo de arroz, al aplicar los agentes químicos o los inoculantes bacterianos.

Realizamos por tanto, un estudio comparativo entre el control químico y el control biológico de la enfermedad. En estos ensayos hemos utilizado la variedad de arroz Baixet, que es una variedad muy sensible a la enfermedad y por tanto nos permite obtener resultados elevados de la incidencia de la enfermedad sin necesidad de realizar inoculaciones artificiales ni de poner condiciones que induzcan esta capacidad del hongo.

El comportamiento de ambos agentes químicos es similar tanto para las necrosis totales en hoja (panel A) como en panícula (panel C). Igualmente, se observa para la intensidad de la enfermedad (paneles B y D), siempre con una tendencia de mas eficacia con el tebuconazol que con el triciclazol. Los valores obtenidos de reducción del 50% en el caso de enfermedad en hojas y superior al 60% en panícula, siendo la reducción total de la enfermedad en todos los órganos analizados, siempre superior al 50%, datos coincidentes con los obtenidos por otros autores en otras áreas geográficas y con otros agentes químicos (Creer y Webster, 2001).

Lógicamente, el tratamiento con el inoculante mixto bacteriano es menos eficaz que con los agentes químicos, pero la disminución de los valores de la intensidad de la enfermedad para hoja y panícula son significativos y resultados similares se están analizando de la campaña 2006. Efectos semejantes han obtenidos cuando se analizó la incidencia de la enfermedad en nudo y cuello de panícula.

El uso del tratamiento sistemático cada 15 días, no es el uso habitual en la práctica agrícola, pero nos aporta una información necesaria para determinar en el futuro las pautas de aplicación de acuerdo con la incidencia de la enfermedad. En la producción integrada, el control exhaustivo de estimación de riesgo mediante las lecturas cada hora de los termohidrógrafos y las medidas de los parámetros de incidencia de la enfermedad que se realiza sistemáticamente por los técnicos de API mediante el uso de escalas de severidad, reducen los tratamientos en las Marismas del Guadalquivir a una sola aplicación (39,63% de la superficie sembrada), a dos aplicaciones en el 1,9% del área y al 0,05% la superficie donde se realizaron tres tratamientos (fuente: Memoria general de producción integrada de arroz 2005).

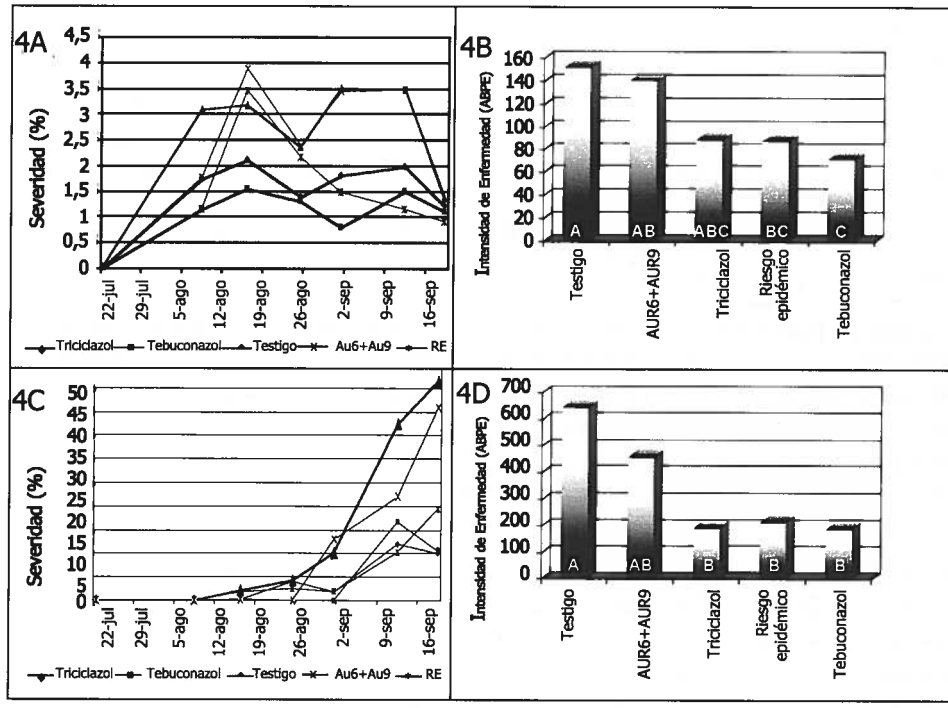


Figura 4: Estudio de la severidad e intensidad de las enfermedades fúngicas, medidas como Necrosis totales (Nt) a lo largo de la campaña (paneles A y C) y como tratamiento individualizado de agentes químicos o biológicos (paneles B y D). Se estudian los efectos de la enfermedad en hoja (paneles A y B) y en panículas (paneles C y D). Los diversos agentes de control están indicados en las correspondientes gráficas. Para el análisis de los datos se calcularon las curvas de progreso epidémico de cada estructura vegetal valorada y se calcularon las áreas bajo la poligonal epidémica (AUDPC) empleando el programa EPIDEMIAS© v. 2.0. Los análisis estadísticos se realizaron con el programa STATGRAPHICS v. 4.0. Las letras mayúsculas diferentes en las barras (paneles B y D) indican valores estadísticamente significativos.

2.- Estudio de la incidencia de la enfermedad en la aplicación de microorganismos como agentes de biocontrol.

En la Figura 5 se muestran los resultados obtenidos cuando se aplican sobre los cultivos de arroz los inoculantes bacterianos, bien de forma individualizada o como inoculantes mixtos. Las inoculaciones se realizan siguiendo la misma pauta que las aplicaciones con fungicidas, aunque existe una inoculación previa durante la pregerminación de la semilla de arroz. Los parámetros que se estudian son los mismos que en experimento anterior. Se analiza la severidad de la enfermedad medida como las Necrosis totales en hoja (panel A), en panícula (panel C) y la intensidad de la enfermedad en

paneles B y D, igualmente medidas en hojas y panículas, respectivamente. Claramente se observa que la combinación de ambas bacterias Chyseobacterium balustinum Aur9 y Pseudomonas aeruginosa Aur6 tienen una mayor eficacia en la prevención de la enfermedad. La severidad de la misma se mantiene por debajo del 2% en casi todo el estado fenológico del cultivo. La presencia de los dos microorganismos permiten posiblemente retrasar el momento de aplicación del fungicida, el número de aplicaciones y posiblemente la dosis de aplicación (datos que se están analizando en la campaña de 2006). El comportamiento en las lesiones que aparecen en tallo y cuello de panículas siguen la misma tendencia que en el caso de hojas. En la Figura 5 (panel C) se muestra la severidad de la enfermedad en panículas observándose una clara protección durante la aparición de las mismas, siendo la severidad menor del 1,5%, por lo tanto no se realizaría aplicación del fungicida correspondiente en todo el ciclo del cultivo. Los valores que se obtienen en la intensidad de la enfermedad (paneles B y D, Figura 5) permiten una reducción de los síntomas de la enfermedad en ambos estados fenológicos. Cabe destacar los resultados que se obtienen en panícula ya que es uno de los momentos mas delicados de incidencia de la enfermedad y que mas pueden influir en el rendimiento de la cosecha. Dado que estas bacterias tienen la capacidad de producir resistencia sistémica inducida (Gutierrez Mañero *et al.*, 2001), pueden prevenir la infección por la activación de las defensas de la planta.

Posiblemente el retraso observado en la aparición de síntomas es debido a la inducción de resistencia sistémica en las plantas de arroz, que permiten un estado primitivo de inmunidad en las plantas que generan defensas eficaces contra los agentes patógenos. Este efecto se está potenciado cuando se utilizan mezclas de bacterias que realizan un efecto adicional y sinérgico con las plantas (Jetiyanon and Kloepper, 2002).

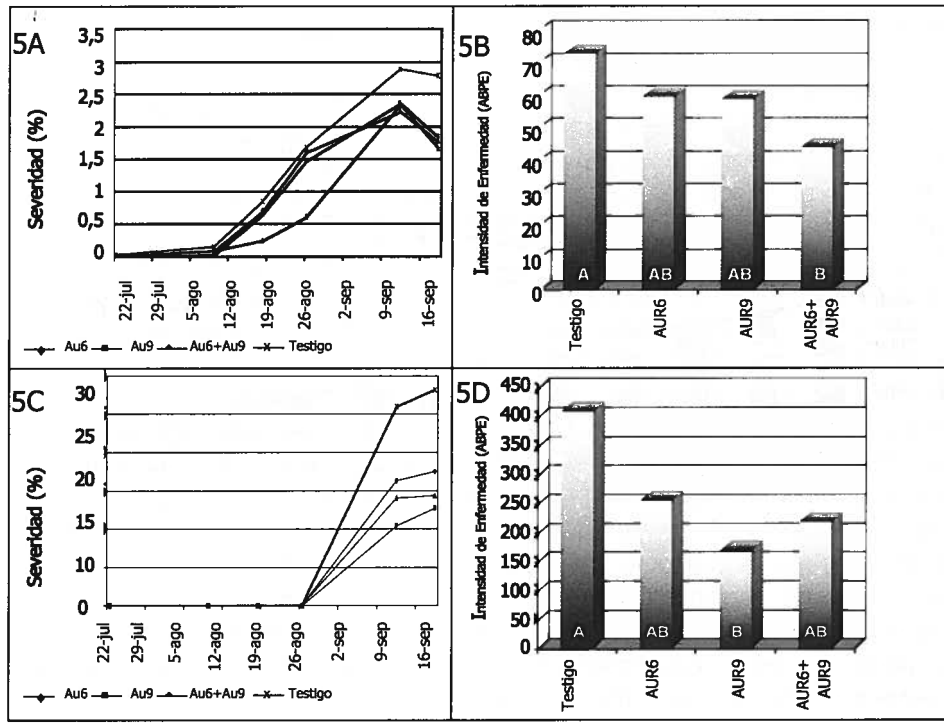


Figura 5: Estudio de la severidad e intensidad de las enfermedades fúngicas, medidas como Necrosis totales (Nt) a lo largo de la campaña (paneles A y C) y como tratamiento individualizado de agentes biológicos (paneles B y D). Se estudian los efectos de la enfermedad en hoja (paneles A y B) y en panículas (paneles C y D). AUR6 (*Pseudomonas aeruginosa*) y AUR9 (*Chryseobacterium balustinum*). Los diversos agentes de control están indicados en las correspondientes gráficas. Para el análisis de los datos se calcularon las curvas de progreso epidémico de cada estructura vegetal valorada y se calcularon las áreas bajo la poligonal epidémica (AUDPC) empleando el programa EPIDEMIAS© v. 2.0. Los análisis estadísticos se realizaron con el programa STATGRAPHICS v. 4.0. Las letras mayúsculas diferentes en las barras (paneles B y D) indican valores estadísticamente significativos.

De los resultados presentados, se deduce que los agentes biológicos pueden ser utilizados como agentes de Biocontrol, que su aplicación de forma aérea garantiza su persistencia en la hoja a lo largo de todo el cultivo en cantidades significativa y que, este hecho, quizás por antagonismo, además de por inducción de resistencia sistémica, podrían justificar los valores de reducción de la enfermedad encontrados. Actualmente estamos evaluando los resultados obtenidos en la campaña 2006, durante la cual hemos combinado en un mismo tratamiento la utilización de un fungicida con la mezcla de bacterias como agentes de control.

3.-Estudio del rendimiento de cosecha tras la aplicación de los tratamientos con agentes químicos y biológicos.

Finalmente, estudiamos los rendimientos de cosechas tras las aplicaciones de agentes químicos o biológicos. Los resultados se muestran en la Figura 6.

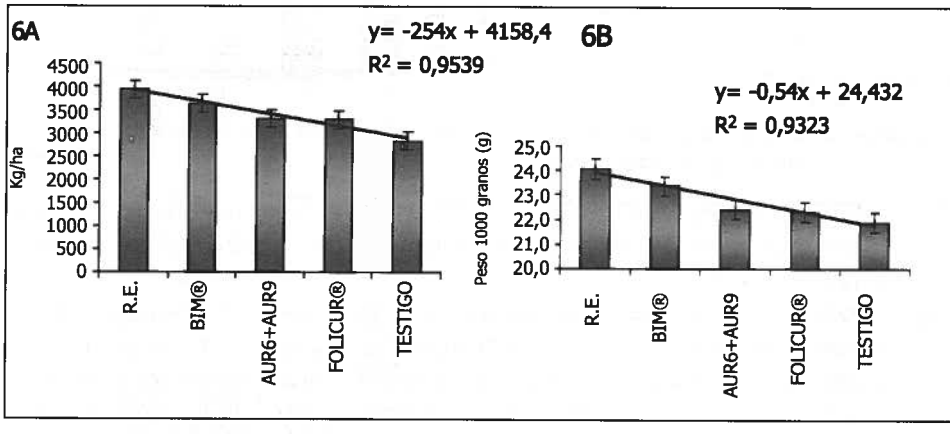


Figura 6: Medida del rendimiento de cosecha (panel A) y peso de 1000 granos relacionado con los ensayos de fungicidas y aplicación de inoculantes.

Se observa que todos los tratamientos presentan valores superiores a los testigos, por lo tanto la incidencia menor de la enfermedad generada por las aplicaciones ensayadas repercuten en un incremento en la cosecha, siendo el mejor resultado el obtenido con el fungicida BIM, que se acerca a los valores obtenidos en condiciones de RE.

De los resultados obtenidos se pueden establecer un conjunto de conclusiones que nos permitirán plantear nuevos experimentos que profundicen en el conocimiento de los mismos.

Todos los fungicidas testados mejoraron a los testigos y a las inoculaciones con microorganismos.

Las severidades alcanzadas para cada uno de los ensayos fueron del 5 % de severidad de necrosis total en hoja para ambos ensayos y de algo más del 10 % de necrosis total en panícula para las parcelas experimentales muestreadas.

Los microorganismos *Chryseobacterium balustinum* y *Pseudomonas aeruginosa* empleados en el ensayo biológico, resultaron inicialmente un buen agente de control para severidades foliares por debajo el 1-2 %, siendo por lo tanto un momento crítico para la determinación y diferenciación

entre las necrosis totales en hoja y las lesiones foliares de pyriculariosis en los inicios de las epidemias. Por lo tanto, la coinoculación bacteriana de las dos cepas ensayadas pueden ser un complemento a las aplicaciones químicas cuando la severidad foliar no supera el 1,5 – 2 %. Conseguir analizar el efecto de las valoraciones para cada estructura vegetal y para cada ensayo nos permitirá realizar estrategias de control específicas.

REFERENCIAS

(Se presentan sólo algunas de las citas bibliográficas mas relevantes utilizadas en la realización de esta memoria).

BLOEMBERG G.V. and LUGTENBERG B.J.J. (2001). Molecular basis of plant growth promotion and biocontrol by rhizobacteria. Current Opinion in Plant Biology 4:343-350.

CHATTERJEE A., VALASUBRAMANIAN R., MA W.L., VACHHANI A.K., GNANAMANICKAN S., and CHATTERJEE A.K. (1996). Isolation of ant mutants of *Pseudomonas fluorescens strain* Pf7-14 altered in antibiotic production, cloning of *ant*$^{+}$ DNA, and evaluation of the role of antibiotic production in the control of blast and sheath blight of rice. Biological control 7:185-195.

CREER, C. A. and WEBSTER, R. K. (2001). Occurrence, distribution, epidemiology, cultivar reaction, and management of rice blast disease in California. Plant Disease 85: 1096-1102.

FEDERACIÓN DE ARROCEROS DE SEVILLA. Memoria General: campaña de producción integrada de arroz en la Provincia de Sevilla (2005).

JETIYANON, K. AND KLOEPPER, J.W. (2002). Mixtures of plant growth-promoting rhizobacteria for induction of systemic resistance against multiple plant diseases. Biological Control 24: 285-291.

KLOEPPER, J.W., LIFSHITZ, R. and ZABLOTOWICZ, R.M. (1989). Free-liviing bacterial inocula for enhancing crop productivity. *Trends Biotechnol.*, 7: 39-43.

KRISHNAMURTHY K. and GNANAMANICKAN S.S. (1998). Biological control of rice blast by Pseudomonas fluorescens strain Pf7-14: evaluation of a marker gene and formulations. Biological Control 13:158-165.

OKON Y., and LABANDERA-GONZALEZ, C.A. (1994). Agronomic applications of Azospirillum. An evolution of 20 years worldwide field inoculation. Soil Biology and Biochemistry 26:1591-1601.

OOSTENDORP, M., KUNZ, W., DIETRICH, B. and STAUB, T. (2001). Induced disease resistance in plants by chemicals. European J. Plant Phatology 107:19-28.

PICCO A.M., and RODOLFI M. (2002). *Pyricularia grisea* and *Bipolaris oryzae*: a

preliminary study on the occurrence of airborne spores in a rice field. Aerobiologia 18:163-167.

PIETERSE C.M.J., TON J., and VAN LOON, L.C. (2001). Cross-talk between plant defence signalling pathways: boost or burden?. AgBiotechNet 3: 1-8.

VAN LOON, L.C., BAKKER P.A.H.M., PIETERSE, C.M.J. (2000). Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria. Annual review of Phytophatology 36:453-483.

VIDHYASEKARAN P., RABINDRAN R., MUTHAMILAN M., NAYAR K., RAJAPPAN K., SUBRAMANIAN N., and VASUMATHI K. (1997). Development of a power formulation of *Pseudomonas fluorescens* for control f rice blast. Plant pathology 46:291-297..

YEH, W.H., BONMAN, J.M. and LEE, E.J. (1989) Effects of temperature, leaf wetness duration, and leaf age on partial resistance to rice blast. J. Plant Prot. Trop. 6:223-230.

AGRADECIMIENTOS:

Parte de estos trabajos han obtenido financiación de la Consejería de Innovación, Ciencia y Empresa mediante el proyecto de concertación de I+D+I titulado "Utilización de microorganismos promotores del crecimiento vegetal y/o fijadores de nitrógeno atmosférico para un cultivo de arroz respetuoso con el medio ambiente" y el proyecto PETRI del Ministerio de Educación titulado "Desarrollo biotecnológico de biofertilizantes mediante el empleo de una cepa bacteriana inductora de respuestas defensivas sistémicas y promotora del crecimiento vegetal, en cultivos de arroz y tomate, elegidos como modelos de producción en planta hortícola y cereal.". La licenciada Inmaculada del Castillo, disfruta de una beca IFAPA de la Junta de Andalucía.

EL USO DE ADYUVANTES EN EL CONTROL QUÍMICO DE MALAS HIERBAS DE LOS CÍTRICOS

Julio Menéndez Calle y Fernando Bastida Milián
Universidad de Huelva. Escuela Politécnica Superior.

Entre la agricultura y el medio ambiente existe una doble relación. En primer lugar, la estructura y la producción de los sistemas agrícolas depende en gran manera de la capacidad de los recursos naturales para sostener su desarrollo. Los progresos de la agricultura han modificado esta dependencia, reduciendo los obstáculos ambientales a la producción mediante el desarrollo de tecnologías tales como el riego, la mejora genética y la lucha contra malas hierbas, plagas y enfermedades, que le han proporcionado mayor flexibilidad. No obstante, ello no ha eliminado tal dependencia y tampoco la necesidad de adoptar medidas para una buena planificación del aprovechamiento del suelo. En segundo lugar, la agricultura no es en sí misma enemiga del medio ambiente, pues bien dirigida puede mantener e incluso mejorar los recursos naturales. Sin embargo, es una realidad actual que el medio ambiente sufre cada vez mayores tensiones, lo cual genera una creciente preocupación del impacto que sobre él ejerce la agricultura. Existe una gran incertidumbre sobre la importancia y las consecuencias a largo plazo de los daños causados al medio ambiente, ya que los efectos negativos de los diversos factores sobre éste no se aprecian de manera inmediata y sí se agravan sólo al cabo de los años (López-Bellido, 1999).

EL PAPEL DE LOS HERBICIDAS EN EL CONTROL DE LAS MALAS HIERBAS

Durante la segunda mitad del Siglo XX, los herbicidas han llegado a convertirse en la principal herramienta de todos los programas de lucha contra malas hierbas en las agriculturas avanzadas. Este hecho obedece a diversas razones (Menéndez y De Prado, 1997):

- Son productos altamente eficaces y fiables. Con frecuencia los herbicidas ofrecen un control casi completo sobre un amplio abanico de especies indeseadas, a la vez que resultan prácticamente inocuos en los cultivos que protegen. Esta eficacia suele estar muy por encima de la presentada por otras opciones de control en la mayoría de los cultivos.
- Son de fácil manejo. La mayoría de los herbicidas no requieren de una maquinaria especial o de prácticas culturales específicas antes o después de su aplicación.
- Son económicamente rentables. Tras una buena selección y correcto uso, los herbicidas producen un menor costo por unidad de superficie que cualquiera de los otros métodos utilizados. Esta comparación es aún más favorable cuando se incluye el tiempo requerido para aplicar las medidas de control.
- Son agronómicamente flexibles. Los herbicidas ofrecen al agricultor la posibilidad de elegir cuándo y cómo controlar el problema de malas hierbas, permitiendo un margen de uso que va desde la preemergencia a la postemergencia tardía, así como diversas opciones de tratamiento en cada cultivo.

A pesar de las incuestionables ventajas que supone para los agricultores el uso de herbicidas, los efectos nocivos sobre el medio ambiente que conlleva su utilización indiscriminada han promovido una tendencia creciente en los Gobiernos y los consumidores hacia el desarrollo de políticas que fomenten una reducción en el uso de estas materias y de todos los pesticidas en general (Quadranti y Williams, 1990). Así, prácticas tales como el eco-etiquetado de productos que garanticen su producción en condiciones de bajo impacto medioambiental están siendo impulsadas desde las Administraciones Públicas (Swanton y Murphy, 1996).

Sin embargo, si se ha de considerar a los sistemas agrícolas como modelos sostenibles y rentables de producción, no se puede renunciar al uso de tan importante herramienta agrícola y, de hecho, no se hace. Encomendar el control de malas hierbas a un único sistema de control como pudieran ser los medios mecánicos conllevaría un aumento de la erosión y la pérdida de terreno fértil. Se trata pues, de hacer un uso más eficiente de los herbicidas con el fin de reducir las dosis de aplicación y la cantidad de materia activa que se pone en contacto con el suelo y los organismos no relacionados con los procesos de infestación de malas hierbas (Menéndez y col., 1999).

Hasta la fecha se han propuesto diversas estrategias para reducir el consumo de herbicidas (adaptado de Zoschke, 1994):

- Uso de nuevas materias activas
- Reducción de las dosis de tratamiento. Medias dosis
- Mejora de las formulaciones
- Determinación del momento óptimo de aplicación
- Mejora de los métodos de aplicación de herbicidas
- Control biológico de malas hierbas
- Control mecánico de malas hierbas
- Uso de cubiertas vegetales y/o residuos
- Ingeniería genética, cultivos resistentes a herbicidas
- Uso de modelos predictivos
- Uso de nuevos conceptos como el de umbral económico óptimo

Aun cuando dichas estrategias son en la mayoría de los casos no excluyentes, aquellas que implican el uso directo de herbicidas pueden dividirse en dos grupos diferenciados dependiendo de si la reducción en el uso de materia activa se logra mediante un aumento *extrínseco* de la eficacia de la formulación herbicida (mejorando, propiciando o previendo las condiciones óptimas de aplicación) o mediante un aumento *intrínseco* de la misma (empleando nuevas moléculas con mayor actividad a menores dosis o mejorando las características físico-químicas de las formulaciones).

Entre todas ellas, destaca la mejora de las características físico-químicas de las formulaciones como un método sencillo y eficaz de disminuir la cantidad de materias activas que se incorporan a los agroecosistemas (Zoschke, 1994). Esta mejora puede realizarse bien alterando en fábrica la formulación comercial desarrollada por las empresas de fitosanitarios o bien añadiendo algún tipo de adyuvante/mejorante comercial al caldo de tratamiento previamente a su aplicación (tank-mixtures). En este segundo caso, la mezcla en tanque de dos productos comerciales registrados y autorizados no precisa de un nuevo registro por parte del aplicador. Resulta sorprendente la falta de conocimiento que existe en el agricultor sobre ciertos pequeños "hábitos" relacionados con el uso de adyuvantes que pueden mejorar drásticamente la efectividad del tratamiento herbicidas. Un ejemplo: la simple adición de un 1% (p/v) de sulfato amónico al caldo de tratamiento mejorará la eficacia de la mayoría de las formulaciones que contengan el herbicida glifosato (Figura 1).

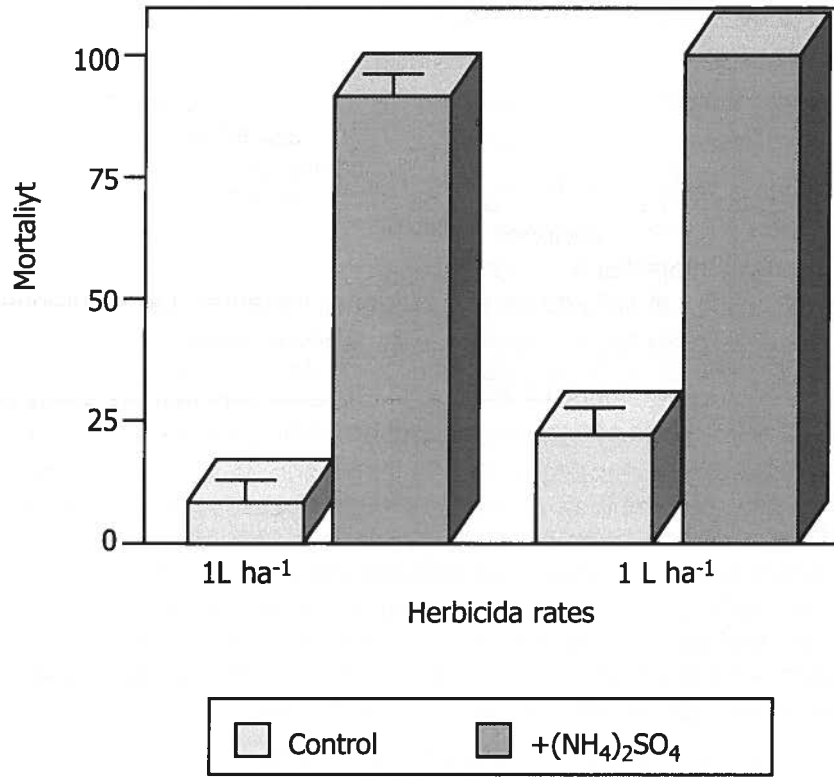


Figura 1: Efecto sobre la tasa de mortalidad en Lolium rigidum de la adición de sulfato amónico a una formulación de glifosato (Fuente: Universidad de Huelva)

LA OPTIMIZACIÓN DE LAS FORMULACIONES COMO MÉTODO RÁPIDO PARA REDUCIR EL USO DE HERBICIDAS.

La formulación de un herbicida es el conjunto de compuestos sin actividad biológica propia que acompañan a la ó las materias activas en una preparación comercial. Estos compuestos suelen ser denominados adyuvantes o coformulantes y están implicados tanto en la estabilización de la formulación como en la optimización de la eficacia biológica de la preparación. La formulación de los herbicidas presenta una sorprendente analogía con la formulación de los productos farmacéuticos o cosméticos, hasta el punto de que los conceptos y las sustancias utilizadas son asombrosamente parecidos (Briggs y Bromilow, 1994). Sin embargo, dos características originales distinguen la formulación de los herbicidas y las condicionan fuertemente, a saber (1) la variabilidad de condiciones en las que se expresan la acción de

los productos herbicidas y (2) la necesidad de obtener una alta dispersión de la materia activa durante el tratamiento (Gauvrit, 2001).

Existen más de cuarenta tipos de formulaciones de pesticidas, de las que podemos destacar tres como las que más se emplean en la formulación de herbicidas: los concentrados solubles, los concentrados emulsionables y las suspensiones concentradas. Cada una de ellas contabiliza entre el 20 y el 25% del total de las formulaciones herbicidas. A este gran grupo se puede añadir los polvos mojables y los gránulos dispersables en agua, los cuales agrupan entre el 5 y el 10% de las formulaciones restantes. Las emulsiones acuosas, las suspensiones de cápsulas y las suspo-emulsiones se emplean para formular algunos herbicidas de importancia agrícola, pero representan menos del 5% del total. El hecho de que una determinada materia activa se formule de una u otra manera dependerá fundamentalmente de las características físico-químicas de la misma (fundamentalmente, su solubilidad en agua) y del tipo de pulverización que mejor se adapte a las características de ésta (Figura 2)

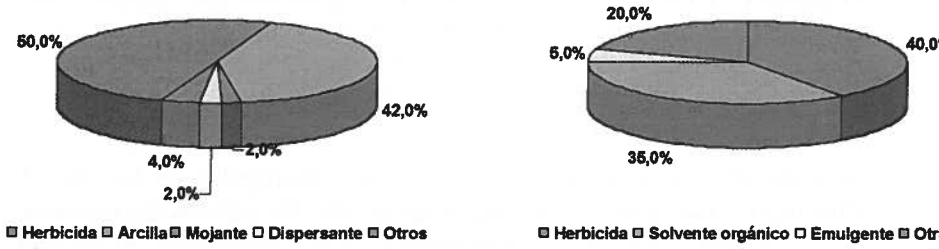


Figura 2: Ejemplo de formulación herbicida sólida (izquierda) y líquida (derecha)

La mejora mediante adyuvantes de la eficacia de la formulación de un herbicida y por consiguiente la posibilidad de disminuir las dosis de tratamiento depende de múltiples variables. De todas ellas, las más importantes son el incremento en la capacidad de adherencia de la formulación herbicida, y el incremento en su capacidad de atravesar las sucesivas barreras existentes hasta alcanzar su sitio de acción. La cutícula foliar se presenta como la primera barrera en el movimiento hacia su sitio de acción de los herbicidas aplicados en postemergencia. Si bien la penetración foliar de los herbicidas es un proceso complejo, éste dependerá fundamentalmente de la naturaleza física y química de la cutícula (factores imposibles de variar en condiciones de campo) y de la naturaleza química del herbicida y de los coadyuvantes que lo formulan (factores que sí son modificables) (Devine *et al*, 1993). Asimismo, la adherencia a las hojas del caldo de tratamiento, formado por soluciones o emulsiones acuosas de herbicida, siempre resulta

difícil dado el carácter hidrófobo de la cutícula y de las ceras epicuticulares que la recubren (Spillman, 1984). La presencia o adición a la formulación herbicida de agentes surfactantes o adhesivos y de determinados aceites minerales u otros compuestos apolares capaces de solubilizar la cutícula ayudarán a incrementar la cantidad de herbicida retenido por la superficie foliar tras un tratamiento de postemergencia, así como a mejorar la penetración de la materia activa. El incremento en la cantidad de materia activa presente en los tejidos vegetales permitirá obtener el mismo grado de control a menor dosis de tratamiento.

¿QUÉ TIPO DE ADYUVANTES PODEMOS UTILIZAR PARA REDUCIR EL USO DE HERBICIDAS?

Existen cuatro grandes grupos de adyuvantes clasificados según su actividad biológica: los tensioactivos (mojantes y emulsificadores), los solventes, los aceites y las sales. Todos ellos intervienen durante las diferentes etapas de utilización de un herbicida (Holloway, 1998):

1. Durante el almacenamiento del herbicida en el envase, asegurando la estabilidad química de las materias activas (p. ej., evitando su hidrólisis), la estabilidad física de la preparación (p. ej., evitando la sedimentación de una suspensión concentrada ó la separación en dos fases de un concentrado emulsionable)
2. Durante el almacenamiento del caldo de tratamiento en la cuba del sistema de aplicación, donde los imperativos de estabilidad química y física subsisten, además de asegurando la compatibilidad entre mezclas de formulaciones herbicidas distintas.
3. Durante la atomización del caldo en las boquillas de tratamiento, donde se puede observar la acción de los adyuvantes sobre el espectro de tamaño de gotas.
4. Durante el trayecto de las gotas desde la boquilla a la planta, donde los adyuvantes contribuyen a ralentizar la evaporación de las gotas (sobre todo en las aplicaciones foliares)
5. Sobre el sitio de aplicación (suelo o planta) donde ayudan a mantener la estabilidad de la materia activa en es caso de que ésta sea fotolábil. Es en este estadío donde los adyuvantes tienen un mayor peso a la hora de mejorar la selectividad y eficacia de los productos (sobre todo en los herbicidas de penetración foliar

Los solventes

La función de los solventes es asegurar la disolución de los herbicidas, de tal modo que las moléculas puedan atravesar la cutícula foliar mas fácil-

mente que si permanecen en forma de agregados. Estos solventes van a estar presentes en todas las formulaciones en las que la materia activa se encuentra en disolución (concentrados solubles y concentrados emulsionables, principalmente). El solvente polar por antonomasia es el agua, empleada en los concentrados solubles. Como solventes poco polares, cabe citar los aceites parafínicos alifáticos, los aceites vegetales esterificados, los solventes aromáticos y las cetonas, los cuales se pueden encontrar en el resto de formulaciones. A excepción de los aceites, el uso de solventes por los agricultores para mejorar a posteriori un caldo fitosanitario es muy reducido debido a su toxicidad y a que el incremento en su eficacia no ha sido verdaderamente demostrado.

Los tensioactivos

La denominación "tensioactivos" constituye ya una indicación de su modo de acción: actividad sobre la tensión superficial. Si el líquido está en contacto con otro líquido o con un sólido, se habla de tensiones interfaciales, ya que intervienen las tensiones superficiales de cada uno de los dos medios presentes. Los tensioactivos son moléculas con una parte hidrófila y otra lipófila. Esta particularidad les confiere una afinidad por las interfases que les proporciona diversos roles en la formulación de los herbicidas. De entre todos, podemos destacar aquellos que intervienen directamente en el aumento de la eficacia:

- La mejora en la atomización del caldo de tratamiento a la salida de la boquilla
- La mejora en el impacto de las gotas sobre la superficie foliar (adherencia) (Figuras 3 y 4)
- La mejora de la penetración foliar de las materias activas

Figura 3: Efecto de un mojante iónico sobre la adherencia de una formulación de dicuat en Avena fatua. Izquierda: sin mojante; derecha: con mojante

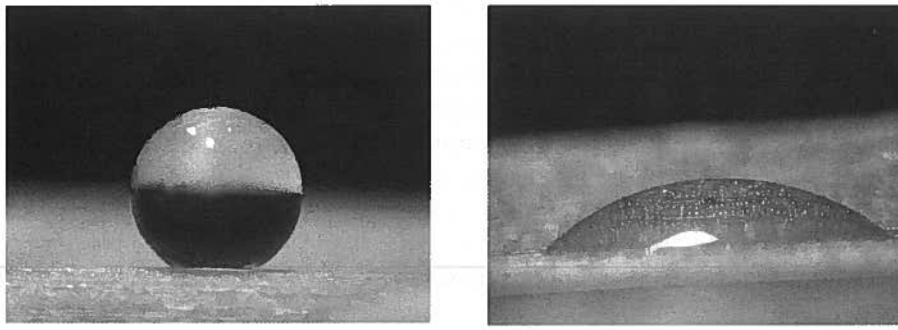
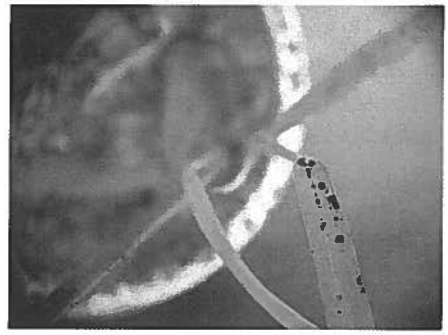
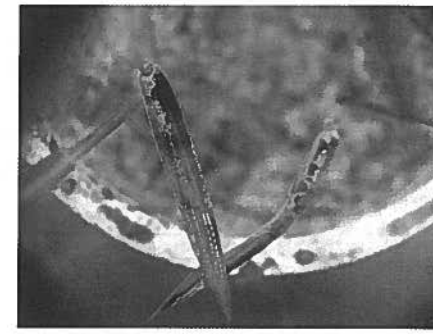


Figura 4: Efecto de un mojante no iónico en la distribución y uniformidad de un tratamiento de glifosato aplicado sobre Digitaria sanguinalis a un volumen de aplicación de 600 L ha-1. Izquierda: sin mojante; derecha: con mojante (Fuente: Universidad de Huelva).





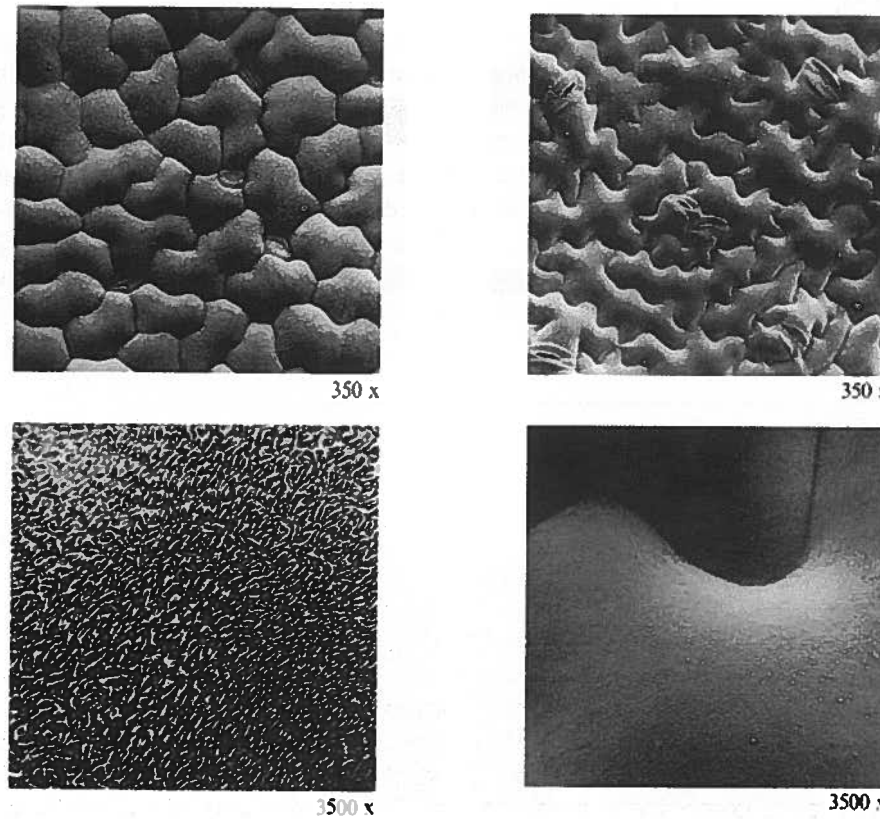
Las sales

Las sales empleadas generalmente como adyuvantes tienen cierto carácter higroscópico que les permiten atrapar y retener parte de la humedad del aire. De este modo su empleo permite evitar la desecación total del herbicida depositado sobre la planta, incrementando el tiempo de penetración. La sal más comúnmente empleada como adyuvante es el sulfato de amonio la cual, aparte del efecto higroscópico antes citado, favorece la penetración de ciertos herbicidas (fundamentalmente los solubles en agua) como la bentazona, el glufosinato y el glifosato. El abonado nitrogenado líquido (urea + nitrato de amonio) también puede considerarse como adyuvante, y de hecho ha sido relacionado con la mejora de la eficacia de ciertos herbicidas solubles en agua como son el paracuat y el dicuat. Asimismo, el sulfato ferroso comienza a contemplarse como un prometedor adyuvante asociado con aquellas materia activas relacionadas con el estrés oxidativo.

Los aceites

Está ampliamente demostrado que los aceites mejoran la eficacia de numerosos herbicidas, particularmente de los graminicidas, debido a su capacidad de disolver la capa de ceras epicuticulares (Figura 5) que cubren la superficie foliar y penetrar la cutícula foliar hasta las células epidérmicas de las hojas de la mayoría de las plantas. Si la mayoría de los aceites adyuvantes son de origen petrolífero, la utilización de aceites vegetales o de sus ésteres es una tendencia en continuo aumento, máxime cuando son mucho más biodegradables, tienen una actividad comparable a la de los primeros y pueden esterificarse con agentes mojantes como puedan ser los alcoholes terpénicos.

Figura 5: Microfotografías del haz de una hoja de Chenopodium album (columna izquierda) y Abutilon theophrasti (columna derecha) con especial detalle sobre la disposición de las ceras epicuticulares (fila de abajo)



SI, PERO, ¿CÓMO PUEDO REDUCIR LA DOSIS SIN PERDER EFICACIA?

En el caso que nos interesa (el aumento de la eficacia), los aspectos fisiológicos sobre los que históricamente se ha investigado son el incremento de la adherencia, la penetración, la translocación y la fitotoxicidad de la materia activa. De todos éstos, los adyuvantes han tenido especial éxito en mejorar los dos primeros. No existen demasiados casos documentados sobre sustancias que incrementen la translocación de los herbicidas, mientras que el uso de productos que aumenten la fitotoxicidad (normalmente sustancias que inhiben los procesos naturales de degradación de los herbicidas a compuestos no tóxicos dentro de la planta) no es aconsejable, ya que pueden hacer que el herbicida deje de ser selectivo

El diseño de las formulaciones herbicidas comerciales se ha basado hasta ahora en el principio de la generalidad. No se puede hacer una formulación especial para cada explotación agrícola o para cada comunidad arvense específica, así que el formulador ha de hacer un esfuerzo de síntesis con el fin de desarrollar una formulación genérica que funcione sobre un amplio margen superficies y condiciones atmosféricas. De hecho, la eficacia de las distintas formulaciones de un determinado herbicida que podamos encontrar en el mercado no son muy diferentes unas de otras. Un estudio comparativo realizado por la Universidad de Huelva sobre la efectividad de cinco de las formulaciones comerciales de glifosato más conocidas en el mercado reveló la ausencia de diferencias significativas entre éstas en términos de eficacia en el control de las especies Lolium rigidum y Portulaca oleracea, siempre y cuando los tratamientos se realizaran en condiciones normales de aplicación (Figura 6).

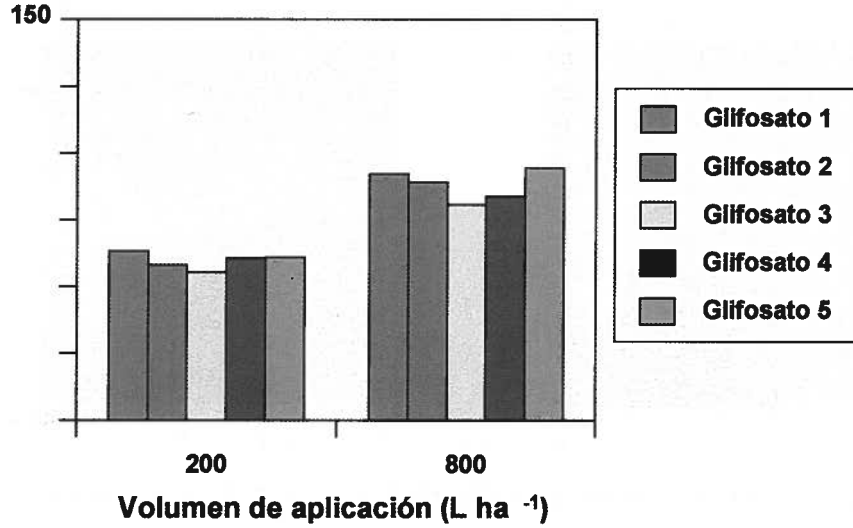


Figura 6: Dosis efectivas medias (dosis de herbicida capaz de reducir en un 50% el peso fresco de la planta respecto al control no tratado) de cinco formulaciones comerciales de glifosato al 36% (p/v) aplicadas a dos volúmenes de aplicación distintos sobre Portulaca oleracea. Los valores para cada volumen de aplicación no son estadísticamente diferentes de acuerdo con el test de Student-Newman-Keuls de mínimas diferencias significativas al .95% de intervalo de confianza.

Asimismo, no se puede agregar a una formulación herbicida comercial un número infinito de adyuvantes, ya que la capacidad de las formulaciones herbicidas para admitir éstos es limitada. De hecho, las formulaciones comerciales han sido muchas veces comparadas con una caja en la que caben un determinado número de cosas: una vez que todo el espacio está

ocupado, hay que sacar algo para poder meter algo. Este concepto se debe a la distinta naturaleza de los componentes de una formulación herbicida. Al existir mezclados a altas concentraciones tanto compuestos solubles en agua como compuestos solubles en solventes polares, se establece un equilibrio a menudo precario. A todos nos resulta familiar la visión de un envase antiguo de herbicida en el que aparecen separadas las distintas fases de los solventes empleados. La principal ventaja de adición de adyuvantes al caldo de tratamiento una vez ya en la cuba (tank-mixtures) radica precisamente en soslayar las limitaciones inherentes a las formulaciones comerciales. La dilución de la formulación en un volumen grande de agua "hace la caja más grande", permitiendo añadir (aunque no siempre) nuevos adyuvantes que hubieran desestabilizado la emulsión de haber estado presentes en el producto comercial (Figura 7). Asimismo, y lo que es más importante, permite realizar una formulación "a la carta" en la que podemos potenciar determinados aspectos (adherencia, penetración, reducción de la volatilidad, etc) En el caso de tener que combatir una especie muy híspida en las que las gotas de la aplicación resbalan podríamos intentar emplear un mojante, mientras que en el caso de especies muy cerosas quizás nos vendría mejor algún aceite que disolviera la cutícula y facilitara la penetración.

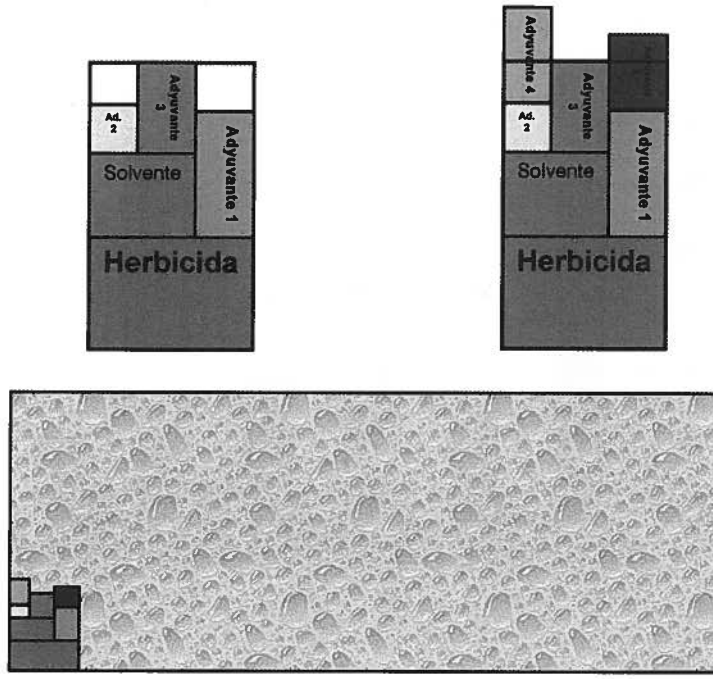


Figura 7: El concepto de la caja. Estabilidad de formulaciones y emulsiones herbicidas en relación al "espacio" disponible para su compatibilidad. A: estable; B: inestable; C: estable.

La Universidad de Huelva lleva desde el año 2001 investigando sobre el modo de reducir a corto plazo el uso de herbicidas mediante la mejora de sus formulaciones por el método de las tank-mixtures. El principio es sencillo: si conseguimos aumentar al doble la eficacia de una determinada formulación podremos emplear la mitad de la dosis sin que el grado de control se vea afectado. Gracias al apoyo económico de la Junta de Andalucía se ha conseguido en estos cinco años incrementar la eficacia de herbicidas de postemergencia de amplio espectro usados en arboricultura (cítricos y olivar) tales como el sulfosato el glifosato y el glufosinato de amonio. Asimismo se ha conseguido ampliar el espectro de acción del diquat.

El diquat es un herbicida de la familia del paracuat que presenta menos problemas de toxicidad para la fauna que éste último, aunque demuestre un control pobre sobre especies de hoja ancha. Mediante el uso de adyuvantes la Universidad de Huelva ha conseguido ampliar el espectro de acción del dicuat a determinadas malas hierbas de hoja estrecha. El empleo de adyuvantes comerciales tales como el polimenteno o los ésteres de aceites vegetales ha logrado disminuir la dosis efectiva media (ED50) del diquat en Lolium rigidum hasta en un 75%. Si bien dosis de estas formulaciones mejoradas de diquat no son tan bajas como las obtenidas en los ensayos con paracuat, sí tienen su mismo orden de magnitud, lo que postula al diquat aditivado como una posible alternativa. (Figura 8)

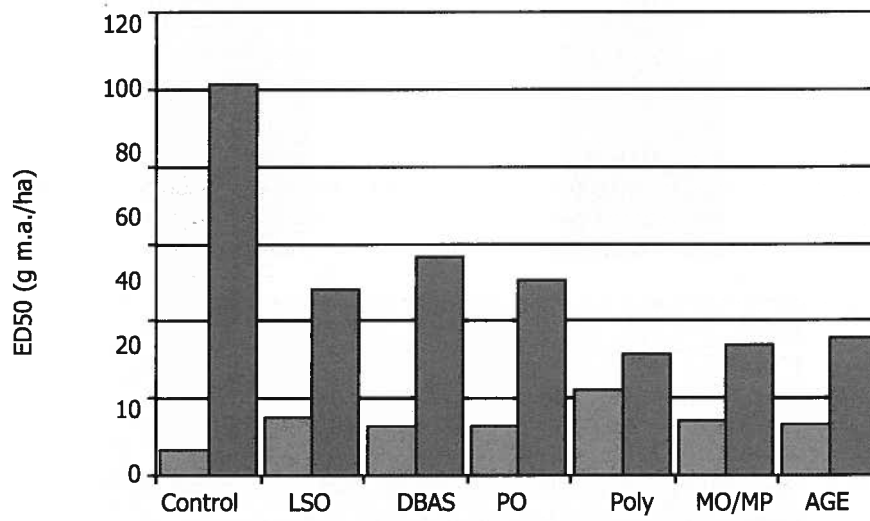


Figura 8: Efecto de diversos adyuvantes sobre la eficacia (en términos de dosis efectiva media) de los herbicidas paraquat (azul) y diquat (rojo) sobre Lolium rigidum. LSO: aceite ligero de verano; DBSA: dodecilbenceno sulfonato amónico; PO: polimenteno; MO/MP: metil oleato/metil palmitato; AGE: éster de alquil glicol (Fuente: Universidad de Huelva)

Respecto al glifosato, se ha conseguido en una primera fase una reducción de dosis de entre un 50 a un 80% mediante adyuvantes comerciales tales como los aceites parafínicos, los mojantes (iónicos y no iónicos) y determinados derivados de los ácidos grasos y la resina de pino (Figura 9).

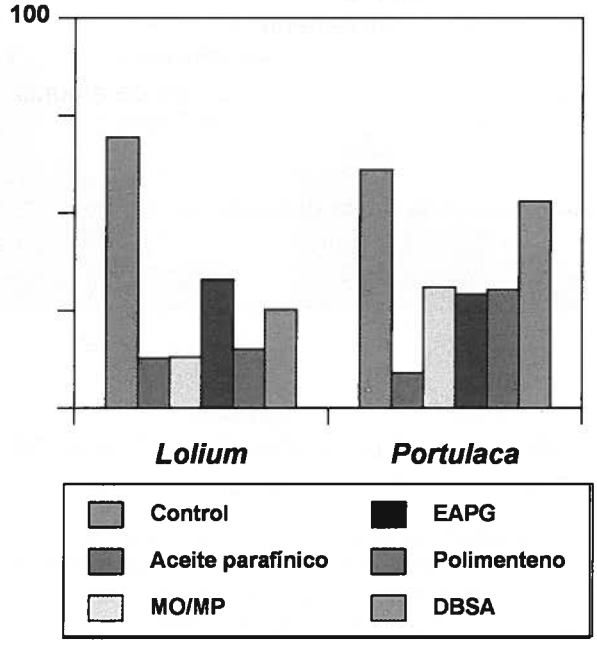


Figura 9: Efecto de diversos tratamientos de postemergencia de una formulación comercial de glifosato al 36% aplicada a un volumen de aplicación de 200 L ha-1 formulado sólo o con distintos adyuvantes aplicados sobre Lolium rigidum y Portulaca oleracea. MO/MP: metil oleato/metil palmitato; EAPG: éster de alquil poliglicol; DBSA: dodecilbenceno sulfonato amónico. Los datos son medias de tres experimentos (Fuente: Universidad de Huelva)

En una segunda fase todavía en curso se están comenzando a sustituir los adyuvantes clásicos estudiados en glifosato por otros adyuvantes experimentales de nueva generación, muchos de ellos derivados de la industria alimentaria, de igual eficacia y más fácilmente biodegradables. Así, el empleo de adyuvantes como el LI 144 no sólo incrementa de forma notable la adherencia del glifosato y el graminicida clodinafop-propargil en especies tales como Avena fatua (% 63% de incremento)y Alopecurus myosuroides (65% de incremento) (Figura 10), sino que dependiendo de la naturaleza de la cutícula y de las ceras epicuticulares también mejora la penetración del glifosato en algunas de las especies estudiadas tales como Alopecurus myosuroides, donde se consigue un 72% de incremento en la penetración foliar

(Figura 11). Por el contrario, otras especies de malas hierbas como Lolium rigidum se muestran bastante refractarias a ser mejor controladas mediante estos adyuvantes, lo que demuestra la imposibilidad citada ya al principio de realizar formulaciones universales que funcionen satisfactoriamente en todas las condiciones y frente a todas las especies posibles.

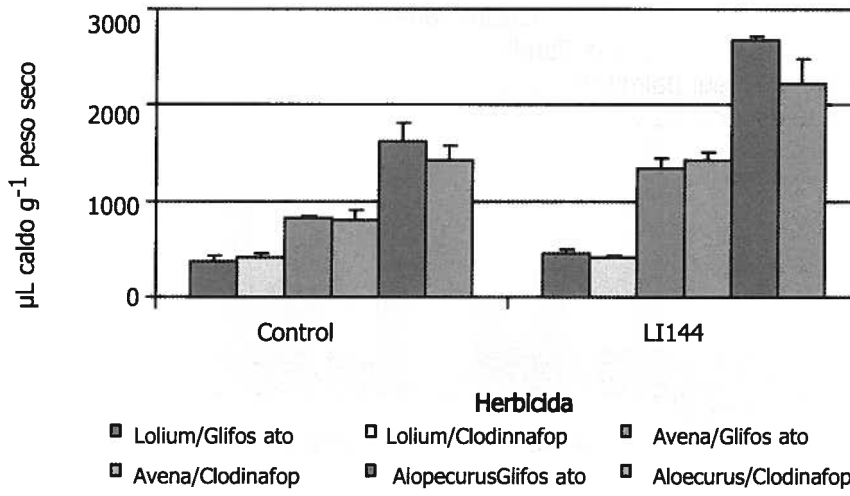


Figura 10: Efecto de la adición de un adyuvante experimental (LI 144) sobre la adherencia en Lolium rigidum, Avena fatua y Alopecurus myosuroides de los herbicidas glifosato y clodinafop propargil aplicados a dosis agrícolas de tratamiento. Las barras representan los errores estándar. (Fuente: Universidad de Huelva)

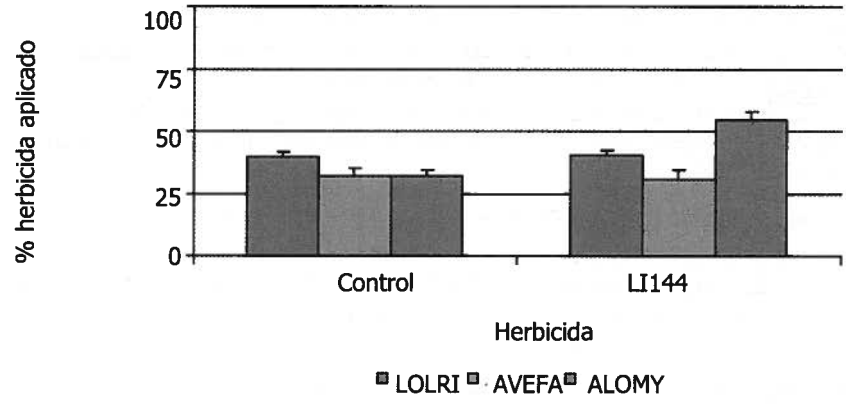


Figura 11: Efecto de un adyuvante experimental sobre la penetración de una formulación comercial de glifosato al 36% (p/v) aplicada a dosis de campo y a un volumen de aplicación de 150 L ha-1 sobre Lolium rigidum, Avena fatua y Alopecurus myosuroides. Las barras representan los errores estándar. (Fuente: Universidad de Huelva)

En los ensayos realizados con el sulfosato se han logrado reducciones de dosis sin pérdida de eficacia de hasta un 40% mediante el uso de adyuvantes comerciales tales como el dodecilbenceno sulfonato amónico o los aceites de verano (Tabla 1). Al igual que en los casos anteriores, la efectividad del uso de adyuvantes con el sulfosato es muy dependiente de las características intrínsecas de la especie a controlar. Incluso en especies tan relacionadas como puedan ser *Anacyclus radiatus* y *Chrysanthemun coronarium* (ambas pertenecientes a la Familia Compositae) un determinado adyuvante (metil oleato/metil palmitato) puede tener efectos contrapuesto dependiendo en qué especie se esté aplicando.

Tabla 1. Efecto de diversos tratamientos de postemergencia de sulfosato formulado sólo o con adyuvantes aplicados sobre Chrysanthemun coronarium y Anacyclus radiatus. Los datos son medias de tres experimentos.

	ED50 (g m.a. ha^{-1})[a]	
Adyuvante[b]	Chrysanthemun coronarium	Anacyclus radiat
Control	95,8c	94,3ab
Aceite parafínico	99,3bc	71,7b
Aceite de verano	62,3d	63,5c
MO/MP	126,3b	50,3d
EAPG	126,5b	73,7b
DBSA	59,0d	52,0d
Polimenteno	249,5a	106,0a

a En cada columna, las medias conteniendo idéntica letra no son significativamente diferentes de acuerdo con el test de Student-Newman-Keuls de mínimas diferencias significativas al 95% de intervalo de confianza.

b MO/MP: metil oleato/metil palmitato; EAPG: éster de alquil poliglicol; DBSA: dodecil benceno sulfonato amónico

Todos estos resultados son prometedores, ya que hasta ahora sólo una minoría de los herbicidas ensayados parece ser inmune al efecto mejorador de los adyuvantes. En este pequeño grupo entrarían fundamentalmente herbicidas de contacto de acción muy rápida y efecto necrosante como el paracuat (Figura 8).

Es un postulado clásico que la reducción del uso de herbicidas pasa inexorablemente por el diseño de estrategias integradas de control de malas hierbas que combinen métodos de control tanto químicos como mecánicos, culturales y biológicos. En este sentido, es generalmente aceptado que la pérdida de la efectividad debido a un menor uso de herbicidas se ve compensada por el empleo de otras técnicas de control complementarias, de modo que el resultado final es aceptable para el agricultor. La inclusión del uso de adyuvantes como una herramienta más en el diseño de la estrategia de control integrado tiene las ventajas añadidas de poder funcionar independientemente del resto de medidas a tomar, o lo que es lo mismo, disminuir la dosis de herbicida sin necesidad de otras medidas complementarias y sin perder efectividad. Además, el empleo de adyuvantes resulta lo suficientemente específico como para permitir resolver problemas muy concretos y locales, amén de proporcionar resultados visibles a corto plazo.

REFERENCIAS

BRIGGS, G.G. y BROMILOW, R.H. 1994. Influence fo physiocochemical properties on uptake and loss of pesticides and adjuvants from the leaf surface. En "Interactions between adjuvants, agrochemical and target organisms" (Holloway, P.J., Rees, R. Y Stock, D., eds.), pp 1-26. Springer Verlag, Berlin.

DEVINE, M.D., DUKE, S.O. y FEDTKE, C. 1993. Physiology of herbicide action. Prentice Hall, Englewood Cliffs, NJ. 441 pp.

GAUVRIT, C. 2001. Formulations et adyuvants in herbicides. En "Uso de herbicidas en la agricultura del S.XXI" (De Prado, R. Y Jorrín, J.V., eds.), pp 45-54. Universidad de Córdoba.

HOLLOWAY, P.J. 1998. Improving agrochemical performance: possible mechanisms of adjuvancy. En "Chemistry and technology of agrochemical formulations" (Knowles, D.A., ed.), pp. 232-263. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.

LÓPEZ-BELLIDO, L. 1999. Agricultura Sostenible y Producción Integrada. Lección Inagural del *"I Curso Nacional sobre el uso de herbicidas en agricultura moderna"*, Córdoba, 14-16 abril de 1999.

MENÉNDEZ, J. y DE PRADO, R. 1997. La resistencia de las malas hierbas a los herbicidas. *Phytoma España* 94: 43-50.

MENÉNDEZ, J., DE PRADO, R. y JORRÍN, J. 1999. Hacia un uso racional de los herbicidas. *Vida Rural* 84: 42-44.

QUADRANTI, M. y WILLIAMS, R.J. 1990. Trends in weed control technology. 3éme Cycle d'Études de l'Université de Berne, 5 pp. Gwat, Suiza.

SPILLMAN, J.J. 1984. Spray impaction, retention and adhesion: an introduction to basic characteristics. *Pesticide Science* 15: 97-106.

SWANTON, C.J. y MURPHY, S.D. 1996. Weed science beyond the weeds: The role of Integrated Weed Management (IWM) in agroecosystem health. *Weed Science* 44: 437-445.

ZOSCHKE, A. 1994. Toward reduced herbicide rates and adapted weed management. *Weed Technology* 8: 376-386

EL CONTROL DE *SPODOPTERA EXIGUA* CON BIOINSECTICIDAS EN CULTIVOS HORTÍCOLAS

Primitivo Caballero, Rosa Murillo, Rodrigo Lasa, Trevor Williams y Delia Muñoz
Departamento de Producción Agraria, Universidad Pública de Navarra

RESUMEN

Spodoptera exigua ha desarrollado resistencia contra la mayoría de los insecticidas químicos comercialmente disponibles y actualmente tampoco hay agentes de control biológico que sean efectivos para el control. de esta plaga. Nosotros hemos demostrado que una cepa nativa del nucleopoliedrovirus de *S. exigua* (SeMNPV) ejerce un control excelente de esta plaga en cultivos de pimiento dulce en los invernaderos de Amería. Se recomienda el registro de este producto como un nuevo insecticida biológico para el control de las plagas originadas por las larvas de *S. exigua*.

1. INTRODUCCIÓN

La rosquilla verde, *Spodoptera exigua* (Hübner) (Lepidoptera; Noctuidae), es una especie polífaga originaria del sureste asiático que actualmente se encuentra distribuida por todas las regiones subtropicales y templadas del mundo y es especialmente abundante en América Central y del Norte, África, Australia, y el sur de Asia y Europa. En el sur de España, *S. exigua* está presente durante todo el año y, entre los meses de junio y octubre, origina plagas frecuentes en los cultivos de pimiento dulce, tomate, berenjena, calabacín, sandía y melón de los invernaderos de Almería (BELDA, 1994).

Los agricultores almerienses tratan de evitar o reducir las pérdidas económicas ocasionadas por las infestaciones larvarias de *S. exigua* mediante aplicaciones frecuentes de insecticidas químicos de amplio espectro solos o en cócteles. El uso frecuente de estos insecticidas de síntesis ha dado lugar al desarrollo de resistencias en muchas poblaciones de *S. exigua* incluidas las que se encuentran en Almería (MASCARENHAS *et al.*, 1998; MOULTON *et al.*, 1999; MOULTON *et al.*, 2002; SMAGGHE *et al.*, 1997; SMAGGHE *et al.*, 2003; TORRES-VILA *et al.*, 1998). Como consecuencia de ello, en la actualidad la mayoría de los insecticidas comercialmente disponibles no permiten un adecuado control de esta plaga (CUADRADO y VIÑUELA, 1998). Por otra parte, tampoco hay disponibles agentes de control biológico efectivos contra *S. exigua*. El uso repetido de insecticidas químicos contra *S. exigua* lleva asociados otros problemas en los invernaderos de Almería como son: 1) la presencia de residuos plaguicidas que deben ser controlados y mantenidos por debajo de ciertos límites según las regulaciones establecidas para frutas y hortalizas en la Unión Europea (http://europa.eu.int/comm/food/fvo/specialreports/pesticides_index_en.htm); y 2) la imposibilidad de realizar sueltas de insectos polinizadores (por ej. *Bombus terrestris*) o de implementar programas de control biológico dirigidos contra otras plagas importantes (por ej. trips, moscas blancas, pulpones, etc.), contra las que sí hay disponibles eficaces agentes de control (LARA y URBANEJA, 2002; STANSLY *et al.*, 2005).

Últimamente, sobre todo durante los dos últimos años, en Almería se ha despertado un creciente interés por desarrollar métodos más sostenibles para el control de *S. exigua*, especialmente los dirigidos a la puesta a punto y aplicación de programas de control biológico y control integrado (LACASA, 2004), Lasa *et al*, en prensa). Dicho interés ha generado la necesidad de evaluar el potencial insecticida de distintas materias activas que puedan tener cabida en tales programas. Una de las alternativas más prometedora y realista al control químico de *S. exigua* en los invernaderos de Almería la constituye un baculovirus autóctono, concretamente el nucleopoliedrovirus múltiple de *S. exigua* (SeMNPV, Baculoviridae), que habitualmente origina epizootias en las poblaciones larvarias de este insecto.

2. LOS BACULOVIRUS: INTERÉS COMO AGENTES DE CONTROL BIOLÓGICO

La familia Baculoviridae es la más numerosa y ampliamente estudiada de todos los grupos de virus patógenos de insectos. Esta familia agrupa a virus de DNA de doble cadena cuyos viriones están característicamente incluidos en una matriz proteica o cuerpo de inclusión (OB del inglés *occlusion body*) (VOLKMAN *et al.*, 1995). La familia consta de los géneros

Nucleopoliedrovirus (NPV) y *Granulovirus* (GV); la mayoría de los cuales han sido aislados de lepidópteros (CABALLERO *et al.*, 2001). Todos los virus de esta familia se caracterizan por tener un estrecho espectro de huéspedes y una elevada patogenicidad y virulencia que son las características ideales en un microorganismo entomopatógeno para que pueda ser desarrollado como bioinsecticida. El OB que los caracteriza los hace estables durante largos periodos de tiempo (JAQUES, 1985) y facilita su aplicación mediante pulverizaciones acuosas convencionales. Además, el uso insecticida de los baculovirus, debido a su estrecho espectro de huéspedes (GRÖNER, 1986) y a la ausencia de otros posibles efectos perjudiciales, no entraña riesgos ambientales mayores.

Los baculovirus son una parte integrante de los ecosistemas e inciden en las poblaciones naturales de los insectos como un factor de mortalidad que contribuye a regular su densidad de población. El estado susceptible es el de larva que es infectada al alimentarse de un substrato vegetal contaminado con OBs. En el intestino de la larva se dan las condiciones alcalinas (pH 9-11) que favorecen la disolución de la proteína, la cual es el principal componente del OB, permitiendo la liberación de los viriones (partículas infectivas). Los viriones infectan las células epiteliales del mesenterón y el virus se replica en su núcleo dando lugar a nuevos viriones que infectan las células de otros órganos y tejidos de la cavidad hemocélica (Figura 1).

Al final del proceso infeccioso, que se completa entre tres y seis días, la larva muere conteniendo en su cavidad hemocélica grandes cantidades de poliedros que son fácilmente observables al microscopio óptico (GRANADOS y WILLIAMS, 1986). Como consecuencia del proceso infeccioso, el tegumento de la larva se degrada liberando millones de poliedros que contaminan el follaje de la plantas los cuales constituyen el inóculo que sirve para dar origen al proceso de infección en otros huéspedes susceptibles.

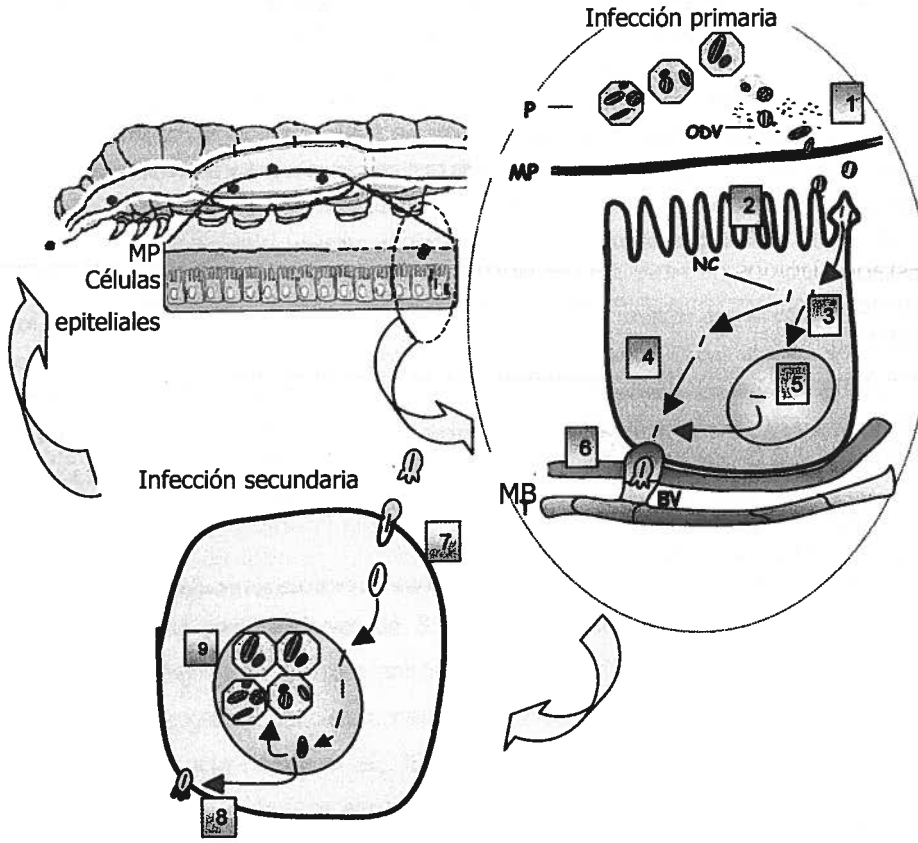


Figura 1. Representación esquemática del proceso infeccioso de los baculovirus: los poliedros (P) ingeridos se solubilizan en el mesenterón de la larva liberando los ODV (1) y atraviesan la membrana peritrófica (MP) a través de sus poros naturales. La membrana del virión se fusiona con la membrana de la célula epitelial (2) y las nucleocápsidas (NC) desnudas atraviesan el citoplasma (3) y se dirigen al núcleo donde se produce una primera replicación del ADN viral (5). Alternativamente algunas nucleocápsidas atraviesan el citoplasma (4) y, sin pasar por el núcleo, se dirigen a la zona basal. Las nucleocápsidas atraviesan la membrana celular formando los BVs (6) y pasan a la cavidad hemocélica a través de las traqueolas (T) evitando la membrana basal (MB). En el hemocele, los BVs llevan a cabo la segunda fase del proceso infeccioso infectando las células de los órganos y tejidos por endocitosis (7). Las nucleocápsidas forman nuevamente BVs favoreciendo la dispersión de la infección. Alternativamente forman viriones y poliedros completos, en una fase más avanzada del proceso infeccioso, que se acumulan en la célula y finalmente producen su lisis liberando los cuerpos de inclusión al medio (9).

La utilidad y efectividad de los baculovirus para el control de las plagas, tanto en cultivos agrícolas como en ecosistemas forestales, han sido ampliamente demostradas (CHERRY y WILLIAMS, 2001). Actualmente hay comercializados más de treinta bioinsecticidas basados en baculovirus contra algunas de las plagas más importantes en el ámbito mundial entre las que se incluye *S. exigua*. La mayoría de ellos son productos de medianas o pequeñas empresas o bien son producidos por las propias instituciones públicas que los utilizan como es el caso del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos de América del Norte (USDA). En algunas partes del mundo, se ha demostrado que la utilización de bioinsecticidas basados en baculovirus puede reducir de forma significativa el consumo de plaguicidas químicos. Tal vez el ejemplo más destacado sea el programa brasileño de control de *Anticarsia gemmatalis* mediante la aplicación de un baculovirus para la protección de casi 2 millones de hectáreas de soja; se trata de un programa sostenible que se ha mantenido durante más de tres décadas (MOSCARDI, 1999). Los bioinsecticidas basados en baculovirus, dadas sus características, son agentes de control ideales para su inclusión en programas de control integrado y su acción insecticida es especialmente útil: 1) contra aquellas especies fitófagas que han desarrollado resistencia múltiple o cruzada a los insecticidas químicos de síntesis y 2) en los programas de control donde se incluyen agentes biológicos de control susceptibles a la acción de los insecticidas químicos (RODGERS, 1993).

Tanto los técnicos como los agricultores de la zona hortícola de Almería han mostrado un gran interés por disponer de un bioinsecticida basado en un baculovirus para el control de las plagas de *S. exigua*. El uso específico del SeMNPV para el control de *S. exigua* permitiría eliminar el cuello de botella que actualmente representa esta especie impidiendo un uso más generalizado de los programas de control biológico de plagas en los invernaderos de Almería. A continuación se describen algunos de los aspectos esenciales para el desarrollo tecnológico de un bioinsecticida basado en el nucleopoliedrovirus de *S. exigua*.

3. SUSCEPTIBILIDAD DE *S. EXIGUA* A LOS BACULOVIRUS: SELECCIÓN DE UNA MATERIA ACTIVA.

La eficacia insecticida para las larvas de *S. exigua* de diferentes aislados de nucleopoliedrovirus homólogos y heterólogos ha sido extensamente estudiada por distintos autores para poblaciones de diferentes orígenes geográficos tanto en condiciones de laboratorio (CABALLERO *et al.*, 1992a; SMITS, 1987) como de campo (KOLODNY-HIRSCH *et al.*, 1997). *S. exigua* es permisible a la infección por varios nucleopoliedrovirus entre los que se encuentran los de *Autographa californica* (AcMNPV), *S. littoralis* (SpliMNPV), *S. fru-*

giperda (SfMNPV), *Mamestra brassicae* (MbMNPV), *Helicoverpa armigera* (HaMNPV) y otros. No obstante, su nucleopoliedrovirus homólogo (SeMNPV) es significativamente el más virulento y patogénico para los distintos estadios larvarios de *S. exigua* (MURILLO *et al.*, 2003b; SMITS, 1987). Con frecuencia se encuentra que los distintos aislados de un mismo baculovirus también difieren significativamente en sus propiedades insecticidas para un mismo insecto (CABALLERO *et al.*, 1992b; MUÑOZ *et al.*, 1998). Por tanto, la selección de la variante genotípica del virus más efectiva para una determinada especie fitófaga es un importante elemento a la hora de desarrollar un bioinsecticida.

El SeMNPV se ha aislado en diferentes regiones del mundo incluyendo Norte América, Tailandia, Países Bajos, Taiwán, India, Egipto y Japón. Este virus también se ha aislado en España, donde provoca epizootias naturales en poblaciones de *S. exigua* en los cultivos hortícolas de los invernaderos de Almería (CABALLERO *et al.*, 1992a). Un aislado del SeMNPV originario de Florida, USA, se ha desarrollado como un producto comercial registrado bajo el nombre de Spod-X® en Holanda, Estados Unidos y Tailandia (SMITS y VLAK, 1994). El producto se utiliza en los invernaderos de los Países Bajos en cultivos de plantas ornamentales. Actualmente el virus es comercializado por la empresa Certis USA (http://www.certisusa.com/products/viruses.html). Sin embargo, este producto presenta importantes problemas relacionados con su efectividad ya que la calidad biológica del producto está afectada por la presencia de genotipos autoparásitos que reducen la capacidad insecticida del virus (MUÑOZ *et al.*, 1998). Los genotipos autoparásitos se caracterizan por haber perdido genes esenciales para su replicación y dependen de manera parasítica de otros genotipos presentes en la cepa silvestre para producir las proteínas necesarias durante su replicación (MUÑOZ y CABALLERO, 2000).

La identificación y clonación de las diferentes variantes genotípicas presentes en las poblaciones naturales de baculovirus es posible mediante la utilización de diversas técnicas moleculares y biológicas (MUÑOZ y CABALLERO, 2001). Nuestro grupo de investigación ha llevado a cabo una detallada caracterización a nivel molecular, genético, ecológico e insecticida de un amplio número aislados del SeMNPV originarios de los invernaderos del suroeste almeriense (CABALLERO *et al.*, 1992b; Murillo *et al.*, datos no publicados). Estos aislados son, en general, mezclas heterogéneas de genotipos individuales que se encuentran presentes en distintas proporciones relativas (MURILLO *et al.*, 2006a). Dichos genotipos difieren en su patogenicidad, virulencia y capacidad de producir OBs en larvas infectadas (MUÑOZ y CABALLERO, 2000) pero, interesantemente, no se ha detectado la presencia de genotipos autoparásitos (MUÑOZ *et al.*, 1999). Si se ha demostrado, en cambio, que en los aislados heterogéneos los genotipos interaccionan para

producir un inóculo con propiedades insecticidas únicas (fenotipo único) (MURILLO *et al.*, 2006a). Algunos de estos genotipos, o determinadas mezclas de los mismos, exhiben la más alta patogenicidad y virulencia, para las larvas de las poblaciones nativas de *S. exigua* en Almería, por lo que han sido seleccionados para su desarrollo como bioinsecticida a nivel comercial (MURILLO *et al.*, 2006a).

4. PRODUCCIÓN MASIVA DEL VIRUS: OBTENCIÓN DEL PRODUCTO TÉCNICO

La explotación comercial de un baculovirus requiere el desarrollo de una tecnología que haga posible la producción del virus a gran escala, y a un coste aceptable, como condición necesaria para la obtención de un producto técnico.

La producción *in vivo* sobre huéspedes permisibles es la metodología actualmente utilizada para la producción de todos los bioinsecticidas basados en baculovirus disponibles en el mercado incluido el SeMNPV. Básicamente consiste en alimentar larvas con dieta semisintética que es superficialmente contaminada con una determinada suspensión acuosa del virus que se quiere multiplicar. Algunos de los aspectos esenciales de esta metodología, como por ejemplo las dietas para insectos o los métodos de cría masiva, deben ser específicamente desarrollados para cada sistema huésped-baculovirus. El método de cría masiva de *S. exigua* ha sido optimizado para la producción de SeMNPV en Tailandia (CHERRY *et al.*, 1997). Sin embargo, el desarrollo de este método requiere una gran cantidad de mano de obra que hace que no sea viable en países desarrollados. Para otros sistemas huésped-baculovirus se han desarrollado métodos de producción masiva que permiten utilizar una alta densidad de larvas y automatizar el proceso en gran medida reduciendo así los costes de producción. Algunos de estos métodos han sido objeto de patentes industriales en los Estados Unidos de América del Norte (HUGHES, 1994).

El método utilizado en nuestro laboratorio para la producción del SeMNPV consiste en infectar larvas del quinto estadio (L5) de *S. exigua*, en grupos de 100 larvas/caja, alimentándolas con dieta semisintética contaminada superficialmente por pulverización con $1{,}5 \times 10^8$ OBs. Las larvas muertas por virus son recogidas y los cadáveres triturados y homogenizados en tampón fosfato salino (PBS). De esta manera se obtiene una producción de entre 1,2 y $2{,}3 \times 10^9$ OBs/larva. Este método permite recuperar aproximadamente el 80% de las larvas infectadas, mientras que el 20% restante se pierde debido a canibalismo, lo cual resulta en una producción de entre $1{,}1 \times 10^{11}$ y $1{,}4 \times 10^{11}$ OBs/caja. La producción del SeMNPV en nuestro laboratorio se

basa en un sistema en el que se requieren unas 320 larvas (4 cajas, 80 cadáveres recogidos/caja) para la producción de $5x10^{11}$ OBs que es la cantidad de producto técnico (virus) necesario para tratar una hectárea de invernadero (Lasa *et al*, en prensa).

La productividad de este sistema puede ser mejorada significativamente si las larvas de *S. exigua* recién mudadas al quinto estadio son tratadas con una hormona juvenil con anterioridad a ser alimentadas con dieta artificial superficialmente contaminada de virus. Por ejemplo, las larvas tratadas con Fenoxicarb (1%) experimentan una muda supernumeraria que da lugar a un sexto estadio. Cuando estas larvas son tratadas, utilizando la misma concentración de virus y la misma metodología señaladas para L5, se obtienen producciones que oscilan entre $1,82x10^9$ y $10,4x10^9$ OBs/larva. El método de producción in vivo que utiliza un análogo de la hormona juvenil produce un incremento medio de entre 4 y 5 veces la cantidad de OBs producidos por larva (Lasa *et al* datos no publicados). Esto significa que con menos de 100 larvas infectadas podríamos producir la cantidad de OBs necesarios para tratar una hectárea. Otra mejora significativa de este sistema de producción se puede conseguir mediante la puesta a punto una técnica de cría de alta densidad de larvas similar al desarrollado y patentado por Hughes (1994).

5. FORMULACIÓN

Los bioinsecticidas basados en baculovirus, a diferencia de los plaguicidas químicos, actúan exclusivamente por ingestión y su persistencia sobre el cultivo es mucho menor; sin embargo, la mayoría de los baculovirus actualmente comercializados como bioinsecticidas utilizan el mismo tipo de formulación que los insecticidas químicos. Este tipo de formulación no tiene en cuenta las reconocidas ventajas de emplear sustancias fagoestimulantes, sustancias con actividad sinérgica o sustancias fotoprotectoras (WILLIAMS y CISNEROS, 2001) y, por lo tanto, no maximiza la capacidad insecticida de los baculovirus. El uso comercial de los baculovirus requiere el desarrollo de un producto formulado de fácil manejo y eficacia fiable. Para facilitar esto, una formulación correcta debe: (1) aumentar la actividad insecticida del patógeno, (2) optimizar la aplicación y la ingestión del virus por el fitófago, (3) maximizar la persistencia ambiental del mismo, (4) estabilizar el virus durante su almacenamiento, y (5) facilitar el manejo del producto por parte del agricultor (JONES y BURGUES, 1998).

Las sustancias que actúan como fagoestimulantes permiten incrementar la actividad alimenticia del fitófago con lo que un mayor número de individuos consumen una dosis letal del virus y además lo hacen en menos tiempo (BELL y KANAVEL, 1978; BARLET *et al.*, 1990). También se ha compro-

bado que las formulaciones que incorporan fagoestimulantes requieren menos materia activa (cantidad de virus) que otras formulaciones más sencillas (BARLET *et al.*, 1990) y que aumentan la eficiencia del depósito bioinsecticida en el sitio del que se alimenta el fitófago. Bartlet *et al.* (1990) demostraron que los carbohidratos, lípidos y proteínas son componentes esenciales de los mejores fagoestimulantes para las larvas de muchas especies de lepidópteros. En nuestro laboratorio se ha determinado el efecto fagoestimulante para larvas de *S. exigua* de una gama de 13 sustancias naturales, de bajo coste, la mayoría de las cuales habían sido identificadas en estudios previos por sus propiedades fagoestimulantes para distintas especies de lepidópteros (BURGUES y JONES, 1998; WILLIAMS y CISNEROS, 2001). En este estudio se llegó a tres conclusiones relevantes. En primer lugar, que la mayoría de las sustancias evaluadas, incluidos los potenciadores de sabor MSG y Sorbex, no actúan como estimulantes alimenticios para las larvas de *S. exigua* independientemente de que se haya señalado su actividad como atrayente alimenticio para otras especies fitófagas de lepidópteros. En segundo lugar que actividad de sustancias potencialmente fagoestimulantes depende de la experiencia alimenticia que tienen las larvas de *S. exigua*. Por último, que los bioensayos de laboratorio en los que se utilizan insectos criados sobre dietas artificiales requieren ser validados utilizando larvas criadas sobre plantas naturales antes de ser desarrollados en evaluaciones de campo (Lasa *et al.*, en prensa).

La radiación solar ultravioleta es el factor que tiene mayor efecto destructivo sobre la actividad de los baculovirus por lo que, generalmente, se recomienda incluir en la formulación de los bioinsecticidas el uso de sustancias protectoras (KILLICK y WARDEN, 1991). Los blanqueadores son sustancias derivadas del estilbeno que, por su capacidad de absorber la radiación UV y emitir luz en la región azul del espectro visible, son utilizados comúnmente para dar mayor brillo a pinturas, fibras, ropas, etc. (SHAPIRO, 1992). Shapiro (1992) describió su uso como protector de radiación para los baculovirus con resultados insólitos. Los virus formulados con ciertos blanqueadores mantuvieron el 100% de su actividad insecticida después de dos semanas de exposición a una fuente de luz UV. Simultáneamente, se demostró la capacidad que tienen estas sustancias de potenciar hasta en más de mil veces la actividad insecticida del baculovirus debido a la interacción del blanqueador con la membrana peritrófica del intestino del insecto (HAMM, 1999; SHAPIRO y ROBERTSON, 1992; WANG y GRANADOS, 2000). En nuestro laboratorio se ha determinado la influencia de un abrillantador óptico, Tinopal LPW, sobre la actividad insecticida del SeMNPV para larvas del segundo (L_2), tercero (L_3), cuarto (L_4) y quinto (L_5) estadios de *S. exigua*. Cuando las larvas son infectadas con una suspensión de OBs a la que se añade Tinopal LPW al 1% (peso/volumen), el valor de la dosis letal media

(DL50) del virus se reduce en todos los estadios larvarios en comparación con los insectos que han sido tratados con SeMNPV sólo (Cuadro 1). De esta manera se consigue mejorar la actividad insecticida, calculada en base a los valores de la DL_{50}, entre 2,6 y 580 veces dependiendo del estadio larvario. La mejora más importante se consigue en los dos últimos estadios, L_4 (70 veces) y L_5 (580 veces), que muestran una menor susceptibilidad a la infección por el SeMNPV que los primeros estadios (MURILLO *et al.*, 2003a). Se concluye, por tanto, que la incorporación de sustancias con actividad sinérgica puede aumentar de forma importante la utilidad del SeMNPV para el control de las plagas ocasionadas por *S. exigua*. Esto nos permite pensar en novedosas formulaciones que deben ser estudiadas más detalladamente para este sistema huésped-baculovirus.

Tratamiento	DL50 (OB/larva)	Potencia Relativa	Límites fiduciales (95%) Inferior	Límites fiduciales (95%) Superior
L_2				
SeMNPV	12.7	1.0	-	-
SeMNPV+T	5.0	2.6	1.7	3.9
L_3				
SeMNPV	52.3	1.0	-	-
SeMNPV+T	10.6	4.9	3.0	8.2
L_4				
SeMNPV	260.5	1.0	-	-
SeMNPV+T	3.7	69.9	45.4	107.5
L_5				
SeMNPV	19656	1.0	-	-
SeMNPV+T	34.8	583.2	393.6	875.9

Cuadro 1: Dosis letales medias y potencias relativas del SeMNPV con y sin Tinopal al 1% (T) para los estadios larvarios L_2, L_3, L_4 y L^5 de *S. exigua*.

6. CONTROL DE CALIDAD

Los bioinsecticidas basados en baculovirus deben satisfacer todas las condiciones de calidad exigibles a cualquier insecticida microbiano. El control de calidad, además de descartar la presencia de otros microorganismos contaminantes (incluidos otros genotipos virales no deseables en el producto), nos permitirá garantizar que las característica genéticas y físicas del virus no se han visto alteradas durante su producción o almacenamiento y que la actividad insecticida del producto final es la esperada.

El número y tipo de microorganimos contaminantes en cada lote de virus producido no deben representar un riesgo para la salud o el medio ambiente. Se ha establecido que el número máximo de bacterias aerobias no debe exceder de las 108 colonias por gramo de producto y que debe estar libre de coliformes y bacterias patógenas para el hombre como por ejemplo las pertenencientes a los géneros *Salmonella, Vibrio, Shigella,* etc. (SHAPIRO, 1986). El SeMNPV producido según el método descrito anteriormente puede mantenerse dentro de los límites aceptables de contaminantes, durante por lo menos 18 meses, cuando las condiciones de almacenamiento oscilan entre -20 y 4ºC. En cambio, a temperatura ambiente tiene lugar una proliferación no admisible de microorganismos no deseables en tan solo unas pocas semanas (Lasa *et al.*, datos no publicados).

Los principales cambios genéticos que pueden alterar la capacidad insecticida del virus son: 1) la pérdida de genes importantes para la transmisión del virus, los cuales no son importantes para la producción en laboratorio (por ejemplo, los genes auxiliares de quitinasa y catespina), y 2) la generación de genotipos autoparásitos (sin capacidad de replicarse por sí mismos). Tanto estos cambios como la presencia de genotipos contaminantes, cuya presencia no es deseable en el producto técnico, se pueden detectar mediante análisis del genoma del virus con endonucleasas de restricción. Cuanto mayor sea nuestro conocimiento sobre las características moleculares del baculovirus en cuestión, más y mejores marcadores moleculares podremos utilizar para detectar posibles cambios en el ADN genómico durante la producción masiva del bioinsecticida. En el caso del SeMNPV se conoce la secuencia completa del genoma (IJKEL *et al.*, 1999) y se ha determinado que las enzimas de restricción *PstI* y *Bgl*II son las que mejor permiten discriminar cambios en el genoma (CABALLERO *et al.*, 1992b; MUÑOZ *et al.*, 1999). La digestión del ADN genómico con las endonucleasas BglII y PstI produce un perfil de restricción característico y único para cada uno de los genotipos conocidos del SeMNPV (Figura 2). Por ejemplo, los fragmentos polimórficos generados por las enzimas BglII (BglII-A, BglII-H, BglII-J o K) o PstI (PstI-M) pueden utilizarse como marcadores moleculares para diferenciar entre dos o más genotipos.

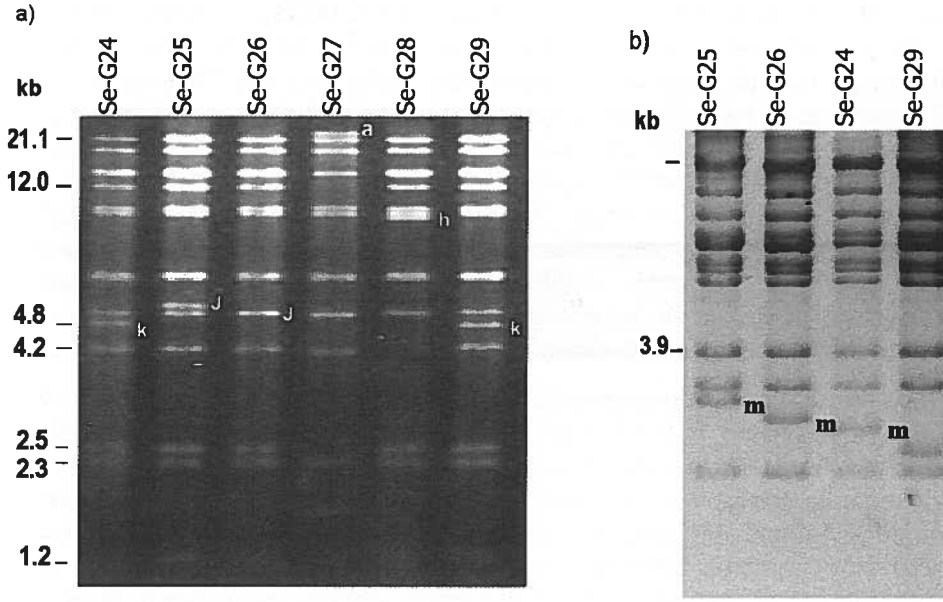


Figura 2: Electroforesis de los fragmentos de restricción obtenidos al tratar el ADN viral de los genotipos Se-G24, Se-G25, Se-G26, Se-G27, Se-G28 y Se-G29 con la enzima BglII (a) y PstI (b). Para cada genotipo se indican los fragmentos polimórficos a la derecha del carril. A la izquierda de la figura se indican los tamaños de algunos fragmentos de restricción en kilobases.

Una diferenciación más precisa de cada uno de los genotipos, o la detección de posibles cambios que estos puedan experimentar durante su replicación, se obtiene empleando una combinación de la técnica basada en la reacción en cadena de la polimerasa (Polymerase Chain Reaction, PCR) junto con la digestión de los fragmentos amplificados por PCR con endonucleasas de restricción (MURILLO *et al.*, 2006b). El empleo de dos cebadores genéricos para todos los genotipos del SeMNPV permite amplificar una zona hipervariable del genoma comprendida en el fragmento de restricción PstI-M y la digestión de los fragmentos amplificados con BglII produce perfiles de restricción únicos para cada unos de los genotipos del SeMNPV (Figura 3). Finalmente, la secuencia de nucleótidos del genoma completo, o de las regiones variables entre genotipos, es el método más preciso para detectar posibles alteraciones genéticas así como para proteger los derechos de patente a los que puedan estar acogidos determinados genotipos.

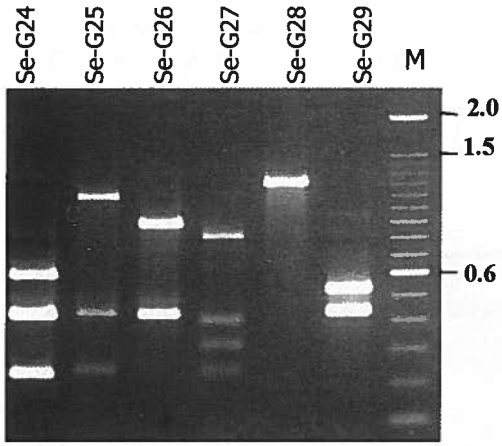


Figura 3: Electroforesis de los fragmentos de restricción generados por la digestión con BglII de los productos de PCR obtenidos para cada uno de los genotipos Se-G24, Se-G25, Se-G26, Se-G27, Se-G28 y Se-G29. La última columna (M) muestra el marcador de tamaño de fragmento cuyos valores se señalan a la derecha de la figura en kilobases.

La actividad insecticida de un producto cualquiera se verifica por comparación de los valores de la DL50 y el tiempo letal medio (TL50) del producto en cuestión con los valores correspondientes a un producto estándar que se mantiene almacenado a -20ºC (temperatura a la cual la actividad insecticida de un producto se mantiene constante durante muchos años). Por ejemplo, el valor de la DL50 de un lote experimental del SeMNPV, producido según se ha descrito anteriormente, fue de 7,8 OBs/larva (con límites fiduciales de 6,1 y 10 OBs/larva) para larvas L2 de *S. exigua*. Este valor es estadísticamente igual al valor de 9,2 OBs/larva (LF de 7,3 y 11,7 OBs/larva) obtenido en una estimación previa de la actividad del SeMNPV para larvas de la misma edad (L2) de *S. exigua*. Se consideró, por tanto, que el lote de virus reunía las condiciones de calidad necesarias para ser utilizado como agente de control en ensayos de campo y determinar su eficacia para el control de *S. exigua* en los cultivos de los invernaderos de Almería.

7. EFICACIA EN CAMPO DEL BIOINSECTICIDA

La eficacia de las aplicaciones de baculovirus para el control de plagas depende de múltiples factores pero principalmente de la dosis aplicada, la susceptibilidad a la infección de cada uno de los estadios del fitófago, la estructura poblacional de la plaga y el nivel de desactivación de los OBs sobre el filoplano del cultivo (PINNOCK y BRAND, 1981). La proporción de la población del fitófago que adquiere una dosis letal de virus también está influenciada por la distribución del depósito de OBs, que a su vez depende de factores físicos como el volumen de aplicación, la formulación, el equipo de pulverización, las características de las boquillas y la propia estructura

vegetativa del cultivo (BURGUES y JONES, 1998; SMITS y VLAK, 1988). La probabilidad de que el insecto adquiera una infección depende así mismo del comportamiento alimenticio de las larvas en los cultivos de invernadero por lo que normalmente se hacen tratamientos con volúmenes altos para asegurar la máxima cobertura del cultivo (BIANCHI *et al.*, 2000; SMITS *et al.*, 1987).

Para determinar la eficacia de un formulado sencillo del SeMNPV para el control de *S. exigua* se evaluaron el daño alimenticio en pimiento dulce y la mortalidad larvaria de esta plaga después de dos aplicaciones del SeMNPV en 11 invernaderos comerciales de Almería. Los propietarios de los invernaderos participaron como voluntarios para evaluar la validez de un programa de control biológico contra *S. exigua* en la zona. A los agricultores se les suministraron botellas de polietileno de un litro, que contenían una suspensión acuosa con una concentración de 5_1011 OBs/litro, para que aplicaran tratamientos con los equipos y prácticas que rutinariamente utilizan con los plaguicidas químicos. Se les recomendó que utilizaran una concentración de 5_108 OBs/litro de caldo aplicado y que incorporaran un agente mojante a una concentración final del 0,05% (vol/vol) y un acidificante para reducir el pH del caldo hasta un valor aproximado a 6,5. En cada invernadero se hicieron dos aplicaciones con un intervalo de entre 7 y 9 días dependiendo de los agricultores y otras circunstancias. El número de plantas con daños fue evaluado en cada invernadero justo antes de la primera aplicación (día cero) y a los 7 días después de cada aplicación. El daño de *S. exigua* fue clasificado como reciente (si se había producido en las últimas 48 h) o viejo (si era de más de 48 h) para lo cual el criterio utilizado fue la ausencia o presencia, respectivamente, de un halo necrótico amarillento que rodea la parte dañada de la hoja.

La evaluación de daños en el día cero puso de manifiesto que en cinco de los invernaderos había inicialmente un alto porcentaje de plantas (45-94%) con daños recientes (Figura 4a-e), mientras que, en los seis invernaderos restantes se encontró un bajo porcentaje de plantas (<16%) que exhibían daños recientes (Figura 4f-k). En todos los invernaderos con un alto nivel de infestación de *S. exigua* el porcentaje de plantas con daños recientes descendió pronunciadamente, después de la aplicación de los dos tratamientos con el SeMNPV, hasta valores de entre 0,1 y 9,9%. Simultáneamente se observó un incremento del porcentaje de plantas que exhibían daños viejos (Figura 4a-e). En los invernaderos con bajos niveles de infestación también se observó un descenso de los daños recientes y un aumento de los daños viejos, aunque el efecto no fue tan pronunciado como en los invernaderos con altas infestaciones (Figura 4f-k).

Aunque el modo de acción de los baculovirus hace que su tiempo letal sea más lento que el de los insecticidas químicos, nuestros resultados mues-

tran que el porcentaje de plantas con daños recientes descendió de forma muy marcada después de la aplicación del SeMNPV en los invernaderos. Sin embargo, en el intervalo de tiempo que transcurre entre que la larva ingiere una dosis letal de OBs y su muerte, las larvas continúan alimentándose y moviéndose en busca de alimento. Estudios previos indican que el 95% de la defoliación total de plantas de crisantemos la producen las larvas L4 y L5 de *S. exigua* (SMITS *et al.*, 1987). Teniendo esto en cuenta, una clara ventaja sería dirigir los tratamientos contra los primeros estadios larvarios para regular la población antes de que lleguen a producir defoliaciones significativas. Los dos primeros estadios larvarios causan un daño insignificante en el envés de las hojas por lo que suelen pasar desapercibidos para los agricultores hasta que las larvas alcanzan el tercer estadio (SMITS *et al.*, 1987). Una forma de detectar precozmente niveles de infestación significativos de los primeros estadios es mediante la implantación de un sistema de seguimiento utilizando trampas de luz o de feromonas en cada invernadero.

Cuatro días después de cada aplicación del virus se recogieron al azar larvas que se encontraban sobre las plantas tratadas y fueron individualmente criadas en condiciones de laboratorio para determinar la mortalidad debida al virus. La mortalidad debida al virus fue alta (70-89%) en todos los casos y no hubo diferencias significativas entre el primer y segundo tratamiento o entre invernaderos con alto o bajo nivel de infestación de *S. exigua*. El sistema de pulverización utilizado aseguró en todos los invernaderos una buena cobertura de la superficie foliar del cultivo por los depósitos del bioinsecticida. Las plantas de pimiento dulce tienen una densa masa foliar que facilita el depósito de las gotas pulverizadas y mejora la probabilidad de que las larvas adquieran pronto una dosis letal de OBs después de cada aplicación. La susceptibilidad de las larvas a la infección disminuye con la edad de las mismas pero esto es compensado por un mayor consumo de superficie foliar, y por tanto de OBs, en los últimos estadios (SMITS, 1987). El bioinsecticida basado en el SeMNPV proporciona una excelente protección del cultivo, especialmente las poblaciones con alta densidad como las observadas en cinco de los once invernaderos en los que las medidas de control químico han fallado, aún cuando se utilizan modernas materias activas tales con spinosad, indoxacarb, flufenoxuron, lufenuron, tebufenozide y Bacillus thuringiensis solos o en cócteles de varios productos.

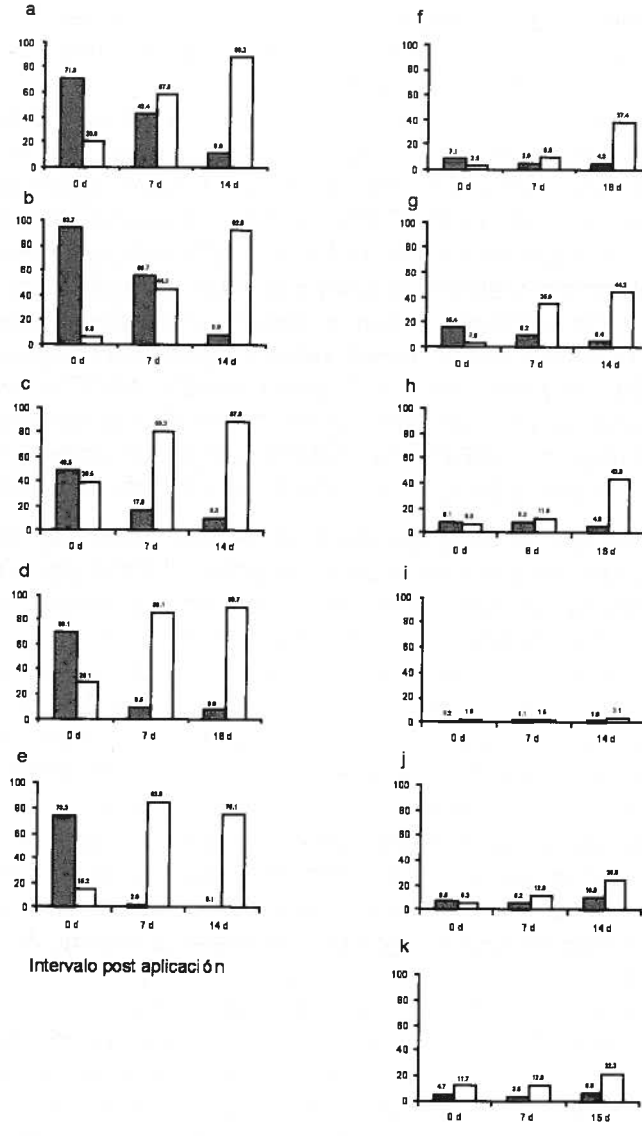


Figura 4. Porcentaje de plantas de pimiento dulce con daño reciente (columna gris) o viejo (columna blanca) producido por alimentación de las larvas de Spodoptera exigua a los dos días del tratamiento con SeMNPV en invernaderos de Almería con densidades de infestación alta (a-e) y baja (f-k).

Estudios previos en los que se utilizó el SeMNPV en mezclas con un abrillantador óptico con actividad sinérgica indican que las 48 primeras horas de alimentación por las larvas de *S. exigua* son claves para la adquisición de

una infección letal (Lasa *et al* datos no publicados). Por tanto, en un experimento separado, se evaluó el tiempo de adquisición de la infección por las larvas de *S. exigua* a dos concentraciones diferentes del virus sin el efecto confuso de una sustancia con actividad sinérgica. Dicha evaluación se realizó en siete invernaderos, cuatro de los cuales fueron tratados con una concentración de $5x10^8$ OBs por litro de caldo aplicado mientras que en los tres restantes la concentración de virus aplicada fue de $1x10^8$ OBs por litro. En cada invernadero se recogieron al azar larvas que se encuentran sobre las plantas inmediatamente antes de la aplicación (tiempo cero) y a las 6, 24 y 48 horas después de haber sido tratadas. Estas larvas fueron criadas individualmente en condiciones de laboratorio para determinar su mortalidad debida al SeMNPV.

El porcentaje de larvas de *S. exigua* que adquirió una infección letal aumentó significativamente a medida que aumentó el intervalo de tiempo desde la aplicación del tratamiento (Figura 5). La probabilidad de adquirir una infección estuvo influenciada de forma significativa por la concentración de SeMNPV utilizada en el tratamiento. En invernaderos tratados con $5x10^8$ OBs/litro el porcentaje de infección fue del 60%, en larvas recogidas 48 horas después de haberse realizado el tratamiento, mientras que en invernaderos tratados con $1x10^8$ OBs/litro el porcentaje de infección fue de sólo el 27% para ese mismo intervalo de tiempo. Consecuentemente, se concluye que el porcentaje de la población de la plaga que adquiere una infección letal depende claramente de la concentración de virus aplicado. Aplicaciones de $3x10^{11}$ OBs/ha de SeMNPV en cultivos de crisantemos dieron como resultado una mortalidad del 90% en los primeros estadios (L_1-L_4), de *S. exigua* (BIANCHI *et al.*, 2000; SMITS *et al.*, 1987) y proporcionaron un buen control de esta plaga en Tailandia en cultivos de tomates, pimientos, uvas, y garbanzos pero no en col china (KOLODNY-HIRSCH *et al.*, 1997).

Los resultados de los ensayos realizados en las condiciones de los invernaderos de Almería demuestran que la utilización de un bioinsecticida basado en una cepa nativa del SeMNPV proporciona un excelente control de las poblaciones de *S. exigua* en los cultivos de pimiento dulce. Este bioinsecticida controla de un modo efectivo infestaciones que no pueden ser controlados por otros insecticidas comerciales. El número de insectos que adquieren una infección letal aumenta rápidamente en las seis horas siguientes a la aplicación de OBs y posteriormente aumenta hasta que el 80% de la población queda infectada a los 4 días. La mayoría de los insectos infectados mueren a los 5-7 días del tratamiento resultando en un excelente nivel de protección, especialmente cuando se hace una segunda aplicación 7 días después de la primera. Por tanto, nosotros recomendamos el registro de este aislado del SeMNPV como un insecticida biológico (microbiano) para su utilización para el control de *S. exigua* en los invernaderos del sur de España.

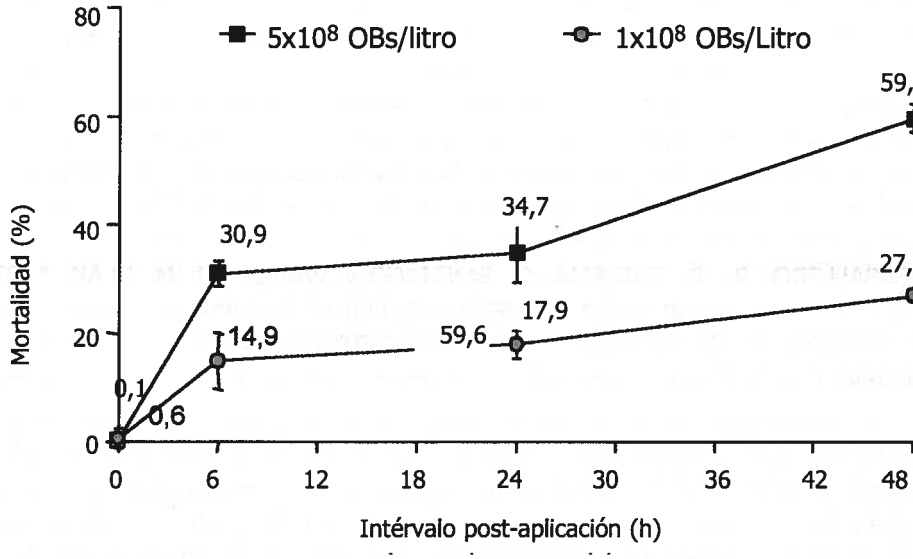


Figura 5. Porcentaje de mortalidad de larvas de S. exigua recogidas a distintos intervalos de tiempo y criadas en el laboratorio después de la aplicación de dos concentraciones diferentes del SeMNPV.

REFERENCIAS

BARLET, R. J., M. R. MCGUIRE Y D. A. BLACK. 1990. *Feeding stimulants for the european corn borner (Lepidoptera: Pyralidae): additives to starch-based formulation for Bacillus thuringiensis.* Environ. Entomol. 19: 182-189.

BELDA, J. E., 1994 Biología, ecología y control de *Spodoptera exigua* en cultivo de pimiento en invernadero., pp. Universidad de Almería, Spain.

BELL, M. R. Y R. F. KANAVEL. 1978. *Tobacco budworm: development of a spray adjuvants to increase effectiveness of a nuclear polyhedrosis virus.* J. Econ. Entomol. 71: 350-352.

BIANCHI, F. J., I. SNOEIJING, W. VAN DER WERF, R. M. MANS, P. H. SMITS Y J. M. VLAK. 2000. *Biological activity of SeMNPV, AcMNPV, and three AcMNPV deletion mutants against Spodoptera exigua larvae (Lepidoptera: noctuidae).* J. Invertebr. Pathol. 75: 28-35.

BURGUES, H. D. Y K. A. JONES. 1998. F*ormulatión of bacteria, viruses and protozoa to control insects,* p. En: H. D. BURGUES (ed.), Formulation of Microbial Bipesticides: Beneficial microorganisms, nematodes and seed treatments. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.

CABALLERO, P., H. K. ALDEBIS, E. VARGAS-OSUNA Y C. SANTIAGO-ALVAREZ. 1992a. *Epizootics caused by a nuclear polyhedrosis virus in populations of Spodoptera exigua in southern Spain.* Biocontrol Sci. Technol. 2: 35-38.

CABALLERO, P., T. WILLIAMS Y M. LÓPEZ-FERBER. 2001. *Estructura y clasificación de los baculovirus*, p. 15-46. En: P. CABALLERO, M. LÓPEZ-FERBER Y T. WILLIAMS (ed.), Los baculovirus y sus aplicaciones como bioinsecticidas en el control biológico de plagas. M. V. Phytoma-España, S. L. y Universidad Pública de Navarra, Valencia, Spain.

CABALLERO, P., D. ZUIDEMA, C. SANTIAGO-ALVAREZ Y J. M. VLAK. 1992b. *Biochemical and biological characterization of four isolates of Spodoptera exigua nuclear polyhedrosis virus. Biocontrol Sci.* Technol. 2: 145-157.

CHERRY, A. Y T. WILLIAMS. 2001. *Control de insectos plaga mediante baculovirus,* p. 389-452. En: P. CABALLERO, M. LÓPEZ-FERBER Y T. WILLIAMS (ed.), Los baculovirus y sus aplicaciones como bioinsecticidas en el control de plagas. Phytoma-España.

CHERRY, A. J., M. A. PARNELL, D. GRZYWACZ Y K. A. JONES. 1997. *The optimization of in vivo nuclear polyhedrosis virus production in Spodoptera exempta (Walker) and Spodoptera exigua (Hubner).* J. Invertebr. Pathol. 70: 50-58.

CUADRADO, I. M. Y E. VIÑUELA. 1998. R*esistencia a los pesticidas hortícolas.* FIAPA, La Cañada, Almería.

GRANADOS, R. R. Y K. A. WILLIAMS. 1986. *In vivo infection and replication of baculoviruses*, p. 89-127. En: R. R. GRANADOS Y B. A. FEDERICI (ed.), The Biology of Baculoviruses. CRC Press, Inc., Boca Raton,Florida.

GRÖNER, A. 1986. *Specificity and safety of baculoviruses,* p. 177-202. En: R. R. GRANADOS Y B. A. FEDERICI (ed.), The biology of baculoviruses: biological properties and molecular biology. Academic Press, San Diego.

HAMM, J. J. 1999. *Interactions in Entomology: enhanced infectivity of entomopathogenic viruses by fluorescent brighteners.* J. Entomol. Sci. 34: 8-16.

HUGHES, P. R. 1994. US patent.5351643.

IJKEL, W. F., E. A. VAN STRIEN, J. G. HELDENS, R. BROER, D. ZUIDEMA, R. W. GOLDBACH Y J. M. VLAK. 1999. *Sequence and organization of the Spodoptera exigua multicapsid nucleopolyhedrovirus genome.* J. Gen. Virol. 80: 3289-3304.

JAQUES, R. P. 1985. *Stability of insect viruses in the environment,* p. 285-369. En: K. MORAMORASCH Y K. E. SHERMAN (ed.), Insecticides for Biological Control. Academic Press, New York.

JONES, K. A. Y H. D. BURGUES. 1998. *Principles of formulation and application,* p. En: H. D. BURGUES (ed.), Formulation of microbial biopesticides: beneficial micro-organisms, nematodes and seed treatments. Kluwer Academic, Dordrecht.

KILLICK, H. J. Y S. J. WARDEN. 1991. *Ultraviolet penetration of pine trees and insect virus survival.* Entomophaga 36: 87-94.

KOLODNY-HIRSCH, D. M., T. SITCHAWAT, J. JANSARI, A. CHENRCHAIVACHI-RAKUL Y U. KETUNUTI. 1997. *Field evaluation of a comercial formulation of the Spodoptera exigua (Lepidoptera: Noctuidae) nuclear polyhedrosis virus for control of beet armyworm on vegetable crops in Thailand. Biocontr.* Sci. Technol. 7: 475-488.

LACASA, A. 2004. *Manejo de plagas en cultivo de pimiento e invernaderos mediterráneos,* p. 279-292. En: J. M. FERNANDEZ (ed.), Producción hortícola y seguridad alimentaria. Universidad de Almería.

LARA, L. Y A. URBANEJA. 2002. *Control biológico de plagas en pimiento en la provincia de Almería.* Horticultura 165: 86-90.

MASCARENHAS, V. J., J. B. GRAVES, B. R. LEONARD Y E. BURRIS. 1998. *Susceptibility of field populations of beet armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) to commercial and experimental insecticides.* J. Econ. Entomol. 91: 827-833.

MOSCARDI, F. 1999. *Assessment of the application of baculoviruses for control of Lepidoptera.* Annu. Rev. Entomol. 44: 257-289.

MOULTON, J. K., D. A. PEPPER, J. DENNEHY, P. DUGGER Y D. RICHTER. 1999. *Studies of resistance of beet armyworm (Spodoptera exigua) to spinosad in field populations from the southern USA and southeast Asia.* Procedings beltwide cotton conferences. Orlando, Florida. USA. 2: 884-887.

MOULTON, J. K., D. A. PEPPER, R. K. JANSSON Y T. J. DENNEHY. 2002. *Proactive management of beet armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) resistance to tebufenocide and methoxyfenozide: baseline monitoring risk assessment, and isolation of resistance.* J. Econ. Entomol. 95: 414-424.

MUÑOZ, D. Y P. CABALLERO. 2000. *Persistence and effects of parasitic genotypes in a mixed population of the Spodoptera exigua nucleopolyhedrovirus.* Biol. Control 19: 259-264.

MUÑOZ, D. Y P. CABALLERO. 2001. *Diversidad natural de los baculovirus,* p. 95-118. En: P. CABALLERO, M. LÓPEZ-FERBER Y T. WILLIAMS (ed.), Los baculovirus y sus aplicaciones como bioinsecticidas en el control biológico de plagas. Phytoma-España, Valencia, Spain.

MUÑOZ, D., J. I. CASTILLEJO Y P. CABALLERO. 1998. *Naturally occurring deletion mutants are parasitic genotypes in a wild-type nucleopolyhedrovirus population of Spodoptera exigua.* Appl. Environ. Microbiol. 64: 4372-4377.

MUÑOZ, D., R. MURILLO, P. J. KRELL, J. M. VLAK Y P. CABALLERO. 1999. *Four genotypic variants of a Spodoptera exigua nucleopolyhedrovirus* (Se-SP2) are distinguishable by a hypervariable genomic region. Virus Res. 59: 61-74.

MURILLO, J., R. LASA, D. GOULSON, T. WILLIAMS, D. MUÑOZ Y P. CABALLERO. 2003a. *Effect of Tinopal LPW on the insecticidal properties and genetic*

stability of the nucleopolyhedrovirus of Spodoptera exigua (Lepidoptera: Noctuidae). J. Econ. Entomol. 96: 1668-1674.

MURILLO, R., S. ELVIRA, D. MUNOZ, T. WILLIAMS Y P. CABALLERO. 2006a. *Genetic y phenotypic variability in Spodoptera exigua nucleopolyhedrovirus isolates from greenhouse soils in southern Spain.* Biol. Control 38: 157-165.

MURILLO, R., D. MUNOZ, T. WILLIAMS, N. MUGETA Y P. CABALLERO. 2006b. *Application of the PCR-RFLP method for the rapid differentiation of Spodoptera exigua nucleopolyhedrovirus genotypes.* J Virol Methods 135: 1-8.

MURILLO, R., D. MUÑOZ Y P. CABALLERO. 2003b. *Host range and biological activity of three Spodoptera nucleopolyhedrovirus genotypic variants and the effect of Tinopal LPW on the most active variant.* International Journal of Pest Management 49: 147-153.

PINNOCK, D. E. Y J. R. BRAND. 1981. *A quantitative approach to the ecology of the use of pathogens for insect control,* p. 655-665. En: H. D. BURGUES (ed.), Microbial control of pests and diseases. Acad. Press., New York.

RODGERS, P. B. 1993. *Potential of biopesticides in agriculture.* Pesticide Science 39: 117-129.

SHAPIRO, M. 1986. *In vivo Production of Baculovirus,* p. 31-62. En: R. R. GRANADOS Y B. A. FEDERICI (ed.), The biology of Baculoviruses. CRC Press, Boca Raton, Florida, U.S.A.

SHAPIRO, M. 1992. *Use of optical brighteners as radiation protectans for gypsy moth (Lepidoptera: Lymantriidae) nuclear polyhedrosis virus.* J. Econ. Entomol. 85: 1682-1686.

SHAPIRO, M. Y J. L. ROBERTSON. 1992. *Enhancement of gypsy moth (Lepidoptera: Lymantridae) baculovirus activity by opticam brithteners.* J. Econ. Entomol. 85: 1120-1124.

SMAGGHE, G., M. AUDA, K. VANLAECKE Y D. DEGHEELE. 1997. S*ignificance of penetration and metabolism on topical toxicity of diflubenzuron in Spodoptera littoralis and Spodoptera exigua.* Entomol. Exp. Appl. 82: 255-260.

SMAGGHE, G., S. PINEDA, B. CARTON, P. DEL ESTAL, F. BUDIA Y E. VINUELA. 2003. *Toxicity and kinetics of methoxyfenozide in greenhouse-selected Spodoptera exigua (Lepidoptera: Noctuidae). Pest Manag.* Sci. 59: 1203-1209.

SMITS, P. H., 1987 *Nuclear polyhedrosis virus as biological control agent of Spodoptera exigua.*, pp. PhD Thesis, Wageningen Agricultural University, Wageningen, The Netherlands.

SMITS, P. H., M. VAN DE VRIE Y J. M. VLAK. 1987. *Nuclear polyhedrosis virus for control of Spodoptera exigua larvae in glasshouse crops.* Entomol. Exp. Appl. 43: 73-80.

SMITS, P. H. Y J. VLAK. 1994. *Registration of the first viral insecticide in the Netherlands: the development of Spod-X based on Spodoptera exigua nuclear polyhedrosis virus.* Mededelingen van de Faculteit Landbouwwetenschappen Rijksuniversiteit Gent 59/2A: 385-392.

SMITS, P. H. Y J. M. VLAK. 1988. *Biological activity of Spodoptera exigua nuclear polyhedrosis virus against S. exigua larvae.* J. Invertebr. Pathol. 51: 107-114.

STANSLY, P. A., F. J. CALVO Y A. URBANEJA. 2005. *Augmentative biological control of Bemisia tabaci biotype 'Q' in Spanish greenhouse pepper production using Eretmocerus* spp. Crop Protection 24: 829-835.

TORRES-VILA, L. M., M. C. RODRIGUES MOLINA, A. LACASA, E. J. PALO, M. MEJÍAS Y M. GUERRERO. 1998. *Susceptibilidad de 20 insecticidas de Helicoverpa armigera y Spodoptera exigua en la vega del Guadiana* (Extremadura). Boletín de Sanidad Vegetal de Plagas 24: 353-362.

VOLKMAN, L. E., G. W. BLISSARD, P. FRIESEN, B. A. KEDDIE, R. POSSEE Y D. A. THEILMANN. 1995. Family Baculoviridae, p. 104±113. En: MURPHY, C. M. FAUQUET, D. H. L. BISHOP, S. A. GHABRIAL, A. W. JARVIS, G. P. MARTELLI, M. A. MAYO Y M. D. SUMMERS (ed.), Virus Taxonomy. Classification and Nomenclature of Viruses. Sixth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Springer-Verlag, Vienna.

WANG, P. Y R. R. GRANADOS. 2000. *Calcofluor disrupts the midgut defense system in insects.* Insect Biochem. Mol. Biol. 30: 135-143.

WILLIAMS, T. Y J. CISNEROS. 2001. Formulación y aplicación de los baculovirus bioinsecticidas, p. 313-372. En: P. CABALLERO, M. LÓPEZ-FERBER Y T. WILLIAMS (ed.), *Los baculovirus y sus aplicaciones como bioinsecticidas en el control biológico de plagas.* Phytoma-España, Valencia, Spain.

TRATAMIENTOS POST-COSECHA EN FRUTAS DE HUESO

Rafael Daza Real
Ingeniero Agrónomo

ANTECEDENTES

La calidad de la fruta se hace en el campo, se confirma en la recolección y se conserva en la post-cosecha. Poco o nada se puede hacer para mejorar la calidad tras la recolección y es muy fácil cometer errores y bastante frecuente perder calidad por la acción de tratamientos erróneos o la omisión de acciones correctas.

Voy a intentar desarrollar los factores mas destacables sobre las circunstancias que afectan a las frutas de hueso, concretamente a melocotones, nectarinas (Prunus persicae) y ciruelas japonesas (Prunus salicina), en los procesos que abarcan desde recolección hasta el consumo final.

Recordamos que los frutos citados son frutos "climatéricos" es decir que continúan con procesos respiratorios y de evolución del fruto hasta la senescencia.

En especial, en los melocotones los frutos de un mismo árbol no alcanzan el mismo nivel de madurez simultáneamente, la recolección se realiza a lo largo de varios días, entre una semana a diez días, e, incluso a veces, dependiendo de variedad, fenología y fecundación, se puede prolongar hasta unos veinte días.

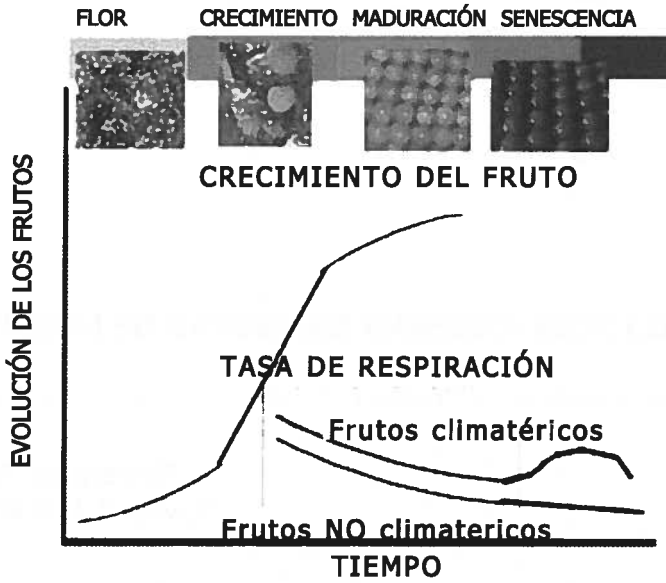


Figura 1. Sigmoide crecimiento frutos y tasa de respiración en madurez.

La unión de estas dos características, fruto climatéricos y maduración escalonada, dificultan la recolección, por la irregular madurez comercial de los frutos, siendo frecuente que un mismo recolector que cosecha frutos excesivamente verdes (inmaduros) deje en el árbol frutos ya aptos y, que trascurridos uno o dos días, ya hayan superado la madurez comercial y su destino sea el vertedero, bien en campo bien desde la central hortofrutícola.

Todas estas circunstancias influyen en la rentabilidad y el prestigio comercial de los productores y operadores que integran el sector de frutas de hueso. Un producto que por sus condiciones agronómicas ocasionan altos costes de producción, se rentabilizan solo con cotizaciones altas que, como es lógico, suelen son atendidas por los consumidores de mayor nivel y exigencias.

Todas estas circunstancias inciden en la importancia que debemos dar a correctos y eficaces tratamientos en post-cosecha que permitan mantener y presentar correctamente, a intermediarios y consumidores, los frutos cosechados

Por ello vamos a intentar destacar las características fisiológicas, los medios técnicos y posibles tratamientos que permitan un tránsito comercial, de campo a consumidor, en las circunstancias más favorables para la calidad e integridad de los frutos.

CARACTERÍSTICAS TÉCNICAS DE FRUTAS DE HUESO EN POST-COSEHA

Clasificamos los procesos técnicos de la fases de tratamientos frigoríficos, selección, clasificación, envasado, transporte y comercio según el origen y/o la naturaleza de las acciones externas que afectan a los frutos .

- Físicas
- Químicas
- Biológicas.

Temperatura y humedad relativa son los dos factores de carácter físico que están siempre presentes en la evolución comercial de los frutos y que inciden, lógica e ineludiblemente, sobre reacciones químicas tales como la maduración (desprendimientos de etileno) y la respiración (consumo de hidratos de carbono) o bien sobre acciones biológicas como favorecer el desarrollo sobre frutos recolectados de hongos y bacterias.

Debemos destacar que la producción tanto de melocotones (y nectarinas) como de ciruelas, de variedades conocidas como japonesas (aunque en realidad de selección y genética californianas), lleva décadas emigrando hacia latitudes más al sur. Las instalaciones y transportes frigoríficos y la evolución genética hacia variedades con menores necesidades de reposo invernal, permiten esta emigración productiva. Cuanto mas alejados se encuentre la producción de los mercados (y estos suelen estar en el norte) mayor importancia alcanza el correcto tratamiento de los frutos en post-cosecha.

Para el análisis de las incidencias que afectan a los frutos, destacamos tres fases de la vida post-recolección de los frutos

- Tratamiento de frutos recolectados en campo y en transporte a central.
- De disponibilidad de medios e instalaciones y aplicación de los adecuados tratamientos en central para minimizar perdidas de peso.
- Correcto transporte y conservación en la fase comercial hasta la adquisición y el consumo

En todas las fases, temperatura y humedad influyen sustancialmente en el estado y conservación de los frutos de hueso. Peso, limpieza, el mantenimiento de las cualidades organolépticas y de la integridad de los frutos influirán notablemente en los resultados económicos de la actividad.

EVOLUCIÓN Y TRATAMIENTOS DE LOS FRUTOS TRAS LA RECOLECCIÓN.

Pérdida de peso de los frutos.

Peso y tamaño de los frutos es el primer factor cuantificable en la actividad comercial de ventas de cualquier fruta. La ineludible perdida de peso depende de la manipulación y tratamientos a los que son sometidos para que su entorno de humedad y temperatura sean lo mas favorables posibles a su integridad.

La perdida de peso es debida a dos factores que diferente influencia cuantitativa.

1.- La mayor pérdida es debida a la paulatina deshidratación de los frutos, originada por la diferencia del déficit de la presión de vapor (DDPV) en función de temperatura y humedad relativa del medio que los rodea.

2.- La pérdida de hidratos de carbono, de menor importancia, motivada por respiración (desprendimiento de CO2), debida a la naturaleza climatérica del fruto, respiración que tiene mayor o menor actividad en función de la temperatura.

A mayor gradiente (G) correspondiente al valor del DPVA (Déficit de presión de vapor de agua) mayor será deshidratación del fruto. El valor del DPVA corresponde a la diferencia entre la presión del vapor del agua en el interior del fruto y la del vapor del agua en el aire situado en el entorno del fruto.

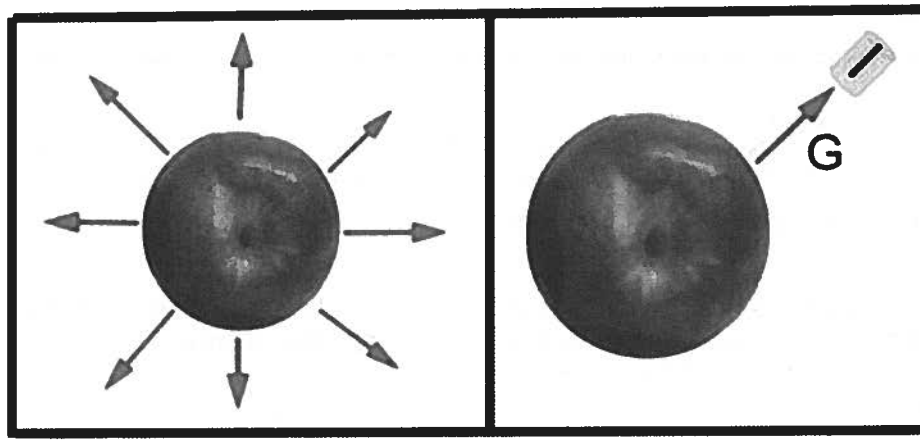


Figura núm. 2. Deshidrataciones de los frutos.
Figura núm. 3. Representación del gradiente (G) de perdidas de humedad.

Para poder minimizar las perdidas de peso, se debe estar atentos a las temperaturas y humedades relativas que rodean a las superficies de los frutos en todas las fases del proceso comercial. Cuanto mayor sea la temperatura mayor es el valor de la "Humedad absoluta en saturación" del aire (Wa, g. de agua /Kg aire seco) y mayor se hará el valor del gradiente deshidratador.

Vemos gráficamente en el esquema número (Fig.4) como aumenta la cantidad de agua necesaria para saturar un kilo de aire a medida que aumenta la temperatura del aire.

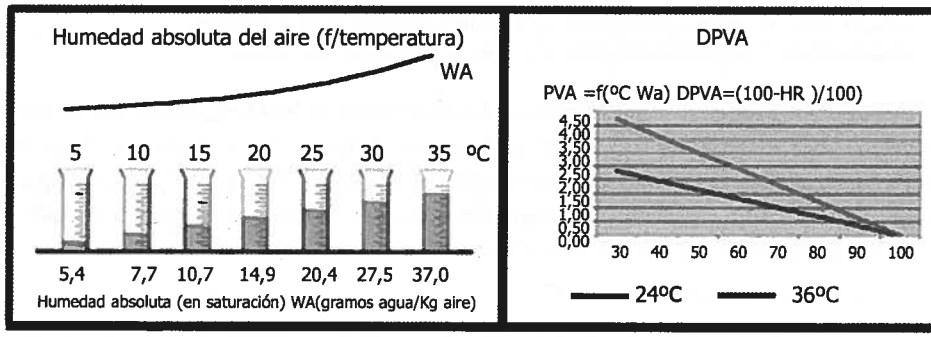
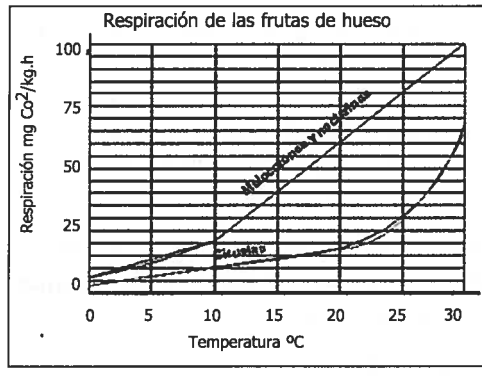


Figura núm. 4. Esquema de la humedad en saturación del aire función de la temperatura.

Figura núm. 5. Descenso del valor de DPVA al aumentar la HR(%). (DPVA=(Pva*(100-HR)/100)

Para evitar, en lo posible, las perdidas de peso debemos intentar mantener los frutos con la menor temperatura y la mayor humedad relativa posible. En los recintos cerrados y fríos (cámaras frigoríficas) podemos conseguir mantener los niveles de la HR alrededor de 95% y en recintos poco herméticos (Salas de envasado) se debe intentar disminuir al máximo el gradiente G bajando en lo posible la temperatura ambiente ya que difícilmente se podrá regular la humedad relativa.

Podemos apreciar (Fig. 5) las diferencias entre los valores de DPVA según las temperaturas (25 y 35 ºC) a distintas humedades relativas.



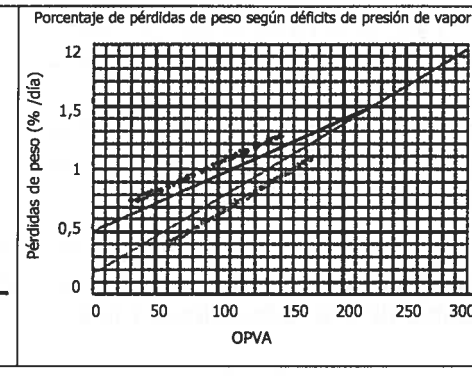


Figura núm. 6. Tasa respiratoria f (ºC) para melocotones y ciruelas.
Figura núm. 7. Pérdidas de peso (% día) según valor de DPVA.

A efectos prácticos y económicos, las perdidas de peso pueden ser importantes, si no se cuidan todos los tiempos y factores de la fruta en fase de comercialización. Con los datos de perdidas de peso (Fig. 6 y 7), en melocotones y nectarinas, podemos establecer las diferencias de perdidas de peso (teóricas) durantes dos procesos diferentes, empresarial y técnicamente.

En el método "convencional" la fruta no sale rápidamente del campo (4 horas), se transporta a central en camión ventilado (30ºC) y ésta solo cuenta con instalaciones frigoríficas tradicionales y no está climatizado. Los datos resultantes de este proceso son:

Método poco especializado en el manejo de las frutas recolectadas y empleo de tecnología e intalaciones antigüas en almacén				
Fase del proceso	Número de horas	Temperatura inicial	temperatura final	% s/pérdidas
Campo	4	24	32	34,2%
Transporte (lona)	1	30	30	11,8%
Recepción (Central)	1	28	28	8,8%
Pre-enfriamiento (Cámara recepción)	12	24	6	14,7%
Conservación (Cámara)	5	6	6	3,5%
Selección y envasado	4	18	24	19,8%
Enfriamiento (Cámara expedición)	7	14	4	7,2%
Total horas y ºC	34	509	ºC(Int,Térmica)	100,00%
Pérdidas de peso (Kg)	peso inicial	peso final	pérdida	%
Kilos de fruta	10.000	9.429	571	5,7%

Figura núm. 8. Pérdidas de peso durante proceso de manipulación "convencional".

La fruta está 34 horas en proceso, desde recolección a expedición al mercado, y por cada 10 Tm. se pierden 571 Kg. (5,7%) al soportar una "integral térmica" de 509 º C (Con humedades relativas normales en cada proceso). Lógicamente, es en las fases no frigoríficas, campo (34,2%) y fase de selección y envasado (19,8%) cuando se producen las mayores perdidas.

Aplicando un método "eficaz y tecnificado ", la fruta estará el menor tiempo posible en campo (3 horas), se transporta a central en camión frigorífico (18 º C) y ésta cuenta con instalaciones de climatización de zonas de trabajo, túneles de enfriamiento rápido y las tradicionales cámaras frigoríficas.

Por este sistema, fruta está 22 horas en proceso, desde recolección a expedición al mercado, y por cada 10 Tm. se pierden 310 Kg. (3,1%) al soportar una "integral térmica" de 273 º C (Con humedades relativas normales en cada proceso). Lógicamente, es en las fases no frigoríficas, campo (38,5%) y fase de selección y envasado (24,9 %) cuando se producen las mayores perdidas.

Método cuidadoso en el manejo de las frutas recolectadas y empleo de tecnología e intalaciones modernas en central				
Fase del proceso	Número de horas	Temperatura inicial	temperatura final	% s/pérdidas
Campo	3	24	30	38,5%
Transporte (Frigo)	1	18	18	10,4%
Recepción (Central)	1	22	28	7,0%
Enfriamiento rápido (Tunel)	3	18	8	6,5%
Pre-enfriamiento (Cámara recepción)	3	8	6	3,4
Conservación (Cámara)	1	6	6	1,7%
Selección y envasado	3	20	21	24,9%
Enfriamiento rápido (tunel)	3	10	4	6,0%
Enfriamiento (Cámara expedición)	4	14	4	1,6%
Total horas y ºC	22	373	ºC(Int.Térmica)	100,00%
Kilos de fruta	Peso inicial	Peso final	Pérdida	%
	10.000	9.690	310	3,1%

Figura núm. 9. Pérdidas de peso durante proceso de manipulación "eficaz y tecnificada".

Las perdida de peso durante el proceso "eficaz" no llegan al 55% de las producidas por el sistema "tradicional". Si consideramos que la diferencia de

perdida de peso es de 262 Kg /10 Tm, para una producción considerada de 18 Tm. /ha y fijando en 1 euro / kg de valor, se ahorrarían unas perdidas por valor de 470 euros /ha.

Calibres comerciales melocotón/nectarina	Diámetros mm.	Volumen cm^3	Superficie cm^2	Superf/volum S/V
AAAA	90	381,70	254,47	0,67
AAA	80	268,08	201,06	0,75
AA	73	203,69	167,42	0,82
A	67	157,48	141,03	0,90
B	61	118,85	116,90	0,98
C	56	91,95	87041	1,07
D	51	68,46	81,71	1,18

Figura núm. 8. Pérdidas de peso potenciales para pequeños calibres (>S / V).

Finalmente, como colofón al análisis de las perdidas por deshidratación de los frutos es destacable que cuanto menor es el tamaño de frutos mayor es el gradiente de perdida, ya que, al tener mas superficie evaporativa para menor volumen de agua, aumenta la relación "superficie/volumen" y aumenta el potencial de perdidas para los diámetros o calibres menores.

Pérdida de calidad externa de los frutos.

Acabamos de ver lo importante que es el acondicionamiento ambiental del interior de una Central Hortofrutícola para evitar importantes perdidas de peso (que llevan implícitas perdidas de calidad organolépticas producidas por la respiración).

Temperatura y humedad relativa afectan de directamente a las frutas en fase de selección, clasificación y envasado al producirse condensaciones del agua sobre la superficie de frutos fríos en proceso.

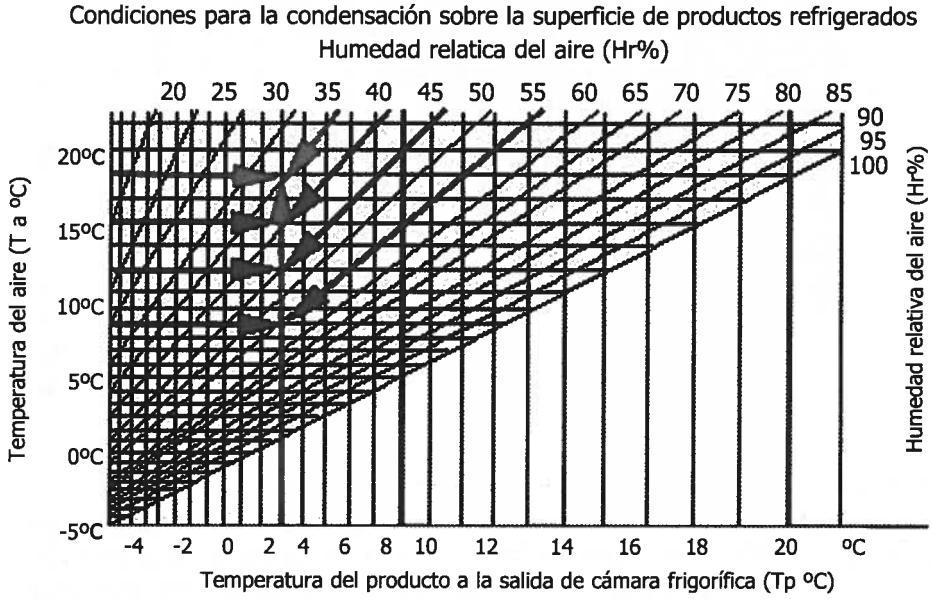
La condensación puede afectar a la integridad biológica de la fruta (posibles infecciones por el entorno húmedo) y en especial a la limpieza externa de su superficie, suciedad concentrada por la humedad externa que puede provenir de la propia fruta o de la suciedad (fácilmente acumulable) en la superficies de las cintas transportadoras de los calibradores y de las mesas de selección y envasado.

La condensación en las frutas se produciran a partir de valores determinados de tres factores:

- Temperatura de los frutos
- Temperatura del ambiente
- Humedad relativa del ambiente.

Podemos estudiar las diferentes incidencias que afectan a la condensación en función de la variación de los valores, estando estos relacionados entre según el diagrama de condensación.

Figura núm. 9. Condiciones para la formación de condensación según la temperatura del fruto.

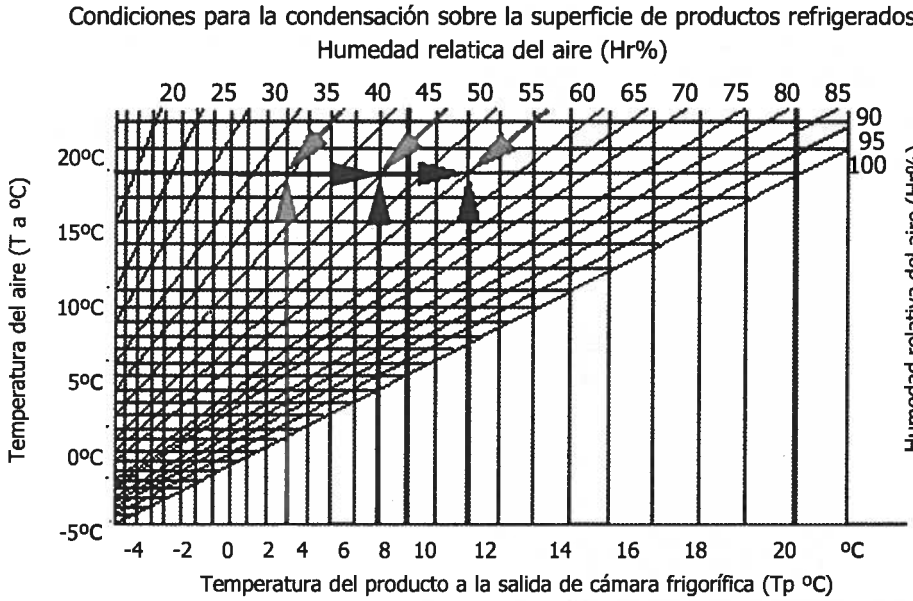


Para una temperatura del fruto de 4 º C, se producirían condensaciones, por ejemplo, en las condiciones mas desfavorables de los puntos de encuentro. A 20ª C a partir del 40% de HR, sin embargo si el ambiente bajase a 16º C. sería necesario que subiese la humedad al 50% para ocasionar la condensación.

Un procedimiento para eludir condensaciones se basa en evitar trabajar los frutos a temperaturas excesivamente bajas. En la figura número 10 se puede apreciar como a 20 ºC de temperatura ambiente, se requiere mayor HR para prodicir condensaciones a medida que la fruta está menos fría. Con

frutas a 5º C puede haber condensación con una humedad de solo el 40 %, en cambio si estuviesen a 12 º C se generaria condensación a partir del 60 % HR.

Figura núm. 10. Condiciones para la formación de condensación según una misma temperatura del ambiente.



Tanto la temperatura del ambiente como del producto son relativamente fáciles de modificar. Pero resulta factor poco manejable el nivel de humedad, mas difícilmente modificable, especialmente si fuese necesario secar. En la figura número 10 apreciamos la correlación entre ambas temperaturas, que para un mismo nivel de HR (60%) permiten poder contar con un ambiente mas cálido a medida que se trabajan frutos menos fríos.

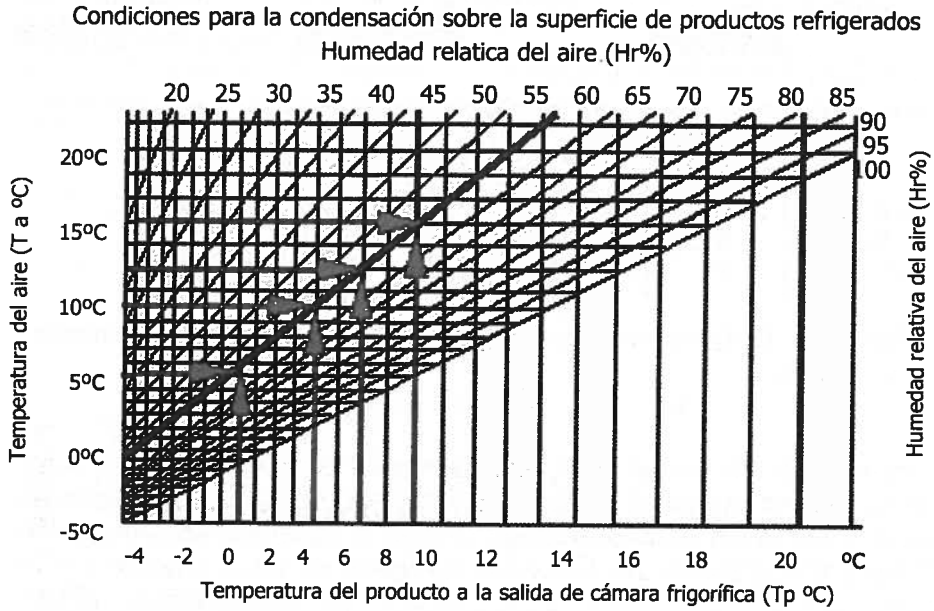


Figura núm. 11 Condiciones para la formación de condensación según la humedad relativa del ambiente.

En el siguiente cuadro (Fig. 11) vemos algunos datos obtenidos del diagrama de condensación que reflejan los valores umbrales para la condensación según permanezca estable, en cada caso, una de las tres variables que influyen para que se produzca.

Temperatura del fruto (ºC)		Temperatura del ambiente (ºC)		Temperatura relativa (%) del ambiente	
Temperatura ambiente (ºC)	Humedad relativa %	Temperatura ambiente (ºC)	Humedad relativa %	Temperatura ambiente (ºC)	Humedad relativa %
20	40	5	40	2	9
18	45	7	45	6	14
16	50	9	50	8	16
13	55	2	60	10	18

Figura núm. 11. Ejemplo de combinaciones de valores que dan lugar a condensaciones en los frutos

El efecto de la condensación, además de los efectos de producir humedad no deseable y generar suciedad en máquinas, se produce un efecto muy negativo porque el agua acumulada recorre la superficie del fruto, arrastrando y concentrando las pequeñas partículas de polvo procedentes del campo. Esto da lugar, una vez seco, a unas frutas comercialmente rechazables por su aspecto, que difícilmente puede ser limpiado, salvo que se opero fruto por fruto en un ambiente seco sin posibilidad de nueva condensación.

Esto solo es evitable estableciendo en la línea de las calibradoras un mecanismo de lavado y secado de los frutos de tal forma que al ser fácil mantener limpios frutos, cintas y maquinas, los frutos serán envasados sin riesgo de que presente aspecto sucio una vez en el mercado.

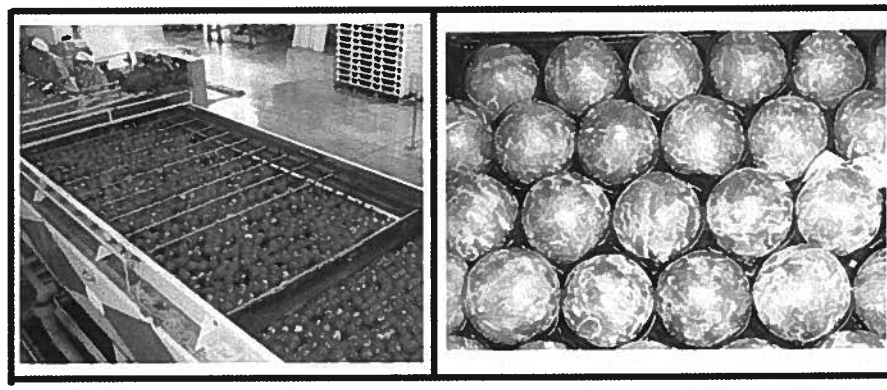


Figura núm. 12. Procediendo al lavado (Izq.) se evita presentaciones de frutas sucias (Derch.)

La diferencia comercial entre frutas de la misma variedad que han sido lavadas o que han acumulado "pruina" y polvo tras sufrir condensación en

el proceso de envasado se puede apreciar en las dos fotos comparativas. Es importante recordar que esta suciedad tan destacada no es apreciable cuando el fruto se envasa aún húmedo.

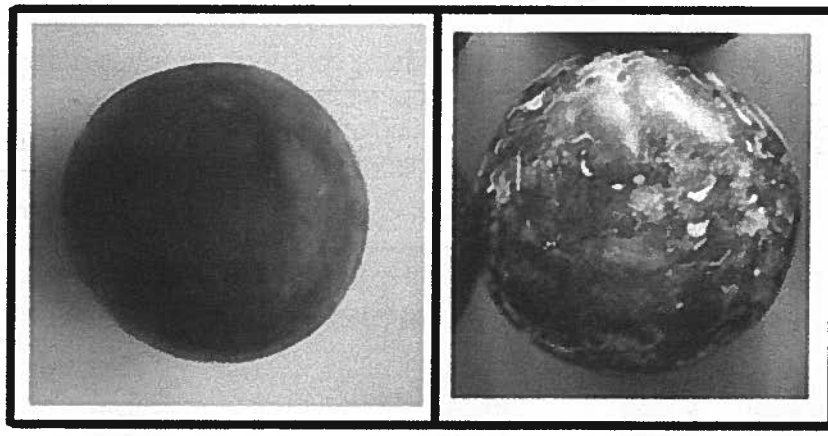


Figura núm. 13. La misma variedad, tras lavado (Izq.) y tras el secado después de soportar condensaciones (Derch.)

Temperatura y humedad en la conservación frigorífica . El intervalo mortal para algunas frutas de hueso.

Todas las incidencias que comentaremos a continuación se refieren a la conservación de frutas de hueso en atmósfera normal (no controlada) con o sin regulación de la tasa del etileno. (Bien por ventilación, como por tratamientos con químicos como permanganato potásico)

Es habitual considerar para la conservación (a corto y medio plazo) de frutas de hueso la temperatura de 4 º C. Si el periodo de conservación no es largo (mas de 4 semanas) no debe producirse ningún efecto negativo.

Ahora bien, cuando se procede a un prolongado periodo de conservación bien por transportes marítimo como largos viajes en camión frigorífico (California costa Este USA ó Europa a Arabia etc.) existe el riesgo de evolucionar con desequilibrios fisiológicos por descomposición interna de las células que producen una oxidación tornando parte de la pulpa (inicialmente la mas próxima al hueso) de color marrón. (Denominado "Internal breakdown" ó IB).

La producción andaluza de frutas de hueso, dada la precocidad de melocotones y nectarinas, no procede su conservación prolongada pero en ciruelas bien por atrasar y prolongar el periodo comercial como por envíos a ultra-

mar es habitual encontrar partidas importantes que se han depreciado por la descomposición de la pulpa (IB). Dado que no hay,inicialmente, signos externos, es necesario cortar frutas por el ecuador para apreciar el inicio del cambio de color. El enviar frutas al mercado con esta evolución interna suele reportar importantes pedidas comerciales.

Para evitar este riesgo es recomendable conservar las frutas próximas al punto de congelación. Es habitual recomendar temperaturas del aire a 0 º C o ligeramente inferiores (-0,5 º C), aunque en estos casos se debe contar con instalaciones adecuadas y mecanismos de alarma sobre la temperatura de las cámaras.

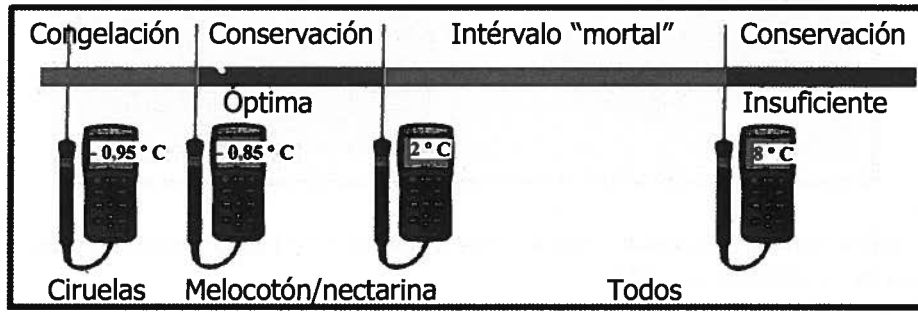


Figura núm. 14. Intervalos de temperatura peligrosos y adecuados par la conservación frigorífica de melocotones, nectarinas y ciruelas.

Hay diferentes sensibilidades varietales a producir o no este desequilibrio fisiológico (IB), la ciruela Son Gold tras un incorrecto y prolongado almacenamiento sufrirá el deterioro de su pulpa. Angeleno es una ciruela con gran capacidad de almacenaje y con pulpa resistente.

Existen factores agronómicos o de técnicas del cultivo que ocasionan que la resistencia al IB será mas o menos acusada. Recolecciones mas tardías con frutos con mayor nivel de sólidos solubles (º Brix) los hacen más resistentes, en cambio veranos calurosos con crecimiento de frutos irregulares producen cavidades internas en la pulpa que pueden fomentar un anormal pardeamiento que comenzará por la cavidad y no por la habitual proximidad al hueso.

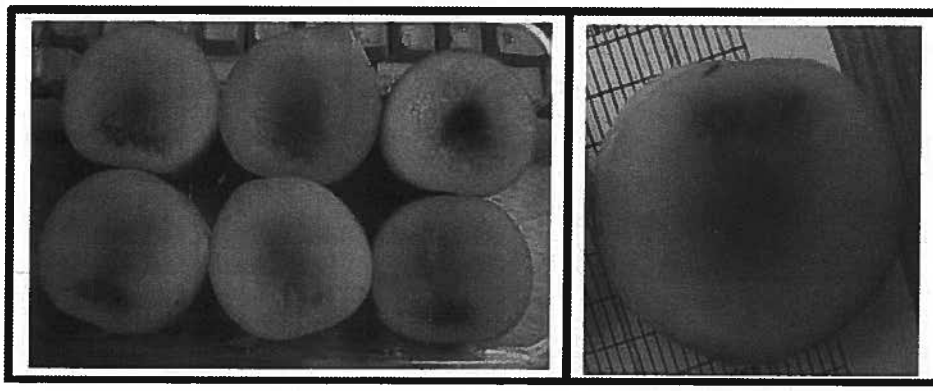


Figura núm. 15. "Pardeamiento interno" (Internal breakdown. IB), en zona de hueso y de cavidad, en ciruelas 5 semanas en cámara frigorífica (atmósfera normal).

Los expertos anglosajones en postcosecha de frutas de hueso, denominan al intervalo de temperaturas entre los 2 y 8 º C ,la zona mortal "Killing zone", por las negativas consecuencias ya indicadas.

Figura núm. 15. Ciruelas, variedad poco propicia al IB, tras 10 semanas en cámara frigorífica, en condiciones normales.

Cuando se gestiona la conservación a largo plazo de ciruelas no solo la temperatura es factor de vital importancia, ya que también la mayor o menor humedad presente en el recinto puede tener consecuencias comerciales. Es necesario mantener una alta tasa de humedad (95% HR), no solo para evitar perdidas de peso sino también para mantener la integridad comercial del fruto conservando el aspecto exterior de la piel tersa y brillante.

El arrugamiento de la piel, que se inicia en el área alrededor de la inserción del pedúnculo puede ser causa de rechazo comercial. El aspecto de fruta "vieja" la deprecia y a veces la hace invendible.

Esta incidencia es conocido e indicado en las especificaciones de calidad anglosajones como "shrivel"

Hay variedades tardías que si permanecen en el árbol comienzan a deshidratarse y arrugarse de idénticas forma y zona.

Influencias de la temperatura sobre el color de la piel en algunas variedades de ciruelas.

No deja de sorprender la tendencia comercial de adjudicar mas o menos apetencia a algunas variedades de ciruelas por el color de su piel. No existe relación entre color de piel con sabor, nivel de º Brix, acídez, conservación etc. mas o menos favorables para algún grupo de color. Pero la tradición u otros desconocidos motivos hace que en algunos mercados coticen mejor las ciruelas negras (Alemania) y en otros (Reino Unido) las rojas. Como el mercado suele querer lo que no encuentra, las amarillas, por escasa, suelen mantener una buena demanda.

Toda ciruela nace verde y "muere", al final del periodo de senescencia, negra. Dependerá de la consistencia de la pulpa y de su madurez comercial para poder ser presentada en mercado con una u otra coloración.

Pero existen variedades que por su inicial baja respiratoria necesitan de apoyo artificial para evolucionar al color de piel que la hace mas apetecible comercialmente.

Tanto la evolución del color como la disminución de la acidez evolucionan con tratamientos frigoríficos de las ciruelas, incluso bastantes variedades mejoran gustativamente tras ser sometidas al frío durante un periodo.

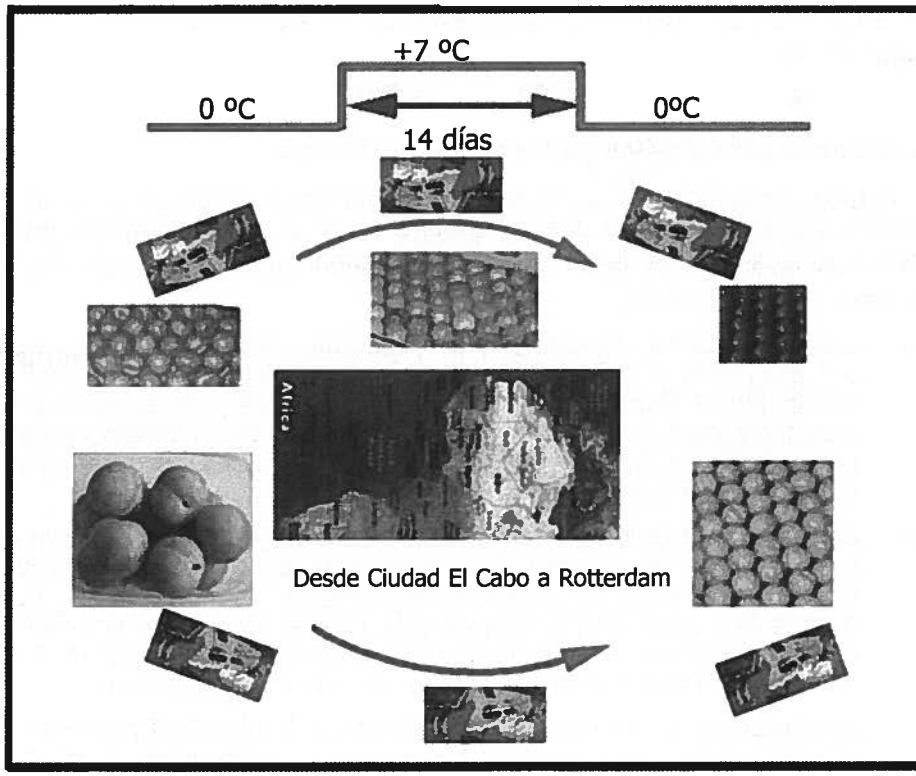


Figura núm. 16. Utilización del transporte marítivo para con modificación de temperaturas producir cambios importantes en la madurez de las ciruelas.

El método "DUAL" (Dos temperaturas) empleado por en comercio sudafricano para sus variedades de ciruelas permiten evolución positiva en madurez y color con mantenimiento de la considstencia del fruto. Este metodo se basa en las siguientes fases:

- Recolección según penetromía del ruto y nivel de solidos solubles (azúcar º Brix)
- Inmediato tratamiento con rápida bajada de temperaturas.
- Conservación y embarque a –0,5 º C.
- Subida de temperatura a 7 º C, durante un periodo de 14 días.
- Volver a bajar la temperatura a –0,5 º C
- Desembarque y distribución comercial de la fruta por Europa.

Este aprovechamiento requiere una técnica y control depurado. En nuestras latitudes no es practicom realizar en variedades precoces (perdida de

fechas de mercado) pero si hay algunas empresas que lo realizan con variedades tardías.

Cualidades comerciales de las frutas de hueso.

Como la finalidad de todas las técnicas comentadas es colocar en los mercados frutas de hueso con calidad rentable en el momento y en las condiciones comerciales más oportunas comentaremos algunos aspectos finales de estos requerimientos.

- Calidad gustativa, comecialmente mesurable con el nivel de azúcares o º Brix. Pero la satisfacción del consumidor tiene mejor correlación con el índice azúcar/acídez., pero esta ,la acidez, no es fácilmente mesurable para en el comercio y no se emplea como baremo comercial. La norma actual para melocotones y nectarinas no permite comercializar frutas por debajo del 8 %. De sólidos solubles.
- Consistencia. Medida por la resistencia de la pulpa a la penetración de un punzón (Penetrometro). Es la medida de una presión, empleándose comercialmente las unidades de kilos/cm. como en libras. Esta medida nos determina la fase de vida útil del producto y por debajo de 4 Kg comienza a ser peligrosa la vida comercial y el nivel de 2 Kg solo es recomendable para frutos ya en poder del consumidor.
- Presentación, uniformidad en el calibrado y limpieza del producto es el colofón final a un trabajo bien realizado en los procesos de postcosecha.

Finalmente, es mi deseo recalcar que los conceptos anteriormente desarrollados van encaminados a mentalizar a los técnicos de centrales hortofruticolas, tanto de producción como de calidad, de la vital importancia del adecuado manejo de las frutas de hueso en postcosecha para hacer perdurar el esfuerzo y sacrificio cualitativo que ha realizado el agricultor en su plantación.

MODELIZACIÓN DE ESTACIONES DE CONTROL DE MILDIU

Joan Reyes Aybar
Estació d'Avisos de Vilafranca del Penedès
Generalitat de Catalunya
Departament d'Agricultura Ramaderia i Pesca
Servei de Sanitat Vegetal

INTRODUCCIÓN

Podríamos definir la modelización como la utilización de herramientas o métodos matemáticos que nos permiten interpretar, describir y/o prever la evolución de un sistema biológico; en nuestro caso, el mildiu de la vid.

Los modelos de previsión de enfermedades fúngicas están basados en el profundo conocimiento de la biología del hongo en cuestión y en los factores meteorológicos que inciden sobre su desarrollo.

De manera muy general, podemos clasificar los modelos en dos grandes grupos: cualitativos o cuantitativos.

Los modelos cualitativos no obtienen valores numéricos, sino que nos indican si se ha producido o no un determinado episodio: infección, esporulación, etc. La famosa regla de los tres dieces, sería un modelo cualitativo, ya que nos indica la posibilidad de que se haya producido una infección primaria.

Los modelos cuantitativos utilizan expresiones matemáticas que incluyen variables independientes, como temperatura, lluvia, humedad relativa, etc. y factores constantes que nos permiten obtener un valor (variable dependiente) que nos indicará la mayor o menor virulencia de un determinado fenómeno biológico.

LA MODELIZACIÓN EN LA LUCHA CONTRA EL MILDU DE LA VID

Los modelos existentes de previsión del mildiu de la vid, se basan en el seguimiento de los factores meteorológicos que condicionan su ciclo biológico. Cada uno de ellos se ha desarrollado para los diferentes momentos del ciclo biológico del mildiu de la vid:

Maduración de las esporas de invierno

Valoración generalmente cualitativa de cuándo las zoosporas han culminado la fase de maduración y son capaces de germinar y producir contaminaciones.

Alguno de ellos añade también una valoración cuantitativa sobre la agresividad que pueden tener las primeras contaminaciones. Es el caso del modelo EPI (Estado Potencial de Infección) desarrollado por Strizyk, del que trataremos en detalle en la segunda parte de éste trabajo.

Inicio de las infecciones primarias

El sistema más simple, seria la conocida regla de los tres dieces, planteada por Baldacci en 1947, según la cual puede producirse una infección primaria cuando se dan las siguientes tres condiciones:

- Receptividad de la vid (10 cm. de brotación)
- Temperatura mínima suficiente para el desarrollo del mildiu (10º C)
- Precipitación suficiente que permita el transporte de zoosporas a las hojas y la presencia de agua líquida sobre la vegetación (10 mm.)

Los tres valores citados deben entenderse siempre como orientativos.

Otros sistemas más sofisticados calculan el desarrollo de las macroesporangias en función del periodo de humectación y/o humedad relativa y las temperaturas, determinando el grado de evolución y su intensidad.

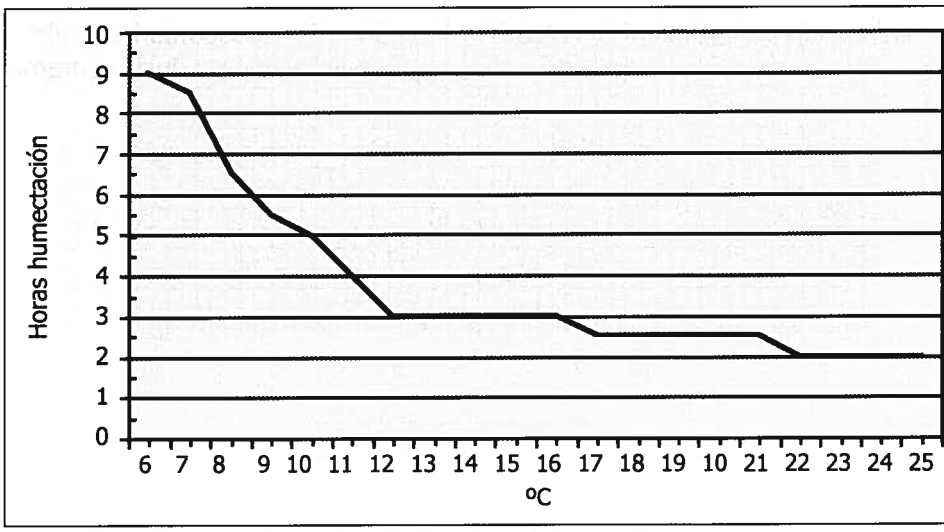
Inicio de infecciones secundarias

En los modelos más simples, se considera que puede darse una infección secundaria en el momento en que se produce una precipitación y hay presencia de mildiu en la planta (manchas de aceite). En condiciones muy favorables una infección secundaria sería también posible a partir de fuertes rocíos que permitan el desplazamiento en gotas de agua de las zoosporas.

Diversos de los modelos matemáticos utilizados en la actualidad, basan el cálculo de las infecciones en los estudios de Blaeser publicados en 1978.

Entre otras cosas, Blaeser determina que una infección de mildiu se producirá si se dan las siguientes condiciones:

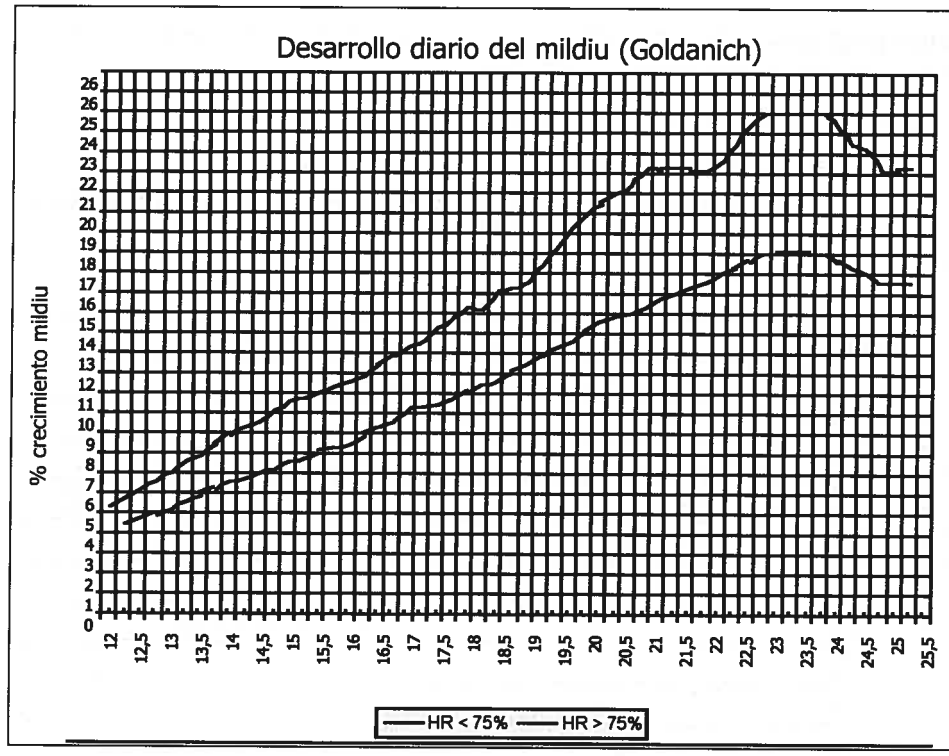
- Presencia de esporangios viables
- Receptividad de la viña
- Condiciones de temperatura y humectación de la vegetación (gráfica 1)



Gráfica 1. Condiciones para que se cumpla una infección de mildiu (Blaeser, 1978)

Duración del período de incubación

El sistema de cálculo más utilizado por las estaciones de avisos agrícolas en España es el desarrollado por Goidanich, que propone el cálculo del porcentaje de evolución diario de incubación, en función de la temperatura media diaria y de la humedad relativa. En el momento en que la suma llega a 100, se considera que ha finalizado el periodo de incubación y aparecen las manchas de mildiu.



Gráfica 2: Evolución de la fase de incubación del mildiu (Goldanch)

Momento e intensidad de la esporulación y duración de la viabilidad de los esporangios

Estos parámetros acostumbran a calcularse en función de las temperaturas y la duración del periodo de humectación.

ALGUNOS MODELOS DE PREVISIÓN UTILIZADOS ACTUALMENTE

MILVIT

Sistema desarrollado en Francia a finales de los 80. Utilizado por el SPV para elaborar las recomendaciones de las estaciones de avisos. Se inicia a partir de que las oosporas se consideran maduras. Describe el desarrollo del mildiu durante la fase vegetativa de la vid: contaminaciones, incubación, esporulación potencial.

Buenas prestaciones en las zonas más húmedas de Francia, pero algún desajuste en zonas de clima mediterráneo. Para estas zonas se ha adaptado el sistema, dando lugar al modelo **MILSTOP**.

Potencial Sistema

Modelo francés desarrollado por Strizyk. Se trata de una evolución del sistema EPI que pretende describir el comportamiento del mildiu y también cuantificar el riesgo. La novedad está en el hecho que, a parte de las variables meteorológicas, tiene también en cuenta los factores agronómicos como el suelo y la topografía, así como los antecedentes de sensibilidad de la parcela al mildiu.

DMODEL

Sistema desarrollado en Australia por Magarey, para la zona de Riverland, caracterizada por un clima seco.

La infección primaria se define según la regla de los tres dieces. A partir de aquí, determina la duración del período de incubación, la intensidad de la esporulación (basándose en los estudios de Blaeser) y la duración de la supervivencia de los esporangios.

VINEMILD

Modelo desarrollado en Suiza por Blaise y Gessler.

Determina la intensidad de la esporulación, la supervivencia de los esporangios y el inicio de las infecciones secundarias. La intensidad de la esporulación la calcula en función del modelo propuesto por Blaeser.

DMCAST (Downey Mildew Forecasting Model)

Sistema desarrollado por la Universidad de Cornell (EEUU), basado en los estudios de Blaeser y Weltzien.

Determina el grado de maduración de las oosporas invernales a partir de enero, la duración del periodo de incubación, la intensidad de la esporulación y la supervivencia de los esporangios.

VITIMETEO

Sistema utilizado en Suiza por las estaciones de avisos. Las infecciones primarias se calculan teniendo en cuenta una suma de temperaturas, la fenología de la vid, las lluvias primaverales, la duración del periodo de humectación y las temperaturas.

Se trata de un sistema abierto que requiere interpretación: los datos meteorológicos de los diferentes observatorios automáticos son recogidos y procesados por los técnicos de las estaciones de avisos. Los resultados son presentados a través de Internet.

PRO (Plasmopara Risk Oppenheim)

Modelo desarrollado en Alemania. Para determinar el inicio de infección utiliza la regla de los tres dieces. Determina la intensidad de la infección primaria, expresada en número de manchas por hectárea, la duración del periodo de incubación y la intensidad de la esporulación.

PLASMO

Modelo desarrollado en Italia por el Instituto Agrometeorológico de Florencia. Se inicia a partir del momento en que se constatan las primeras manchas en el viñedo. El modelo simula las diferentes fases del ciclo biológico del mildiu, así como los momentos y la intensidad de las infecciones.

ADAPTACIÓN DE LA FASE INVERNAL DEL MODELO EPI (ESTADO POTENCIAL DE INFECCIÓN), A LA ZONA VITÍCOLA DEL PENEDÉS (CATALUÑA)

En la lucha antimildiu es fundamental la detección las primeras infecciones. La ubicación en el espacio y en el tiempo de las primeras manchas, así como la determinación de su intensidad, nos marcará la estrategia antimildiu a seguir.

La época de aparición de las infecciones primarias estará condicionada, a su vez, por el grado de maduración de las oosporas invernales. De ahí la gran importancia que tiene el conocimiento previo del estado de maduración de las esporas de invierno.

El control del grado de maduración de las oosporas de mildiu puede realizarse mediante la aplicación de un modelo matemático, concretamente el modelo EPI mildiu (fase invernal) de evolución de las oosporas invernales.

A continuación vamos a exponer en qué consiste dicho método y el resultado de su aplicación en las condiciones del Penedés.

El modelo EPI mildiu (fase invernal)

El modelo EPI mildiu (Estado Potencial de Infección) fue concebido por Serge Strizyk en Francia. La primera versión del sistema apareció en el año 1983 y posteriormente han ido surgiendo actualizaciones del mismo. La versión que utilizamos fue la publicada por B. Molot (ITV Nimes) en la revista "Progrès Agricole et Viticole", 1986, 103, nº 15-16, donde se describe detalladamente la metodología y las fórmulas necesarias. La última versión del modelo es la 89.01, modificada en colaboración con el INRA.

El sistema está dividido en dos fases, la invernal (sexuada) y la estival (asexuada). En nuestro caso nos interesa solamente la fase invernal, que nos permitirá prever la agresividad potencial del mildiu al inicio de la fase vegetativa de la vid. Para su cálculo, se tienen en cuenta las condiciones meteorológicas (pluviometría y temperatura) entre octubre y marzo, que es el periodo durante el cual se produce la maduración de las oosporas de invierno.

El sistema requiere, como referencia, una serie climática histórica de 20 a 30 años que aporte los siguientes datos:

PM: pluviometría media mensual
TM: temperatura media mensual
NDP: número medio de días de lluvia de cada mes

A los dos primeros valores se les aplicará una corrección del 95%:

$PMc = PM \times 0'95$
$TMc = TM \times 0'95$

Para cada año a calcular se requieren los siguientes datos:

P: pluviometría mensual
P1, P2, P3: pluviometría, por décadas, del mes a estudiar
N1, N2, N2: número de días de lluvia, por décadas
T: temperatura media mensual del mes a estudiar

Los datos mensuales de cada año a estudiar deberán estar comprendidos entre unos valores máximo y mínimo, que se calcularan de la siguiente forma:

$PMc \times 0'5 < P < PMc \times 1.4$
$TMc \times 0'5 < T < TMc \times 1,4$

Cada mes tiene un peso específico diferente, y hay que aplicarle un factor de corrección (FC):

Octubre y noviembre: FC = 1,2
Diciembre: FC = 1
Enero, febrero y marzo: FC = 0,8

Se calculan tres factores por separado: potencial energético (PE), energía positiva (EP) y energía negativa (EN).

Potencial energético (PE)

Representa la influencia de las lluvias sobre la formación de las oosporas.

$$PE = 2\ FC\ (\sqrt{P} - \sqrt{PMc})$$

Energía positiva (EP)

Muestra la interacción entre la temperatura y la precipitación del mes a estudiar en relación a los mismos parámetros de la serie histórica.

$$EP = 0{,}2\ (\sqrt{P}\ \sqrt{T} - \sqrt{PMc}\ \sqrt{TMc})$$

Energía negativa (EN)

Con este tercer concepto se valora el tipo de precipitación registrado, según el reparto de lluvias a lo largo del mes, teniendo en cuenta que no es lo mismo una sola precipitación de 60 mm que 6 precipitaciones de 10 mm.

Siendo P1, P2 y P3 la pluviometría de cada una de las tres décadas de cada mes y N1, N2 y N3, el número de días de lluvia de cada década, se calcula la relación entre la cantidad de precipitación y el número de días de lluvia; es decir, la cantidad media de precipitación por episodio de lluvia:

$$Kn = Pn / Nn$$

Sólo se calcula la energía negativa si se cumple la siguiente condición:

Si $Kn \geq 135 / NDP$

Se calcula la energía negativa para la década considerada según la siguiente fórmula:

$$ENn = a \log (Kn)$$

Siendo $a = (NDP \times 1.5) / 18$

Para el mes a estudiar, la energía negativa es la suma de las energías negativas de cada una de las 3 décadas.

$$\mathbf{EPI = EPIn + (PE + EP - EN)}$$

Siendo EPIn el valor del mes anterior. En el caso del primer mes de estudio (octubre) el valor se considera 0.

El cálculo se inicia en el mes de octubre y finaliza en el mes de marzo. Al final de cada mes obtenemos un valor de EPI que se va acumulando. En marzo se obtiene un valor final comprendido entre –20 y + 20, que nos da una estimación del porcentaje de oosporas viables. Esta información nos permite tener una previsión teórica sobre la frecuencia probable de focos primarios, como complemento de los demás controles realizados. El valaor se interpreta de la siguiente manera:

- $-20 < EPI < -10$: Riesgo muy bajo, debido a una muy débil viabilidad de las oosporas. Un periodo de lluvias no presenta riesgo.

- -10 < EPI < -5: Riesgo débil, aunque se podrán encontrar algunos focos primarios esparcidos.
- -5 < EPI < 5: Riesgo medio aunque suficiente para tener focos generalizados, pudiendo ser localmente importantes. Una lluvia es suficiente para su aparición.
- 5 < EPI < 10: Riesgo importante. Una lluvia provocará una aparición generalizada de focos virulentos.
- 10 < EPI < 20: Riesgo muy alto. Toda lluvia comportará una salida intensa de focos primarios muy virulentos.

Resultados de la aplicación del Modelo EPI invernal en las condiciones del Penedés

Durante los últimos años se ha aplicado el modelo EPI de invierno en la zona vitícola del Penedés, con el objetivo de comprobar el grado de ajuste del modelo a las particulares condiciones de la comarca.

Los datos meteorológicos se toman del observatorio situado en la Estación Enológica de Vilafranca del Penedés (INCAVI), el cual dispone de una serie histórica de más de 70 años. Se compara la previsión que indica el modelo EPI invierno para cada campaña, con la situación real que se produce.

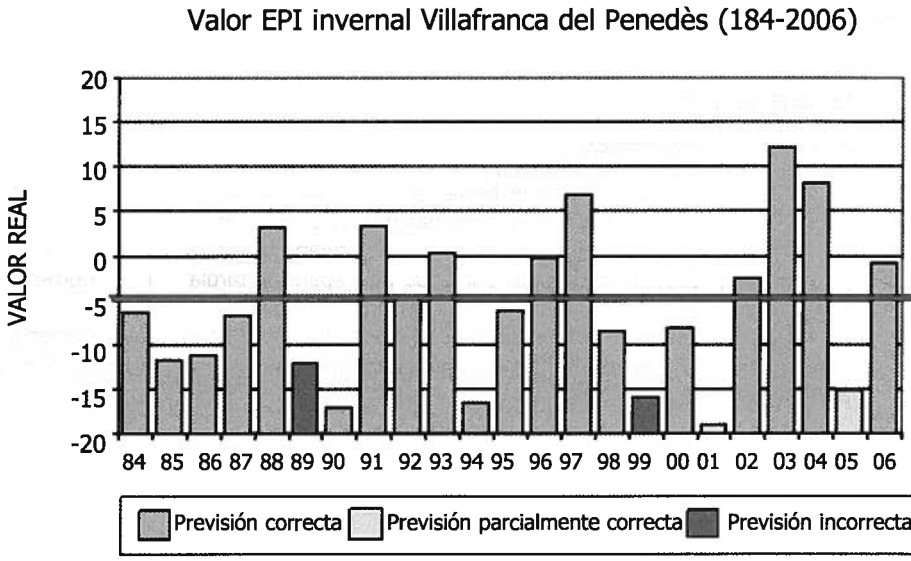
El estudio se ha realizado tomando datos de los últimos 23 años: 1984-2006.

RESULTADOS

Los resultados expresan en valor de EPI obtenido en cada año y la situación real que se produjo.

Año	Valor EPI	Situación real	Previsión
1984	- 6.35	Escasas infecciones primarias y de aparición tardía	Correcta
1985	- 11.7	Escasas infecciones primarias y de aparición tardía	Correcta
1986	- 11.16	Escasas infecciones primarias y de aparición tardía	Correcta
1987	- 6.81	Escasas infecciones primarias y de aparición tardía	Correcta
1988	+ 3.13	Infecciones primarias generalizadas a partir de primeras y escasas lluvias primaverales (3 – 5 mm)	Correcta
1989	- 12.08	Infecciones primarias a partir de primeras lluvias primaverales	Incorrecta
1990	- 17.21	Escasas infecciones primarias y de aparición tardía	Correcta
1991	+ 3.41	Infecciones primarias generalizadas a partir de primeras lluvias primaverales	Correcta
1992	- 4.71	Infecciones primarias generalizadas a partir de primeras lluvias primaverales	Correcta
1993	+ 0.26	Infecciones primarias generalizadas a partir de primeras lluvias primaverales	Correcta
1994	- 16.64	Escasas infecciones primarias y de aparición tardía	Correcta
1995	- 6.25	Una única y débil infección primaria a partir de las primeras lluvias primaverales	Correcta
1996	- 0.25	Infecciones primarias generalizadas a partir de primeras lluvias primaverales	Correcta
1997	+ 6.82	Infecciones primarias generalizadas a partir de primeras lluvias primaverales	Correcta
1998	- 8.6	Escasas infecciones primarias y de aparición tardía	Correcta
1999	- 16	Infecciones primarias generalizadas a partir de primeras lluvias primaverales	Incorrecta
2000	- 8.1	Una infección primaria a partir de las primeras lluvias primaverales	Correcta
2001	- 19	Algunas infecciones primarias débiles a partir de primeras lluvias primaverales	Parcialmente correcta
2002	- 2.6	Infecciones primarias generalizadas a partir de primeras lluvias primaverales	Correcta
2003	+ 12.2	Infecciones primarias generalizadas a partir de primeras y escasas lluvias primaverales (3-5 mm)	Correcta
2004	+ 8.06	Infecciones primarias generalizadas a partir de primeras y escasas lluvias primaverales (3-5 mm), cuando la vegetación tenía escasamente 10 cm de longitud	Correcta
2005	- 15.14	Primeras infecciones a partir de primera serie de lluvias, pero de muy baja intensidad	Parcialmente correcta
2006	- 0.84	Primeras infecciones a partir de las únicas lluvias primaverales, aunque escasas y no generalizadas.	Correcta

Tabla 2: Aplicación del modelo EPI invernal de Strizyk en el Penedés. Resultados obtenidos durante el período 1984-2006.



Gráfica 2: Resultados obtenidos durante el período 1984-2006. Vilafranca del Penedés.

Discusión de los resultados

Los resultados obtenidos nos muestran que hay muy buen ajuste del sistema a nuestras condiciones. De los 23 años observados, en sólo dos ocasiones (1989 y 1999) ha habido una gran discordancia entre el valor de EPI obtenido y lo sucedido en la realidad.

En ambos casos, el desajuste se ha producido por defecto: obtención de un valor bajo de EPI, pero aparición temprana de infecciones primarias. El error por defecto supone un mayor peligro en la previsión, ya que puede predisponer a la relajación.

En otros dos casos (2001 y 2005) podemos considerar que la previsión anunciada por el valor de EPI se ha ajustado parcialmente a la realidad, ya que obteniéndose un valor bajo, se produjo la aparición temprana de manchas de mildiu, aunque de muy baja virulencia.

En los 19 años restantes, el ajuste ha sido perfecto.

En tres de los años en que el valor de EPI ha sido muy alto (1988, 2003 y 2004), precipitaciones de entre 2 y 5 mm han provocado la aparición generalizada de infecciones primarias. Este dato cuestiona la teoría de que, para que se produzca la salida de las primeras infecciones, se requiere una precipitación mínima acumulada en 2-3 días de 10 mm.

CONCLUSIONES

- La fase invernal del modelo de Estado Potencial de Infección, EPI de Stryzyk (versión 1983), presenta una muy buena adaptación a las condiciones climáticas del Penedés.
- El valor de EPI nos informa únicamente sobre el grado de maduración de la oospora. La incidencia final de la enfermedad durante la campaña dependerá también de las condiciones meteorológicas que se vayan produciendo durante todo el periodo vegetativo de la vid.
- La información que nos facilita el modelo, hay que considerarla únicamente de manera orientativa y complementaria de todo el conjunto de observaciones y cálculos que se realizan durante la campaña.
- Cuando el grado de maduración de la oospora invernal es muy alto, precipitaciones inferiores a 10 mm pueden ocasionar la aparición de infecciones primarias generalizadas.
- En las pocas ocasiones en que el modelo no se ajusta a la realidad, lo hace por defecto, infravalorando el estado real de maduración de las oosporas.

BIBLIOGRAFÍA

GOZZINI, B., ORLANDINI, S., ROSA, M. 1993 – "Software for the PLASMO model". Bulletin OEPP (23) 695-699.

HILL, Gk. 1989 – "Reducing fungicide applications with the P.R.O.-System" Weinwirtschaft Anbau (4) 28-31.

MAGNIEN, C., JACQUIN, D., MUCKENSTURM, N., GUILLEMARD, P. 1991 – "Milvit : un modèle descriptif et quantitatif de la phase asexuée du mildiou de la vinge. Presentation et premiers resultats de validation". Bulletin OEPP (21) 451-459.

MARACCHI, G., MATTA, A. 1999 – "La modellistica in viticolura: Applicazioni". Collana Tecnico-Scientifica INAPA. Quad. 5. 110 p.

MOLOT, B. 1986 – "La modélisation du mildiou de la vigne. Vers une approche d'une lutte raisonée ?. Progrés Agricole et viticole. 103 nº 15-16 : 375-377.

PARK, E. W., SEEM, R. C.,GADOURY, D. M., PEARSON, R. C. 1997 –"DMCAST: A prediction model for grape downy mildew development". Second International Workshop on Grapevine Downy and Powdery Mildew Modelling, Wein-Wissenschaft, Wiesbaden Germany, 52 (3-4) 182-189.

VIRET, O., BLOESCH, B., FABRE, A-L, SIEGFRIED, W., BLEYER, G., HUBER, B., KASSEMEYER, H-H., STEINMETZ, V. 2005 – « Vitimeteo : un nouveau modèle de prévision pour le mildiou de la vigne. Revue suisse Vitic. Arboric. Hortic. Vol 37 (1) : 65-68.

WACHTEL, M. F., MAGAREY, P. A. 1997 – "The field use of a simulator for *Plasmopara viticola* to improve disease management for Australian grape-growers" Second International Workshop on Grapevine Downy and Powdery Mildew Modelling. Wein-Wissenschaft, Wiesbaden Germany. 52 (3-4) 193-194.

NUEVAS PERSPECTIVAS PARA EL CONTROL DEL GORGOJO ROJO DE LAS PALMERAS. *RHYNCHOPHORUS FERRUGINEUS.*

P. Barranco
Dpto. Biología Aplicada. CITE-IIB. Universidad de Almería

INTRODUCCIÓN

Rhynchophorus ferrugineus (Olivier, 1790) puede considerarse en la actualidad una plaga fuera de control en España, extendiéndose ya en la actualidad por todo el litoral mediterráneo.

El gorgojo rojo de las palmeras, *Rhynchophorus ferrugineus* (Olivier, 1790), es un coleóptero tropical muy dañino por sus efectos desastrosos sobre las plantas hospedadoras y, en definitiva, sobre su producción frutícola (Rajan & Nair, 1997) o su valor ornamental (Esteban-Durán *et al.*, 1998). La causa de la rápida expansión de esta plaga ha sido la intervención humana, mediante el transporte de palmeras adultas. R. ferrugineus se citó por primera vez de la Península Ibérica en la costa granadina en 1995 (Barranco *et al.*, 1996b, 1996c). En esta zona ataca a palmeras de las especies *Phoenix dactilyfera* y *P. canariensis*. Inicialmente su distribución se circunscribió a los términos municipales de Motril, Salobreña y Almuñecar. Si bien fue en la última población donde se presentó con mayor incidencia y donde se tomaron las primeras medidas de control. En la última década, a pesar del enorme esfuerzo e inversión realizada en el control de esta especie plaga, la distribución de la especie en la Comunidad Autónoma de Andalucía ha ido ampliándose hasta los términos municipales de Molvízar en la provincia de Granada y los de Nerja, Torrox, Frigiliana, Vélez Málaga y el Rincón de la Victoria en la provincia de Málaga.

La importación en el año 2004 de elevado número de palmeras alto porte desde Egipto para su transplante en urbanizaciones, jardines, parques y avenidas, supuso también la importación de un elevado número de pies infestados a tenor de la amplia dispersión de la plaga. De hecho, ciertos focos detectados en los últimos años están estrechamente relacionados con algunas rutas de transporte de estas palmeras.

Las palmeras infestadas no se distinguen de las sanas en estadios iniciales de ataque por las larvas. Las plantas parecen normales en apariencia incluso con los insectos alimentándose en los tejidos internos del estípite y sólo son observables estos síntomas en un estado avanzado de degeneración de la palmera, siendo muchas veces tarde para realizar un tratamiento curativo, convirtiéndose estas plantas, además, en importantes focos de infestación.

SIYUACIÓN ACTUAL

En los últimos tres años la extensión de la plaga ha sido tremendamente rápida por todas las comunidades autónomas litorales del Mediterráneo, apareciendo focos muy dispersos y distantes entre si. A diferencia de lo que venía sucediendo con los primeros focos detectados en la Península, que en diez años, tan sólo se extendieron a los términos municipales colindantes. Ello pone en evidencia el control que se ha realizado sobre el movimiento de palmeras locales, lo cual no ha sucedido con el material importado.

En la actualidad se ha declarado su presencia en 2004 en la Comunidad Valenciana, desde Castellón a Alicante; y en el 2006 en la Comunidad Murciana (aunque se detectó en el 2005), en Andalucía se ha extendido por la costa de Málaga y Cádiz hasta Algeciras y a Almería por el este. También se han detectado ya tres focos en Cataluña, y han aparecido palmeras afectadas en Mallorca (Fig. 1). A finales de 2005 se declaró la detección en el Archipiélago Canario, concretamente con dos focos en sendas islas: Gran Canaria y Fuerteventura. Esta situación pone de relieve la gravedad del momento, puesto que está en riesgo el Palmeral de Elche, espacio conside-

rado Patrimonio de la Humanidad por la UNESCO y el acervo genético originario de *Phoenix canariensis*.

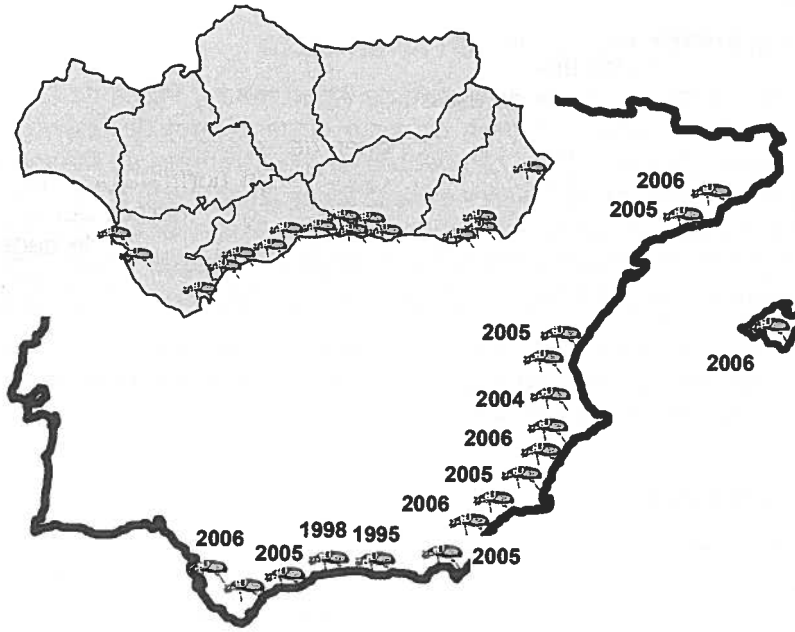


Fig. 1. Zonas afectadas y años de detección de *Rhynchophorus ferrugineus* en el litoral mediterráneo español y Andalucía.

Además se están viendo afectadas otras especies de palmeras que no habían sufrido ataques hasta le fecha. Así, se detectó un pie de *Washingtonia sp.* importada que fue trasladada desde Valencia a Huelva y otro ejemplar de este género pero plantado desde hace años se ha visto afectado en Almería. Igualmente se ha detectado sobre palmito en Marbella.

Ante esta situación, las Administraciones Estatal y Autonómicas han promulgado medidas legislativas para afrontar el problema (Tabla 1). Inicialmente se reconoce la existencia oficial del gorgojo rojo de las palmeras en cada una de las Comunidades Autónomas en las que ha ido asentándose la especie y se disponen las medidas de control. Actualmente es la administración autonómica la que realiza el diagnóstico y establece el tratamiento de control, que suele ser el arranque y destrucción de los pies afectados. Las palmeras afectadas han de ser troceadas y transportadas para ser trituradas y destruidas. Se prevee el tratamiento de las palmeras periféricas a las afectadas y se establecen perímetros de exclusión de transporte de palmeras. En este sentido está prohibido introducir palmeras en los palmerales históricos de la Comunidad Valenciana, siendo el caso más extremo el de Canarias, que ha prohibido la importación total de palmeras. También se

contempla en todas las comunidades la utilización masiva de trampas de feromonas en los focos declarados para reducir las poblaciones.

APLICACIONES EN CAMPO EN ANDALUCÍA

En los últimos años la Consejería de Agricultura y Pesca de la Junta de Andalucía ha invertido un gran esfuerzo en el control de *Rhynchophorus ferrugineus*. Inicialmente se compatibilizaron las trampas de feromonas con aplicaciones insecticidas foliares e inyecciones insecticidas en tronco, seguidos del arranque y quema de los pies afectados. Posteriormente se han venido realizando tratamientos foliares a lo largo de la franja costera granadina y malagueña, simultaneado con el arranque y triturado del material vegetal.

Sin embargo, a pesar del esfuerzo realizado hasta ahora en su control, la plaga está lejos de ser controlada y va poco a poco extendiéndose dentro de la Comunidad Autónoma Andaluza.

Control Químico

Desde 1996-2000 el control químico se efectuó por parte de los Ayuntamientos, los cuales recibían los productos de la Consejería de Agricultura y Pesca. A partir del año 2001 los tratamientos de palmeras privadas se han realizado por parte de empresas a las que se les asignó el trabajo por concurso, los cuales han sido supervisados por la Empresa Pública de Desarrollo Agrario y Pesquero de la Consejería; las palmeras municipales o ubicadas en lugares públicos se han tratado por parte del personal municipal como en años anteriores. Desde 1998 se planificaron los tratamientos mediante cuatro pases espaciados a lo largo del año.

	Almuñecar	Solobreña	Motril	Molvízar	Total
1998	4900		1464		6364
1999	8608		754		9362
2000	6005	540	1064		7609
2001	8327	3206	269	36	11838
2002	9283	5512	5683	451	20929
2003	11621	5349	5048	595	22613
2004	11180	5819	6787	674	24460
2005	8117	4495	3835	475	16922
Total	68041	21175	23440	2231	114.887

Tabla 2: Número de tratamientos efectuados en los municipios afectados de la provincia de Granada (datos proporcionados por la Consejería de Agricultura y Pesca de la Junta de Andalucía).

Tabla 3: Número de tratamientos efectuados en los municipios afectados de la provincia de Málaga (datos proporcionados por la Consejería de Agricultura y Pesca de la Junta de Andalucía).

	Rincón Victoria	Vélez Málaga	Frigiliana	Nerja	Torrox	Total
1998				1598	153	1751
1999			370	6187	1323	7880
2000			2355	12534	2466	17355
2001			1038	9935	2182	13155
2002		3811	2209	7625	2545	16190
2003		6976	2512	7650	5896	23034
2004		5056	2620	8065	6038	21779
2005	1407	1396	2620	6491	3537	14044
Total	1407	17239	13724	60085	20450	115.188

Tabla 4. Total de palmeras arrancadas en Andalucía durante el decenio 1996-2006 por municipios. Datos proporcionados por la Consejería de Agricultura y Pesca de la Junta de Andalucía (datos actualizados a septiembre de 2006).

Término Municipal	96/97	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	TOTAL
Almuñécar	320	40	99	114	97	33	28	11	26	28	796
Salobreña	36	25	32	13	42	25	21	27	12	3	236
Motril	-	-	-	-	1	-	6	37	11	17	72
Molvízar	-	-	-	-	1	3	2	1	-	1	8
Ítrabo	-	-	-	-	-	-	-	1	6	1	8
Nerja	-	40	30	26	50	48	15	14	9	17	249
Frigiliana	-	-	7	7	18	26	24	24	17	13	136
Torrox	-	-	14	7	2	2	3	3	-	1	32
Vélez-Málaga	-	-	-	-	-	4	2	-	2	13	21
Rincón de la Victoria	-	-	-	-	-	-	-	1	1	3	5
Marbella	-	-	-	-	-	-	-	-	31	118	149
Benahavís	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1	2
Estepona	-	-	-	-	-	-	-	-	12	72	84
Benalmádena										13	13
Torremolinos										17	17
Istán										2	2

Mijas										6	6
Fuengirola										2	2
Roquetas de Mar	-	-	-	-	-	-	-	-	4	0	4
Almería	-	-	-	-	-	-	-	-	16	41	57
Huercal deAlmería	-	-	-	-	-	-	-	-	8	9	17
Pechina	-	-	-	-	-	-	-	-	3	8	11
Viator	-	-	-	-	-	-	-	-	1	5	6
Pulpí	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	2
Algeciras	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4	4
Chipiona	-	-	-	-	-	-	-	-	-	7	7
TOTAL	356	105	182	167	211	141	101	119	160	404	1946

En las campañas de 1998 y 1999 se combinaron aplicaciones foliares e inyecciones al tronco, a partir del año 2000 se suprimieron las inyecciones y todas las aplicaciones fueron foliares. En las Tablas 2 y 3 se recogen el número de tratamientos realizados por años y términos municipales. En ambas provincias el número de tratamientos ha ido fluctuando a lo largo de los años, dependiendo del número de palmeras tratadas y los pases realizados. A partir del año 2005 se suspendieron los tratamientos químicos.

Arranque de palmeras

Desde el primer momento de detección de la plaga, una de las primeras medidas que se adoptaron fue el arranque y destrucción de las palmeras claramente afectadas o con síntomas. Inicialmente, durante los años 1998 al 2000, se realizaba el arranque y posteriormente se trasladaba el material hasta un vertedero donde se procedía a la incineración del material vegetal, esta labor fue realizada los primeros años por operarios municipales. A partir del año 2001 los arranques y eliminación del material afectado se produjo mediante trituración con un molino conectado al toma de fuerza de un tractor y como en el caso de los tratamientos se llevan a cabo por medio de empresas supervisadas por la Empresa Pública de Desarrollo Agrario y Pesquero. El número total de palmeras arrancadas está recogido en la Tabla 4.

Seguimiento de las palmeras arrancadas mediante GIS

El seguimiento de las palmeras arrancadas mediante un Sistema de Información Geográfica durante los años 2001 a 2005, (Figuras 2-4), ha permitido determinar la evolución de la plaga en cada una de las poblaciones afectadas. Su dispersión y determinar o contrastar la eficacia de los tratamientos fitosanitarios. En las figuras se observa como en años consecutivos

los arranques se producen sobre palmeras adyacentes a las arrancadas en el año precedente. Ello pone de manifiesto que los tratamientos no impiden la dispersión de la plaga y que la apreciación de síntomas implica ya la dispersión de individuos adultos del pie afectado.

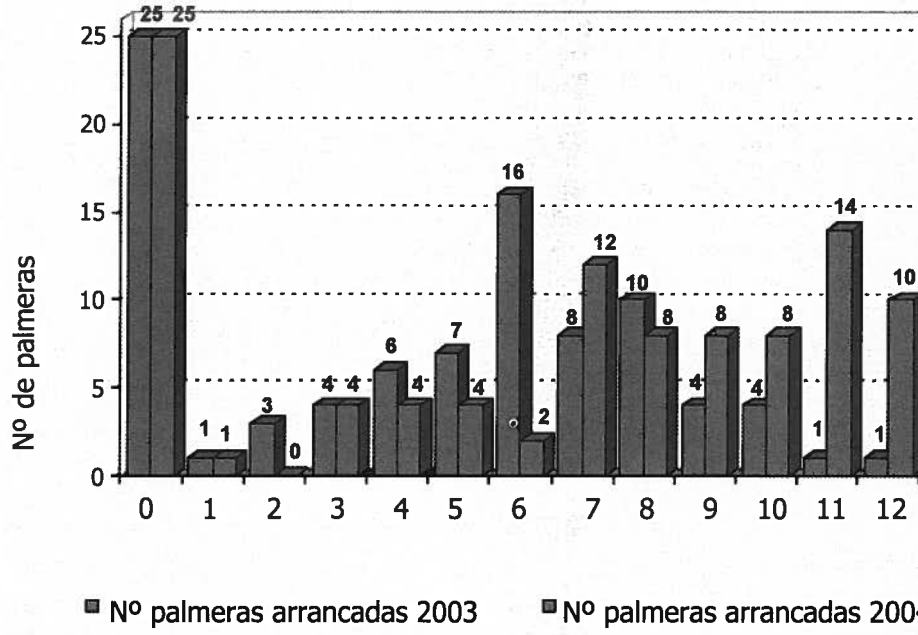
Al cotejar las palmeras arrancadas con los tratamientos, se ha podido constatar que gran número de palmeras arrancadas habían sido tratadas previamente (Figura 5). Comprobándose que incluso alguna de las palmeras arrancadas había recibido hasta doce aplicaciones, lo que significa tres años consecutivos de tratamientos, pero finalmente han sido afectadas por la plaga.

Figura 2. Seguimiento mediante GIS de las palmeras arrancadas en el término municipal de Almuñecar durante el quinquenio 2001-05, (datos proporcionados por la Consejería de Agricultura y Pesca de la Junta de Andalucía).

Figura 3. Seguimiento mediante GIS de las palmeras arrancadas en los términos municipales de Salobreña y Motril durante el quinquenio 2001-05, (datos proporcionados por la Consejería de Agricultura y Pesca de la Junta de Andalucía).

Figura 4. Seguimiento mediante GIS de las palmeras arrancadas en los términos municipales de Nerja y Frigiliana durante el quinquenio 2001-05, (datos proporcionados por la Consejería de Agricultura y Pesca de la Junta de Andalucía).

Figura 5: Número de tratamientos efectuados sobre las palmeras arrancadas durante los años 2004 y 2005, (datos proporcionados por la Consejería de Agricultura y Pesca de la Junta de Andalucía).



EENSAYOS REALIZADOS EN ESPAÑA

Los primeros estudios que se hicieron en nuestro país se centraron principalmente en el conocimiento de la biología de la especie y métodos de control. Para ello se puso a punto un sistema de cría en laboratorio mediante una dieta artificial alternativa (Barranco *et al.*, 1996a). Este sistema de cría alternativo ha permitido conocer algunos de los parámetros biológicos de la especie, como la duración de los diferentes estados postembrionarios, longevidad, fertilidad y fecundidad (Barranco *et al.*, 1997 y Martín-Molina *et al.*, 2001d), número de estadios postembrionarios (Barranco *et al.*, 1999) y su variación biométrica entre las poblaciones de campo y laboratorio (Martín-Molina *et al.*, 2001a). Igualmente la cría ha permitido, variando las condiciones ambientales, comprobar la incidencia de la temperatura en su ciclo biológico, así como de los diferentes tipos de alimentación (Barranco *et al.*, 2001 y Martín-Molina *et al.*, 2001b, c). Por último, mediante el manejo de esta la dieta artificial también se ha podido determinar algunos aspectos fisiológicos de la especie, como su fisiología digestiva (Alarcón *et al.*, 1999, 2000, 2002, 2003 y 2004; Martínez *et al.*, 1999) e incluso evaluar los efec-

tos de sustancias antialimentarias sobre la misma (Pérez-Royo *et al.*, 2005).

Los primeros ensayos con insecticidas se realizaron en laboratorio, en el Departamento de Biología Aplicada de la Universidad de Almería, empleando la dieta artificial como soporte para la administración de la materia activa insecticida. Estos ensayos estuvieron encaminados tanto a la selección de la materia activa más adecuada dentro de las disponibles como a la determinación de la dosis. Inicialmente se evaluó la capacidad insecticida del Oxamilo e Imidacloprid, obteniéndose eficacias del 100% con la segunda materia activa tanto para larvas de una semana como de 30 días a una dosis de 0,1 g/l (Cabello *et al.*, 1997). Posteriormente se evaluó también la eficacia del Fipronil y la Azadiractina, obteniéndose igualmente eficacias del 100% para el primer producto a una dosis de 0,2 ppm (Barranco *et al.*, 1998).

Paralelamente, la Consejería de Agricultura y Pesca de la Junta de Andalucía realizó durante 1996 y 1997 una serie de ensayos para evaluar la eficacia de determinadas materias activas, tanto mediante aplicaciones foliares como inyecciones al tronco de las palmeras e inyecciones al suelo (Hernández-Marante *et al.*, 2003), los resultados de estos ensayos se recogen en la Tabla 1.

Posteriormente, se realizaron ensayos con agentes biológicos para el control de esta plaga, empleando nemátodos entomopatógenos tanto a la dieta como a las palmeras mediante inyección, si bien la eficacia fue muy buena en laboratorio, no lo fue en el caso de las inyecciones al tronco (Cabello *et al.*, 2003). Otros ensayos con agentes entomopatógenos con diferentes especies de nematodos, hongos y Bacillus thuringiensis están recogidos en Martín-Molina (2004), si bien estos datos aún no han sido publicados.

Otros ensayos realizados por el Departamento de Biología Aplicada de la Universidad de Almería estuvieron orientados a determinar el rango de hospedantes del gorgojo rojo de las palmeras y el diámetro mínimo del tronco de la palmera necesario para el desarrollo de la larva (Barranco *et al.*, 2000). Los resultados de los ensayos desarrollados en este trabajo pusieron de manifiesto que ninguna de las infestaciones forzadas sobre *Washingtonia robusta* y *Chamaerops humillis* fueron viables y que palmeras *Phoenix* de tan sólo 5 centímetros de diámetro de tronco posibilitaban el desarrollo de una larva del gorgojo.

Por último también se realizaron ensayos con trampas equipadas con atrayentes sintéticos (feromona+cairomona) (Esteban-Durán *et al.*, 1998) que no dieron los resultados esperados.

TRABAJOS ACTUALES

Hoy día se siguen planteando dos problemas que necesitan urgente solución: desarrollar un sistema de diagnóstico precoz que permita determinar qué pies de palmera están afectados por la plaga y proponer sistemas de control adecuado.

Diagnóstico precoz

El primero de los problemas se ha de abordar bajo dos perspectivas diferentes: mediante el diseño de un protocolo de trampeo mediante feromonas para la detección de adultos y el desarrollo de un sistema de detección precoz de las larvas en la palmera.

La feromona de agregación de *R. ferrugineus* fue descrita por Hallet *et al.* (1993), si bien otros autores han evaluado se eficacia en adición con otros compuestos (Gunawardena & Herat, 1995) o con ayuda de kairomonas naturales (Gunawardena *et al.*, 1998) u otros compuestos (Faleiro *et al.*, 1999; Nair *et al.*, 2000). El empleo de feromonas ha proporcionado buenos resultados en plantaciones de cocotero en la India, proporcionando datos sobre la biología de la especie y la distribución espacial (Faleiro *et al.*, 1998, 2002, 2003 y 2005). Aunque pueden llegar a reducir la población de adultos en un 50% (Abbas *et al.*, 2006).

En cuanto a los métodos de detección de larvas, se están investigando en diferentes líneas, algunos vinculados con el olor que desprende la palmera atacada mediante el uso de perros adiestrados (Nakash *et al.*, 2000) o con el ruido que hacen las larvas al alimentarse mediante el empleo de sistemas de detección acústica que registran, graban y analizan mediante un software adecuado los sonidos emitidos por los insectos (Hetzroni *et al.*, 2003, Soroker *et al.*, 2004, Al-Manie, M.A. & Alkanhal, M.I., 2004). Existen trabajos que permiten monitorizar la actividad de las termites en la madera (Scheffrahn *et al.*, 1993), larvas y adultos en productos almacenados (Mankin *et al.*, 1997) y gusanos en el suelo (Mankin *et al.*, 2000).

Por otro lado, las palmeras sanas también producen sonido, concretamente las sometidas a sequía, debido a la vibración de los vasos en la palmera (Jolivet, 1998). Es necesario nuevos experimentos para asegurar la detección precoz de larvas jóvenes y distinguir las señales producidas por el gorgojo de los producidos por la fisiología de la palmera, otros insectos que se alojan en la palmera y los ambientales; así como determinar el periodo mínimo de actividad larvaria detectable.

Otras técnicas se basan en la evaluación de algunos de los parámetros fisiológicos que varían en las plantas como consecuencia de una agresión (Bokhari & Abuzuhira, 1992).

En la actualidad se están ensayando otras tecnologías que habitualmente se aplican en otros campos de la Ciencia y que podrían ofrecer muy buenos resultados, si bien aún se está en una fase muy preliminar.

Sistemas de control adecuado

Las tendencias actuales en lucha contra insectos hacen necesario potenciar el desarrollo de nuevas estrategias basadas en programas de control integrado que combinen diversas prácticas, entre las cuales se incluya el uso racional de plaguicidas, pero al mismo tiempo se exploren nuevas vías. Entre ellas, una opción exitosa en la lucha contra plagas ha consistido en el uso de una amplia variedad de sustancias capaces de actuar sobre distintos aspectos del proceso de desarrollo larvario, englobadas bajo la denominación común inglesa de "IGR's" (reguladores del crecimiento de insectos). En este contexto, una de las líneas de investigación propuesta para el control de insectos fitófagos se basa en el uso se sustancias antinutritivas que interfieren en el proceso digestivo de la larva y disminuyen la capacidad digestiva global del insecto hasta llegar a producirle la muerte (Wolfson & Murdock, 1995). El enfoque actual en la búsqueda de estas sustancias "bioinsecticidas" se ha orientado hacia la utilización de las propias defensas químicas que tienen las plantas para combatir a los insectos fitófagos. Entre las numerosas clases de fitoquímicos naturales destacan los inhibidores de enzimas digestivas (Wolfson & Murdock, 1995). Estas sustancias de naturaleza proteica ejercen su acción en el sistema digestivo e interfieren negativamente con el proceso digestivo del insecto.

Otra de las líneas de investigación propuesta para el control de insectos fitófagos se basa en el uso de patógenos de insectos para el control de sus poblaciones. En la actualidad se manejan varios grupos de organismos entomopatógenos contra *Rhynchophorus ferrugineus*: hongos (Gindin *et al.*, 2006), nematodos (Abbas *et al.*, 2001, Salama & Abd-Elgawad, 2001 y 2002, Shamseldean, 2004) y bacterias (Salama *et al.*, 2004). Los cuales son importantes reguladores de poblaciones de insectos en condiciones naturales. Por ello es posible de forma artificial crear (o potenciar las existentes naturalmente) infecciones masivas o epizootias en poblaciones de insectos plaga.

No obstante el principal escollo para el control de *Rhynchophorus ferrugineus* sigue siendo la accesibilidad de los individuos. Por ello es indispensable obtener, independientemente del agente biocida (de origen químico o biológico), o bien un formulado con gran capacidad de penetración en la palmera o bien con una elevada persistencia sobre la misma. De modo que se pueda afectar letalmente a los individuos que emerjan o accedan a la misma.

REFERENCIAS

ABBAS, M.S.T., SALEH, M.M.E. & AKIL, A.M., 2001. Laboratory and field evaluation of the pathogenity of entomopathogenic nematodes to the red palm weevil, *Rhynchophorus ferrugineus* (Oliv.) (Col., Curculionidae). J. Pest. Science, 74: 167-168.

ABBAS, M.S.T., HANOUNIK, S.B., SHAHDAB, A.S. & AL-BAGHAM, S.A., 2006. Agreggation pheromone traps, a major component of IPM strategy for the red palm weevil, *Rhynchophorus ferrugineus* in date palms (Col., Curculionidae). J. Pest. Science, 79: 69-73.

ALARCÓN, F.J., MARTÍNEZ, T.F., BARRANCO, P., DÍAZ, M., MOYANO, F.J. y CABELLO, T., 1999. Caracterización preliminar de las proteasas digestivas durante el desarrollo larvario del gorgojo rojo de las palmeras (*Rhynchophorus ferrugineus*, Olivier, 1790), (Coleoptera: Curculionidae). Congreso Nacional de Entomología Aplicada. VII Jornadas Científicas de la S.E.E.A. Aguadulce (Almería). Serv. Publ. Consejería Agricultura y Pesca. Junta de Andalucía. Congresos y Jornadas 53/99, pp 143.

ALARCÓN, F.J., MARTÍNEZ, T.F., BARRANCO, P., MARTÍN, M.M. y CALDERÓN, B.A., 2000. Desarrollo ontogénico de la actividad enzimática digestiva de *Rhynchophorus ferrugineus* (Olivier, 1790) (Coleoptera, Curculionidae). Memoria del XXIII Congreso Nacional de Control Biológico. Guanajuato, México, Sección 1: 2-4.

ALARCÓN, F. J., MARTÍNEZ, T.F., BARRANCO, P. & CABELLO, T., 2002. Digestive proteases during development of *Rhynchophorus ferrugineus* (Olivier, 1790) (Coleoptera, Curculionidae). Ins. Biochem.Molec. Biol., 32: 265-274.

ALARCÓN, J., PEREGRINA, A., MARTÍNEZ, T. F., MAYORAL, J. G. y BARRANCO, P., 2003. La digestión de carbohidratos en las larvas del gorgojo rojo de las palmeras *Rhynchophorus ferrugineus* (Olivier) (Col., Curculionidae). Libro de Resúmenes del III Congreso de Entomología Aplicada. Ávila, pp. 229.

ALARCÓN, F.J., PEREGRINA, A., MARTÍNEZ, T.F., MAYORAL, J.G. y BARRANCO, P., 2004. La digestión de carbohidratos en las larvas del gorgojo rojo de las palmeras *Rhynchophorus ferrugineus* (Olivier, 1790) (Coleoptera: Curculionidae). Bol. San. Veg., Plagas, 30: 519-532.

AL-MANIE, M.A. & ALKANHAL, M.I., 2004. Acoustic detection of the red date palm weevil. Transc. Eng. Omp. & Technol., 2: 209-212.

BARRANCO, P., DE LA PEÑA, J.A. y CABELLO, T., 1996a. Cría artificial de *Rhynchophorus ferrugineus* (Olivier, 1790) (Col.: Curculionidae). Resúmenes del IV Congreso Nacional de la Sociedad Española para las Ciencias del Animal de Laboratorio. CC.03.

BARRANCO, P., DE LA PEÑA, J.A. y CABELLO, T., 1996b. El picudo rojo de la palmeras, *Rhynchophorus ferrugineus* (Olivier), nueva plaga en Europa. (Coleoptera, Curculionidae). PHYTOMA- España, 76: 36-40.

BARRANCO, P., DE LA PEÑA, J.A. y CABELLO, T., 1996c. Un nuevo curculiónido tropical para la fauna europea, *Rhynchophorus ferrugineus* (Olivier, 1790), (Coleoptera, Curculionidae). Boln. Asoc. Esp. Entomol., 20: 257-258.

BARRANCO, P., DE LA PEÑA, J.A. y CABELLO, T., 1997. Biología de *Rhynchophorus ferrugineus* (Olivier) (Coleoptera: Curculionidae) en condiciones controladas. Resúmenes de las V Jornadas Científicas de la Sociedad Española de Entomología Aplicada. pp 154.

BARRANCO, P., DE LA PEÑA, J.A., MARTÍN, M.M. y CABELLO, T., 1998. Eficacia del control químico de la nueva plaga de las palmeras *Rhynchophorus ferrugineus* (Olivier, 1790). (Col.: Curculionidae). *Bol. San. Veg.*, Plagas, 24: 301-306.

BARRANCO, P., MARTÍN, M.M., DE LA PEÑA, J.A., RIVAS, P. y CABELLO, T., 1999. Estadíos postembrionarios de *Rhynchophorus ferrugineus* (Olivier, 1790). (Coleoptera, Curculionidae). Congreso Nacional de Entomología Aplicada. VII Jornadas Científicas de la S.E.E.A. Aguadulce (Almería). Serv. Publ. Consejería Agricultura y Pesca. Junta de Andalucía. Congresos y Jornadas 53/99, pp. 185.

BARRANCO, P., DE LA PEÑA, J.A., MARTÍN, M.M. y CABELLO, T., 2000. Rango de hospedantes de *Rhynchophorus ferrugineus* (Olivier, 1790) y diámetro de la palmera hospedante. (Coleoptera, Curculionidae). *Bol. San. Veg.*, Plagas, 26: 73-78.

BARRANCO, P., MARTÍN, M.M., DE LA PEÑA, J.A. y CABELLO, T., 2001. Biología del curculiónido rojo de la palmera, *Rhynchophorus ferrugineus* (Olivier, 1790) (Coleoptera, Curculionidae) en el sur de España: efecto de temperatura y altitud. II Congreso Nacional de Entomología Aplicada. Pamplona, pp. 82.

BOKHARI, U.G. & ABUZUHIRA, R., 1992. Diagnostic test for red palm weevil, *Rhynchophorus ferrugineus*, infested date palm trees. Arab J. Sci. Res., 10: 93-104.

CABELLO, T., DE LA PEÑA, J.A., BELDA, J. & BARRANCO, P., 1997. Laboratory test of Imidacloprid and Oxamyl against *Rhynchophorus ferrugineus*, new pest of palms in Spain. *Ann. Appl. Biol.*, 130: 6-7.

CABELLO, T., MARTÍN-MOLINA, M.M., DE LA PEÑA, J.A. Y BARRANCO, P., 2003. Control biológico de *Rhynchophorus ferrugineus* (Olivier) (Col., Curculionidae) mediante el nematodo H*eterorhabditis bacteriophora* (Rhabditida: Heterorhabditidae). Libro de Resúmenes del III Congreso de Entomología Aplicada. Ávila, pp. 282.

ESTEBAN-DURÁN, J., YELA, J.L., BEITIA-CRESPO, F.y 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). *Bol. San Veg.*, Plagas, 24: 737-748.

FALEIRO J. R., M. MAYILVAGANAN, C.P.R. NAIR, and V.R. SATARKAR 2005. Efficacy of indigenous pheromone lure for red palm weevil, Rhynchophoru ferrugineus (Olivier) (Coleoptera : Rhynchophoridae). *Insect Environment,* 10(4): 164-166.

FALEIRO J. R. and V.R. SATARKAR 2003. Testing ferrugineol based pheromone lures for trapping red palm weevil *Rhynchophorus ferrugineus* Olivier (Coleoptera : Rhynchophoridae) in coconut plantations.). *Indian Journal of Plant Protection,* 31(1): 84-87.

FALEIRO J. R. and V.R. SATARKAR. 2002. Suitability of insecticides for use in red palm weevil pheromone traps. *Pestology,* 26(5): 34-36.

FALEIRO, J. R., J. ASHOK KUMAR and P.A.RANGNEKAR, 2002. Spatial distribution of red palm weevil *Rhynchophorus ferrugineus* Oliv. (Coleoptera : Cuculionidae) in coconut plantations. *Crop Protection,* 21: 171-176.

GINDIN, G. LEVSKI, S., GLAZER, I. & SOROKER, V., 2006. Evaluation of the entomopathogenic fungi *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* against the red palm weevil *Rhynchophorus ferrugineus. Phytoparasitica,* 34: 370-379.

GUNAWARDENA, N.E., KERN, F., JANSSEN, E., MEEGODA, C., SCHAFER, D., VOSTROWSKY, O., and BESTMANN, H.J. 1998. Host attractants for red weevil, *Rhynchophorus ferrugineus*: identification, electrophysiological activity, and laboratory bioassay. J. Chem. Ecol. 24:425-437.

GUNAWARDENA, N.E., and HERATH, H. 1995. Enhancement of the activity of ferrugineol by N-pentanol in an attractant baited trap for the coconut pest, *Rhynchophorus ferrugineus* F. (Coleoptera: Curculionidae). J. Nat. Sci. Council. 23:81-86.

HALLETT, R.H., GRIES, G., GRIES, R., BORDEN, J.H., CZYZEWSKA, E., OEHLSCHLAGER, A.C., PIERCE, H.D., JR., ANGERILLI, N.P.D., & RAUF, A. 1993. Aggregation pheromones of two Asian palm weevils, *Rhynchophorus ferrugineus* and R. vulneratus. Naturwissenschaften. 80:328-331.

HERNÁNDEZ-MARANTE, D, FOLK, F., SÁNCHEZ, A., FERNÁNDEZ-ESCOBAR, R., 2003. Control del curculiónido ferruginosos de las palmeras (*Rhynchophorus ferrugineus* Olivier) mediante inyecciones al tronco y pulverización foliar. Bol. San. Veg., Plagas, 29: 563-573.

HETZRONI, A., A. MIZRACH, V. SOROKER, and Y. NACASHE. 2003. Acoustic detection of red palm weevil activity. Report of Chief scientist grant, Ministry of Agriculture, Israel.

JOLIVET, P. 1998. Interrelation between insects and plants. Pp.99-100. CRC press, New York.

MANKIN, R. W., D. SHUMAN, and J.A. COFFELT. 1997. Acoustic counting of adult insects with different rates and intensities of sound production in stored wheat. *J. Econ. Entomol.* 90:1032-1038.

MANKIN, R. W., J. BRANDHORST-HUBBARD, K.L. FLANDERS, KL. FLANDERS, M.

ZHANG, R. L. CROCKER, S. L. LAPOINTE, C.W. MCCOY, J.R. FISHER, and D.K. WEAVER. 2000. Eavesdropping on insects hidden in soil and interior structures of plants. *J. Econ. Entomol.* 93:1173-1182.

MARTÍN MOLINA, M.M., 2004. Biología y ecología del curculiónido rojo de la palmera, *Rhynchophorus ferrugineus* (Olivier, 1790) (Col., Dryopthoridae). Tesis doctoral. Universidad de Almería, pp. 202.

MARTÍN MOLINA, M.M., BARRANCO, P. y CABELLO, T., 2001a. Biometría del estado de larva de *Rhynchophorus ferrugineus* (Olivier, 1790). (Col., Curculionidae). Libro de Resúmenes de las XIX Jornadas de la Asociación Española de Entomología. Barcarrota (Badajoz), pp. 78.

MARTÍN MOLINA, M.M., BARRANCO, P., BELDA, J.E. y CABELLO, T., 2001b. Limitación del desarrollo de *Rhynchophorus ferrugineus* (Olivier, 1790) (Col., Curculionidae) por temperaturas mínimas. Libro de Resúmenes del II Congreso de Entomología Aplicada. Pamplona, pp. 56.

MARTÍN MOLINA, M.M., BARRANCO, P., BELDA, J.E. y CABELLO, T., 2001c. Influencia del sustrato alimenticio y temperatura en la biología de *Rhynchophorus ferrugineus* (Olivier, 1790). (Col., Curculionidae). Libro de Resúmenes de las XIX Jornadas de la Asociación Española de Entomología, Barcarrota (Badajoz), pp. 79.

MARTÍN MOLINA, M.M., BARRANCO, P., BELDA, J.E. y CABELLO, T., 2001d. Parámetros biológicos de *Rhynchophorus ferrugineus* (Olivier, 1790) en condiciones de cría controlada. (Col., Curculionidae). Libro de Resúmenes de las XIX Jornadas de la Asociación Española de Entomología, Barcarrota (Badajoz), pp. 80.

MARTÍNEZ, T.F., ALARCÓN, F.J., BARRANCO, P., DÍAZ, M., MOYANO, F.J. y CABELLO, T., 1999. Caracterización de las enzimas amiolíticas de *Rhynchophorus ferrugineus* (Olivier, 1790) (Coleoptera: Curculionidae): desarrollo ontogénico e influencia del tipo de dieta. Congreso Nacional de Entomología Aplicada. VII Jornadas Científicas de la S.E.E.A. Aguadulce (Almería). Serv. Publ. Consejería Agricultura y Pesca. Junta de Andalucía. Congresos y Jornadas 53/99, pp. 144.

PÉREZ-ROYO, J.M., MAYORAL, J.G., ALARCÓN, F.J., MARTÍNEZ, T.F. Y BARRANCO, P., 2005. Efecto del ácido tánico y del extracto de quebracho sobre el crecimiento de larvas de gorgojo rojo de las palmeras, *Rhynchophorus ferrugineus* (Olivier, 1790). (Coleptera, Curculionidae). *Bol. Mus. Munic. Funchal,* (en prensa).

RAJAN, P. & FAIR, C.P.R. (1997). Red palm weevil- the tissue borer of coconut palm. Indian Coconut Journal, 27: 2-3.

SALAMA, H.S. & ABD-ELGAWAD, M.M., 2001. Isolation of heterorhabditid nematodes from palm tree planted areas and their implications in the red palm weevil control. J. Pest. Science, 74: 43-45.

SALAMA, H.S. & ABD-ELGAWAD, M.M., 2002. Activity of heterorhabditid nema-

todes at high temperature and in combination with cytoplasmic polyhedrosis virus. J. Pest. Science, 75: 78-80.

SALAMA, H.S., FODA, M.S., EL-BENDARY, M.A. & ABDEL-RAZEK, A., 2004. Infection of red palm weevil, *Rhynchophorus ferrugineus* by spore-forming bacilli indigenous to its natural habitat in Egypt. J. Pest. Science, 77: 27-31.

SCHROEDER, H.E., GOLLASH,S., MOORE, A., TABE, L.M., CRAIG, S., HARDIE, D., CHRISPEELS, M.J., SPENCER, D., HIGGINS, T.J.V., 1995. Bean α-amylase inhibitor confers resistance to the pea weevil, *Bruchus pisorum*, in genetically engineered peas (*Pisum satibum* L.), Plant Physiol. 107:1233–1239.

SHAMSELDEAN, M.M., 2004. Laboratory trials and field applications of Egyptian and foreing entomopathogenic nematodes used against the red palm weevil, *Rhynchophorus ferrugineus* Oliv. International J Nematol., 14: 51-62.

SOROKER, V., NAKASH, Y., MIZRACH, A., HETZRONI, A., LANDAU, U. and GERLING, D. (2004). Utilization of sounding methodology to detect infestation by *Rhynchophorus ferrugineus* on palm offshoots. Phytoparasitica, 32:6-8.

WOLSON, J.L. y MURDOCK, L.L. (1995) Potential use of protease inhibitors for host plant resistance: A test case. *Environ. Entomol.* 24: 52-57.

Norma	Publicación	Acción		Ámbito
Orden 18/11/1996	BOE nº 285	Medidas provisionales de protección.	Se establecen las medidas fitosanitarias y de control.	Todo el Estado
Orden 09/06/1997	BOJA nº 97/072	Medidas provisionales de protección contra *R. ferrugineus.*	Transposición Orden 18/11/1996. Inmovilización. Podas, red de feromonas. Detección y eliminación.	Comunidad Andaluza
Orden 28/02/2000	BOE nº59	Medidas provisionales de protección contra R. ferrugineus.	Protección contra diversas especies. Inspección oficial mínimo mensuales durante los cuatro meses anteriores a la exportación y han sido sometidos en su país de origen a un tratamiento de erradicación. Deroga la Orden 18/11/1996.	Todo el Estado
Orden 24/02/2004	DOGV nº4707	Se declara la existencia oficial en Valencia y se establece la prevención y la lucha.		Comunidad Valenciana
Orden 13/10/2004	BOE nº 247	Medidas provisionales de protección.	Se amplían las especies plaga y medidas de control.	Comunidad Canaria
Resol. 25/05/2005	DOGV nº4764	Foco en Olocau (Valencia)	Se delimitan áreas de protección y especial vigilancia.	Comunidad Valenciana
Resol. 01/07/2005	DOGV nº5052	Foco en San Vicente de Raspeig (Alicante)		
Resol. 23/09/2005	DOGV nº5103	Foco en Elche (Alicante).		
Resol. 07/10/2005	DOGV nº5115	Foco en Elche (Alicante) 2ª área		
Resol. 24/10/2005	DOGV nº5125	Foco en Almenara (Cast.) y Bétera (Val.)		
Resol. 11/11/2005	DOGV nº5141	Foco en Elche (Alicante)..		
Resol. 18/11/2005	DOGV nº5143	Foco en Elche (Alicante).		
Resol. 24/11/2005	DOGV nº5148	Foco en Moncofa (Castellón).		
Resol. 08/02/2006	DOGV nº5201	Foco en Novelda (Alicante).		
Resol. 09/03/2006	DOGV nº5226	Foco en Polinyà de Xúquer.		
Resol. 27/07/2006	DOGV nº5319	Foco en Picassent (Alicante).		

Norma	Publicación	Acción		Ámbito
Resol. 28/08/2006	DOGV nº5350	Foco en Elche (Alicante).		
Resol. 04/10/2006	DOGV nº5368	Foco en Alicante.		
Orden 24/01/2006	BORM nº 28	Se declara la existencia oficial en Murcia y se recomienda la lucha contra esta plaga.	Se establecen las medidas fitosanitarias obligatorias y se fijan las indemnizaciones.	Comunidad de Murcia
Orden 26/01/2006	BOE nº 24	Prohibición de importación de palmeras en Canarias.	Prohibición de importación en la Comunidad de palmeras de más de 5 cm de tronco.	Comunidad Canaria
Orden 24/03/2006	BOC nº 61	Se declara la existencia oficial en Murcia y se establecen las medidas de control.	Se delimitan perímetros de protección, medidas de arranque, transporte y triturado, tratamientos, etc.	Comunidad Canaria
Orden 10/06/2006	BOE nº 138	Prohibición de introducción de palmeras en los palmerales históricos de la Comunidad.		Comunidad Valenciana
Orden 03/07/2006	DOGC nº 4671	Se declara la existencia oficial en Cataluña y se recomienda la prevención y el control.	Inmovilización, prospección y erradicación por el Servicio Sanidad Vegetal. Indemnización a particulares.	Comunidad Catalana

CONTROL BIOLÓGICO EN EL CULTIVO SIN SUELO DE FRESÓN

Martínez, F.; Flores, F.; Vázquez-Ortiz, E.; López-Medina, J.
Dpto. Ciencias Agroforestales. Universidad de Huelva.

RESUMEN

El objetivo general de nuestro ensayo es desarrollar un sistema sostenible para la prevención de las enfermedades producidas por *Phytophthora cactorum* y *Verticillium dahliae* en sistemas de cultivo sin suelo mediante la optimización microbiana en el cultivo de la fresa. Se evaluará el efecto de la Filtración Lenta en lecho de arena sobre dichas afecciones y la instalación de *Trichoderma asperellum* (T-34)® en el sustrato.

1.- INTRODUCCIÓN

El método de control que se emplea habitualmente contra los microorganismos causantes de las enfermedades de las plantas cultivadas es el uso de agentes químicos. Los pesticidas químicos son económicos y actúan rápidamente, pero son un grupo de sustancias altamente tóxicas cuya persistencia en el medio ambiente conlleva grandes problemas ecológicos como la contaminación de las aguas subterráneas y la entrada en la cadena alimenticia, lo cual tiene un fuerte impacto sobre gran cantidad de organismos, incluyendo en último término a los humanos. Además, el uso ininterrumpido de estas sustancias ha provocado la aparición de microorganismos patógenos resistentes a los fungicidas químicos empleados para su control. Por ejemplo, han aparecido cepas de los hongos *Venturia inaequalis, Erysiphe cichoracearum* y *Botrytis cinerea* resistentes a benomilo; de *Phytophthora infestans, Phytophthora parasitica* y *Peronospora tabacina* resistentes a metalaxilo y otros hongos resistentes a triadimetón y organomercuriales

(Cook y Baker, 1989). Esto ha supuesto un grave problema para el tratamiento de muchas enfermedades, originando un aumento de las dosis de fungicida empleadas y el uso de compuestos menos específicos que resultan perjudiciales para microorganismos beneficiosos para las plantas como son las micorrizas. Por otra parte, las restricciones al uso de fungicidas químicos para tratar las infecciones de los productos almacenados son mucho mayores que las impuestas para el campo, lo que hace bastante difícil el control de estas enfermedades. Por todo ello la tendencia actual es la reducir significativamente el uso de estos compuestos en la agricultura. A modo de ejemplo, comentar la prohibición del Bromuro de Metilo (BrMet) en el cultivo de la fresa.

Un método alternativo al uso de pesticidas químicos es el denominado control biológico, que se basa en el empleo de organismos con capacidad para reducir la población del agente causante de la enfermedad o evitar sus efectos (Hjeljord y Tronsmo, 1998). Estos organismos conocidos como "agentes de control biológico", pueden ser patógenos hipovirulentos que compitan por el espacio y los nutrientes con las cepas silvestres; variedades de plantas más resistentes a la enfermedad, u otros organismos que interfieran con la supervivencia del patógeno o con sus mecanismos para provocar la enfermedad.

A pesar de toda la investigación que se desarrolla al respecto, el control biológico tiene todavía grandes limitaciones. La principal es que además de ser relativamente más caro, más lento e imprevisible, en numerosas ocasiones no alcanza un efecto suficiente para reemplazar a los agentes químicos en su totalidad. En los últimos años se ha desarrollado una estrategia de control integrado basada en la combinación de agentes de control biológicos y químicos. Con ello se ha limitado la dosis necesaria del compuesto químico hasta niveles subletales gracias a un efecto sinérgico del agente químico con la acción del microorganismo antagonista. Por ejemplo, mediante la combinación con *Trichoderma harzianum* se ha logrado reducir la dosis necesaria de BrMet para controlar la enfermedad del tomate provocada por *Fusarium oxysporum* (Chet e Invar, 1994). Algunos autores han propuesto que el efecto se debe a que dosis reducidas de fungicida estresan y debilitan al patógeno haciéndolo más sensible a un ataque por el antagonista (Lorito *et al*; 1996). Muchas de las limitaciones que presenta el control biológico podrían solventarse con un mayor conocimiento tanto de los agentes como de los mecanismos que éstos ejercen.

Los agentes de control biológico que se emplean contra hongos fitopatógenos suelen ser otros microorganismos antagonistas como bacterias (*Bacillus* spp; *Pseudomonas* y *Streptomicetos*), virus y, fundamentalmente, otros hongos. Entre estos últimos se comercializan algunas especies de los

géneros *Pythium, Fusarium, Ampelomyces, Coniothyrium, Endothia, Gliocladium* y *Trichoderma* (Butt *et al.*, 2001). La mayor parte de la investigación que se lleva a cabo sobre control de enfermedades fúngicas se refiere a cepas del género *Trichoderma*. La naturaleza antagonista de *Trichoderma* se descubrió hace más de setenta años (Weindling, 1932) y, desde entonces, numerosas especies clasificadas dentro de este género se han utilizado en experimentos de control biológico de muchos hongos patógenos de plantas. Más aún, más de la mitad de los productos existentes en el mercado destinados al control de hongos fitopatógenos son preparados de *Trichoderma*.

Las especies del género *Trichoderma* forman parte de un grupo complejo de hongos filamentosos clasificados como Ascomicetos pertenecientes al orden Hipocreales. Se reproducen clonalmente mediante un ciclo de vida asexual en el que se alternan micelio y esporas o conidios. El micelio se caracteriza por poseer hijas más o menos ramificadas, tabicadas y con más de un núcleo por célula. Los conidios poseen un solo núcleo haploide, son ovoides, de color verde (excepcionalmente hialinos) y se forman sobre estructuras muy ramificadas o conidióforos que a su vez se sitúan sobre células especiales denominadas fiálidas (Rosen *et al.*, 1974).

Las características ecológicas de los hongos pertenecientes a este género los hacen especialmente adecuados para su aplicación como agentes de control biológico de enfermedades producidas por hongos. Las especies de *Trichoderma* son ubicuas, se hallan ampliamente distribuidas tanto geográficamente como en distintos tipos de suelo, siendo predominante en hábitats donde abundan restos vegetales y madera en descomposición. Son hongos saprófitos con la excepción de algunas especies que además son micoparásitas. Poseen una elevada capacidad de colonización de distintos ambientes debido a que crecen muy rápidamente, tienen pocos requerimientos nutricionales y sobreviven en condiciones muy adversas (Papavizas, 1985).

Una de las características más interesantes de las cepas de *Trichoderma* es que tienen una capacidad metabólica muy diversa. Son capaces de transformar una amplia variedad de materia orgánica de origen natural y xenobiótico mediante la producción de gran cantidad de enzimas extracelulares que degradan distintos tipos de polímeros, entre ellos polisacáridos como la celulosa, la quitina, la laminarían, la pectina, el almidón y el xilano.

Rara vez se ha asociado a *Trichoderma* con enfermedades de plantas, sino que, al contrario, se considera un organismo beneficioso para las mismas. La promoción del crecimiento vegetal por parte de *Trichoderma* es un fenómeno que se ha observado en varios tipos de cultivo (Harman *et al.*, 1989; Lindsey y Baker, 1967). Este fenómeno se manifiesta como una

potenciación de la germinación de las semillas, una floración más abundante y temprana y aumentos de altura y peso de las plantas (Chang y Baker, 1986). En experimentos de invernadero se ha observado un aumento de la producción de hasta el 300%. Sin embargo, los mecanismos mediante los cuales se produce este efecto siguen aún sin identificarse. Uno de ellos podría ser la capacidad de *Trichoderma* de solubilizar metales, como el zinc, el manganeso, el hierro o el cobre, convirtiéndolos así en nutrientes asimilables por las plantas (Altomare *et al.*, 1999). Otro efecto indirecto podría ser la eliminación de la rizosfera de patógenos de menor incidencia, como es el caso de Pythium, sin los cuales las plantas alcanzarían su máximo potencial de desarrollo (Harman *et al.*, 1989). Aún así, en experimentos de laboratorio en los que sólo están presentes *Trichoderma* y la planta a ensayar, también se produce el estímulo del crecimiento. Existen evidencias de que hay factores difusibles, aún no identificados, que intervienen en el desencadenamiento de la respuesta de la planta.

Una mejora de los agentes de control biológico pasa por el conocimiento de sus mecanismos de acción. *Trichoderma* es el antagonista en el que más se ha estudiado este fenómeno. Los mecanismos generales de control biológico que *Trichoderma* emplea pueden dividirse según sea su efecto sobre el patógeno de la planta; directo o indirecto. Los de efecto directo incluyen la inactivación de las enzimas del patógeno, la competición por el espacio y los nutrientes, la secreción de metabolitos secundarios con efecto antibiótico y el ataque directo al otro hongo o micoparasitismo. Además, indirectamente, *Trichoderma* es capaz de proteger a la planta del patógeno mediante la inducción de sus sistemas de defensa.

Se ha podido demostrar cómo muchos de los aislados del género *Trichoderma* (los cuales han sido generalmente clasificados como *T. harzianum Rifai*) se han comportado como micoparásitos de los más importantes, económicamente hablando, patógenos tanto aéreos como de suelo (Chet, 1987). Recientemente, Hermosa *et al.* (2000) describieron la presencia de al menos cuatro diferentes especies dentro de los aislados identificados como "*T. harzianum*", y aconsejan combinar estas especies en la misma formulación para aumentar la efectividad en la colonización del suelo. Hanson (2000) concluyó que *Trichoderma* virens era un agente biológico eficaz para la lucha contra *Verticillium dahliae*, este patógeno fue introducido en la planta de algodón mediante un pinchazo en el tallo con una jeringa (3 ml) conteniendo una concentración de 5.107 conidias/ml. D'Ercole *et al.* (2000) también concluyeron que *Trichoderma* spp. fue eficaz en controlar *Verticillium dahliae* tanto en ensayos in vitro como in vivo. Otros autores constataron que *Trichoderma asperellum* (T-34)® inoculado en diversos sustratos reduce de manera consistente las enfermedades producidas por *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici raza* 1 en plantas de tomate y *Rhizoctonia solani* en plantel de pepino (Trillas, 2003).

En Huelva, debido a que el cultivo de la fresa se repite año tras año en el mismo terreno (monocultivo), y teniendo en cuenta que las variedades son extremadamente sensibles a *Phytophthora* spp, *Verticillium* spp, etc., se hace indispensable la desinfestación del suelo para controlar la acción negativa de los fitopatógenos edáficos, siendo el BrMet el producto más ampliamente utilizado (López-Aranda, 1999). Sin embargo, la asociación establecida entre el BrMet y su capacidad para degradar la capa de ozono, ha determinado que la legislación europea, cada vez más restrictiva con la utilización de pesticidas en productos dedicados al consumo directo, prohibió su uso, como se comentó anteriormente a partir del 1/1/2005 (Rodríguez-Kabana, 1998; Batchelor, 2002). Esta prohibición ha actuado como precursor de desarrollo de tecnologías nuevas y modificadas como los sistemas de cultivo sin suelo (CSS). Por todo ello, aunque los CSS no pueden considerarse, en sentido estricto, una alternativa al BrMet, la necesidad de encontrar alternativas al mismo ha actuado como catalizador para su desarrollo. Barro y Edwars (1995) mostraron que la producción de fresa sin BrMet es posible utilizando el CSS.

En la provincia de Huelva, la sustitución del uso del BrMet en el cultivo de la fresa por el cultivo sin suelo aporta una serie de ventajas adicionales:

- La desinfestación del suelo no es necesaria, porque se evita el uso del BrMet u otro desinfectante.
- El sistema de CSS es elevado/colgante, por lo que ni las plantas ni los frutos están en contacto con el suelo.
- Las condiciones alrededor de la planta son más secas, por ello la presencia de Botrytis se controla mejor y la producción integrada es más efectiva.
- La recolección es más cómoda.
- Los residuos son mínimos: el sustrato puede reutilizarse o ser aplicado como enmienda orgánica y las bolsas de plástico pueden reciclarse.

La eliminación de los sustratos utilizados en un CSS al final de su vida representa, en algunos casos, un problema. Así, por ejemplo, la lana de roca no es biodegradable y sus residuos son nocivos para la salud humana (Benoit, 1990). No ocurre lo mismo con los restos de sustratos orgánicos (turbas) que sí son biodegradables y pueden ser incorporados al suelo como enmienda orgánica (Marfá, 2000). Sin embargo, la turba es un recurso no renovable por lo que se deben buscar sustratos alternativos, procedentes de recursos renovables, que contribuyan a una mayor sostenibilidad del CSS. Por ello, se ha emprendido una búsqueda de materiales locales que las pue-

dan sustituir en numerosas partes del mundo, con la ventaja añadida de reducir los costes de producción. No en vano, ya existen limitaciones en las extracciones de las turberas, dentro de las políticas de protección del medio ambiente de los países productores, tanto por el impacto ambiental de la extracción en sí, como por ser las turberas importantes sumideros de anhídrido carbónico (Abad, 1991).

Además de la turba, dentro del grupo de los biodegradables están: la corteza de pino, la fibra de coco y las fibras vegetales. De este grupo los más interesantes son los poco degradables, porque así mantienen sus propiedades físicas. La fibra de coco es uno de los sustratos de este grupo que está dando muy buenos resultados (Ramos, 1993).

En este contexto, han adquirido especial importancia los residuos agroindustriales (Raviv *et al.*, 1986). Una característica a destacar de los sustratos a base de compost es su capacidad supresora frente a las principales enfermedades fúngicas de origen edáfico de las plantas (Hoitink *et al.* 1996). Esta propiedad, si bien está ampliamente documentada en la bibliografía, no está explotada en la práctica en nuestro país debido a que no está analizada en nuestros composts y para nuestros patosistemas (Avilés y Tello, 2001).

Los sistemas a solución perdida conllevan la eliminación al medio ambiente de importantes volúmenes de lixiviados con un elevado poder contaminante. En los CSS cerrados se produce una reducción casi total de la contaminación ambiental, y además su empleo permite obtener un ahorro de agua y fertilizantes (Magán, 1999). Se puede conseguir ahorrar hasta un 30% de agua y hasta un 40% de fertilizantes en sistemas de CSS cerrados frente a los sistemas de CSS abiertos (Van Os, 1999).

Implantar un sistema de recirculación en un CSS comporta un sobrecoste respecto del sistema abierto equivalente. Por tanto, la elección del equipo y del método más adecuado para llevar a cabo la recirculación, condiciona la viabilidad económica del cultivo. Puesto que en los CSS cerrados se trata de retornar al circuito de fertirrigación el volumen de solución lixiviada, es necesario instalar colectores que permitan recuperar los lixiviados al final de cada línea, bancada o franja de cultivo. Los lixiviados presentan dos características básicas (Marfá, 2000):

- Su composición iónica no es igual a la de la solución nutritiva (SN) originaria, aunque normalmente presenta alguna semejanza.
- Incorporan sólidos en suspensión, solutos exudados por las propias raíces y microorganismos que pueden ser patógenos y propagarse por toda la plantación.

Los microorganismos patógenos que se trasmiten con mayor frecuencia en los CSS recirculantes son: *Phytium, Phytophthora, Verticillium, Fusarium,*

Xanthomonas, Erwinia, etc. Virus y nemátodos (Monserrat, 2000; Marfá, 2000; Martínez y García, 1993). De aquí que los lixiviados deban: filtrarse, desinfectarse y restituirse al circuito cerrado, corrigiendo su composición, en la medida que sea técnicamente posible, y de forma automatizada. La Filtración Lenta en lecho de arena (FLA) es el único método de desinfección biológico, donde no se esteriliza la solución nutritiva y por tanto, tiene lugar el desarrollo de cierta microflora que puede desempeñar un importante papel en la supresión de enfermedades (Van Os, 1999).

Por todo ello, el control biológico (principalmente utilizando parásitos y depredadores de plagas y enfermedades de interés agrícola) se está confirmando, en la actualidad, como una opción totalmente válida y satisfactoria para la reducción de plagas y enfermedades sobre cultivos desarrollados en sistemas protegidos, de forma que incidimos sobre la protección de nuestro ambiente y limitamos los residuos de fitosanitarios en los cultivos producidos (Rapisarda *et al.* 2003). Rondon *et al.* (2003) realizaron una serie de experimentos para demostrar que la producción de fresón en CSS se podía realizar con el uso mínimo de insecticidas a través de un control biológico y encontraron que *Coleomegilla maculata* era el agente más efectivo en controlar tanto áfidos como araña roja. Por otro lado, Paranjpe *et al.* (2003) realizando sueltas preventivas mensualmente de *Neoseiulus californicus* lograron controlar satisfactoriamente a la araña roja. De igual forma, Grondona *et al.* (2002) investigaron la utilización de aislados del género *Trichoderma* como micoparásito contra *Collelotrichum, Phytophthora* y *Botrytis,* de forma que la aplicación de funguicidas sea mínima en el sistema de producción de fresón, y consideran esta opción como un alternativa a la utilización del BrMet. Por otro lado, también Bello *et al.* (2001) consideran al control biológico de las enfermedades (como *Verticillium dahliae*) como una alternativa válida a la utilización del BrMet en España.

Los objetivos que se pretenden alcanzar en nuestro trabajo son los siguientes: producir fresón precoz y fuera de temporada, lo cual únicamente puede conseguirse mediante el CSS, anticipando el inicio de la recolección hasta dos meses e incrementando el rendimiento por m2 y producir fresón en CSS a través de un Control Integrado, combinando la acción de agentes de control biológico con el uso de la FLA como método de desinfección biológico.

Los resultados obtenidos y publicados tras cuatro años de ensayos, realizados por nuestro equipo de investigación en la Universidad de Huelva y en colaboración con la Universidad de Sevilla, la Universidad de Almería, Famidan, S.L. e Hydro Agri S.A, se engloban en las siguientes líneas de investigación:

- Caracterización del sistema.
- Dispersión de patógenos de suelo
- Control biológico en CSS de fresón.

2.- CARACTERIZACIÓN DEL SISTEMA.

La búsqueda de sustratos alternativos en sistemas de cultivo sin suelo (CSS) mejoraría la sostenibilidad de estos sistemas. El compostaje de ciertos residuos permite su empleo como sustratos de cultivo. El compost obtenido a partir de diferentes tipos de residuos agrícolas puede ser utilizado como componente de sustrato. Además, estos compost son potencialmente supresores de enfermedades. En general, la flora que alberga los sustratos presenta tres aspectos de interés: su influencia en el estado nutritivo del sustrato, las interferencias con los fitopatógenos y la posible presencia de estos últimos (Carlile y Wilson, 1991). Tales interferencias están influenciadas por las características abióticas del suelo (Alabouvette, 1986).

La microflora presente en la solución nutritiva de un sistema de CSS juega un papel importante en la supresión de patógenos que afectan a los órganos subterráneos de las plantas. Por ello, es importante adoptar métodos de desinfección selectivos, como puede ser la FLA de la solución nutriente en un sistema cerrado de CSS, para de este modo mantener viva y activa dicha microflora. En definitiva, la FLA es un método donde no se elimina totalmente la microflora presente. Un factor importante a conocer en el control de la supresividad natural es la estructura de la comunidad microbiana de los sustratos, a partir de la caracterización de las poblaciones de ciertos grupos asociados al fenómeno de control biológico. En este sentido, y para poder determinar los factores que propician la supresividad, se han desarrollado varias técnicas como la medición de la actividad microbiana, las cuales se han correlacionado con la supresividad (Chen *et al.*, 1988b), ya que la actividad microbiana de ciertos suelos puede impedir el establecimiento del patógeno o pueden inhibir su actividad patogénica (Louvet *et al.*, 1981).

En este trabajo el tratamiento con FLA fue usado en un sistema cerrado de CSS (CFLA). Se utilizaron dos sustratos: residuo fino de corcho compostado mezclado con cascarilla de arroz (CC+CA) en una proporción 1:1 (v:v) y un sustrato de turba (T).

La biomasa microbiana se midió a los 2.5 meses después de la plantación mediante la técnica de conteo directo con naranja de acridina. Esta técnica se llevó a cabo mediante el conteo de células a partir de una extracción acuosa usando un microscopio de epifluorescencia (Leica Microsystems D-

35578; Wetzlar Germany). (Kepner y Pratt, 1994). La extracción acuosa fue filtrada a través de membranas de policarbonato con un tamaño de poro de 0.2 µm (Isopore, Millipore Iberica S.A; Madrid, Spain). El conteo se hizo con un aumento de 1.250x con un mínimo de 400 células/filtro. Las muestras controles fueron realizadas con agua estéril. Se analizaron 2 muestras (réplicas) del agua filtrada y drenada respectivamente y para los dos sustratos ensayados. Se realizaron 3 repeticiones. Según los resultados obtenidos, la solución nutritiva después del filtro presentó valores de Biomasa Microbiana inferiores a los de la solución nutritiva antes del filtro (Martínez *et al.*, 2005a). Además, En el sistema CFLA, la biomasa microbiana de la solución recirculante mostró diferencias significativas entre el CC+CA y la T. En el CC+CA, la biomasa microbiana de la solución recirculante fue superior que en la T. Esta mayor biomasa del CC+CA podría sugerir una menor viabilidad de las conidias de *V. dahliae*.

3. -DISPERSIÓN Y SEVERIDAD DE PATÓGENOS DE SUELO

En los sistemas de CSS cerrados se incrementa la dispersión de patógenos de suelo, como pueden ser entre otros, *Phytophthora cactorum* y *Verticillium dahliae*. Los sistemas de CSS cerrados pueden reducir el consumo de agua de riego y mejorar la eficiencia de los nutrientes aplicados, reduciendo los lixiviados contaminantes respecto a los sistemas abiertos y al cultivo sobre suelo. Por el contrario, los sistemas cerrados pueden incrementar la dispersión de los patógenos de suelo, como pueden ser entre otros, *Phytophthora cactorum* y *Verticillium dahliae* a través de la solución nutritiva recirculante (SNR). De ahí, que los lixiviados deban filtrarse, desinfectarse y restituirse al circuito cerrado, corrigiendo su composición, en la medida que sea técnicamente posible, y de forma automatizada. Diversos trabajos han demostrado que los propágulos *Pythium* spp. y *Phytophthora* spp. no son detectados después del filtro con FLA (Wohanka, 1995; Wohanka *et al.*, 1999). En sistemas de CSS cerrado, los propágulos de *Phytophthora cactorum* no son detectados después del fitro con FLA (Martínez *et al.*, 2005b).

En este trabajo, el tratamiento con FLA fue usado en un sistema cerrado de CSS, para estudiar el efecto sobre la reducción de la dispersión de los propágulos de *Phytophthora cactorum* y *Verticillium dahliae* en un cultivo de fresas (*Fragaria* x *ananassa* Duch.). La inoculación se realizó antes de la plantación, mediante baño de raíces en una suspensión de inóculo de las doce últimas plantas de la línea. El ensayo se llevó a cabo en un invernadero de metacrilato tipo túnel. El diseño fue de bloques al azar con tres repeticiones. Cada repetición consistió en una línea de cultivo colgante de 6 metros y 65 plantas de fresa (var. Camarosa) por línea de cultivo en un volu-

men de 60 L de sustrato a lo largo de los 6 metros. Se utilizaron dos sustratos: CC+CA y T. El principio de la FLA se basa en una capa flotante que gotea lentamente a través de una capa de arena, con una tasa de flujo de 0.1 m·h-1 y dos tamaños distintos de arena (media: 0.2-0.8 mm y fina: 0.15-0.35 mm).

La dispersión de las enfermedades asociadas a *Phytophthora cactorum* y *Verticillium dahliae* en el sistema cerrado de CSS, se estudió mediante la detección de los propágulos en la solución nutritiva recirculante y en los sustratos, y mediante la evaluación de la intensidad de enfermedad en la zona no inoculada de la línea de cultivo.

Los propágulos de *Phytophthora cactorum* se midieron mediante técnicas de trampas vegetales (pétalos inmaduros de clavel) y posterior cultivo en placa usando medio semiselectivo (PAR-V8), y los propágulos de *Verticillium dahliae* se cuantificaron mediante la técnica de filtración de la solución nutritiva recirculante. En la filtración se utilizaron filtros de membrana de celulosa de tamaño de poro (2.5 µ) y posterior siembra del filtro en medio semiselectivo. Se usó un medio selectivo para Verticillium (MSV) a partir de extracto de suelo.

La densidad de propágulos de *Verticillium dahliae* en el sustrato fue estimado mediante el método del tamizado húmedo, usando el medio de conteo en placa mediante siembra en medio semiselectivo. El medio utilizado fue un extracto de suelo modificado (MSEA).

La severidad de la enfermedad medida fue integrada en el área bajo la curva de progreso de la enfermedad relativa al tiempo. La severidad de *Phytophthora cactorum* y *Verticillium dahliae* se midió semanalmente durante 163 días después de la inoculación. La severidad de *P. cactorum* en corona se midió al final del ensayo de cada campaña de cultivo mediante la escala: 1 = tejido de la corona totalmente blanco, 2 = pequeñas manchas marrones, 3 = pequeños parches necróticos, 4 = más del 50 % de la corona necrótica, 5 = planta muerta al final del ensayo, 6 = planta muerta 1 mes antes del final del ensayo, 7 = planta muerta 2 meses antes del final del ensayo y 8 = planta muerta 3 meses antes del final del ensayo. Se aisló *P. cactorum* de las coronas de plantas de fresa afectadas al final del ensayo usando medio semi-selectivo (PARP-V8). La severidad de *V. dahliae* en corona se midió al final del ensayo mediante una escala de síntomas donde: 0 = planta sin síntomas, 1 = tejido de corona totalmente blanco, 2 = pequeños parches marrones, 3 = abundantes parches necróticos.

Según los resultados obtenidos, los propágulos de *Phytophthora cactorum* fueron eliminados mediante la FLA (Tabla 1). En cambio, no se detectaron diferencias significativas en cuanto a la densidad de propágulos de

Verticillium dahliae en la solución drenada (antes del filtro) y desinfectada (después del filtro) (Tabla 1).

Tabla 1. Porcentaje de trampas infectadas por *Phytophthora cactorum* y densidad de propágulos (UFC/L) de *Verticillium dahliae* obtenidos en la solución nutritiva antes y después del filtro del sistema cerrado con FLA.

Solución nutritiva	*Phytophthora cactorum*[1]	*Verticillium dahliae*[2]
Antes del filtro	0.692 a	55 a
Después del filtro	0.000 b	62.71 a

[1]: % de trampas infectadas por *Phytophthora cactorum*. Se realizaron 11 muestreos independientes, utilizándose 50 pétalos para cada muestra de agua filtrada y drenada respectivamente y 3 repeticiones. Análisis de la varianza realizado con datos transformados: (% trampas infectadas + 0.5)1/2.

[2]: Densidad de propágulos de *Verticillium dahliae* (UFC/L). Se realizaron 8 muestreos independientes, con 10 réplicas de cada muestra de agua filtrada y drenada respectivamente y 3 repeticiones.

Cada uno de los valores seguido por letras distintas difieren significativamente basados en el test de Tukey ($P<0.05$).

En la zona inoculada, el número de microesclerocios de *Verticillium dahliae* recuperados fue mayor que en la zona no inoculada de la línea de cultivo (Tabla 2). En cuanto a la densidad de microesclerocios, no se detectaron diferencias significativas entre sustratos (Tabla 3).

Tabla 2. Número de microesclerocios/ml de sustrato a lo largo de la línea, de los dos sustratos y medido al final del ensayo a partir de la zona de inoculación en el sistema cerrado con FLA.

Distancia(m)[1]	Número de Microesclerocios/ml de sustrato
(0-1)	0.00 b
(1-2)	0.00 b
(2-3)	0.01 b
(3-4)	0.01 b
(4-5)	0.01 b
(5-6) zona inoculada	0.41 a

[1]: Distancia (metros) medida desde el inicio hasta el final de la línea de cultivo.

Cada uno de los valores seguido por letras distintas en cada columna, difieren significativamente basados en el test de Tukey (P<0.05).

Tabla 3. Comparación entre la densidad de inóculo (microescleroclos/ml) de Verticillium dahliae de los dos sustratos.

Sustratos[1]	Zona de plantas inoculadas	Linea de plantas
CC+CA	0.56 a	0.09 a
T	0.26 a	0.05 a

[1]: CC+CA: Residuo fino de corcho compostado + cascarilla de arroz y T: Turba.

Cada uno de los valores seguido por letras distintas difieren significativamente basados en el test de Tukey (P<0.05).

Aunque la FLA funciona en el control de *P. cactorum*, es necesario mejorar el sistema para controlar *V. dahliae*. Siendo el cultivo del fresón una planta muy susceptible a estos patógenos de suelo, en las condiciones óptimas de CSS se produjeron mecanismos de tolerancia a los mismos sin que se detectasen diferencias significativas en el rendimiento, incluso con plantas infectadas por los patógenos.

Los ensayos realizados con diferentes sistemas de CSS: Abierto(A), Cerrado (C) y Cerrado con FLA (CFLA) en sustrato de fibra de coco (2 campañas) y perlita, coinciden con los obtenidos anteriormente:

- El filtro de arena eliminó los propágulos de *P. cactorum*. Estos resultados coinciden con otros trabajos (Wohanka, 1995; Wohanka *et al.*, 1999; 1999; Runia *et al.*, 1997).
- El efecto de la filtración no afectó a la concentración de propágulos de *P. cactorum* detectada en la solución drenada de los distintos sistemas
- Se observa un incremento de la severidad en corona causada por *P. cactorum* en el sistema C en comparación con los otros dos sistemas. En este sentido, la eliminación de los propágulos de *P. cactorum* mediante el filtro podría explicar que la severidad en corona en el sistema CFLA sea significativamente menor que en el sistema C. Sin embargo, la eficaz dispersión de *P. cactorum* a través de la línea bien por el contacto raíz a raíz o mediante el movimiento de las zoosporas en el agua libre, podría justificar que no exista diferencia significativa entre los sistemas CFLA y A.
- La FLA no elimina los propágulos de *V. dahliae*y no se observan diferencias en la concentración de propágulos en las distintas soluciones

drenadas de los tres sistemas.

- En la zona inoculada, el número de microesclerocios recuperados fue significativamente mayor que en la zona no inoculada, observándose una dispersión de *V. dahliae*desde la zona de inoculación.
- En el sistema CFLA se apreció un incremento de la severidad de Verticilosis respecto al resto de sistemas. Esto puede justificarse por la reducción de la biomasa microbiana que sufre la solución después del filtro (Martínez *et al.*, 2005b), dado que por contra el filtrado, como hemos dicho, no reduce los propágulos.
- La reducción de la biomasa microbiana y la no eliminación de los propágulos de *V. dahliae*de la solución recirculante (Tabla 1) mediante la FLA podría justificar la viabilidad y la dispersión de dichos propágulos en el sustrato.

4.- CONTROL BIOLÓGICO EN CSS DE FRESÓN

4.1.- Plagas:

1. – Araña roja (Tetranychus urticae)

La araña roja (*Tetranychus urticae*) es la plaga más frecuente en el cultivo, su infestación se produce muy rápidamente y ha adquirido gran resistencia a los distintos productos que suelen utilizarse.

Daños: Los daños directos son producidos por los estiletes y la reabsorción del contenido celular debido a la alimentación sobre las partes verdes de la planta. Este daño va acompañado de una decoloración más o menos intensa de los tejidos. Los primeros síntomas se suelen ver primero en las hojas senescentes y son una leve tonalidad apagada de las hojas que posteriormente va evolucionando hacia un amarilleamiento parecido al de la clorosis férrica, que puede llegar a necrosamiento del tejido afectado y marchitez de toda la planta en casos extremos.

Control: La abamectina funciona muy bien como control químico previo a las sueltas (Tabla 4). Fenbustestan y Hexytiazox son materias activas menos residuales, las cuales permiten su uso simultáneo con el control biológico. Para llevar a cabo el control integrado de esta plaga es necesario que transcurran al menos 2 meses desde el último tratamiento realizado con productos muy residuales. Una vez superado el plazo de seguridad de los últimos tratamientos, se procederá a la suelta. La lucha contra *Tetranychus urticae* puede realizarse con: *Amblyseius californicus, Phytoseiulus persimilis* y *Feltiella acarisuga.* Las sueltas se efectuarán de 2 a 4 veces durante un periodo de 2 meses. Este periodo será mayor o menor, dependiendo del

nivel de la plaga y de la instalación de los auxiliares. Se aconseja que la suelta de *Amblyseius californicus* se introduzca únicamente en presencia de *Tetranychus urticae* y siempre y cuando la concentración de ésta no sea muy alta. Por el contrario, para aplicar la suelta de *Feltiella acarisuga* se necesita que existan en el cultivo focos de *Tetranychus urticae*.

2. – Trips (Frankliniella occidentalis)

El trips (*Frankliniella occidentalis*), debido a su buena capacidad de adaptación y su gran polifagia, se convierte en uno de los insectos plagas más dañinos y extendidos en los cultivos de hortalizas, ornamentales y pequeños frutos. En el cultivo del fresón suele aparecer con frecuencia, principalmente al inicio de la campaña y en primavera. El trips puede estar presente en diversas zonas de la planta: hojas, flores y frutos. Los adultos, principalmente las hembras, muestran preferencia por las flores, ya que el polen parece ser el alimento más adecuado para potenciar su fertilidad.

Daños: La dispersión de los trips se da tanto de forma activa, volando o flotando en corrientes de aire, como pasivamente por movimiento de personas, plantas o materiales. Los daños directos que ocasiona son los siguientes:

- Picaduras alimentarias: Los adultos y las larvas al alimentarse vacían las células del parénquima, que pierde su coloración propia. Los daños se centran sobre todo en las flores y en los frutos.
- Los primeros síntomas se presentan como manchas herrumbrosas, generalmente en la base de la flor, sobre los sépalos. En caso de que se alcancen altas poblaciones se produce la necrosis prematura de los estilos y si las condiciones son adecuadas el aborto floral.
- En el fruto los daños solo se producen con poblaciones elevadas, aunque dependerá de la variedad y se manifiestan con la aparición de cicatrices y manchas de color pardo por toda la piel, no llegando a adquirir el color rojizo vivo, sino uno más cobrizo.

Control: En el control químico se suele utilizar Azadiractin, producto compatible con el control biológico (Tabla 4). El control integrado de esta plaga se recomienda iniciarlo en aquella época del año donde la presión de la misma sea baja. Esto suele ocurrir en los meses de invierno. Los auxiliares que se utilizan para controlar esta plaga son: *Amblyseius cucumeris, Orius laevigatus* e *Hypoaspis miles*. Una vez realizada la suelta del *Amblyseius cucumeris,* resulta muy difícil observarlo en la planta, sin embargo, sí se observa cómo los daños de trips aumentan rápidamente cuando se deja de aplicar sueltas de *Amblyseius cucumeris*. Las sueltas de Orius laevigatus se

realizan dos semanas después de haber introducido *Amblyseius cucumeris* en el cultivo. La suelta de *Orius laevigatus* se realizará por espolvoreo sobre los puntos de suelta donde anteriormente se realizó la suelta de *Amblyseius cucumeris*. La sueltas serán mayor o menor dependiendo de la presión de la plaga y de la instalación de los auxiliares.

3. – Pulgones

Tienen poca importancia en el cultivo y suelen aparecer a finales de mayo.

4. – Orugas

Suelen aparecer a principio de campaña por huevos instalados en la planta que proviene de vivero. El control se realiza con *Bacillus thuringensis* (Tabla 4).

Tabla 4. Tratamientos y control biológico realizados durante la campaña 2004/2005. en CSS de fresón.

CAMPAÑA 2004-2005			
MES	**DIA**	**PLAGA-ENFERMEDAD**	**APLICACIÓN**
NOVIEMBRE	4	CONTROL GENERAL	Sulfato cuprocálcico
	8	ARAÑA ROJA	Abamectina (localizada)
	18	ARAÑA ROJA	Suelta *Amblyseius californicus*
DICIEMBRE	20	ORUGA	*Bacillus thuringensis*
ENERO	10	ARAÑA ROJA	Fenbustestan y Hexytiazox (localizada)
	12	ORUGA	*Bacillus thuringensis*
	17	ARAÑA ROJA	*Amblyseius californicus*
	21	ARAÑA ROJA	Fenbustestan y Hexytiazox (localizada)
	24	TRIPS	Azadiractin
	28	ARAÑA ROJA	*Amblyseius californicus y Phytoseiulus persimilis*
	31	TRIPS	Azadiractin
FEBRERO	11	TRIPS/ORUGA	Azadiractin/ *Bacillus thuringensis*
	23	ARAÑA ROJA/TRIPS	*Amblyseius californicus y Feltiella system / Orius system y Hypoaspis system*
MARZO	3	ARAÑA ROJA/TRIPS	Fenbustestan y Hexytiazox / Azadiractin
	11	ARAÑA ROJA/TRIPS	Fenbustestan y Hexytiazox / Azadiractin
ABRIL	17	ARAÑA ROJA/TRIPS	*Amblyseius californicus y Phytoseiulus persimilis / Orius system y Swiski.*

4.2.- Enfermedades:

4.2.1.- Balance fitosanitario en CSS de fresóm.

1.- Phytophthora cactorum y Verticillium dahliae

Las inoculaciones artificiales en sustratos orgánicos no supusieron una merma de rendimientos, aún infectando a la planta con ambos patógenos y sin llegar a matarla, bien porque la gran actividad microbiana de los sustratos orgánicos dificulta la penetración y posterior infección o bien porque las condiciones óptimas de crecimiento en cultivo sin suelo evita cualquier estrés que debilite la planta y facilite el progreso de la enfermedad.

Los daños directos observados en las plantas inoculadas con *Phytophthora cactorum* fueron los siguientes: las plantas afectadas presentan un marchitamiento total o unilateral. Los síntomas iniciales se observan sólo en las hojas jóvenes, que adquieren una coloración verde azulada, mientras que las exteriores (más viejas) permanecen normales. Más tarde la marchitez alcanza la totalidad de la planta que se colapsa y muere a los pocos días. Si se practica un corte longitudinal en el rizoma, se observa una zona necrosada de color marrón o pardo-rojizo, a veces los síntomas aparecen en la parte superior de la corona y se extienden hacia abajo, otras lo hacen en la parte inferior o en la media. Los frutos, que pueden ser atacados en cualquier estado de desarrollo, aparecen deslucidos. Los inmaduros en las áreas afectadas toman una coloración marrón o marrón oscura. Los frutos maduros están descoloridos, las áreas infectadas de los mismos son consistentes con tejidos ligeramente blandos y con un olor bastante característico. La infección de frutos sólo se produce cuando existe agua libre sobre su superficie, por ello la incidencia de la enfermedad se incrementa con la duración de la humedad.

Los daños directos observados en las plantas inoculadas con *Verticillium dahliae* son los siguientes: se produce una marchitez que comienza a verse en las hojas exteriores que terminan por secarse mientras que las nuevas pueden permanecer verdes. La Verticilosis también puede ocasionar enanismo, clorosis y debilitamiento de la planta. En el rizoma de las plantas afectadas, al realizar un corte, se puede apreciar una coloración marrón en la zona de los vasos.

2. - Oidio (Sphaerotheca macularis f. sp fragariae)

De forma general, *S. macularis f.* sp. *fragariae,* parásito obligado, sobrevive como micelio y cleistotecas en hojas viejas o estolones durante el invierno y proporcionan el inóculo primario para desarrollar la enfermedad. Éste

también puede venir de plantas de vivero infectadas. Cuando se dan las condiciones apropiadas, el micelio invernante se desarrolla y produce conidias, el cleistotecio libera sus ascosporas, y ambas, conidias y ascosporas, se comportan de manera similar a la hora de germinar e infectar nuevos tejidos. El tiempo seco y temperaturas entre 15-27 ºC favorecen el desarrollo de la enfermedad, que se puede producir a temperaturas mayores de 7 ºC. El agua libre tiene un efecto letal en los conidios, y la lluvia tiene un efecto perjudicial en la dispersión de los mismos. La enfermedad se puede presentar en cualquier momento del desarrollo del cultivo, pero su incidencia es mayor durante los meses de marzo, abril y mayo.

En CSS de fresón, con el uso de quemadores de azufre se controla totalmente la enfermedad.

3. – Podredumbre gris (Botrytis cinerea)

Los daños directos se presentan principalmente en frutos, pero también puede afectar a hojas, pecíolos, yemas, pétalos y pedúnculos florales.

- En fruto las lesiones se pueden localizar en cualquier parte, siendo más frecuentes en la inserción del cáliz, en las zonas de contacto con otros frutos o con el suelo. Los frutos verdes permanecen firmes y toman una coloración marrón claro, en ocasiones al realizar un corte longitudinal al fruto podemos observar una zona necrosada debido al avance del hongo. En condiciones de humedad, la superficie del fruto se recubre de un polvillo grisáceo formado por las fructificaciones del hongo. El patógeno puede atacar frutos tanto en campo como en almacenes. La sensibilidad del fruto aumenta con el incremento del contenido de azúcares, siendo mayor en la madurez.
- Las flores y botones también pueden ser atacados, variando su sensibilidad en función de su estado de desarrollo y del cultivar. Las flores son menos sensibles que los botones florales.
- En algunas ocasiones se pueden observar síntomas en corona y cuello de plantas, que llegan a provocar la muerte de las mismas.

En un sistema de CSS elevado/colgante, ni las plantas ni los frutos están en contacto con el suelo, por lo que la incidencia de Botrytis cinerea en fruto se da escasamente, sólo si se produce goteo de agua condensada sobre el fruto. En planta es algo más frecuente y viene ligada al encharcamiento del sustrato y a la senescencia provocada por otros patógenos. Los tratamientos son esporádicos (en momentos críticos), pudiéndose incluso no realizarse en toda la campaña.

4. – Antracnosis (Colletrotrichum spp*)*

En general, los daños directos observados son:

- Los frutos presentan manchas redondeadas, deprimidas, al principio marrones que se cubren de un mucílago rosa anaranjado, correspondiente a las fructificaciones del hongo, y que pueden hacerse negras con el tiempo ("mancha negra"). Esta podredumbre se manifiesta más en frutos maduros, aunque también los verdes se pueden ver afectados.
- La antracnosis también puede atacar el rizoma y producir la muerte de la planta. Algunas plantas infectadas pueden crecer normalmente llegando a producir frutos, pero luego repentinamente se marchitan y mueren. Si a estas plantas se les da un corte en el rizoma se observa una podredumbre firme con zonas de color marrón rojiza en el mismo.

En un sistema de CSS se realizan tratamientos preventivos quincenalmente, desde el inicio de la plantación hasta el mes de noviembre. En la campaña 2004/05, no se realizaron tratamientos puesto que no hubo incidencia de la enfermedad.

5. –Mancha púrpura (Mycosphaerella fragariae); Gnomonia (Gnomonia comari); Mancha de aceite (Xanthomonas fragariae).

Sin incidencia.

4.2.2.- Evaluación de la instalación de T. asperellum (T-34)® en sustrato de perlita.

El CSS de fresón en sistemas cerrados utilizando FLA es un sistema respetuoso con el medio ambiente. La FLA es el único sistema biológico que existe para la desinfestación de los lixiviados. Varios autores han demostrado que los propágulos de *Pythium* spp. y *Phytophthora* spp. no son detectados después del sistema de FLA (Wohanka *et al*, 1999). Otros autores muestran que *Trichoderma asperellum* (T-34)® inoculado en diversos sustratos reduce de manera consistente las enfermedades producidas por *Fusarium oxysporum f.* sp. *lycopersici* raza 1 en plantas de tomate y *Rhizoctonia solani* en plantel de pepino (Trillas, 2003). Los objetivos que se pretenden alcanzar con este ensayo son los siguientes:

1) Combinar la acción de la FLA con la inoculación de *Trichoderma asperellum* (T-34)® en el sustrato.
2) Determinar la instalación de *T. asperellum* (T-34)® en sustrato de perlita en CSS cerrado de fresón.

3) Estudiar la acción del *T. asperellum* (T-34)® frente a *Phytophthora cactorum* y *Verticillium dahliae.*

El ensayo se llevó a cabo en invernadero, la densidad de plantación fue de 11 pl/m2 y el sustrato utilizado fue perlita inoculada con *T. asperellum* (T-34)® diluido en agua hasta conseguir una concentración final de 5 x 106 UFC/ml aplicando 250 ml/planta. El diseño experimental fue un factorial 2x3 con medidas repetidas y dos repeticiones. Los sistemas de CSS fueron: Cerrado con FLA y Cerrado sin FLA. Los patógenos de suelo inoculados fueron *P. cactorum* y *V. dahliae,* además se usaron testigos sin inocular. Los aislados de *P. cactorum* y *V. dahliae*fueron obtenidos a partir de plantas de fresón enfermas en cultivo tradicional y procedente de las principales zonas productoras de la provincia de Huelva.

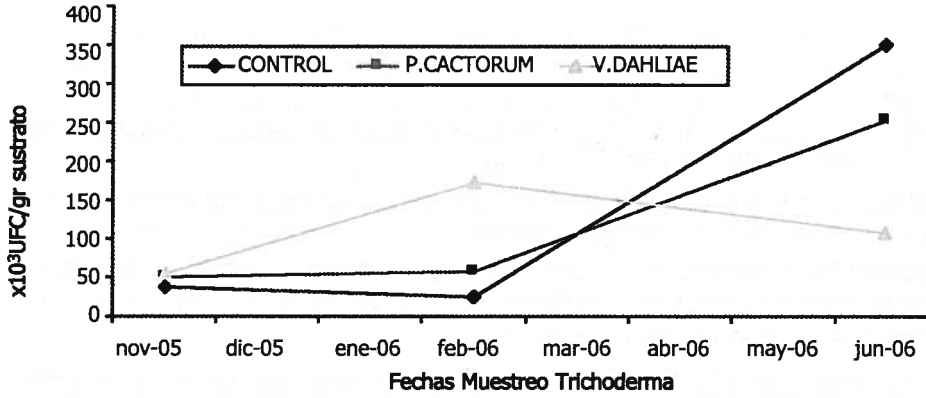
La inoculación de *V. dahliae*se realizó por baño de raíces en el último metro lineal de cada línea de cultivo con una suspensión de 7.09 x 106 conidias/ml. La inoculación de *P. cactorum* cultivado según (Dhingra y Sinclair, 1995), se llevó a cabo mediante la introducción de medio en bolsas de muselina en el último metro lineal de cada línea de cultivo y una segunda inoculación dos meses más tarde según el método de Wilcox y Mircetich (1987) modificado. T. asperellum fue aislado a partir del sustrato de perlita mediante la técnica de diluciones seriadas. En cada línea de cultivo se tomaron muestras de 6 puntos separados 1,20 m. entre sí. Las siembras se realizaron en medio selectivo para *Trichoderma.*

Según los resultados obtenidos, se observa un comportamiento diferencial entre las líneas de cultivo inoculadas con *V. dahliae*y las inoculadas con *P. cactorum* (Figura 1).

Las UFC/gr sustrato de *T. asperellum* son significativamente inferiores en las líneas inoculadas con *V. dahliae*respecto al testigo, sugiriendo que *V. dahliae*reduce la población de *T. asperellum.* Este hecho es favorecido en los sistemas de CSS cerrados con FLA, debido a que ésta no es capaz de controlar el *V. dahliae*(Martínez *et al.*, 2005b).

Las UFC/gr sustrato de *T. asperellum* en las líneas inoculadas con *P. cactorum* no difieren significativamente respecto al testigo, indicando que *P. cactorum* no redujo la población de *T. asperellum.* Sin embargo, hay que señalar que la FLA es efectiva en controlar *P. cactorum* (Martínez *et al.*, 2005b).

Figura. 3. Población de *T. asperellum* durante el ciclo de cultivo.



Según estos resultados, podemos concluir:

1.- *T. asperellum* (T-34)® se instala homogéneamente en el sustrato.

2.- *T. asperellum* (T-34)® como agente de control biológico frente a *V. dahliae*no resulta efectivo en CSS cerrado con FLA.

3.- *T. asperellum* (T-34)® como agente de control biológico frente a *P. cactorum* podría ser viable apoyando la FLA en CSS cerrado.

6.- REFERENCIAS

ABAD M., 1991. Los sustratos hortícolas y las técnicas de cultivo sin suelo. En: Rallo L.,

AVILÉS, M. y TELLO, J.C. 2001. El compostado de los residuos orgánicos. Su relación con las enfermedades de las plantas. En Agroecología y Desarrollo. Eds.: Labrador, J. y Altieri, M.A. Ediciones Mundi-Prensa.

BARRO, P.J. DE y EDWARDS, B. 1995. Strawberry production in the Netherlands without methyl bromide. En: Agricultural production without methyl bromide. Four cases studies. Ed. H.J. Banks, CSIRO, Australia. pg. 29-44.

BATCHELOR, T.A. 2002. International and European community controls on methyl bromide & The status of methyl bromide use and alternatives in the European community. En: International conference on alternatives to methyl bromide. The remaining challenges. pg. 28-32. Sevilla, Marzo, 2002.

BELLO, A. LÓPEZ-PÉREZ, J.A. DÍAZ-VIRULICHE y TELLO J. 2001. Alternatives to methyl bromide for soil fumigation in Spain. En: Global report on validated alternatives to the use of methyl bromide for soil fumigation. Eds. R. Labrada y L. Fornasari. FAO plant production and protection paper. 166.

CHAN, Y.C. y BAKER, R. 1986. Increased growth in the presence of the biological control agent *Trichoderma* harzianum. Plant Dis 76: 60-65.

CHET, I. 1987. *Trichoderma* – application, mode of action, and potential as biocontrol agent of soilborne plant pathogenic fungi. In: I. Chet *ed.* Innovative approaches to Plant.

CHET, I. e INBAR, J. (1994). Biological control of fangal pathogens. Appl Biochem Biotechnol 48: 37-43.

COOK, R.J. y BAKER, K.F. 1989. The Natur and Practice of Biological Control of Plant Pathogens. Minnesota: St.Paul.

DHINGRA O.D. Y SINCLAIR J.B. 1995. Basic plant pathology methods. Second edition. Lewis publishers. Florida.434 pp.

D'ERCOLE, N., NIPOTI, P., DI PILLO, L. y GAVINA, F. (2000). *In vitro and in vivo tests of Trichoderma* spp. as a biocontrol agent of *Verticillium dahliae* Kleb. in eggplants. En: Advances in Verticillium. Research and Disease management. Pp. 237-239. Eds. E.C. Tjamos, R.C. Rowe, J.B. Heale y D.R. Fravel.. APS PRESS.

GARCÍA, M., URRESTARAZU, M., SALAS, M.C. y ESCOBAR, I. 1998. Evolución de la composición del drenaje en un sistema recirculante. Actas de Horticultura 421: 231-239.

GRONDONA, I; LLOBELL, A., CANNON, P.F., LORITO, M., ELAD, Y, FREEMAN, S., KATAN, J., REY, M. y MONTE, E. 2002. Case study: *Trichoderma* as an alternative to methyl bromide in strawberries. Proc. of international conference on alternatives to methyl bromide. Sevilla. 5-8 Marzo. 2002. Eds: T.A. Batchelor y J.M. Bolivar.

HANSON, L.E. (2000). Reduction of verticillium wilt symptoms in cotton following seed treatment with *Trichoderma* virens. The J. of Cotton Sci. 4: 224-231.

HARMAN, G.E., TAYLOR, A.G. y STAZS, T.E. 1989. Combinig effective strains of *Trichoderma harzianum* and solid matrix priming to improve biological seed treatments. Plant Dis 73: 631-637.

HERMOSA, M.R., GRONDONA, I. ITURRIAGA, E.A., DÍAZ-MIGUEL, J.M., CASTRO, C. MONTE, E. y GARCIA-ACHA, I. 2000. molecular characterization and identification of biocontrol isolates of *Trichoderma* spp. Appl. Environ. Microbiol. 66: 1890-1898.

HJELJORD, L. y TRONSMO, A. 1998. *Trichoderma* and *Gliocladium* in biological control: and overview. En *Trichoderma&Gliocladium*. Vol. 2. Harman, G.E. y Kubicek, C.P. (eds). London, pp. 131-152.

HOITINK H.A.J., MADDEN L.V., BOEHM M.J. , 1996. Relationships among organic matter decomposition level, microbial species diversity and soilborne disease severity. En: Hall R. (Ed.). Principles and practice of managing soilborne plant pathogens. A.P.S. Press, St. Paul, Minnesota. pp. 237-249.

LINDSEY, D.L. y BAKER, R. 1967. Effect of certain fungi on dwarf tomatoes grown under gnotobiotic conditions. Phytopathology 57: 1262-1263.

LÓPEZ-ARANDA, J.M. 1999. The Spanish National Project on alternatives to MB: The case of strawberry. En: 1999 Annual International Research Conference on Methyl Bromide alternatives and Emissions reductions. November 1-4, San Diego (California): 8-1 a 8-4.

LORITO, M., WOO, S.L., DÁMBROSIO, M.D., HARMAN, G.E., HAYES, C. K.KUBICEK, C.P. y SCALA, F. 1996. Synergistic interaction between cell wall degrading enzymes and membrana affecting compounds. Molec Plant-Microbe Interact 9: 206-213.

MAGÁN, J.J. 1999. Sistemas de Cultivo en sustrato: A solución perdida y con recirculación del lixiviado. En: Cultivo Sin Suelo II. Curso superior de Especialización. 173-205.

MARFÁ, O. 2000. La recirculación en los Cultivos Sin Suelo. Elementos básicos. En: Recirculación en Cultivos Sin Suelo. Compendios de Horticultura 14. pp 21-27.

MARTÍNEZ, E., GARCÍA, M. 1993. Cultivos Sin suelo. Hortalizas en clima mediterráneo. Ediciones de Horticultura, S.L.

MARTÍNEZ F., CASTILLO S., PÉREZ S., CARMONA E., ORDOVÁS J., AVILÉS, M., 2005a. Effect of different soilless growing systems on biological properties of growth media in strawberry. Acta Hort 697, 417-423.

MARTÍNEZ F, CASTILLO S, TELLO JC, AVILÉS M. 2005b. Spread of *Phytophthora cactorum* and *Verticillium dahliae* by show sand filtration treatment of the recirculating nutrient solution on closed soilless growing systems in strawberry. *Acta Hort* 697:411-416.

MINISTRY OF ENVIRONMENT AND ENERGY, DENMARK. 1997. Environmental Review (Vol4); Production of flowers and vegetables in Danish Greenhouses: alternatives to methyl bromide. Dan. Envir. Protec. Agen.

PAPAVIZAS, G. 1985. *Trichoderma* y Gliocladium: biology, ecology and potential for biocontrol. Annu Rev Phytopathol 23:23-54.

PARANJPE, A.V., CANTLIFFE, D.J.; LAMB, M.; STOFFELLA, J. y POWELL, C. 2003. Winter strawberry production in greenhouses using soilless substrates: an alternative to methyl bromide. Proc. Fla. State Hort. Soc. (En prensa).

RAPISARDA, C., GARZIA, G.T., LONGO, S. y BARBAGALLO, S. 2003. IPM applications on protected vegetable crops in Sicily. Proc. VI interantional symposium on protected cultivation in mild winter climate: product and process innovation. Acta Horticulturae (ISHS) 614:767-774

RAVIV M., CHEN Y., INBAR Y. , 1986. Peat and peat substitutes as growth media for container-grown plant. En: Chen Y., Avnimelech Y. (Ed.). The role of organic matter in modern agriculture. Martinus Nijhoff Publishers, Dordrecht, Netherlands. pp. 257-287.

RODRÍGUEZ-KABANA, R. 1998. Alternatives to methyl bromide soil fumigation. En: Alternatives to methyl bromide for the southern European countries. Ed. A.Bello, J.A. González, M. Arias y R. Rodríguez-Kabana. pg. 17-33.

ROSEN, D., EDELMAN, M., GALUN, E. y DANON, D. 1974. Biogenesis of mitochondria in *Trichoderma* viride. Structural changes in mitochondria and other spores constituents during conidium maturation and germination. J Gen Microbiol 83:31-49

RUNIA W.T., MICHIELSEN M.G.P.J., VAN KUIK A.J., VAN OS E.A. 1997. elimination of root infecting pathogens in recirculating water by slow sand filtration. Proceedings of the Ninth International Congress on Soilless Cultures, Jersey. pp. 395-408.

STRATOSPHERIC OZONE PROTECTION. 1997. Alternatives to Methyl Bromide: Ten case studies-soil, comodity and structural use. Vol. 3. Septiembre, 1997. U.Stat. Envir. Protec. Agen.

TRILLAS, M.I., GUERRERO, M.A., BERTRÁN, E., CASANOVA, E. y TELLO, J.C. 2003. *Trichoderma asperellum* (T-34): agente de control biológico contra la fusariosis y la rizoctoniosis. Phytoma. 152: 56-60.

VAN OS, E.A. 1999. Recirculación de la solución nutritiva: Sistemas de Desinfección. En: Cultivo Sin Suelo II. Curso Superior de Especialización. pp. 383-398.

WEINDLING, R. 1932. *Trichoderma lignorum* as a parasite of other soil fungi. Phytopathology 22, 837-845.

WILCOX, W.F. y MIRCETICH, S.M. 1987. Pathogenicity and relative virulence of seven *Phytophthora* spp. On Mahaleb and Mazzard cherry. Phytopathology 75: 221-226 pp.

WOHANKA W., 1995. Disinfection of recirculating nutrient solutions by slow sand filtration. Acta Hort 481, 577-583.

WOHANKA W., LÜDTKE H., AHLERS H. y LÜBKE M. 1999. Optimization of slow filtration as a means for disinfecting nutrient solutions. Acta Horticulturae 481: 539-544.

ESTRATEGIAS AGRONÓMICAS ANTE EL RETO DE LA AGRICULTURA DE CONSERVACIÓN

Juan José Pérez García
IFAPA.- Rancho de la Merced
Junta de Andalucía

En los orígenes de la agricultura, el hombre al hacerse sedentario, modificó al ambiente para desarrollar los cultivos y aumentar su producción. Comienza así la tradición del laboreo del suelo, primero con arados rudimentarios y actualmente con avances tecnológicos que provocan una modificación ambiental cada vez más intensa.

Los efectos inmediatos de estas actuaciones fueron un espectacular crecimiento en la producción de alimentos, acompañado de un correlativo aumento demográfico.

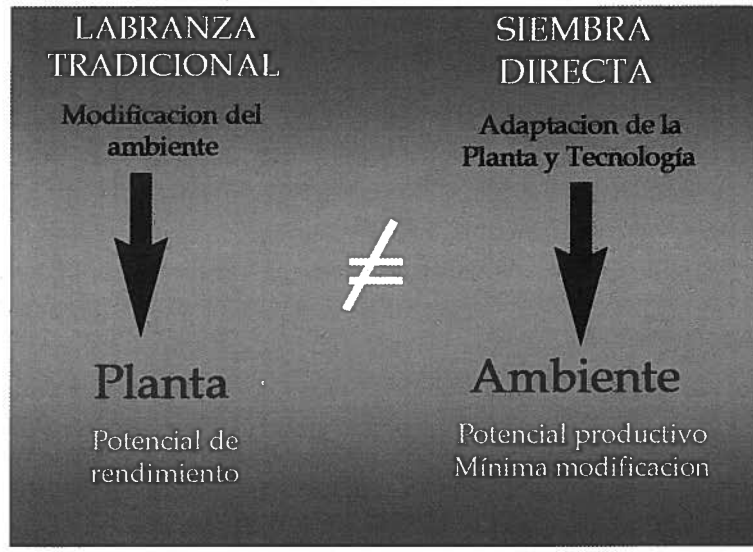
Con el tiempo se han ido manifestando los efectos negativos de esta estrategia de producción: degradación, erosión, desertización, salinización, contaminación y disminución de los rendimientos, los cuales en muchos casos se intensificaron a niveles tales que comprometen la capacidad de producción de la empresa y la estabilidad de los recursos naturales, dejando incluso de ser competitivos.

Los fundamentos teóricos de la Agricultura de Conservación en su conjunto y de la siembra directa como máximo exponente, han sido estudiados y experimentados en distintos países. Los resultados de los mismos han llevado a la adopción de este modelo a gran cantidad de agricultores, lo cual indica que es un sistema de producción que se ajusta en gran medida a los requerimientos de este replanteo. No obstante, esto no significa que se haya alcanzado un óptimo nivel de productividad, para todos los ambientes y sistemas de producción existentes. Para alcanzar esto, es necesaria la "optimización" de este nuevo agroecosistema en cada ambiente de producción. En

definitiva, consiste en armonizar todos los componentes que intervienen en el sistema: técnicos, físicos, económicos, humanos, etc., para alcanzar la máxima expresión de productividad y estabilidad ambiental.

Es un error entender que la Siembra Directa se basa simplemente en sembrar sin labrar el suelo, cuando realmente supone conocer los cambios que se generan en este nuevo agroecosistema y su mecánica.

La Siembra Directa aparece como un nuevo modelo de producción, diferente del modelo tradicional. Más allá de sus particularidades de manejo, existe una principal diferencia; La estrategia de producción tradicional se basó en modificar los factores ambientales, para que la planta pudiera expresar su máximo potencial de rendimiento, y el paquete técnico resultante fue extrapolado prácticamente sin modificaciones, a casi todos los agro- ecosistemas del mundo. La Siembra Directa, en cambio, trata de mantener al mínimo la modificación del ambiente, tratando de adaptar la planta y las tecnologías a cada ambiente en particular.



Entender esta diferencia es el punto de partida para comenzar el camino de la "optimización". Un camino que nos conduce a entrar en el concepto de variabilidad ambiental, separándonos de recetas generalistas, para entrar en las estrategias de manejo ajustadas para cada ambiente y sistema de producción.

La Siembra Directa, basa su eficacia en un aspecto fundamental, lleva implícito un cambio de mentalidad para admitir que estamos hablando de "otra agricultura", que requiere una reconversión de: la estructura de la explotación, del manejo de los cultivos, y cuestión fundamental, el manejo

de las cubiertas vegetales del suelo, bien sean de restos de cosecha o sembradas buscando el efecto protector.

Como premisas fundamentales, podemos sintetizar que la Siembra Directa supone:

a) Un sistema nuevo de producción diferente al convencional y no una técnica.

b) Exige apartarse de las recetas conocidas y generalizadas para entrar en el concepto de estrategias de manejo.

c) Las estrategias se adaptaran a cada ambiente de producción, definido por cada agro-ecosistema.

1.- INFLUENCIA DE LA SIEMBRA DIRECTA EN LOS FACTORES DE PRODUCCIÓN

Después de casi una década, haciendo intentos de implantación de este sistema de producción y realizando durante este tiempo muchos y diversos proyectos, de Investigación y Experimentación, por parte de Organismos Públicos y Privados, nos encontramos ya, con un número importante de explotaciones con el sistema adoptado, que han permitido la generación de un "Conocimiento" más detallado sobre el funcionamiento del mismo. Partiendo de la base de que su efecto fundamental es la conservación del suelo, único recurso no renovable y cada vez mas escaso, podemos resumir algunos de los efectos más importantes, desde el punto de vista conservacionista y que nos permiten mirar con optimismo, la adopción del sistema en base a las cualidades demostradas.

2.- AGRICULTURA DE CONSERVACIÓN Y BIODIVERSIDAD

Conviene distinguir aquí, los estudios efectuados englobados en tres apartados fundamentales y correspondientes a:

a) Organismos del suelo

b) Flora

c) Fauna

En relación con los organismos del suelo, grupo al que más atención se ha prestado y del que más se conoce, aunque resulta todavía escasa esa información, se puntualiza que la comunidad de seres vivos del suelo está comprendida por numerosos organismos de diversos grupos (bacterias, hongos, protozoos, nematodos, lombrices, etc). En conjunto, pueden represen-

tar un peso de 6 a 7 Tm./Ha. de peso vivo, con millones de individuos de diferentes especies en diferentes categorías (Cantero Martínez, 2005). La mayoría de estos organismos son directa o indirectamente beneficiosos para la actividad agrícola.

La Siembra Directa, al mantener estable la estructura vertical en el perfil del suelo, proporciona un hábitat más estable para esta Comunidad.

En el segundo grupo, los estudios sobre flora están prácticamente referidos a la flora arvense y concretamente a la inversión de flora que puede afectar negativamente a los cultivos. Más adelante, en el apartado sobre control de malas hierbas en los cultivos, nos referiremos de forma concreta a algunos problemas que se están planteando.

Estudios a largo plazo realizados durante 20 años, en una rotación de veza-trigo en la finca El Encin (Alcalá de Henares, Madrid), han mostrado que la diversidad de malas hierbas (número de especies presentes) en las parcelas de siembra directa era superior a la existente en parcelas labradas, sometidas a los mismos tratamientos de control. Sin embargo, la densidad media total era más baja en las parcelas no labradas (Fernández – Quintanilla y Col. 2005).

En relación con el tercer grupo de estudios, todavía hay poco conocimiento de su efecto sobre la fauna, ya que esta es mucho más móvil que la flora y los microorganismos del suelo. En general, los estudios en los Estados Unidos, muestran que la diversidad de las aves se incrementa con la eliminación del laboreo (Covvan, 1982, Warburton & klinstra, 1984). Las principales ventajas de la Siembra Directa para este grupo de seres vivos, son el mantenimiento de la cubierta vegetal de residuos, que les ofrece mejores condiciones para: nidificar, descansar y ocultarse, así como una importantísima cantidad de alimento, proporcionado por los granos que quedan tras la cosecha y que no son enterrados.

No obstante, se producen efectos negativos con algunos roedores, caracoles o babosas que llegan a plantear, bajo determinadas condiciones, auténticos problemas para el desarrollo y rentabilidad de los cultivos.

3.- MEJORA DE SUELOS Y FERTILIZACIÓN

El efecto más importante que sufre un suelo cultivado por primera vez, es la disminución de su contenido en carbono orgánico.

La forma y magnitud del descenso, varía con las localidades y el tipo de suelo. En climas Mediterráneos con inviernos y primaveras templadas y húmedas y con adecuados ph, la velocidad de mineralización es muy alta.

A los cuatro años de Siembra Directa, Rothen (2.000), encontró aprecia-

bles mejoras en la fertilidad y resistencia a la erosión. Para este autor, estas mejoras están controladas por las cantidades de restos de cosecha y la proporción de arcilla en el suelo.

La diversificación de cultivos y la introducción de una leguminosa mejora a largo plazo la productividad de los suelos y su disponibilidad en nitrógeno, lo que permite reducir las dosis de fertilizante nitrogenado óptimo (López Bellido, 2005).

En Andalucía, con una clásica rotación; cereal – girasol, el introducir en la rotación una leguminosa, ha permitido incrementar de 1990 a 2001 la materia orgánica presente en los 52 cms primeros de un suelo muy arcilloso (Chromic Haploxerert), en Sevilla, en aproximadamente 1 Tm./Ha. y año, tanto en Laboreo Convencional como en Siembra Directa. El contenido total de materia orgánica presente en el suelo labrado de forma convencional, es inferior al existente en el suelo al inicio del ensayo en 1982 (Ordoñez Fernandez, R. Y Col.).

La presencia de girasol en la alternativa, permite en los casos de no laboreo mantener mayores niveles de Carbono Orgánico remanente.

4.– OPTIMIZACIÓN EN EL APROVECHAMIENTO DEL AGUA

Las técnicas de conservación del suelo que conllevan la acumulación de residuos de cosecha en superficie y la no alteración del suelo, consiguen un aumento de la tasa de infiltración del agua de lluvia y una disminución de la radiación incidente, reduciéndose así la evaporación. En definitiva, consiguen mejorar la disponibilidad neta de agua para los cultivos (Gil 2004).

En un estudio llevado a cabo en una finca de Córdoba durante el año 2002, sobre parcelas elementales integradas dentro de una general, regada con Pívot (Sánchez Domínguez, M. A. ETSIA, Córdoba 2004), se cuantificaron las escorrentías y pérdidas de suelo con manejo convencional (laboreo) y conservacionista (cubierta vegetal). Los resultados obtenidos, corroboran una vez más, lo que otros estudios anteriores ya habían puesto de manifiesto en cuanto a pérdida de agua por escorrentía y como consecuencia, de suelo por erosión.

En este caso, en las parcelas con manejo convencional, se perdió por escorrentía el 70% del agua caída y el equivalente a 17 Tm./ ha. de suelo, mientras que en las parcelas con manejo mediante cubierta vegetal, se perdió el 20 % del agua de lluvia por escorrentía y la cantidad de suelo en suspensión arrastrado por esta, fue prácticamente nula.

En la Campaña 2004, (Muriel y Col.) efectuaron un estudio sobre la dinámica del agua del suelo en diferentes tratamientos de manejo; Laboreo

Convencional, Mínimo Laboreo y Siembra Directa, en cultivos representativos del secano extensivo en Andalucía, con el objetivo de evaluar su efecto en la disponibilidad de agua para las plantas.

En todo el periodo estudiado, las parcelas bajo Siembra Directa, acumulan sistemáticamente mayor cantidad de agua en los primeros treinta cms. del perfil, debido principalmente a la mayor estabilidad estructural del suelo, al no ser disturbado por las labores, y a los contenidos en materia orgánica del perfil. Por el contrario, en las parcelas bajo Laboreo Convencional, los continuos pases de labor uniformizan los contenidos en materia orgánica del perfil y aceleran su mineralización, disminuyendo la estabilidad de los agregados (Gonzalez & Ordoñez 1997). El régimen hídrico de los sistemas de Mínimo Laboreo se asemeja al de los tratamientos de Laboreo Convencional.

Es importante señalar que en las parcelas bajo Siembra Directa, se alcanza el punto de marchitez permanente 15 días más tarde que en los otros tratamientos, poniendo a disposición del cultivo mas cantidad de agua, durante el periodo de mayor demanda avapotranspirativa.

5.- AHORRO ENERGÉTICO

Los valores medios de la energía consumida y de la productividad energética correspondiente a diferentes sistemas de laboreo, en distintos países y lugares de España, nos dan como resultado, que en todos los casos los sistemas de laboreo de conservación requieren una menor cantidad de energía que el laboreo convencional, siendo, en este último, el mayor consumo de combustible en la preparación del terreno. El responsable de esta diferencia, a igualdad del resto de los factores de producción, es tanto mayor cuanto mayor es el número de las labores efectuadas.(Herranz Martos, J.L. 2005).

Los resultados correspondientes a España, muestran un comportamiento similar al de otras áreas geográficas. Los sistemas de laboreo de conservación en cultivos cerealistas, permiten un ahorro energético comprendido entre el 5 y el 15%, mientras que la productividad energética puede incluso superar el 30%.

En Andalucía, los consumos de energía para el trigo son elevados, dadas las cantidades de nitrógeno que se aplican, las cuales están de acuerdo a los rendimientos esperados. Aún así, la reducción energética que se consigue con la Siembra Directa, en relación con el laboreo convencional, se aproxima al 10%, mientras que la productividad energética es la misma en los tres sistemas de laboreo contemplados.

Los resultados obtenidos con la siembra directa para el cultivo del girasol han sido muy favorables. Ello es así al reducirse drásticamente la fertiliza-

ción, con relación a otros cultivos. La disminución del consumo de energía puede llegar hasta el 50% y la productividad puede aumentar hasta un 100%.

En la misma línea se comportan las leguminosas, principalmente veza y guisantes proteaginosos, ya que no se fertilizan en cobertera y se reduce considerablemente el abonado de sementera en relación con un cereal.

6.- ENFERMEDADES Y PLAGAS EN AGRICULTURA DE CONSERVACIÓN

En un Experimento de larga duración, en cultivos de secano de la Campiña de Córdoba, en el que se han evaluado durante cuatro años el efecto del laboreo, de la rotación de cultivos y de la fertilización nitrogenada sobre las enfermedades del trigo, girasol, habas y garbanzos (Trapero & Blanco, 2004), dieron como resultados las siguientes apreciaciones:

En el cultivo del trigo no existieron diferencias significativas entre el laboreo convencional y el no-laboreo, para las diferentes enfermedades evaluadas. En cambio, los otros factores estudiados, si tuvieron una influencia significativa en varias enfermedades, Así, la rotación con leguminosas ó con barbechos y la fertilización nitrogenada, redujeron la severidad de la podredumbre seca radical (*Fusarium* spp.) e incrementaron el rendimiento del cultivo. Asimismo, la fertilización nitrogenada, incrementó la incidencia de la Septoriosis (*Septoria tritici, Stagonospora nodorum*) y de la Roya Parda (*Puccinia triticina*), aunque el rendimiento del cultivo fue superior al de las parcelas sin nitrógeno.

En el cultivo del girasol, el único problema influido por el sistema de laboreo fue el Jopo *(Orobanche cernua*), que presentó algunos años una incidencia muy elevada en el laboreo convencional y casi nula en el no-laboreo. La mayor incidencia del Jopo se tradujo en un menor rendimiento del cultivo en laboreo convencional en dichos años.

El Jopo de las leguminosas (*Orobanche crenata*) fue, asimismo, la única enfermedad influida por el sistema de laboreo en el cultivo de las habas entre todas las enfermedades estudiadas. En este caso, la incidencia del jopo fue muy superior en las parcelas de laboreo convencional, originando una reducción casi total de la producción en dichas parcelas.

En el cultivo del garbanzo, la rabia (*Didymella rabiei*) se vió favorecida por el no–laboreo, mientras que la fusariosis vascular (*Fusarium oxisporum f.sp ciceris*) mostró una mayor incidencia y severidad en el laboreo convencional. La mayor importancia relativa de la fusariosis vascular durante los cinco años de observaciones, se tradujo en un menor rendimiento del culti-

vo en el laboreo convencional. Las otra cuatro enfermedades observadas en este cultivo, fueron poco ó nada afectadas por el sistema de laboreo.

Considerados globalmente, estos resultados confirman la falta de efecto del sistema de laboreo sobre los patógenos foliares no dependientes de los residuos de cultivos, como: *Puccinia triticina* y *Blumeria graminis* en trigo, *Puccinia helianthi* en girasol, *Uromyces fabae* en habas, y las virosis en habas y garbanzos; así como el efecto favorable del no-laboreo sobre los patógenos foliares que dependen de los residuos de cosecha para su multiplicación y dispersión, como *Didymella rabie* en garbanzo (Trapero & Kaiser, 1992).

Respecto a los patógenos de suelo, la mayor incidencia de los jopos del girasol y de las habas en el laboreo convencional, podría deberse al efecto de la labor de vertedera, facilitando el contacto entre las semillas del parásito y las raíces de las plantas. Este mismo efecto de mezcla de inóculo con el suelo, podría explicar la mayor incidencia de la fusariosis vascular del garbanzo en el laboreo convencional. Otras enfermedades causadas por patógenos radicales como la podredumbre seca del trigo, o los fallos de nascencia en girasol, habas y garbanzos no se vieron sensiblemente afectadas por el sistema de laboreo, aunque en estos casos los resultados eran impredecibles.

7.- AGRICULTURA DE CONSEVACIÓN Y CAMBIO CLIMÁTICO

La agricultura es responsable de un tercio de las emisiones de gases invernadero, principalmente CO2, aunque también metano y óxido nitroso. Diversos ensayos muestran que los flujos de emisiones de CO_2, están directamente relacionados con el volumen de suelo alterado. Es por ello que en diversos ensayos, el arado de vertedera, por ejemplo, provoca una pérdida de CO_2 de casi 10 veces mayor que en sistemas de Agricultura de Conservación (González, E.; Rodríguez, A. 2004).

Según un estudio reciente (Tebrügge, 2001), basado en la UE de los 15, en el caso de que el 70% de la superficie agrícola estuviese bajo siembra directa y mínimo laboreo, la reducción de emisiones de CO_2 sería algo más de 135 Mt. Teniendo en cuenta las obligaciones asumidas con el Protocolo de Kioto, en el 2012, la UE-15 deberá reducir sus emisiones de CO_2 un 8% con respecto a las 4,33 Gt CO_2 emitidas en 1990. Esto supone una necesidad de reducción de 346,4 Mt CO2, que mediante Agricultura de Conservación sería un objetivo alcanzable en menos de tres años.

8.- EXPERIMENTACIÓN Y TRANSFERENCIA DE TECNOLOGÍA

Con estas bases Experimentales y con la firme voluntad de consolidar este nuevo sistema de producción, se abordó desde la Campaña 2001-02,

mediante la creación de la Asociación Andaluza de Agricultura de Conservación (A.A.A.C.), en perfecta sintonía con la Asociación Española de Agricultura de Conservación (A.E.A.C. Suelos Vivos), el ambicioso proyecto de establecer en las explotaciones de los asociados, campos de ensayos experimentales y demostrativos, para intentar adaptar de una forma práctica y económicamente sostenible, todas estas bases técnicas imprescindibles para conseguir la máxima expresión de productividad y estabilidad ambiental.

Dentro de los muchos temas abordados, podemos distinguir por el mayor esfuerzo dedicado a los mismos, los correspondientes a:

- Manejo de Cubiertas.
- Maquinaria.
- Alternativas de Cultivos.
- Fertilización.
- Control de Malas Hierbas.

Las distintas actividades desarrolladas podemos analizarlas de una manera pormenorizada.

8.1.- Manejo de cubiertas

Partiendo de la base ya expuesta anteriormente, de que el éxito de la S.D. depende fundamentalmente de la existencia de una buena cubierta, capaz de generar todos los beneficios anteriormente descritos, se planteó el dotar mediante el cultivo de cereal, durante varias campañas seguidas, de un auténtico manto protector al suelo.

Las mediciones efectuadas con personal y medios técnicos de la UCO y del IFAPA, nos permitieron constatar que en un plazo de dos a tres años, la cubierta se mantiene en valores comprendidos entre el 30 y el 50% de cobertura, a pesar de la rápida degradación que en nuestras condiciones climáticas sufren los restos de cosechas. Estos valores son considerados por la generalidad de los expertos y por la F.A.O. en 2001, como suficientes para proteger al suelo frente a agentes erosivos.

La inclusión en la rotación de girasol ó leguminosas, baja de forma importante la cobertura del suelo, en el año que se cultiva una de estas especies.

8.2.- Maquinaria

Podemos considerar la disponibilidad de maquinaria, que responda a las necesidades de cada explotación, como uno de los problemas más importantes presentados hasta el momento.

La adaptación de algunas sembradoras utilizadas en laboreo convencional, mediante la incorporación de discos cortadores y ruedas tapadoras, dieron resultados no del todo negativos, aunque distaban mucho de ser los óptimos. La incorporación de sembradoras de S.D. traídas de otros países, con altos costos, constituyó un apoyo importante para el avance de la S.D. en Andalucía, pero su solución fué solamente parcial, ya que habían sido diseñadas para las condiciones de origen y no se adaptaban a nuestra variabilidad regional.

La demanda por parte del sector, ha permitido que tanto fabricantes extranjeros como nacionales, estén realizando un gran esfuerzo de adaptación de las máquinas y hoy podemos hablar de una gran parte de los problemas resueltos, con matices puntuales paras algunos tipos de suelos en condiciones climatológicas mas extremas,(caso de los Vertisoles en épocas de lluvias persistentes).

8.3.- Fertilización

La creación de la Red Andaluza de Experimentación Agraria de Agricultura de Conservación, a través de un Convenio firmado entre la AEAC y el IFAPA, ha permitido que exista un nexo de unión entre la Investigación y la implantación en el sector de las nuevas tecnologías. La ubicación de los ensayos se ha hecho utilizando fundamentalmente fincas de agricultores, con este sistema productivo establecido en sus explotaciones, y en ellos, se ha efectuado un control y seguimiento, tanto de la evolución de las cubiertas y contenido de M.O. a distintos niveles del perfil del suelo, como la optimización del uso de fertilizantes, fundamentalmente fosfóricos y nitrogenados en Campiñas de secano.

Las conclusiones hasta el momento, nos permiten asegurar el enorme incremento de M.O. presente en el suelo y por tanto el gran incremento de fertilidad en todos los casos estudiados.

Uno de los efectos inmediatos en su aplicación práctica, es la constatación de que una reducción en el aporte de Fertilizante Nitrogenado de 25 U.F. de N., no ha presentado diferencias significativas en producción, por una mayor optimización del uso de ese Nitrógeno.

Para el caso de explotaciones de regadío, los estudios realizados en la finca "La Parrilla" (Sánchez Domínguez, 2004), dentro de las actividades de este grupo de trabajo, la evolución media de los contenidos en M.O. y en los niveles de fósforo y potasio del suelo, medidos en un perfil de 0-10 cms. de profundidad, en parcelas de cultivo con antecedentes de 5 años en agricultura de conservación, fueron:

EVOLUCIÓN DE ALGUNOS PARÁMETROS VINCULADOS A LA PRODUCTIVIDAD

	INICIAL	ACTUAL (5 AÑOS DESPUÉS)
Materia Orgánica	1 %	2,5 %
Fósforo	15 p.p.m. (Olsen)	35 p.p.m. (Olsen)
Potasio	350 p.p.m. (Acetato)	620 p.p.m. (Acetato)

Estos elevados incrementos en parámetros tan vinculados a la productividad, se deben probablemente, a la importante aportación de residuos generados por los sucesivos cultivos de maíz. (Calleja García. R.).

Otro ejemplo significativo de este aumento de fertilidad, lo obtenemos contemplando los datos correspondientes a la finca "Las Navas", sita en Término Municipal de Lebrija, donde la caracterización de los suelos se hizo con los siguientes valores y condiciones:

Campaña 02-03: después de haber cultivado durante dos años seguidos cereal bajo condiciones de Siembra Directa.

Campaña 05-06: una vez introducidas leguminosas (guisantes proteaginosos) dentro de la alternativa.

EVOLUCIÓN DE ALGUNOS PARÁMETROS VINCULADOS A LA PRODUCTIVIDAD

		CAMPAÑA 02-03	CAMPAÑA 05-06
	0-3 cm	1,54 %	1,99 %
Materia	3-13 cm	1,16 %	1,62 %
Orgánica	13-26 cm	0,98 %	1,26 %
	26-52 cm	0,78 %	0,51 %
Fósforo (perfil superficial)		11,02 p.p.m. (Olsen)	13,96 p.p.m. (Olsen)
Potasio (perfil superficial)		678 p.p.m. (Acetato)	655 p.p.m. (Acetato)

Uno de los aspectos más interesantes a contemplar, según indicaciones del equipo de suelos del I.F.A.P.A. Centro Alameda del Obispo, es la variación que ha existido en la disponibilidad de ese fósforo existente, ya que se encuentra en el Complejo de Cambio totalmente disponible por la planta al proceder de la descomposición de la materia orgánica.

Otro de los parámetros dignos de mención es el correspondiente a la evolución del pH, medido en Cl2Ca, donde se observa que ha existido una acidificación del suelo, desde un pH 7,98 en el 2002, a un 7,41 actual.

8.4.- Control de malas hierbas

En la Agricultura de Conservación, al igual que en el sistema convencional, hay dos factores claves para el éxito del cultivo, uno es la siembra y por consiguiente el establecimiento del cultivo y el otro es el control de malas hierbas (mmhh). Este último es crítico sobre todo al inicio del desarrollo del cultivo, ya que es en ese momento cuando la competencia por agua y nutrientes tiene efectos más negativos sobre la producción, y por tanto sobre la rentabilidad.

Por el contrario, si las malas hierbas germinan cuando el cultivo se encuentra en una fase avanzada de desarrollo, el efecto sobre la producción es mucho menor. Por tanto a la hora de la siembra y en el periodo inicial del desarrollo del cultivo, es cuando debemos tener mejor controladas las parcelas de mmhh.

Es importante adoptar medidas apropiadas para el control de las mmhh. En efecto, se deben tener en cuenta medidas preventivas, como son el empleo de semillas libres de mmh, de buena calidad y alto poder germinativo que nos asegure una rápida cobertura del suelo, sombreándolo y evitando nuevas germinaciones de mmhh. Evitar en lo posible el estercolado y el pastoreo ya que el ganado es una fuente de infestación de mmhh, puesto que muchas semillas son viables después de pasar por el aparato digestivo de los animales.

También debemos tener en cuenta, que una medida muy efectiva para el control de mmhh es la rotación de cultivos, que a su vez tiene las enormes ventajas agronómicas contempladas anteriormente y en las que no vamos a entrar de nuevo, pero que desde el punto de vista del control de mmhh, la rotación de cultivos nos permite el empleo de diferentes herbicidas, con modos de acción completamente diferentes, que ayudan a mejorar el control de mmhh y además reducen significativamente el riesgo de aparición de hierbas resistentes.

La Agricultura de Conservación, al introducir un cambio importante en el manejo del suelo, provoca una adaptación de la población de mmhh al nuevo sistema, que hace que las especies presentes en los cultivos bajo S.D., sean diferentes a las que aparecen en Siembra Convencional.

En nuestras condiciones de Andalucía, para tener un buen control de malas hierbas en los cultivos de secano, es muy importante controlar con aplicaciones de herbicidas las primeras germinaciones de malas hierbas que surgen después de las primeras lluvias de otoño (Otoñada), ya que es la forma más eficiente de comenzar un sistema de Agricultura de Conservación en cereales de invierno, leguminosas y girasol. Así, después de un verano seco, las primeras lluvias provocan la germinación de las mmhh que apare-

cen todas a la vez, por lo que podemos tratarlas con dosis reducidas en un estado de 2-3 hojas como máximo. Los herbicidas mas ampliamente usados son; Glifosato y sus mezclas con MCPA u otros hormonales en el caso de presiembras de cereal y Glifosato mezclado con Oxifluorfen o bien Glifosato solo, pero a dosis más altas en el caso de cultivos de hoja ancha como leguminosas y girasol.

Aspecto muy importante para el buen funcionamiento del Glifosato, es su aplicación en todos los casos mezclado con un producto capaz de bajar el pH del caldo. La aportación de Sulfato Amónico a razón de 1 Kg./ Ha. proporciona muy buenas respuestas en campo.

De todas formas, es importantísimo vigilar las poblaciones de mmhh para actuar con rapidez, ya que en muchos casos aparecen en rodales que si no se controlan pronto pueden llegar a representar un problema grave.

Algunos casos a tener en cuenta son:

- MMHH perennes como Corregüela (*Convolvulus Arvensis*) y Grama (*Cynodon dactylon*) que se deben tratar en post-cosecha de cereal con Glifosato 2,88 Kg/Ha.
- *Malva* spp y *Lavatera* spp: En cereal de invierno, es recomendable aplicar en un estado muy precoz de cotiledones a un par de hojas, con Glifosato mas Oxifluorfen y en caso de siembras tardías de Diciembre, puede ser necesario efectuar dos aplicaciones. En post-emergencia de cereal, Tribenuron en mezcla con Fluroxipir, aporta un buen control de estas especies.

- El pepinillo del diablo (*Ecballium elaterium*) es otra mmhh que aparece en rodales y conviene controlar cuanto antes. Entre las mejores opciones de control se encuentra la mezcla de Glifosato + Fluoroxipir 1,44 kg/Ha. + 0.2 Kg / Ha. y posteriormente al rebrote con Glifosato + MCPA 1,08 Kg/Ha. + 1,08 Kg/Ha.

En resumen, el manejo de las mmhh en Agricultura de Conservación, necesita una aproximación integral de todos los factores que influyen en las poblaciones de mmhh, incluyendo por supuesto, el uso racional de herbicidas.

No debemos olvidar en este apartado, la incorporación de nuevas materias activas ó nuevas técnicas, como la incorporación del grupo químico de las Imidazolinonas y su aplicación en cultivos de guisantes ó el conocido como sistema Clearfield, de producción en girasol, con variedades resistentes a esta familia de herbicidas.

Otro apartado fundamental para el éxito en el control de las mmhh, es la imprescindible pulverización uniforme, para lo que se recomienda el uso de boquillas de abanico de reparto no uniforme, repartidas a 50 cms. en la barra de aplicación y con presiones en torno a 2,5 a 3 atmósferas.

9.- CONCLUSIÓN

Aunque el sistema necesita aún, de mucha dedicación a la Investigación y Experimentación, para su óptima puesta a punto, y un decidido apoyo de

todas las Administraciones, está claro, desde nuestro punto de vista, que con la Agricultura de Conservación ganamos todos. El sistema de explotación es más productivo y sostenible, mejora la calidad ambiental, se mejora el suelo, se frena la erosión y se contribuye a paliar el efecto del calentamiento global.

10.- REFERENCIAS

RHOTON E.E. Influence of time on soil. Responsable to No-Till.- Practices. Soil Sci. Soc. Am. J. 64:700-709, 2000.

LÓPEZ BELLIDO, L. 2006.- Uso eficiente del nitrógeno en las rotaciones cerealistas de las Campiñas andaluzas.- XVIII Jornadas Técnicas sobre la calidad de los trigos de España.

GIL R.C. 2004.- La Siembra Directa y la Conservación del suelo. II Jornada iberoamericana de agricultura de Conservación.

SÁNCHEZ DOMÍNGUEZ M.A. 2004.- Efectos de la cubierta vegetal sobre la escorrentía, pérdida de suelo y fertilidad en la finca "La Parrilla" en Fuente Palmera- Córdoba. E.T.S.I.A. Córdoba.

MURIEL J.L.; VANDERLINDEN K.; PEREA F.; GARCÍA I.; JIMÉNEZ J.A. 2005.- Dinámica del agua en suelos sometidos a distintos sistemas de laboreo. VI Simposium del agua en Andalucía.

GONZÁLEZ P.; ORDOÑEZ R. 1997.- Efecto del laboreo sobre la materia orgánica y fertilidad de los suelos en: Agricultura de Conservación. Fundamentos agronómicos medioambientales y económicos. A.E.A.C./Suelos Vivos

HERNANZ MARTOS J.L. 2005.- Agricultura de Conservación. Una revisión a la rentabilidad energética. Congreso Internacional sobre Agricultura de Conservación.

CALLEJA GARCÍA R.- Aspectos prácticos y económicos de la Agricultura de Conservación. Congreso Internacional sobre Agricultura de Conservación. Córdoba 2005.

VALERA A.; PÉREZ GARCÍA J.J.- Manejo de Malas Hierbas y sistemas de aplicación en Agricultura de Conservación. Congreso Internacional sobre Agricultura de Conservación. Córdoba 2005.

TRAPERO, A. 2004. Control de Enfermedades en Agricultura de Conservación. Gil-Ribes, J.A., Blanco Roldan, G.L., Rodríguez Lizana, A. (eds) Técnicas de Agricultura de Conservación. Eumedia/ Mundi-Prensa, Madrid.

GONZÁLEZ SÁNCHEZ, E.J.; RODRÍGUEZ LIZANA, A.- Tecnología y Sistemas en Agricultura de Conservación, Cap. 1 "Agricultura de Conservación y Medio Ambiente", Córdoba 2004.

CANTERO MARTÍNEZ, C. Congreso Internacional de Agricultura de Conservación, Córdoba 2005.

TRÁFICO ILEGAL DE PRODUCTOS FITOSANITARIOS, UNA AMENAZA PARA LA AGRICULTURA ESPAÑOLA

Ángela López Berrocal
Directora de Comunicación de Aepla
Aepla, Asociación Empresarial para la protección de las plantas
Madrid

La sociedad reclama la seguridad total en todos los aspectos de la vida y los legisladores y políticos intentan dar respuesta a sus deseos. Por eso y también por algunas de las crisis reales o mediáticas relacionadas con la alimentación durante la última década se ha visto, especialmente en Europa, un incremento notable de la actividad legislativa, la creación organismos independientes y sistemas de control y la prevalencia del principio de precaución por encima de criterios pragmáticos o de eficacia. Las decisiones están pues cada vez más condicionadas por criterios políticos destinados a aplacar los miedos de una sociedad urbana ya prácticamente acostumbrada a la abundancia, que no está dispuesta a asumir cierto tipo de riesgos y a la que tampoco se le han explicado los beneficios de muchas cosas que da por hechas, como puede ser la propia producción agrícola.

Entonces se ha impuesto un mayor rigor y exhaustivo control en la autorización de productos fitosanitarios, tanto en Europa, donde empieza el proceso de autorización con la revisión de cada sustancia activa a partir de la cual pueden formularse los productos, como en España donde se somete a cada formulado una vez más a un proceso de autorización largo, complejo y costoso. Tanto es así que hay muchos nuevos productos atrapados en estos procedimientos.

Pero mientras tanto existe y crece en paralelo un tráfico de productos ilegales inaceptable cuya composición se desconoce y que pone en riesgo la

salud de trabajadores, consumidores y la del medioambiente, así como la reputación de la Industria fitosanitaria y la viabilidad de la empresas que cumplen la ley con rigor, y finalmente de toda nuestra actividad agrícola, especialmente aquella destinada a la exportación.

Es ahí donde los sistemas teóricamente perfectos fallan. Cuando los estandartes se alejan tanto de la realidad y no de los deseos de las sociedades, las leyes perfectas fracasan porque siempre hay alguien que se aprovecha de sus claras limitaciones para cubrir necesidades reales.

En Europa se decidió que no gustaban los perfiles de ciertos tipos de productos fitosanitarios. Los problemas impuestos a ellos han sido tantos que la mayoría de las empresas han desistido en su defensa. Así han ido desapareciendo. Pero la realidad es que España es un país productor de agrícola, que además exporta y abastece a gran parte de Europa y tiene un clima y una variedad de cultivos que requieren una gran variedad y tipos de productos fitosanitarios también. Otra realidad es que los ideales sistemas legales requieren de grandes esfuerzos y estructuras de inspección, seguimiento y control. Sistemas que no están en la práctica preparados para gestionar sus propias competencias.

Hay que aclarar que cualquier producto que no esté debidamente autorizado en España es ilegal. Ilegal es su venta e ilegal es su uso. De no ser así todo el proceso de autorización sería una pantomima.

Esta actividad fraudulenta pone en jaque a más de 1.600 empleos directos y 6.000 empleos indirectos del sector fitosanitario; Además, 44.738 empleos directos y 42.740 empleos indirectos, 1.803 fábricas y una facturación de más de 15.237 millones de €, de la suma de las áreas de insumos del sector agrario, y una parte importante del empleo de otros sectores tributarios y dependientes de la agricultura

El Mercado Ilegal de productos fitosanitarios se calcula que, sólo en el sureste español, supone entre un 20% y un 30% de las ventas y en el ámbito nacional supone entorno a un 8% -10%.

Qué tipos de productos ilegales se venden o utilizan

Si bien ya existían antes, ha sido durante los últimos 6 años cuando se intensifican el comercio y uso ilegales. Como causa de ésta intensificación generalmente se cita la dificultad, real ó supuesta, que muchos productores encuentran para proteger sus cultivos con los productos autorizados disponibles.

Concretamente diferentes expertos señalan algunas plagas de insectos (mosca blanca y el *trips*) y su dificultad de control con los medios entonces

disponibles como causantes de éste incremento. Ante ésta dificultad aparecieron en el mercado productos cuya comercialización todavía no estaba permitida y que resultaron eficaces en su control.

Esta eficacia provocó la confianza del agricultor, a quien no le importó pagar precios muy elevados por estos productos y los muchos más que han aparecido después. Esta disposición identificó para las redes un mercado dispuesto y una demanda que les ha facilitado ganar un dinero fácil. Ambos factores contribuyeron a sentar las bases para un lucrativo negocio que supuso el inicio del establecimiento de infraestructuras y redes de comercio ilegal en España.

Pero también aparecieron copias sin registro de productos autorizados. Dichas copias, ofrecidas en envases no provistos de una etiqueta legalizada, simplemente no garantizan nada (origen, composición, tipo y cantidad de impurezas, etc.), lo que constituye una amenaza potencial para usuarios, consumidores y medio ambiente.

Los tipos de productos ilegales que se han incautado en estos años son muy variados. Se han visto productos autorizados en otros lugares del mundo pero no en Europa o en España, productos antiguos ya no autorizados reaparecer, sustancias activas que suponen modificaciones sobre algunas ya antiguas, sustancias desconocidas del todo, falsificaciones de productos legales, meros timos y un largo etcétera de casos.

Rutas de acceso de los productos ilegales

Las detenciones realizadas por tráfico ilegal de fitosanitarios en España han puesto de manifiesto que los traficantes operan generalmente bajo organizaciones de tipología mafiosa perfectamente estructuradas en las que estos productos ilegales son introducidos en España a veces directamente y otras veces previa importación en la Unión Europea procedentes de terceros países.

Una vez en España la mercancía es enviada y repartida por la organización a sus "distribuidores" localizados en distintas poblaciones los cuales en la mayoría de las ocasiones no están legalizados ni poseen autorización para la comercialización de productos fitosanitarios.

Consecuencias derivadas del comercio y uso de productos fitosanitarios ilegales

El Mercado ilegal de productos fitosanitarios puede tener consecuencias sobre los siguientes aspectos:

1. Exposición del usuario y consumidor a sustancias y/o productos y residuos no controlados y evaluados, y potencialmente dañinos o peligrosos

Los riesgos que corren quienes utilizan productos fitosanitarios ilegales dependen entre otros factores, de las propiedades físicas, químicas y toxicológicas de éstos, de la vía de exposición y del grado y duración de ésta. En la etiqueta oficialmente aprobada del producto, en la ficha de datos de seguridad, aparece la información sobre las instrucciones a seguir para gestionar y minimizar éste riesgo.

Cuando se utilizan en agricultura, estas impurezas o sub-productos pueden tener efectos graves y crónicos sobre los aplicadores y trabajadores, e incluso sobre los consumidores cuando ingieren sus residuos en los vegetales tratados.

2. Impacto sobre el medio ambiente. Riesgo potencial de exposición medioambiental perjudicial e impacto en las especies sensibles

En los productos ilegales, debido a la naturaleza desconocida de sus componentes existe un potencial riesgo de que dichos compuestos no evaluados previamente al ser liberados en el medio ambiente entren a formar parte de la cadena alimentaria, de los suelos y aguas potables, tras su aplicación.

3. Posible daño o destrucción de cultivos tratados y las consecuencias económicas para el agricultor

Para que un producto fitosanitario cumpla con los requisitos exigidos para su autorización es preciso demostrar tanto su eficacia cómo su selectividad sobre los cultivos en los que vaya a aplicarse.

El uso de componentes no evaluados en los productos ilegales y falsificaciones presenta un grave riesgo de producir daños fitotóxicos cuando se aplican sobre los cultivos. El daño causado puede ser temporal y no tener graves consecuencias en la producción, o puede destruir la cosecha completamente.

Por otra parte la utilización de productos ilegales puede significar el rechazo de las producciones por parte de la cadena alimentaria, y/o la aplicación de una sanción económica, dañando su reputación y creándole un serio perjuicio a su imagen y a su economía.

4. Desconocimiento de los efectos de los residuos en los consumidores.

Los productos fitosanitarios deben emplearse siguiendo siempre las Buenas Prácticas Agrícolas y en la medida de lo posible empleando técnicas y métodos de protección y producción integrada. El Reglamento (CE) n. 396/2005, de 23 de febrero, relativo a los límites máximos de residuos de plaguicidas define las Buenas Prácticas

Agrícolas (BPA's) como "el uso seguro, recomendado, autorizado o registrado a escala nacional, de productos fitosanitarios en condiciones reales, en cualquier fase de la producción, almacenamiento, transporte, distribución y transformación de alimentos...".

Los residuos que quedan tras la aplicación de un producto ilegal, en muchos casos no se conocen y en consecuencia no pueden evaluarse sus efectos sobre la salud del consumidor, pudiendo constituir su liberación al medio ambiente un serio peligro.

5. Imposibilidad de fijar el límite máximo de su uso seguro y de reconocer sí se ha llevado a cabo una Buena Práctica Agrícola

Con objeto de asegurar la libre circulación de mercancías entre los Estados miembros y entre terceros países y la Comunidad, y garantizar un elevado nivel de protección de los consumidores, se fijan a escala comunitaria de forma armonizada los Límites Máximos de Residuos (LMRs) en productos de origen vegetal, teniendo en cuenta las BPA's.

En el caso de los productos ilegales, al no conocerse, en muchos casos, su composición y no estar evaluados, no es posible fijar su Límite Máximo de Residuos y en consecuencia no puede establecerse cual es el límite de su uso seguro.

6. Eliminación de las producciones tratadas con productos ilegales

La calidad y seguridad alimentaria se han convertido en una exigencia del mercado y del consumidor en general al demandar cada vez con mayor insistencia garantías más estrictas tanto de las características propias del producto vegetal, cómo de sus métodos y condiciones de producción.

Para garantizar que la producción reúne los requisitos de calidad exigidos por el mercado se han desarrollado diferentes normas de producción con su correspondiente sistema de certificación. La detección de productos no autorizados evidentemente origina el rechazo automático de los productos vegetales que los contienen.

Los productos ilegales dificultan o impiden la trazabilidad de los residuos en los alimentos vegetales y erosionan la credibilidad de los consumidores en la seguridad ofrecida por los productores de dichos alimentos.

7. Infracciones sobre las patentes y las marcas registradas y la Propiedad industrial

En todos los países industrializados la legislación en materia de patentes influye en la organización de la economía al constituir un

elemento fundamental para impulsar la innovación tecnológica, imprescindible para elevar el nivel de competitividad de nuestra industria.

Los derechos de propiedad industrial (patentes, marcas y protección de datos) constituyen un medio para proteger, recompensar y remunerar las innovaciones así como estimular el mantenimiento de las inversiones en I&D. En virtud de estos derechos, el titular de los mismos adquiere una condición con respecto a la innovación, que le otorga el derecho exclusivo a la explotación.

El desarrollo de un producto fitosanitario requiere un largo proceso que va desde la síntesis del ingrediente activo y las investigaciones en laboratorio e invernadero hasta que ese producto fitosanitario se registra y recibe la autorización para su uso por parte del Ministerio de Agricultura.

Los productos ilegales violan los derechos que consagra la protección de las patentes, marcas y los derechos de protección de la información.

8. La reputación de las compañías miembros de AEPLA y sus productos en un entorno competitivo

Las empresas fabricantes y comercializadoras de productos fitosanitarios que cumplen con los requisitos legales y están en el punto de mira del público por su notoriedad, se sienten en la obligación de despejar cualquier atisbo de duda sobre su comportamiento ético. Estas empresas asociadas en AEPLA elaboraron su propio Código Deontológico, respondiendo así a una decisión de autorregulación que refleja en la práctica los principios de su actuación.

El Código establece unas buenas prácticas para las empresas respecto a tres aspectos fundamentales:

1. Los productos,
2. Los consumidores, usuarios y distribuidores de los productos y
3. Las propias empresas fabricantes.

En él se definen cuales son los comportamientos aceptables e inaceptables y se establecen los procedimientos de aplicación de estas normas.

9. Otros perjuicios económicos

El mercado ilegal impacta de manera significativa en la industria fitosanitaria global así como en la cadena de distribución a través de su efecto negativo en el empleo, dificultando el desarrollo de la

investigación y favoreciendo el fraude fiscal a través de pérdidas por tasas e impuestos generados por las ventas de productos legales.

Los productos fitosanitarios son herramientas que se emplean para mantener la producción y sanidad de las plantas y los cultivos. Éstos consisten en productos químicos naturales o de síntesis, que ayudan a controlar las enfermedades, las plagas de insectos y las malas hierbas que atacan y destruyen las plantas y los cultivos.

Cuando se desarrolla un nuevo fitosanitario, los científicos buscan un punto débil en las plagas que atacan a las plantas, y después tratan de desarrollar una molécula que lo ataque específicamente. Así, el ingrediente activo controla la mala hierba, el insecto o el hongo nocivo, sin afectar a otros organismos no objetivo. Este proceso resulta muy lento y costoso. Por cada ingrediente activo que finalmente termina utilizándose en el campo, se desechan otros 139.000 ingredientes. En la actualidad cada producto nuevo en la UE ha de superar más de 100 ensayos específicos durante una media de 9 años y con un coste de más de 200 millones de Euros para poder alcanzar el mercado.

Los productos fitosanitarios son los productos más controlados del planeta, tanto o más incluso que los fármacos que ingerimos. El proceso de autorización de un producto empieza en Europa y acaba en cada país, está tutelado por rigurosas y exigentes legislaciones y procedimientos de evaluación que miden cada posible riesgo y es realizado por decenas de expertos independientes que velan por la seguridad del trabajador y consumidor, aplicando hasta el extremo el principio de precaución. Solamente después de pasar muchas pruebas y demostraciones puede venderse un producto fitosanitario en España. En este proceso se estudian aspectos relacionados con la química, física, la ecotoxicología y el medio ambiente, la toxicología, los métodos analíticos y los residuos entre un sinfín de asuntos.

Sin embargo, todo este esfuerzo e inversión no sirven de nada y pierden todo su significado cuando, sin control alguno, se venden productos ilegales (no autorizados para su venta y comercialización en la Unión Europea o en España) que se compran por engaño o por la demanda del agricultor que se ve sin soluciones ante sus problemas debido principalmente a las dificultades y extrema lentitud en los procesos de autorización.

La Administración del Estado se justifica con la falta de recursos para gestionar las autorizaciones de productos fitosanitarios y se escuda tras aspectos de competencias para eximirse de su responsabilidad. De igual forma, las Administraciones Autonómicas, responsables del control de la comercialización y el uso, no actúan con la correspondiente contundencia por la falta de medios anteriormente mencionada y en algunos casos por el miedo a

hipotéticas consecuencias políticas. No es popular adoptar medidas coercitivas cara a los implicados en estas actividades.

Además de los evidentes riesgos para la salud del consumidor, cualquier escándalo provocado por este asunto destrozará la ya deteriorada imagen del sector agrario español en los mercados europeos, su principal destino. Aún no han ocurrido en Europa escándalos alimentarios relacionados con las frutas y hortalizas. Pero en cualquier momento podría ocurrir el primero debido a este mercado ilegal. De ser así, las consecuencias para nuestra agricultura exportadora, la industria de transformación, transporte y servicios entorno a la misma serían desastrosas.

No se debe de olvidar tampoco que toda actividad ilegal es un fraude manifiesto a la hacienda pública, al Estado y por ende a todos los contribuyentes. Pero además, si no se protege el legítimo interés de la propiedad intelectual e industrial, y el I+D del Sector Agroquímico, España se quedará todavía más a la cola del desarrollo industrial y se reducirá mucho el interés de las empresas por realizar nuevas inversiones y de continuar su actividad en nuestro país.

Esas son las amenazas que nos acechan a los que vivimos de la agricultura.

"Sin productos fitosanitarios no sería posible una agricultura capaz de producir alimentos saludables, suficientes y asequibles para todos"

AEPLA es la voz de la industria fitosanitaria española. Sus miembros son 26 empresas dedicadas a la investigación, desarrollo y fabricación de insecticidas, herbicidas, fungicidas y otros. Esta amplia gama de productos aporta beneficios y se utiliza en la agricultura, horticultura, los parques forestales y la jardinería. Aepla representa a una industria innovadora que aspira continuamente a ofrecer soluciones científicas que cumplan con la demanda cada vez más exigente de los estándares sanitarios y medioambientales de la sociedad. AEPLA www.aepla.es es miembro de ECPA (European Crop Protection Association), www.ecpa.be

EL PROCEDIMIENTO EUROPEO PARA LA DETERMINACIÓN DEL RIESGO DE LOS PRODUCTOS FITOSANITARIOS.

J. Oriol Magrans

Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria
EFSA. Environmental Chemistry
Pesticidas Risk Assessment. Italia

1. LA AUTORIDAD EUROPEA DE SEGURIDAD ALIMENTARIA: HISTORIA Y PRINCIPIOS FUNDACIONALES

La Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (en adelante EFSA según sus siglas inglesas) fue creada a raíz de una serie de escándalos alimentarios que a finales de los 90 redujeron la confianza de los consumidores en la seguridad de la cadena alimenticia y en la habilidad de las autoridades para protegerles. Ello condujo a las instituciones europeas a establecer un nuevo organismo científico encargado de proveer asesoramiento científico independiente en cuestiones relativas a la seguridad alimentaria. Los principios que debían regir la creación de la EFSA se recogieron en el Libro Blanco de Seguridad Alimentaria, COM (1999) 719. En esta nueva propuesta política, la Comisión Europea anunció una aproximación integrada a la seguridad alimentaria, abarcando toda la cadena alimenticia, y estableció la creación de una fuente independiente de asesoramiento científico con el fin de "...contribuir a un gran nivel de protección de la salud de los consumidores en el área de la seguridad alimentaria, a través de la cual se pueda reestablecer y mantener la confianza de los consumidores".

La EFSA fue legalmente establecida a principios de 2002 por un reglamento del Parlamento Europeo y del Consejo[1]. Este reglamento dibuja los principios básicos y requisitos de la legislación alimentaria y estipula que la EFSA sea una fuente independiente de asesoramiento científico, información y comunicación de los riesgos en el área de la seguridad alimentaria.

Asimismo, este reglamento requiere de la EFSA el establecimiento de una red que permita la estrecha colaboración con organismos similares en los diferentes estados miembros de la UE.

Uno de los principios más importantes de la política de seguridad alimentaria establecidos por este reglamento es la separación entre las responsabilidades de la determinación del riesgo y la gestión del riesgo. En tanto que la EFSA asesora en relación a los posibles riegos relacionados con los alimentos y los piensos, la responsabilidad de la gestión de tales riesgos permanece dentro de las instituciones políticas de la UE. La comunicación de los riesgos es una responsabilidad compartida entre los asesores de riesgo y los gestores de riesgo; se requiere una estrecha cooperación entre ellos para informar a los consumidores en cuestiones relativas a la seguridad alimentaria de forma rápida objetiva y comprensible.

Desde su establecimiento en enero de 2002, la EFSA se desarrolló rápidamente. Su Junta Directiva se reunió por primera vez en otoño de ese mismo año nombrando su primer Director Ejecutivo y creando el Foro Consultivo. Este Foro Consultivo está formado por representantes de las Autoridades en Seguridad Alimentaria de los diferentes Estados Miembros y se reunió por primera vez en marzo de 2003.

Durante 2003 la EFSA se desplegó como una Agencia Europea completamente independiente. En mayo se estableció su Comité Científico y ocho Comisiones Técnicas Científicas formadas por científicos de reconocido prestigio de toda Europa. En diciembre de 2003 la EFSA ya empleaba a 70 personas y había publicado sus primeros Dictámenes Científicos.

Durante 2005 la EFSA se trasladó de su sede provisional en Bruselas a su sede definitiva en Parma, Italia. Hoy en día emplea a unas 200 personas y se espera que para cuando complete su desarrollo, en 2008, disponga de un capital humano de entre 350 y 400 empleados. Gran parte de éstos han de ser personal científico formado en prestigiosas Universidades y reconocidos centros de investigación de toda Europa.

La Junta Directiva ha adoptado un cierto número de principios y reglas que rigen todas las actividades de la EFSA. Entre ellos se encuentra un firmecompromiso con la política de puertas abiertas y la transparencia. Por ejemplo, todas las reuniones de la Junta Directiva son públicas y sus deliberaciones pueden seguirse en tiempo real a través de Internet. El programa de trabajo de la EFSA puede ser consultado a través de Internet y se han adoptado procedimientos para permitir el acceso público a todos los documentos producidos por la EFSA.

2. ESTRUCTURA ORGANIZATIVA DE LA AUTORIDAD EUROPEA DE SEGURIDAD ALIMENTARIA

El Reglamento fundacional establece que el máximo órgano de gobierno de la EFSA es su Junta Directiva (Management Board). La Junta Directiva debe asegurarse de que la EFSA cumple su cometido y lleva a cabo las tareas que tiene asignadas. Está formada por 14 miembros nombrados por el Consejo, en consulta con el Parlamento Europeo, procedentes de una lista elaborada por la Comisión con un numero considerablemente mayor de candidatos. Cuatro de sus miembros deben haber participado en organizaciones representativas de los consumidores y otras partes interesadas en la cadena de alimentación humana. Los criterios de selección de los miembros de la Junta Directiva deben garantizar un máximo nivel de competencia, una amplia gama de conocimientos especializados pertinentes y, en consonancia con estos criterios, la distribución geográfica más amplia posible dentro de la Unión.

El Director Ejecutivo (Executive Director) es el responsable legal de la EFSA. Entre otras competencias, es responsable de su administración cotidiana, de la elaboración de propuestas de programas de trabajo y de su ejecución y de la ejecución las decisiones de la Junta Directiva. El Director Ejecutivo es nombrado por la Junta Directiva a partir de una lista de candidatos presentados por la Comisión después de un procedimiento competitivo abierto.

El Foro Consultivo (Advisory Forum) es un mecanismo para centralizar conocimiento y garantizar una estrecha colaboración entre la EFSA y los organismos competentes de los Estados miembros.

Las Comisiones Técnicas Científicas (Scientific Panels) están compuestas por expertos independientes que se reúnen normalmente una vez al mes para aprobar los Dictamines Científicos (Scientific Opinions) sobre los cuestiones a ellos planteadas. En la actualidad existen nueve de estas comisiones. El Comité Científico (Scientific Commitee) esta formado por los presidentes de los nueve paneles más otros expertos independientes propuestos por la Junta Directiva. Este Comité dirime las cuestiones de carácter horizontal que no pueden ser resueltas por ninguna de las Comisiones particulares.

Adicionalmente el departamento científico de EFSA emplea de forma permanente a un número de científicos encargados de la preparación de los trabajos de los Comités y de todas aquellas tareas asignadas a la EFSA por la legislación que no constituyen la emisión de dictámenes científicos propiamente dichos.

Una visión general de la estructura organizativa de la EFSA se presenta en la figura 1.

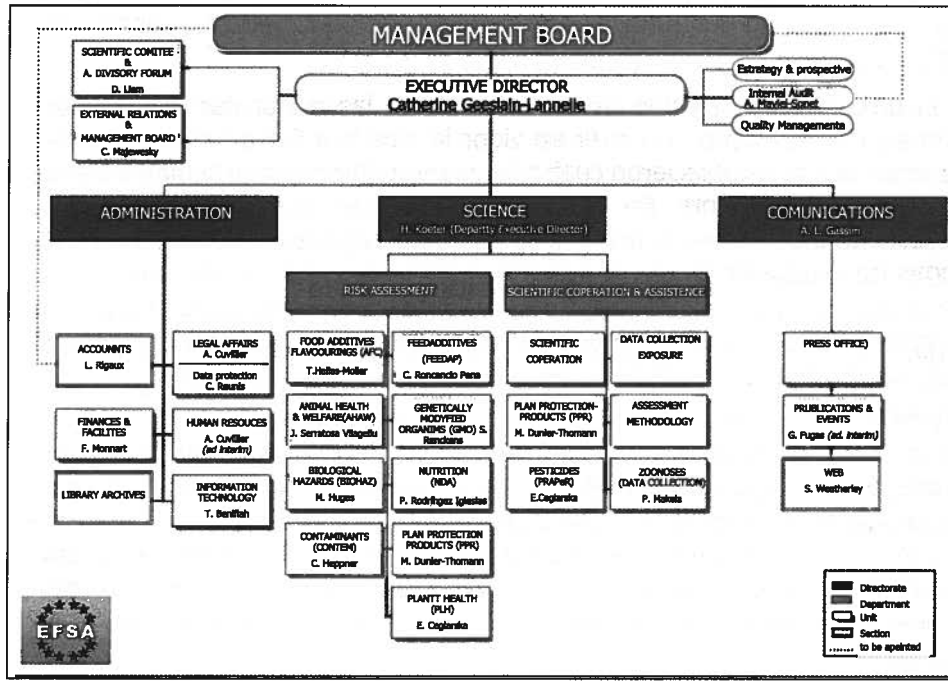


Figura 1 Esquema organizativo de la EFSA

3. SISTEMA EUROPEO PARA LA AUTORIZACIÓN DE PRODUCTOS FITOSANITARIOS

La Directiva 91/414/EEC[2] establece un sistema armonizado para la evaluación y autorización de los productos fitosanitarios en la Unión. Asimismo, esta directiva establece un programa de revisión de todas aquellas sustancias que se encontraban en el mercado en el momento en que la directiva entró en vigor.

El procedimiento establecido por esta directiva comprende un sistema centralizado para la introducción de las sustancias activas de los productos fitosanitarios en una lista positiva única que constituye el Anejo I de la misma y unos procedimientos y criterios de evaluación que deben seguir los Estados miembros en la autorización de productos fitosanitarios específicos (criterios que están recogidos en el Anejo VI de la directiva). De esta forma, la autorización de las sustancias activas (su inclusión en el Anejo I) es un

procedimiento completamente armonizado a nivel de la Unión con competencias compartidas entre los Estados Miembros y la Comisión; en tanto que la autorización de los productos fitosanitarios específicos permanece como una competencia exclusiva de los Estados Miembros aunque siguiendo criterios compartidos.

El programa establecido para la revisión de las sustancias activas existentes en el momento de entrar en vigor la directiva fue dividido en distintas fases. Así se establecieron cuatro listas de sustancias que debían ser examinadas sucesivamente. En principio el programa estaba previsto que se realizara a lo largo de un periodo de diez años aunque tras sucesivas prórrogas no se espera que finalice antes del final de 2008.

La evaluación de una sustancia activa para su inclusión en el Anejo I de la directiva comprende varias etapas que se inician con la notificación de la misma por parte de una parte interesada solicitante. El solicitante normalmente es una empresa productora de la sustancia activa que desea comercializar productos fitosanitarios formulados con la misma en la Unión. Sin embargo, nada impide que actúen como solicitante otras partes interesadas, como pueden ser asociaciones agrarias o Estados Miembros. En caso de que la sustancia resulte finalmente incluida en el Anejo I de la directiva, el solicitante se beneficia de una protección de diez años sobre los datos nuevos originados en los estudios realizados con el fin de defender la idoneidad de la sustancia.

Una vez realizada la notificación, la Comisión o, en el caso de sustancias activas nuevas el mismo solicitante, escoge un Estado Miembro Ponente (Rapporteur Member State o RMS en sus siglas inglesas) para la evaluación de la sustancia activa.

El solicitante tiene que elaborar un dossier con los estudios e informaciones pertinentes para la sustancia activa de acuerdo con los requisitos establecidos en el Anejo II de la directiva. Asimismo, debe presentar un dossier completo para al menos un producto fitosanitario representativo que la contenga, siguiendo los requisitos establecidos en el Anejo III de la directiva.

En base a la información presentada por el solicitante y a toda aquella que por otras fuentes estuviera a su disposición, el RMS debe elaborar, en un plazo normalmente no superior a un año, un Borrador de Informe de Evaluación (Draft Assessment Report, DAR en sus siglas inglesas). Esta evaluación debe comprender la evaluación científica de todos los estudios presentados en cada una de las secciones del dossier que abarcan: la identidad de la sustancia y del producto representativo, sus propiedades físico químicas, sus propiedades toxicologicas, el metabolismo en plantas, en ganado y animales de corral, su comportamiento medioambiental y sus propiedades ecotoxicológicas para con diversos tipos de organismos no diana. Asimismo,

el RMS debe realizar una determinación del riesgo en base a los usos y buenas prácticas agrícolas propuestas por el solicitante y la información relativa a la exposición de los operadores, transeúntes, consumidores (a través de los residuos en alimentos o en el agua potable) y el medioambiente en general derivadas del uso del producto según tales prácticas. En última instancia, se debe demostrar que al menos uno de los usos representativos propuestos (con las medidas de mitigación del riesgo que en su caso fueran necesarias) puede ser considerado seguro en la Unión Europea de acuerdo con los criterios establecidos en el Anejo VI de la directiva. En este borrador de informe, el RMS deben proponer la inclusión o no de la sustancia en cuestión en el Anejo I de la directiva.

Una vez finalizado, el DAR se somete a una revisión *inter pares* (DAR Peer Review) en la que participan expertos científicos provenientes de diversos Estados Miembros y que en la actualidad es organizada por la EFSA. Durante la misma se suelen solicitar clarificaciones e información adicional al RMS y al solicitante respectivamente.

Finalmente, en base al DAR y a las conclusiones de la revisión *inter pares* la Comisión propone una decisión en relación con la inclusión o no de la sustancia activa en el Anejo I. Dicha decisión es votada por los Estados Miembros y publicada en el Diario Oficial de las Comunidades Europeas.

A partir del momento de la inclusión de una sustancia activa en el Anejo I, los Estados miembros pueden otorgar autorizaciones a productos fitosanitarios que la contengan o confirmar, en su caso, aquellas que ya estuvieran en vigor. Cuando se toma una decisión de no inclusión en el Anejo I para una sustancia existente en el mercado se suele establecer un periodo para su retirada del mismo. En algunos casos se identifican ciertos usos esenciales para los que se permite el uso de una sustancia no incluida en el Anejo I durante un periodo más prolongado, con el fin de permitir el desarrollo de alternativas adecuadas al mismo.

4. PAPEL DE LA EFSA EN LA DETERMINACIÓN DEL RIESGO DE PRODUCTOS FITOSANITARIOS

En la EFSA existen dos unidades que tratan de los asuntos relacionados con los productos fitosanitarios y la determinación del riesgo que su uso implica tanto para los consumidores y operadores como para el medioambiente.

1. Comité científico técnico para los productos fitosanitarios y sus residuos.

Existe un Comité científico técnico para los productos fitosanitarios y sus residuos (Panel for the Plant Protection Products and their Residues, PPR) que es nombrado por la Junta Directiva de la EFSA, a través de un concurso abierto, y es renovado cada tres años. Está formado por 21 científicos de

reconocido prestigio que trabajan en diferentes centros de investigación y universidades europeas[3]. Sus campos de conocimiento abarcan, entre otros, la química analítica y orgánica, la determinación de residuos en el medioambiente y en los alimentos, la toxicología humana y animal, la agronomía, la microbiología y el estudio y del comportamiento de las sustancias químicas en el medioambiente. Se reúnen con regularidad mensual en plenario y se forman grupos de trabajo para la resolución de las diferentes cuestiones. Estos grupos de trabajo pueden reunirse más frecuentemente o trabajar a distancia por medios telemáticos. En estos grupos se suelen invitar expertos *ad hoc*, cuando es necesario cubrir campos de conocimiento más especializado y no representado en el comité. Este comité emite Dictámenes Científicos (Scientific Opinions) sobre las cuestiones que se le plantean. Estas cuestiones pueden provenir de la Comisión, del Parlamento Europeo o de los Estados Miembros o pueden haberse planteado por la misma EFSA (self tasking). Esto último ocurre cuando la EFSA, en el transcurso de sus actividades regulares, identifica una cuestión que requiere una atención particular.

Desde su fundación este comité ha emitido 24 dictámenes científicos. Diez de éstos se refieren a sustancias activas particulares, en tanto que el resto son de carácter más general y marcan las pautas que se deben seguir para la determinación de los diferentes riesgos generados por los productos fitosanitarios en el contexto de la inclusión de sus sustancias activas en el Anejo I de la directiva 91/414/EEC o de la aprobación de los productos fitosanitarios por los Estados Miembros. Los dictámenes del comité no son legalmente vinculantes, en el sentido de determinar el sentido de las decisiones reguladoras, pero deben ser tenidos en consideración por los gestores del riesgo (Comisión y Estados Miembros) a la hora de tomarlas.

2. Unidad para la revisión inter pares de la determinación del riesgo de los productos fitosanitarios (Pesticida Risk Assessment Peer Review, PRAPeR).

La unidad para la revisión inter pares de la determinación del riesgo de los productos fitosanitarios (PRAPeR) es responsable de la revisión inter pares de la determinación del riesgo inicial realizada por el Estado Miembro Ponente (RMS) en el contexto del proceso establecido por la directiva 91/414/EEC sobre sustancias activas nuevas o existente empleadas en la formulación de productos fitosanitarios. Asimismo tiene la responsabilidad de realizar los informes sobre la evaluación de estos productos fitosanitarios para la Comisión Europea. En la actualidad 19 personas trabajan en esta unidad, de las cuales 15 son personal científico y el resto se ocupan de las labores de coordinación y administración.

Alrededor de 850 sustancias se encontraban en el mercado de la Unión en 1993. La determinación del riesgo para estas sustancias debe estar finalizada en 2008, de forma que se pueda haber tomado una decisión sobre su inclusión o no en el Anejo I de la directiva 91/414/EEC antes de la finalización de 2009.

En su calidad de gestor del riesgo, la Comisión Europea es responsable de la realización del programa de revisión para establecer una lista positiva de sustancias activas en base de una determinación del riesgo realizada a partir de información y datos científicamente validados, de acuerdo con lo establecido en la legislación. Como se ha indicado anteriormente, este programa se dividió en cuatro fases con otras tantas listas de sustancias que habían de ser revisadas en cada una de ellas.

Con el establecimiento de la EFSA en 2002 la determinación del riesgo se separó de la gestión del riesgo. De acuerdo con ello la EFSA es la responsable de la determinación del riesgo de las sustancias activas de los productos fitosanitarios. Para la determinación del riesgo de los productos fitosanitarios existentes los Reglamentos de la Comisión (EC) 451/2000[4], 1490/2002[5] y 2229/2004[6] asignan a la EFSA la responsabilidad de la determinación del riesgo de las sustancias contenidas en las segunda (52 sustancias), tercera (144 sustancias) y cuarta (249 sustancias) fases del

programa de revisión. La primera fase comprende aquellas sustancias cuya revisión se inicio con anterioridad al establecimiento de la EFSA y la finalización de la determinación del riesgo permanece completamente bajo la responsabilidad de la Comisión (aunque la Comisión puede decidir consultar al Comité PPR para aquellas cuestiones y sustancias que presenten alguna dificultad específica).

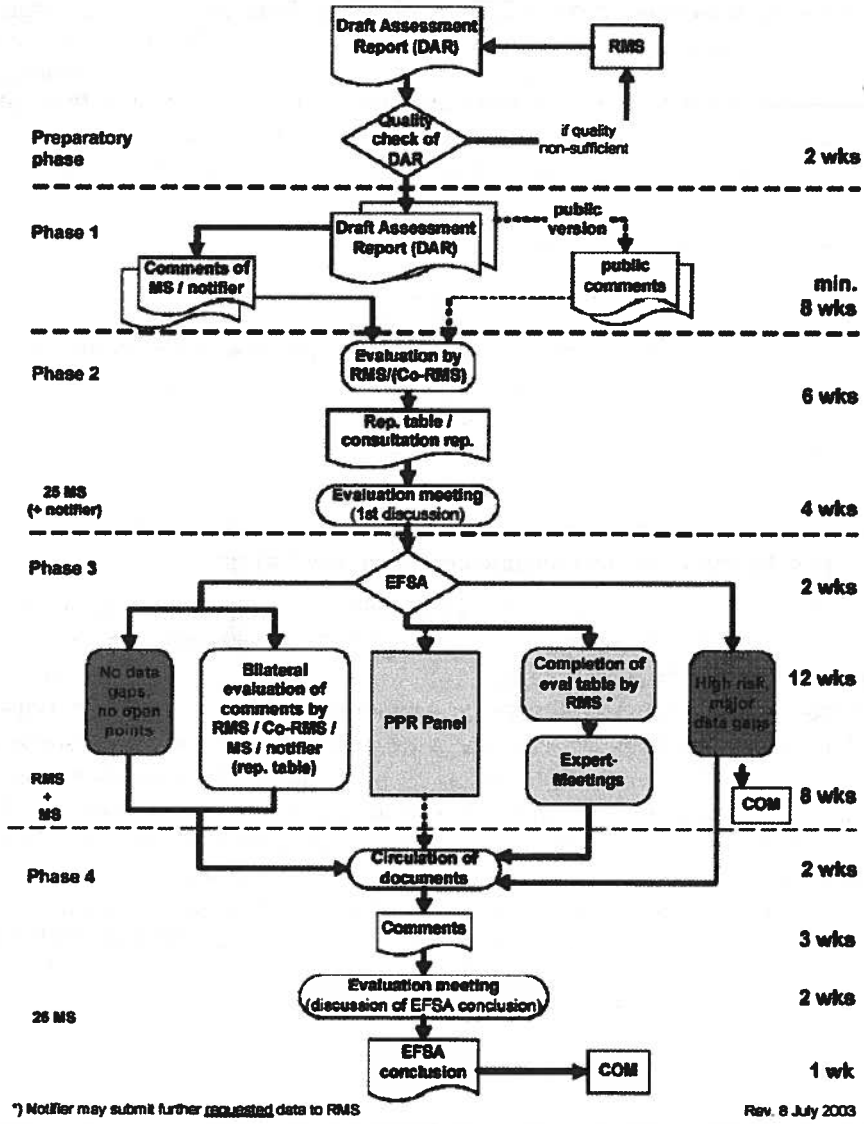
En relación con las sustancias activas nuevas, la EFSA debe realizar la determinación del riesgo para aquellas sustancias nuevas cuyo dossier haya sido considerado completo después de junio de 2002.

La Unidad PRAPeR realiza en colaboración con los Estados Miembros la revisión inicial del Borrador de Informe (DAR) presentado por el Estado Miembro Ponente (RMS) que debe terminar, en un plazo de 12 meses, con la elaboración de una Conclusión que es entregada a la Comisión para su consideración al tomar la decisión sobre la inclusión o no de la sustancia en el Anejo I de la directiva 91/414/EEC. Todas estas conclusiones se ponen a disposición del público en la página Internet de la EFSA (http://www.efsa.europa.eu/en/science/praper/conclusions.html). Asimismo, siguiendo la legislación europea, todos los documentos generados durante la revisión inter pares incluyendo el DAR, las tablas de comentarios y de evaluación, y los posibles documentos adicionales (addenda) elaborados por el RMS son hechos públicos y se pueden solicitar a través de la misma página de Internet.

Para ambos grupos de sustancias (existentes y nuevas) la Unidad PRAPeR de la EFSA sigue un mismo procedimiento: Procedure of the Peer Review of active substances used in plant protection products evaluated in the 2nd stage of the review program, http://www.efsa.europa.eu/en/science/praper/praper_guidance.html).

Un esquema del mismo se presenta en la figura 2.

Figura 2 Esquema del procedimiento Inter pares establecido por la EFSA para la revisión del los Borradores de Informe (DAR) de sustancias activas de productos fitosanitarios.



A partir del año 2006 se hizo posible que, tal como estaba previsto en la legislación, terceras partes (cualquier persona u organización) pudieran participar con sus comentarios al DAR en el proceso de revisión.

En la actualidad se ha finalizado con la revisión de las 52 sustancias que estaban incluidas en la segunda fase de revisión. Para 50 de estas sustancias, la conclusión de la EFSA está disponible a través de Internet (http://www.efsa.europa.eu/en/science/praper/conclusions.html) mientras que las otras dos sustancias fueron retiradas durante el proceso de evaluación por los solicitantes.

Otra de las actividades fundamentales de la unidad PRAPeR son las tareas que le han sido asignadas a la EFSA de acuerdo con el Reglamento 396/2005[7] en relación con los residuos de pesticidas en alimentos. Estás tareas incluyen:

- la armonización de LMRs a nivel de la Unión
- la reevaluación del los LMR ya armonizados
- evaluación de las solicitudes de nuevos LMRs presentadas por los EMs
- compilación de los informes anuales de seguimiento de LMRs
- elaborar y mantener una base de datos accesible a la Comisión y los Estados Miembros.

En la actualidad, los LMR armonizados a nivel de la Unión Europea se refieren a 250 sustancias activas y se encuentran recogidos en 50 directivas diferentes. Existen 900 sustancias activas para las que no se disponen LMRs armonizados de las cuales solo unas 250 disponen LMR establecido en alguno de los Estados Miembros.

Como fase inicial del programa, basándose en los LMRs actualmente establecidos a nivel nacional, la EFSA debe realizar una determinación del riesgo sobre 350 diferentes productos de origen animal o vegetal. Ello supone además la consideración del las dietas representativas empleadas por los diferentes Estados Miembros y organismos internacionales para la determinación del riesgo para los consumidores (actualmente existen hasta 26 dietas para la evaluación de los efectos crónicos cubriendo la población en general y determinados grupos de riesgo).

La base de datos debe cubrir diferentes aspectos tales como los datos en las buenas prácticas agrícolas autorizadas, valores toxicológicos umbral y los datos en el procesado y los factores de concentración.

5. NOTAS Y REFERENCIAS

1. Reglamento (CE) No 178/2002 del Parlamento Europeo y del Consejo de 28 de enero de 2002 por el que se establecen los principios y los requisitos generales de la legislación alimentaria, se crea la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria y se fijan procedimientos relativos a la seguridad alimentaria. DOC L31, 1.2.2002.
2. Directiva 91/414/EEC del Consejo de 15 de julio de 1991 relativa a la comercialización de los productos fitosanitarios. (El texto consolidado con todas las directivas que modifican el texto original puede encontrarse en:

   http://europa.eu.int/eur-lex/en/consleg/pdf/1991/en_1991L0414_do_001.pdf)
3. Adscripción y una breve referencia biográfica de los miembros permanentes del Comité PPR:

   http://www.efsa.europa.eu/en/science/ppr/ppr_members.html
4. Reglamento (CE) nº 451/2000 de la Comisión de 28 de febrero de 2000 por el que se establecen las disposiciones de aplicación de la segunda y tercera fase del programa de trabajo contemplado en el apartado 2 del artículo 8 de la Directiva 91/414/CEE del Consejo

   (http://europa.eu.int/eur-lex/es/consleg/main/2000/es_2000R0451_index.html)
5. Reglamento (CE) nº 1490/2002 de la Comisión de 14 de agosto de 2002 por el que se establecen disposiciones adicionales de aplicación de la tercera fase del programa de trabajo contemplado en el apartado 2 del artículo 8 de la Directiva 91/414/CEE del Consejo, y por el que se modifica el Reglamento (CE) nº 451/2000.

   (http://europa.eu.int/eur-lex/es/consleg/main/2002/es_2002R1490_index.html)
6. Reglamento (CE) nº 2229/2004 de la Comisión de 3 de diciembre de 2004 por el que se establecen disposiciones adicionales de aplicación de la cuarta fase del programa de trabajo contemplado en el apartado 2 del artículo

8 de la Directiva 91/414/CEE.

   (http://europa.eu.int/eur-lex/lex/LexUriServ/site/es/oj/2004/l_379/l_37920041224es00130063.pdf)
7. Reglamento (CE) nº 396/2005 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 23 de febrero de 2005, relativo a los límites máximos de residuos de plaguicidas en alimentos y piensos de origen vegetal y animal. El texto completo puede encontrarse en: http:

   //eur-lex.europa.eu/LexUriServ/site/es/oj/2005/l_070/l_07020050316es00010016.pdf

SISTEMAS DE DIAGNÓSTICO A DISTANCIA EN SANIDAD VEGETAL.

Martín Miguel Acebedo Vaz
Ingeniero Agrónomo
Departamento de Lenguajes y Computación
Universidad de Almería.

RESUMEN.

Este artículo describe dos tipos de sistemas de ayuda al diagnóstico de plagas, dirigidos a técnicos y agricultores. El primero de ellos es un sistema dinámico donde se interconectan productores y diagnosticadotes (www.dddi.org). Este sistema es utilizado como soporte de imágenes y formularios que ilustran la situación real en campo. El segundo sistema opera con ofertas de información, datos, e imágenes recogidas en una interfaz que guía al usuario, a modo de tutorial, a localizar las posibles plagas que ocasionan unos síntomas similares a los observados en sus cultivos (www.juntadeandalucia.es/agriculturaypesca). Finalmente, se introduce como una línea de desarrollo futura, al diagnóstico 'automático' utilizando para ello técnicas de *visión artificial,* con escasa aplicación práctica en la actualidad.

INTRODUCCIÓN.

El punto de partida para el control de una plaga es sin lugar a dudas su correcto diagnóstico. Es este un punto crítico, especialmente cuando se quieren aplicar criterios y conceptos ecológicos para reducir las poblaciones del patógeno[1]. Basado en el diagnóstico fitosanitario es posible seleccionar las estrategias y tácticas de manejo más apropiadas en el entorno en el que se ha manifestado el problema.

El diagnóstico se puede definir como el arte científico de reconocer por observaciones, estudio o experimentación, la naturaleza de la causa de un problema y los factores que inciden en su desarrollo[2,3]. La emisión de un juicio acertado conlleva por tanto un análisis integral sobre la etiología del problema y los factores que lo favorecen. Este enfoque tiene gran aceptación en la actualidad, donde la protección del ambiente y la salud humana son una exigencia de primer orden, y la producción sostenible y los programas de manejo integrado (MIP) son incorporados a las políticas agrícolas a nivel mundial.

El diagnóstico se puede llevar a cabo a través de diferentes niveles, de acuerdo con su objetivo y la experiencia, recursos físicos y técnicos a disposición del profesional[4]:

1. Nivel de campo. Se puede realizar en condiciones precisas que permitan identificar la plaga por sus síntomas, distribución en el campo u otros factores. En este caso, la experiencia con el cultivo y sus plagas es fundamental. Muchos asistentes técnicos en cultivos específicos no sólo pueden identificar el problema principal, sino también otros de incidencia económica de menor relevancia.

2. Diagnóstico de confirmación. Cuando se presentan condiciones de campo que no permiten establecer la identidad de los organismos causales, es necesario reunir información de campo y recolectar muestras para análisis de laboratorio. Esto permite además de una clasificación más exacta y útil, la elaboración de las listas y mapas de distribución de plagas de una región.

Diferentes organismos o factores abióticos pueden ocasionar un síntoma similar en la planta; por lo tanto, se deben evitar los diagnósticos precipitados carentes de información. Cuando todos los rasgos característicos de la plaga no están presentes para llegar a un diagnóstico preciso, se puede dar un diagnóstico presuntivo, sujeto a una confirmación posterior.

3. Diagnóstico de nuevas plagas. En algunos casos, en especial con enfermedades, el agente causal del problema fitosanitario no es conocido, y se hace necesario iniciar un estudio interdisciplinario que permita determinar la naturaleza de la plaga y establecer la identidad exacta, con el fin de orientar su manejo.

Este nivel de diagnóstico exige en muchos casos la disponibilidad de equipos, la participación de diferentes especialistas y el tiempo necesario para realizar un estudio clínico minucioso y analizar las condiciones de campo en que se presenta el problema.

Tanto el diagnóstico de confirmación como la determinación de nuevas plagas requieren el uso de recursos, a veces no disponibles, y de tiempo. No

hay que olvidar que a pesar del esfuerzo de las Administraciones y empresas del sector agropecuario por dar soporte técnico y científico a los agricultores, numerosas zonas del ámbito rural quedan todavía lejos tanto en espacio como en posibilidades de estos servicios.

La realidad es que un agricultor que ve como sus cultivos están siendo afectados por una plaga no está dispuesto a esperar mucho tiempo para recibir un diagnóstico y consecuentemente unas estrategias para controlarla. De esta forma, ocurre en no pocas ocasiones, que aún cuando no se tiene conocimiento sobre la identidad de la plaga y las condiciones que le favorecen, se decide aplicar medidas de amplio espectro con la finalidad de acertar en su control, cayendo en el error de la "automedicación".

Actualmente el desarrollo de las nuevas tecnologías, y la creciente conectividad a banda ancha, posibilitan acercar información y conocimiento a zonas rurales aisladas. De esta forma técnicos y especialistas pueden establecer comunicaciones con usuarios que demandan la resolución de problemas en distintos ámbitos, entre los que se encuentra el agrario. Su implantación y correcto uso permitiría una importante reducción de la anteriormente denominada automedicación, motivada entre otros factores por el aislamiento al que se ven arrastrados muchos agricultores. Este es sin duda uno de los principales objetivos del Telediagnóstico de Plagas.

INICIOS DEL TELEDIAGNÓSTICO.

El Telediagnóstico tuvo sus inicios dentro del campo de la Telemedicina que se presentaba como el "uso de la Telecomunicación avanzada en el cuidado de la salud". Este tipo de servicio no implica investigación y desarrollo de nuevos procedimientos diagnósticos y/o terapéuticos, sino que posibilita la aplicación de éstos al mayor número de personas, especialmente a aquellas residentes en núcleos rurales o áreas sanitarias dispersas de países avanzados, o en aquellas otras zonas del Tercer Mundo, que dispongan de redes digitales de alta velocidad complementadas, en su caso, con enlaces vía satélite.

En 1988 Noruega inició su actual Programa de Telemedicina en tiempo real bajo la Red MegaNet, en banda de 2Kbps, hoy generalizado a todo el país bajo líneas ISDN, unas 10 veces más económicas, extendida también a Suecia donde se realizan frecuentes sesiones anatomoclínicas bajo el modelo de teleconferencia. Desde entonces y hasta hoy día son numerosas las redes creadas en prácticamente todos los países de la UE, con aplicación en cardiología, neumología, diabetes, etc.

Si bien, en los años 80 el coste de creación y mantenimiento de este tipo de redes estaba sólo justificado por la asistencia a la salud humana, actual-

mente es perfectamente aplicable a otros ámbitos. Así, son ya numerosas las empresas auxiliares que prestan servicios de telediagnóstico para el mantenimiento de los propios servicios o productos ofertados. De esta forma, la empresa mejora el grado de satisfacción del cliente asistido 'on line' por su servicio técnico, a la vez que reduce en un amplio porcentaje los costos de mantenimiento que tendría que soportar, lo cual redunda en una mejora del precio de venta y por tanto, en una ganancia en competitividad. Scaners, centrífugas y hasta impresoras que dejan de hacer bien su trabajo pueden ser telediagnosticadas y volver a estar operativas en un corto espacio de tiempo.

Introducidos en la sociedad de la información, caracterizada por la capacidad de sus miembros para obtener y compartir cualquier información, instantáneamente, desde cualquier lugar y en la forma que se prefiera[5]; la resolución de problemas y la transmisión de información necesaria para conseguirlo es la principal fuente de productividad[6]. El auge de este tipo de sociedad ha coincidido con la generalización del uso de Internet, tal y como ahora lo conocemos, momento que puede fijarse en el año1995. En aquel entonces, había 26 millones de usuarios en todo el mundo; en febrero del 2003, eran ya 677 millones. El Este asiático con 203 millones de usuarios encabeza el ranking, seguido de América del Norte con 186,5 millones y Europa Occidental con 180,5 millones. Cada día se generan mundialmente 31.000 millones de correos electrónicos; existen 35.864 millones de sitios web en el mundo. Un portal, como Terra Lycos, suministra diariamente 500 millones de páginas y cada mes tiene 110 millones de visitantes diferentes[7].

En el año 2000, la Unión Europea creó el Plan de acción eEurope[8], con el que se iniciaba la creación de una red de puntos de acceso público a Internet ubicados en espacios públicos, utilizando para ello los fondos estructurales. Sus actuaciones prioritarias se situaban en zonas rurales, aisladas, de más bajo desarrollo o con demografías muy específicas, cuyos ciudadanos, mayoritariamente agricultores, no debían verse discriminados frente a los de zonas urbanas de más fácil acceso a la red[9]. Una de estas actuaciones ha sido el programa Internet Rural, que en nuestro país quedó integrado en otro programa de mayor rango denominado España.es[10], aprobado el 11 de julio de 2003 por el Consejo de Ministros.

Con unos objetivos similares, la Junta de Andalucía puso en funcionamiento el programa GUADALINFO, con el que se inició en nuestra comunidad autónoma una Red de Centros de Acceso Público a Internet de Banda Ancha. La segunda fase del programa GUADALINFO[11] ha conectado a la Internet un total de 636 localidades con menos de 10.000 habitantes. Esto supone el 82% del total de municipios de toda Andalucía, y el 100% de los municipios 'marginales' en la Red, en lo que ha sido reconocido como el pro-

grama de universalización de las TIC's más ambicioso de cuantos se han puesto en marcha en España hasta la fecha.

Paralelamente al programa GUADALINFO ha venido desarrollando MERCURIO, otro programa que tiene como objetivo la extensión de la banda ancha en la geografía andaluza, dirigido en esta ocasión a las empresas que por su localización no tienen acceso a esta tecnología.

Cabe concluir, que existen actualmente infraestructuras suficientes para suministrar y recibir datos en el ámbito rural, con un costo reducido y una seguridad alta. Aprovechar esta ventajosa situación que nos ofrecen las tecnologías de la comunicación queda por tanto en manos de las iniciativas que se generen, no existiendo límites severos al desarrollo de sistemas de información dirigidos al apoyo del sector primario.

SISTEMA PARA EL DIAGNOSTICO A DISTANCIA DE PLAGAS. UNIVERSIDAD DE GEORGIA (USA).

El Diagnóstico a Distancia a través de Imágenes Digitales (DDDI por sus siglas en ingles) posibilita una comunicación rápida y metodológica entre expertos en diagnósticos y personas que necesitan de diagnósticos precisos y rápidos para solucionar problemas agrícolas causados por enfermedades, insectos y otros factores ambientales destructivos.

DDDI es un sistema basado en una red que permite el envío y gestión de múltiples imágenes y textos entre usuarios (agricultores y extensionistas) y especialistas en el diagnóstico del área en el que se haya clasificado la información enviada. Los especialistas evalúan las muestras y proveen diagnósticos, identi_caciones y recomendaciones precisas. Por correo electrónico se envía el comentario del especialista al usuario que envió la muestra inicialmente. Estas evaluaciones precisas están al alcance de los clientes en cuestión de minutos, otorgando respuestas rápidas y facilitando el control de agentes potencialmente peligrosos.

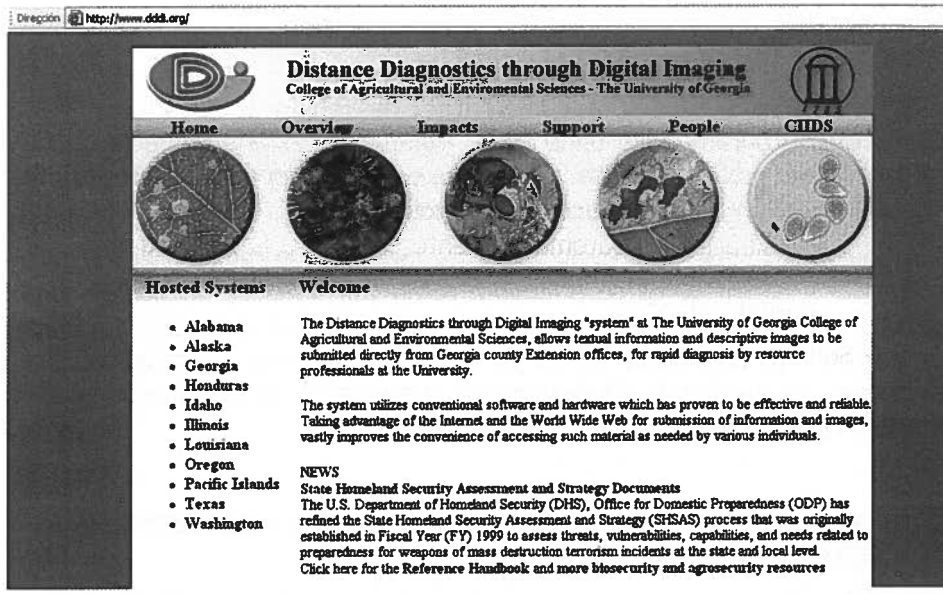


Figura 1. Página principal de la Web desarrollada por la Universidad de Georgia.

¿Cómo funciona el diagnóstico a distancia?

- Agentes de campo:

  Un técnico o un agricultor se encuentra con un problema agronómico (ej. Plantas con frutos deformados, presencia de manchas, etc).

- Cámaras Digitales:

  Se toman múltiples fotografías con una cámara digital del problema identificado. El uso de imágines digitales evita que las muestras del problema en cuestión no se deteriore debido al clima o transporte. Las cámaras digitales han sido adaptadas efectivamente a lentes y microscopios para tener como resultado una imágen digital completamente detallada (figura 2).

- Formatos en la red:

  Imágenes y textos que describen el problema son enviadas como muestras utilizando formatos específicos que permiten a los agentes de campo proporcionar suficiente información de soporte.

- Selección de los expertos:

  Una matriz predefinida es responsable de identificar automáticamente al especialista más cualificado para evaluar la muestra. El DDDI automáticamente envía un correo electrónico al especialista solicitándole que estudie la muestra enviada. Si el especialista no

ha contestado en un cierto tiempo, el sistema reenvía las muestras para que la solicitud sea atendida en un corto espacio de tiempo por otro especialista.

- Evaluación:

  Los especialistas revisan las muestras y proporcionan un diagnóstico, recomendación y comentarios. Un correo electrónico con toda la evaluación es automáticamente enviado a la persona que envío la solicitud originalmente, y está accesible a través de la pagina en Internet del DDDI.

- Solución del problema:

  La evaluación y recomendaciones de los especialistas son compartidos con clientes de tal manera que los problemas pueden ser atendidos rápidamente, disminuyendo el potencial de daño.

Figura 2. Equipo completo para la captura, procesado y envío de imágenes.

Este sistema, por sencillo que pueda parecer reportó en los dos primeros años de funcionamiento un ahorro de alrededor de $17 millones, según estudios de los agentes de extensión de la Universidad de Georgia. Además de la reducción de costos en los servicios, existen otros motivos que justifican la implementación de este tipo de sistemas. ¿Por qué usar un DDDI?:

- Calidad: No distorsión de las muestras físicas.
- Rapidez: Las muestras son enviadas al sistema; se evalúan, y, las recomendaciones son enviadas a la persona que envío originalmente la solicitud dentro de horas o minutos, no en días.
- Evaluación de expertos: Una matriz es la responsable de hacer un diagnóstico previo y elegir al especialista adecuado automáticamente.
- Sin límites geográficos: El acceso a muestras está disponible las 24 horas y los 7 días de la semana. Los especialistas, quienes evalúan las muestras, no necesitan estar en el laboratorio para hacer recomendaciones.
- Bio-seguridad: Identificación inmediata de bio-seguridad potencial, agro- seguridad, y amenazas invasoras.
- Reducción de pérdidas de cosechas: El diagnóstico rápido y las recomendaciones de especialistas permiten controlar el problema de forma eficaz, no danto lugar a que se disemine.
- Tendencia o Seguimiento: Un historial de archivos de las muestras ayuda a identificar problemas emergentes.
- Alcance y aplicación: Es una realidad que no todo agricultor puede disponer de un especialista, pero si es posible tener un especialista para muchos agricultores.
- Seguridad: El sistema de usuarios y claves de acceso indican que el sistema es utilizado sólo por personal autorizado.

Una herramienta DDDI será tanto más poderosa y útil cuanto mayor sea su alcance y el soporte de la red de investigación. También puede ser vista como una herramienta excepcional de aprendizaje, cuando un problema es identificado, es posible compartir una representación gráfica con otros quienes pudieran tener el mismo problema.

HERRAMIENTA WEB DE AYUDA AL DIAGNOSTICO. UNIVERSIDAD DE ALMERÍA - DIRECCIÓN GENERAL DE LA PRODUCCIÓN AGRARIA.

A diferencia del DDDI, la herramienta desarrollada por el grupo de investigación TIC-181 de la Universidad de Almería para la Dirección General de la Producción Agraria de la Junta de Andalucía, facilita información para la identificación de las plagas que afectan a los principales cultivos de nuestra comunidad autónoma, sin que intervengan diagnosticadores. Las aplicaciones Web aportan además información adicional sobre los medios de control:

medidas preventivas y culturales, organismos de control biológico y productos fitosanitarios, con las que se completan y potencian un servicio más amplio.

La Web: www.juntadeandalucia.es/agriculturaypesca alberga información sobre un total de 55 especies de artrópodos, 39 especies de hongos, 11 especies de bacterias y 22 virus que afectan en la actualidad a: olivo, naranjo, mandarino, limonero, vid, almendro, fresa, tomate, pimiento, berenjena, judía verde, calabacín, pepino, melón y sandía. La información se oferta bajo consultas dinámicas accesibles desde cuatro ventanas diferentes que se corresponden con la descripción genérica de la plaga, su biología, los daños y síntomas que ocasionan a los diferentes órganos de los cultivos y los distintos métodos de control de los que se disponene, como se muestra en la figura 3.

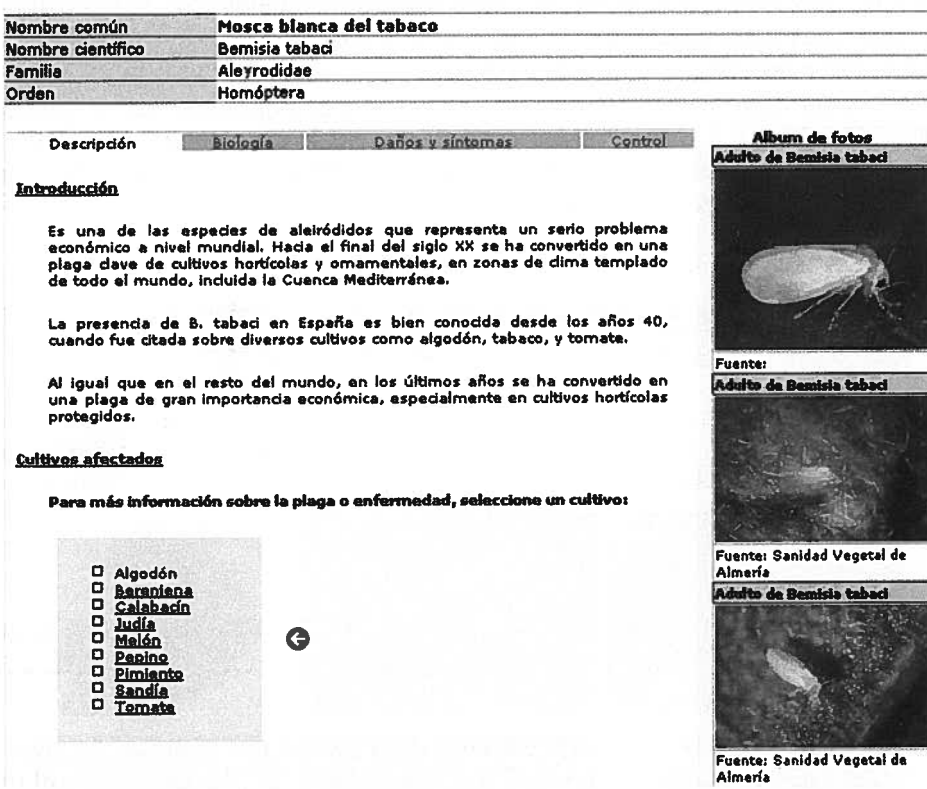


Figura 3. Página Web con la descripción de Bemisia tabaci. Acceso a información sobre daños y control en distintos cultivos a los que puede afectar.

http://www.juntadeandalucia.es/agriculturaypesca/DGPAgraria/agentes/listado.cultivo.do

Se incluyen en la Web 3000 imágenes digitales que ilustran a las principales plagas, y que sirven de apoyo para las aplicaciones de ayuda al diagnóstico, gracias a las cuales partiendo de síntomas en hojas, frutos, etc., puede llegarse a conocer que plagas ocasionan tales daños y aprender a controlarlas. El diseño de la interfaz permite que siguiendo las instrucciones, y eligiendo las descripciones que se correspondan con los síntomas que se han observado en el cultivo, pueda accederse a un listado de posibles agentes perjudiciales inventariados como origen de los daños descritos.

La dinámica de consultas se inicia en la selección del cultivo en el que se ha detectado la presencia de plagas o síntomas de ataques de éstas. Elegido el cultivo, la aplicación pide que se escoja el grado de desarrollo de la planta (planta adulta o planta en desarrollo) y la zona u órgano en la que se ha detectado la presencia o sintomatología (figura 4). A continuación la Web muestra un listado de síntomas que han sido catalogados para el cultivo y la zona afectada, y que conducen mediante enlaces dinámicos a las posibles plagas causantes. Las imágenes que ilustran los síntomas, ayudan al usuario a poder establecer una comparativa con lo que él está viendo en campo y así poder determinar si la relación es o no clara. Lógicamente, los resultados obtenidos a partir de estas consultas poseen un carácter meramente informativo. Su confirmación debe realizarse mediante los preceptivos análisis en laboratorios acreditados.

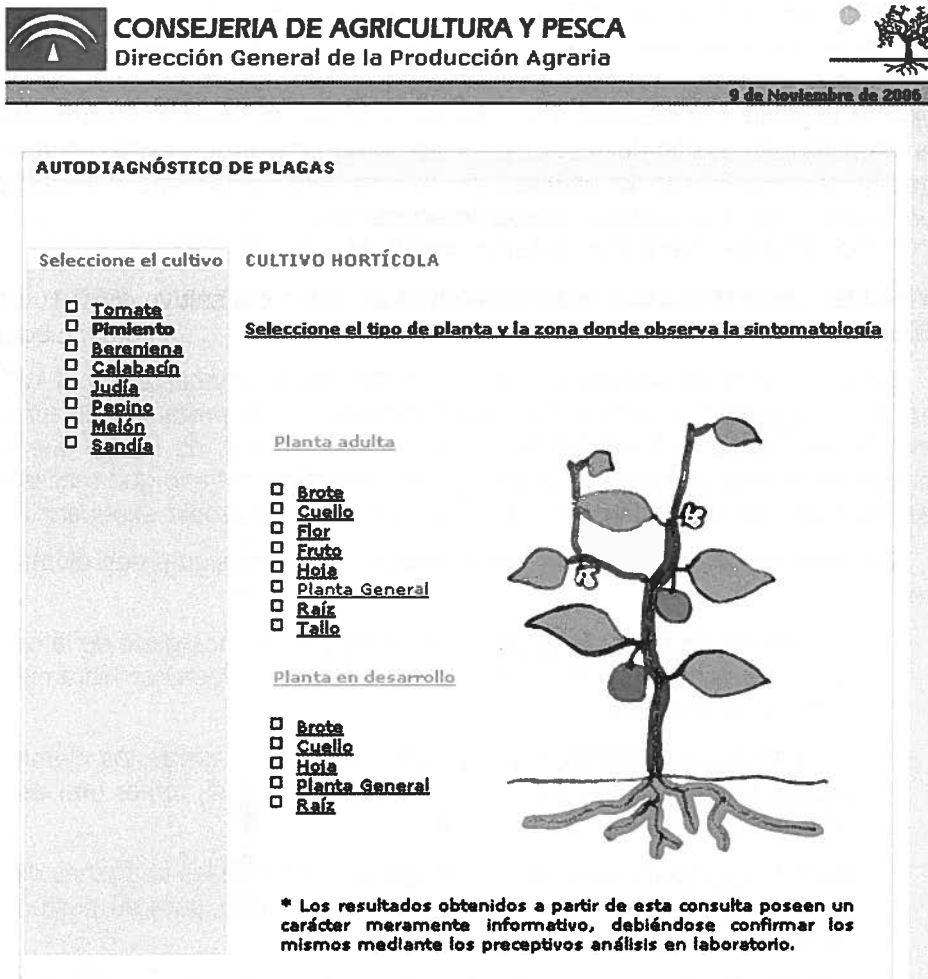


Figura 4. Herramienta para el diagnóstico de plagas.

Hortícolas http://www.juntadeandalucia.es/agriculturaypesca/DGPAgraria/agentes/diagnostico.horticola.do

Leñosos http://www.juntadeandalucia.es/agriculturaypesca/DGPAgraria/agentes/diagnostico.lenoso.do

Los principales beneficios que se derivan de esta aplicación, es una distribución y acceso fácil y flexible a la información actualizada sobre las distintas plagas y medios para su control. Con estas herramientas, técnicos de la administración, de Cooperativas agrarias, Agrupaciones de Producción Integrada, y otras empresas del sector, pueden acceder a los conocimientos y aplicarlos con la seguridad y el respaldo de técnicos especialistas en las

distintas materias. Aunque no es su finalidad principal, este tipo de servicio facilita la formación de técnicos y agricultores, y con ello contribuye a reducir las probabilidades de aparición de residuos en frutos, intoxicaciones de operarios y daños colaterales a la naturaleza. El uso de estas tecnologías de la información y las comunicaciones desde la Administración evita, además, que la información sea un privilegio de determinadas empresas, generando un bien público a disposición del sector productor.

VISIÓN ARTIFICIAL. HERRAMIENTA DE FUTURO PARA EL DIAGNÓSTICO DE PLAGAS.

La visión artificial intenta emular a la visión humana abarcando el conjunto de procesos de obtención, caracterización e interpretación de información de imágenes tomadas del mundo tridimensional, de forma que se pueda interpretar una escena real con la máxima similitud a lo que realiza el ser humano con el sentido de la vista, su cerebro y su propia experiencia.

Un sistema de visión típico está constituido por los siguientes elementos[12]:

- Subsistema de adquisición de las imágenes. Es el encargado de la captación de la escena y de su digitalización para su posterior tratamiento en un computador
- Subsistema de procesamiento de datos. Analiza y extrae los elementos que la componen para poder indentificarlos y así, tomar una decisión al interpretarla.
- Sistema de almacenamiento de imágenes. Copia de las imágenes digitalizadas y convertidas a un formato comprensible, para su posterior tratamiento.
- Sistema de visualización. Muestra el resultado del tratamiento de las imagenes en formato visual, para humanos.

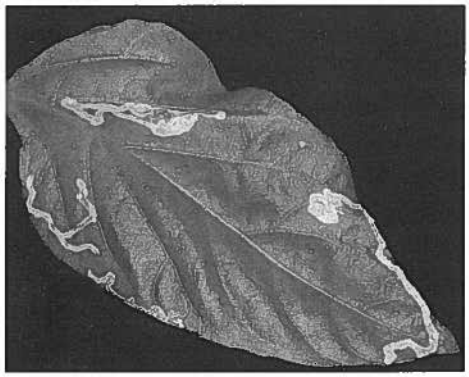
Obviamente todos estos elementos deben estar conectados entre sí en un sistema de comunicaciones.

No existen muchas aplicaciones prácticas vinculadas directamente al diagnóstico de plagas, aunque sí a otros aspectos de la producción agrícola. Así por ejemplo, este tipo de técnicas se están utilizando con notable éxito en la clasificación e inspección de frutos[13], control de calidad de la germinación y crecimiento de las plántulas en semilleros, localización de frutos para la recolección robotizada, medida online del índice de área foliar en invernaderos, clasificación de granos de cereales, etc. En el caso de la identificación de plagas su utilización puede ser inmediata para el análisis de determinados síntomas obtenidos de la simple inspección visual de las plan-

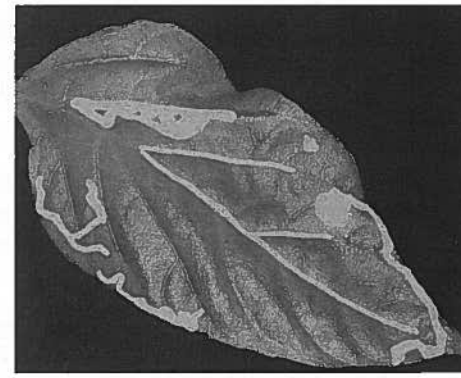
tas. Por ejemplo, en la figura 5, puede observarse fácilmente que la planta de pimiento está sufriendo el ataque de una especie plaga minadora de hojas. Si se aplicara la visión artificial para una identificación automática de la plaga, el sistema tendría que realizar las siguientes fases:

a Imagen original

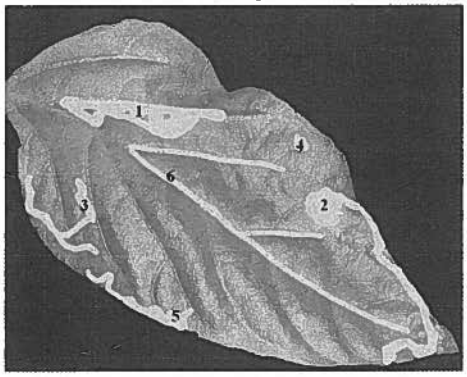
b Separación de planta respecto a lfondo



c. Identificación de hoja



d. Localización de estructuras en hojas



e. Identificación de estructuras

ESTRUCTURA	ÁREA	DIÁMETRO	ASPECTO	COMPACIDAD	DELGADEZ
1	699	490	1.42653061	0,70100143	343,490701
2	621	532	1.16729323	0,85658277	455,755233
3	226	191	1.18324604	0,84513274	161,420354
4	56	24	2.33333333	0,42857143	10,2857143
5	345	389	1.19377163	0,83768116	244,089855
6	618	599	1.03171953	0,96925566	580,584142

Figura 5. Identificación de plagas y enfermedades mediante visión artificial

1. Obtención de la imagen mediante una cámara CCD.

2. Extracción de hojas de la imagen. Una acción posible es mediante la identificación de los píxeles de color verde y marcando los píxeles de otro color, por ejemplo, en negro. Las imágenes capturadas en RGB se componen de tres colores básicos: Rojo (Red), Verde (Green) y Azul (Blue). La combinación de estos tres colores produce el color definitivo de cada píxel. Por tanto, cualquier píxel presente en la imagen está formado por la combinación de tres valores que oscilan entre 0 y 255 (8 bits). Para diferenciar si un píxel es verde se toman sus tres componentes RGB y se comprueba que el valor de la componente G (Verde) sea mayor que el valor de la componente R (Rojo) y que el valor de la componente B (Azul). Es decir, un píxel es verde si su proporción de verde es mayor que su proporción de azul y de rojo. Otra posibilidad consiste en la detección de bordes que intentan localizar fuertes cambios en la función imagen basándose en la discontinuidad entre los objetos y el fondo.

3. De cada una de esas estructuras verdes se extraen sus características: área, perímetro, relación de aspecto, delgadez, excentricidad o compacidad para separar hojas de tallos y resto de elementos de color verde.

4. Una vez que se han localizado las hojas, se analizan cada una por separado identificándose estructuras en su superficie mediante técnicas de segmentación de detección de bordes o identificación de umbrales por color.

5. De cada una de esas estructuras se vuelven a extraer sus características físicas (área, perímetro, etc.) para determinar si son o no estructuras alargadas, realizando un conteo del número de píxeles verdes presentes en cada una de ellas.

6. Reconocimiento de esas estructuras presentes en las hojas mediante técnicas de coincidencia de plantilla, que consisten en un subconjunto de técnicas estadísticas que sirven para clasificar los objetos de una imagen dentro de las categorías predeterminadas (reconocimiento de patrones). El problema básico de la coincidencia de plantilla radica en comparar el elemento con un conjunto de características del modelo almacenado, definido como modelo de plantilla o patrón. Este último patrón se obtiene durante el procedimiento de adiestramiento en el que el sistema de visión se programa para reconocer los elementos prototipos conocidos. El procedimiento se basa en la utilización de un número suficiente de características para minimizar la frecuencia de errores en el proceso de clasificación. Las características

del elemento en la imagen (área, diámetro, relación de aspecto, color, número de agujeros, etc) se comparan con los valores correspondientes almacenados, que constituyen la plantilla o patrón. Cuando se encuentra una coincidencia, permitiéndose determinadas variaciones estadísticas en el proceso de comparación, entonces el elemento ha sido clasificado de forma adecuada. En esta fase hay que distinguir entre los nervios y las venas de las hojas y estructuras que no lo sean.

7. A partir de las estructuras que se encuentran en las hojas que no son nervios de las mismas, se clasifica la sintomatología que la plaga o enfermedad ha ocasionado, y se le asigna el agente causal. En esta ocasión, el diagnosticador sería un programa informático y su fiabilidad sería tanto mayor cuanto mejores sean las plantillas y los algoritmos utilizados.

El uso de la visión artificial en el seguimiento del desarrollo de los cultivos está comenzando a introducirse gracias a la posibilidad de monitorear mediante cámaras digitales un número de plantas representativas de una plantación. Obviamente, y al margen de los límites puramente informáticos, existen otras limitaciones como son los sistemas de comunicación, la alimentación de las cámaras, etc. El ejemplo recogido pretende ilustrar las posibilidades que se abren gracias a las nuevas tecnologías, si bien, la aplicación de la visión artificial para el diagnóstico de plagas, sigue estando peldaños por debajo respecto al desarrollo y aplicación de los sistemas de información y diagnóstico descritos anteriormente.

CONCLUSIONES.

- Los sistemas descritos facilitan el diagnóstico de plagas a distancia siguiendo los criterios del tradicional diagnóstico de campo. Su utilidad decrece cuando resulta necesaria la confirmación en laboratorio, si bien pueden contribuir a reducir el número de muestras que necesitan ser analizadas.
- Entre otras ventajas para los usuarios de este tipo de herramientas cabe citar: la rapidez, comodidad y facilidad para obtener el diagnóstico, el acceso 'online' a diagnosticadores o sistemas expertos, y la potencial reducción de pérdidas de cosechas de los cultivos que permite un diagnóstico rápido y unas medidas de control efectivas.
- Cuando el grado de participación es alta en estos sistemas, además de agricultores y técnicos, también se benefician las Administraciones públicas, ya que les permite conocer con un bajo coste la situación fitosanitaria de los cultivos.

- Todos estos sistemas que facilitan el diagnóstico a distancia son, en sí mismos, una manera nueva de abordar problemas antiguos, tan antiguos como las plagas de los cultivos.

REFERENCIAS.

1 BUSTAMANTE, E. 1988. Importancia de diagnóstico y la organización de los recursos en Centro América. In Reunión de la Red Regional de Diagnóstico Vegetal de Plagas. Memorias. Ed. Turrialba, Costa Rica. CATIE/MIP. Serie Técnica. Informe Técnico. No. 139.

2 GROGAN, R.G. 1981. The science and art of plant disease diagnosis. Ann. Rev. Phytopathol. 19:333-51 pp.

3 STREETS, R.B. 1972. The diagnosis of plant diseases. Tucson, The University of Arizona Press, 236 pp.

4 M. C. SHURTLEFF and C. W. AVERRE. 1997. The Plant Disease Clinic and Field Diagnosis of Abiotic Diseases. St Paul, MN, USA: APS Press, 242 pp.

5 Extracto de la Cumbre Mundial sobre la Sociedad de la Información (CMSI). Segunda Fase. Túnez 2005.

6 Un proyecto, diez iniciativas y cien medidas para la Segunda Modernización de Andalucía. Consejo de Gobierno de la Junta de Andalucía. 9 de diciembre de 2003, 16 pp.

7 Estrategias y Propuestas para la Segunda Modernización de Andalucía. Consejo asesor para la II Modernización de Andalucía. 2003.

8 e-Europe 2005: Una sociedad de la información para todos. Comisión de las Comunidades Europeas. Comunicación de la Comisión al Consejo, al Parlamento Europeo, al Comité Económico y Social y al Comité de las Regiones. Bruselas, 28.5.2002. Com (2002) 263 final, 25 pp.

9 Resultados de la reunión informal de Ministros de Telecomunicaciones y Sociedad de la Información. Documento de la Presidencia de la Unión Europea. Vitoria, 22-23 de febrero de 2002.

10 España.es. Programa de Actuaciones para el Desarrollo de la Sociedad de la Información en España. Ministerio de Ciencia y Tecnología. 11 de julio de 2003, 103 pp.

11 Centros Guadalinfo. 2005. Consejería de Innovación, Ciencia y Empresa. Junta de Andalucía. Abril 2005, 17pp.

12 RODRÍGUEZ, F., BERENGUEL, M. 2004. Control y robótica en agricultura. Monografías de Ciencia y Tecnología. Servicio de publicaciones de la Universidad de Almería. Almería (España), 433 pp.

13 FLORES, F; RODRIGUEZ, F; BIENVENIDO, J.F. 1999. Reconocimiento de colores y formas en procesos de recolección y postrecolección de productos hortícolas. III Congreso de usuarios de Matlab, Proc. Madrid (España), 427-431 pp.

PONENCIAS COMERCIALES

NUEVO FUNGICIDA PARA CEREAL Y REMOLACHA

José Luis Robles
Jefe de Producto
BAYER CorpScience. S.L.

INTRODUCCIÓN

Escolta es un nuevo fungicida destinado al control de diversas enfermedades criptogámicas en cereal (septoria, oidio, royas) y remolacha (oidio, cercospora y roya).

La composición del producto es 375 gr/L de trifloxistrobin y 160 gr/L de ciproconazol y se formula como suspensión concentrada.

Escolta está registrado para su uso en cereales (trigos y cebadas) y en remolacha.

Está registrado en Europa en países como Francia para los cultivos de trigo, cebada, centeno, triticale y remolacha, y para el conjunto de enfermedades como Oidios, Royas, Septoria, Rhyncosporiosis, Fusarium en espiga en cereales y para Oidio, Roya y Cercospora en remolacha azucarera.

escolta
el guardián de tu cultivo

CARATERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DE AMBOS COMPONENTES

Trifloxistrobin

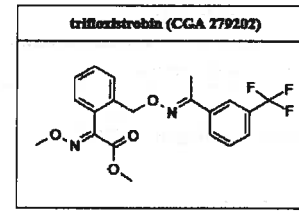
Nombre ISO (propuesta)	trifloxistrobin
Código de experimentación	CGA 279 202
Nombre químico (IUPAC)	(E,E)-methoxyimino-{2-[1-(3-trifluoromethyl-phenyl)-ethylideneaminooxymethyl]-phenyl}-acetic acid methyl ether
Familia química	oxiiminoacetato
Nº CAS	141517-21-7
Fórmula química	$C_{20}H_{19}F_3N_2O_4$
Peso molecular	408,4
Apariencia	Polvo blanquecino
Punto de fusión	72.9 °C
Tensión de vapor (25°C)	$3,4x10^{-4}$ Pa
Coeficiente de reparto octanol/agua (25°C)	LogPow = 4,5
Solubilidad en agua (25°C)	0,61 mg/L (sin influencia del pH)
Solubilidad en solventes orgánicos:	
acetona	>500 mg/L
diclorometano	>500 mg/L
acetato de etilo	>500 mg/L
tolueno	500 mg/L
hexano	11 g/L
metanol	75 g/L
octanol	18 g/L

Ciproconazol

Nombre ISO	ciproconazol
Código de experimentación	SAN 619F ó CGA 221 949
Nombre químico (IUPAC)	(2RS,3RS,2RS,3RS)-2-(4-chlorophenyl)-3-cyclopropyl-1(H-1,2,4-triazole-1-yl)-butan-2-ol
Familia química	triazol
Nº CAS	113096-99-4
Formula química	$C_{15}H_{16}ClN_3O$
Peso molecular	291,78
Apariencia	Sólido beige claro
Punto de fusión	106-109 °C
Tensión de vapor (25°C)	$3,5x10^{-5}$ Pa
Coeficiente de reparto octanol/agua (22°C)	LogPow = 2,9 a pH 7
Solubilidad en agua (20°C)	93 (+/-18) mg/L a pH 7,1
Solubilidad en solventes orgánicos :	Soluble en la mayoría de solventes orgánicos

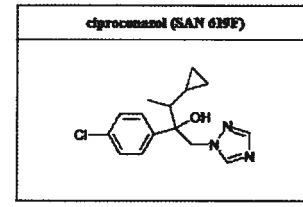
CARACTERÍSTICAS DE SUS COMPONENTES

Trifloxistrobin:



- Pertenece a la familia de las estrobilurinas.
- Actúa inhibiendo la germinación de esporas y el crecimiento del tubo germinativo. Esta sustancia activa impide el proceso de infección primario, por lo que presenta una marcada acción preventiva. Afecta al crecimiento del micelio, la formación de haustorios, y la esporulación.
- Posee actividad sobre numerosos hongos fitopatógenos pertenecientes a los ascomicetos, deuteromicetos, basidiomicetos y oomicetos.
- Presenta una acción **mesostemica**, es decir que posee una fuerte afinidad por la superficie vegetal y es fijado por la cutícula cerosa, redistribuyéndose localmente por la superficie vegetal en fase de vapor. Penetra en los tejidos de modo translaminar, aunque no es transportado por el sistema vascular de la planta.

Ciproconazol:



- Pertenece a la familia de los triazoles.
- Es activo tanto en la fase de penetración del hongo, como en la de colonización y propagación, por ello presenta una acción preventiva y curativa.
- Actúa inhibiendo la síntesis del ergosterol.
- Presenta una acción sistémica ascendente y descendente, además de movimiento translaminar y lateral.
- Es activo contra ascomicetos (oidio y cercospora) y basidiomicetos (royas).

• La combinación de ambas materias activas en el formulado ESCOLTA, presenta una acción sinérgica con las siguientes ventajas:

- Elevada eficacia frente a las enfermedades objeto.
- Buena persistencia.
- Gran regularidad en los resultados.
- Efecto preventivo, curativo y erradicante.
- Dos modos de acción diferentes que minimizan el riesgo de aparición de resistencias.

ORGANISMOS A CONTROLAR

Cereal:

Escolta es activo contra los principales patógenos del complejo de hongos que actúan en el cereal. Entre los hongos más frecuentes que afectan a los cereales en España podemos destacar:

- OIDIO (Erisiphe graminis): el síntoma característico es una borra blanquecina, siendo conveniente un control temprano para evitar en daños que derivan en importantes pérdidas de rendimiento.
- SEPTORIOSIS (Septoria tritici): afecta especialmente al trigo y produce pérdidas muy severas de cosecha.
- ROYAS (Puccinia sp): se caracteriza por la aparición de pústulas amarillentas, anaranjadas ó pardas. Produce importantes pérdidas de rendimiento.
- Otros: rincosporiosis, fusarium, helminthosporium, pseudocercosporella.

Remolacha:

Los principales hongos que actúan en la remolacha y que producen importantes pérdidas de cosecha y calidad son:

- OIDIO (Erisiphe betae)
- CERCOSPORA (Cercospora beticola)
- ROYAS (Uromyces betae).

Aplicaciones Autorizadas:

TRIGO: contra oidio (Erysiphe graminis), royas (Puccinia sp) y septoria (septoria sp) a dosis de 0,2 a 0,35 L/Ha.

CEBADA: contra oidio (Erysiphe graminis), royas (Puccinia sp) a dosis de 0,2 a 0,35 L/Ha.

REMOLACHA: contra oidio (Erysiphe betae), roya (Uromyces betae) y cercospora (cercospora beticola) a dosis de 0,3 a 0,35 L/Ha.

Está autorizado realizar una aplicación por campaña en cereales y hasta tres en remolacha azucarera espaciados 21 días.

Escolta se ha mostrado plenamente selectivo de todas las variedades de trigos duros, trigos blandos y cebadas, así como de todas las variedades de remolacha azucarera.

La aplicación de Escolta en estos cultivos manifiesta además un notable incremento en el rendimiento.

Escolta no tiene efectos sobre cultivos siguientes en la rotación ó sobre cultivos colindantes, asimismo tampoco se han detectado ningún tipo de efectos sobre organismos no objetivo.

El plazo de seguridad entre la aplicación del producto y la cosecha ó la entrada de ganados debe ser 35 días en cereal y 21 días en remolacha.

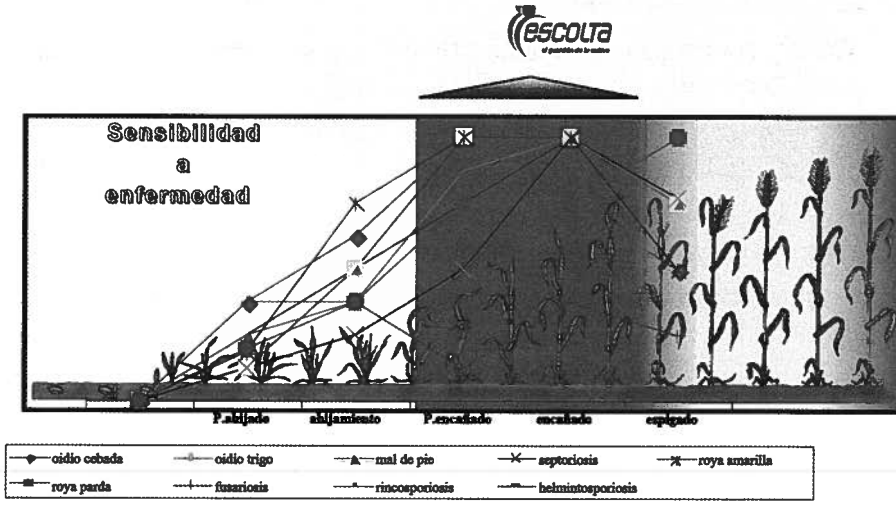
ESCOLTA en Cereales:

Escolta aplicado en cereales presenta las siguientes características:

- Control de oidio, royas y septoria.
- Acción preventiva, curativa y erradicante.
- Rápida absorción (en 2 horas está absorbido el 80% del producto).
- Persistencia de acción.
- Efecto verde.
- Efecto positivo sobre el rendimiento.

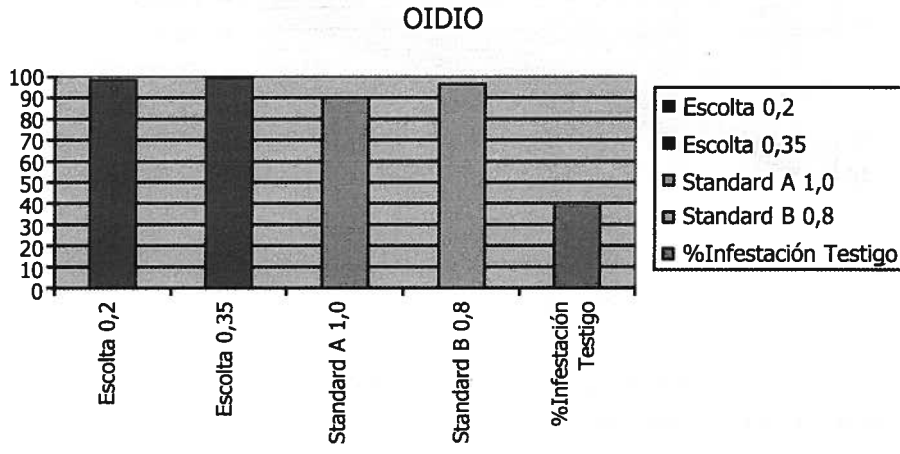
Posicionamiento del producto:

Se recomienda de forma general una aplicación con Escolta a la dosis de 350 cc/ha para el control de las principales enfermedades que afectan al cereal sobre las que tiene acción, siendo el momento idóneo de tratamiento cuando se produce la máxima sensibilidad del cultivo a las mismas, lo cual sucede entre el momento de aparición de la la hoja bandera y el despliegue de la misma (37 BBCH / 41 BBCH)

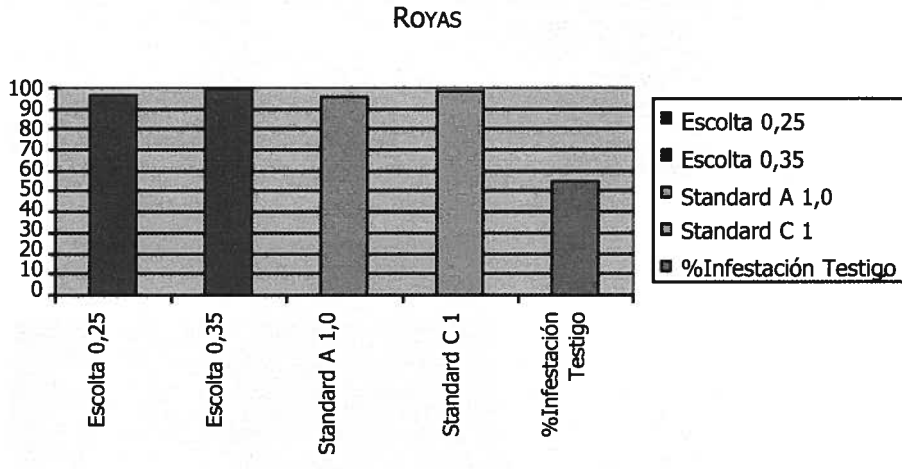


A continuación se indican los datos de ensayos y demostrativos con el producto realizados por Bayer Cropscience en las últimas campañas:

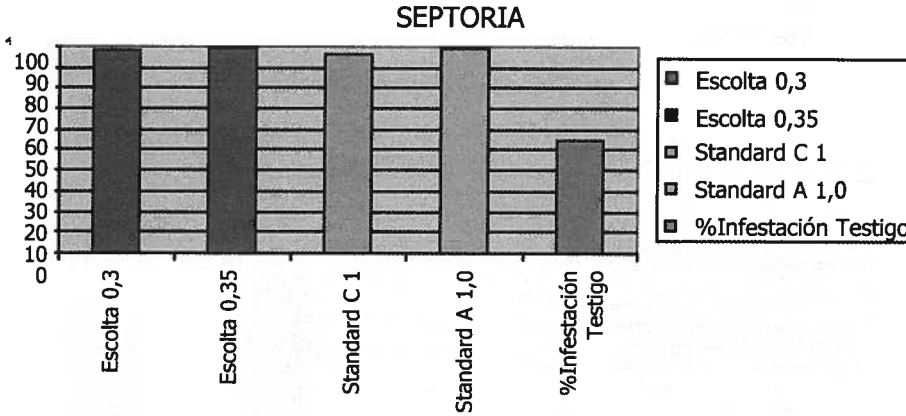
- Resultados contra oidio en trigo y cebada (media de ensayos realizados entre 2003-2006)



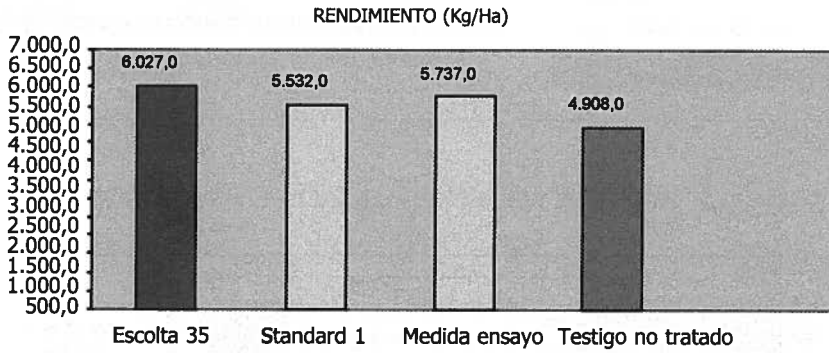
- Resultados contra Puccinia sp (royas) en trigo y cebada (media de ensayos realizados entre 2003-2006)

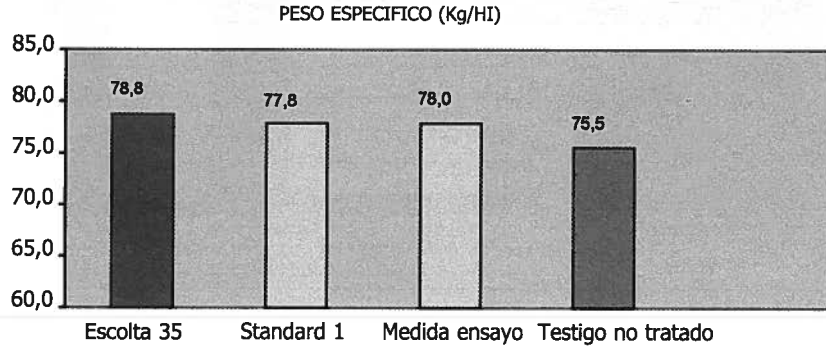


- Resultados contra Septoria tritici en trigo duro (media de ensayos realizados entre 2003-2006)



A continuación se expone una selección de los resultados de los ensayos realizados por la Agrupación Cordobesa de agricultores SAT 5185 en la campaña 2005-2006.

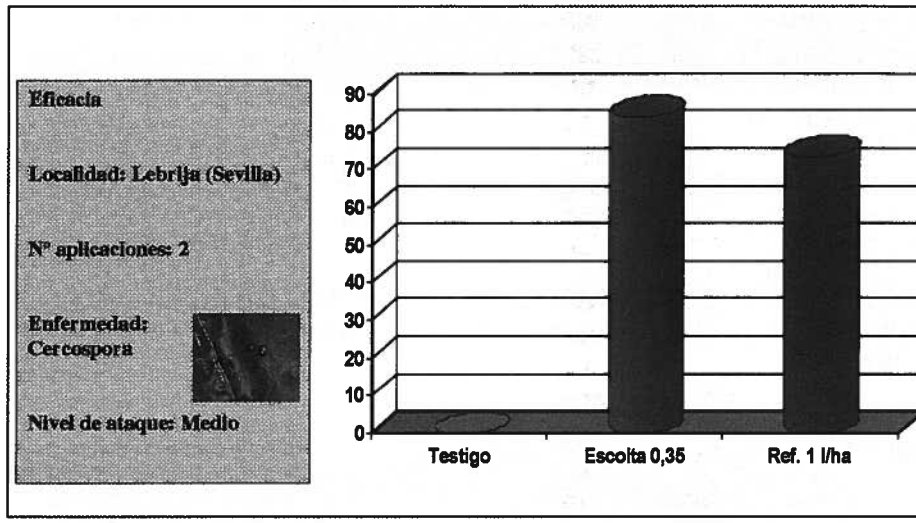




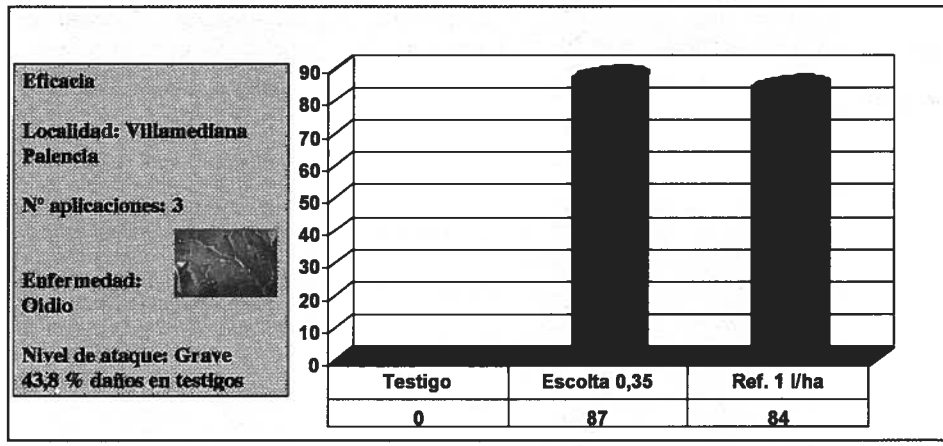
En conclusión, todos los ensayos corroboran la excelente eficacia de Escolta para el control de las enfermedades del cereal, así como certifican el incremento de rendimiento que se produce con la aplicación del producto.

Remolacha: Ensayos de Eficacia – Efecto Rendimiento

- Ensayos realizados por AIMCRA en 2005 – Eficacia en Cercospora



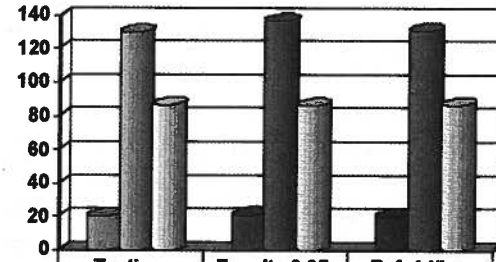
- Ensayos realizados por AIMCRA en 2005 – Eficacia sobre Oidio :



T azucar/ha, IEA, VTIR

Localidad: Villameddiana
Palencia
Nº aplicaciones: 3

Ebfermedad:
Oidio
Nivel de ataque: Grave



	Testigo	Escolta 0,35	Ref. 1 l/ha
t azucar/ha	20,28	21,09	20,37
IEA	130,42	137	131,5
VTIR	87	86,46	87,2

IEA: Índice económico del agricultor= tonelads a 16º

VITIR: Valor tecnológico industrial: % de azucar extraido sobre el potencial extraible

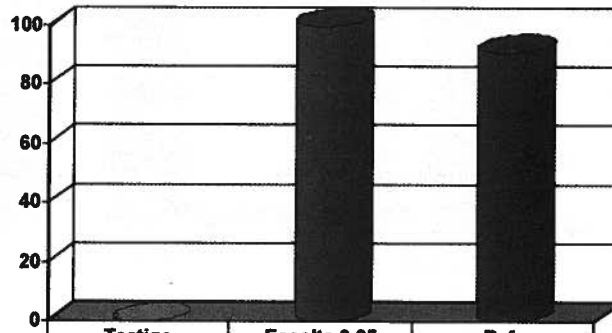
- Ensayos realizados por Bayer Cropscience – Eficacia sobre Roya :

Eficacia

Localidad: Brenes Sevilla
Nº aplicaciones: 3

Ebfermedad:
Roya

Nivel de ataque: Grave
20-40% daños en testigos

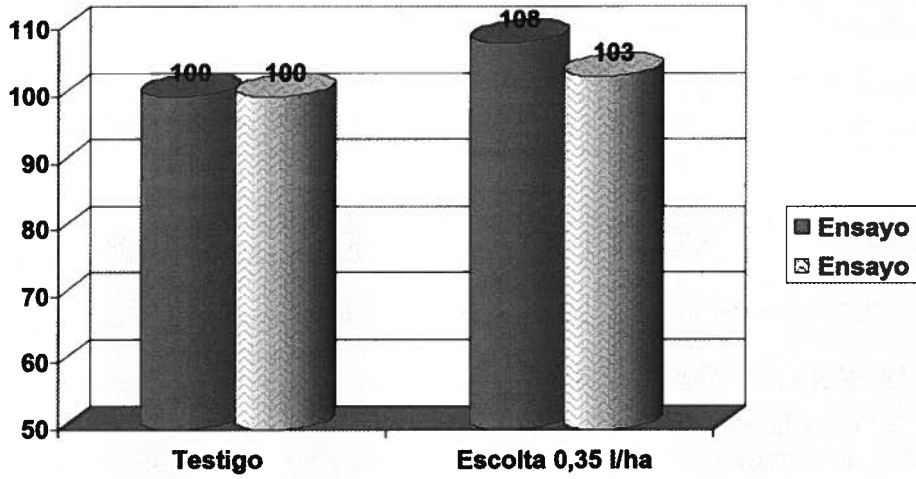


Testigo	Escolta 0,35	Ref.
0	100	91

RENDIMIENTO

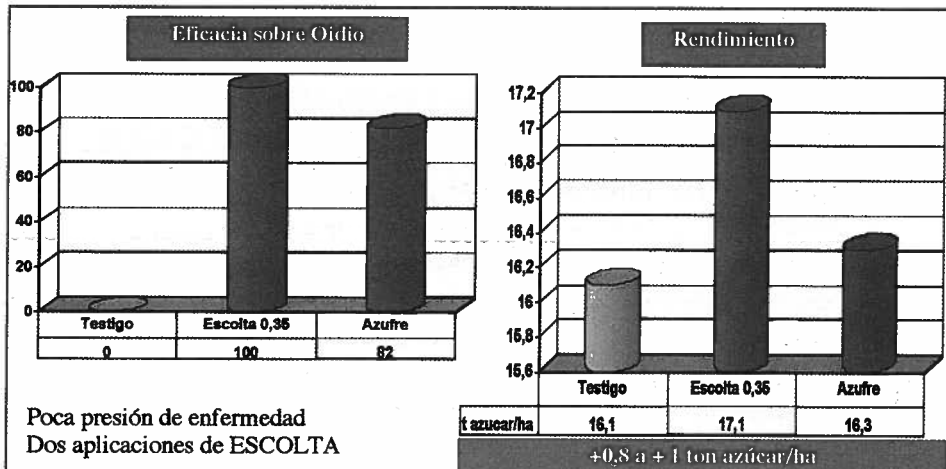
- En situaciones de enfermedad, ESCOLTA tiene una buena eficacia, y el programa de tratamientos mejora el rendimiento final.
- Si hay poca presión de enfermad o algún tipo de estrés en el cultivo, ESCOLTA mejora también el rendimiento, haciendo que esté económicamente justificado la opción de tratar con ESCOLTA frente a no tratar, o hacerlo con Azufre, etc.
- Esta información técnica, procede de nuestra bibliografía y ha sido confirmada en numerosos ensayos.
- No obstante, continuamos esta línea de trabajo por su enorme interés para el producto y para el cultivo.

1.- Ensayos realizados por Bayer Cropscience en Brenes, Sevilla



- Andalucía – Variedad : Sonja
- 3 aplicaciones a 0,35 L/Ha., 21 días.
- Condiciones de moderada presión de enfermedad.
- Tanto por ciento de rendimiento sobre el testigo

2.- Ensayos realizados sobre oídio, con poca presión de enfermedad:



RESUMEN EFICACIA Y RECOMENDACIÓN

Enfermedad	Recomendación	Eficacia	Tratamiento
OIDIO	ESCOLTA 0,35	XXXX	21 días
CERCOSPORA	ESCOLTA 0,35		
	+ MANEB 2,5	XXX(X)	21 días
ROYA	ESCOLTA 0,35	XXXX	21 días

ESCOLTA tiene también un interesente efecto sobre Esclerocio.

PROGRAMAS DE TRATAMIENTOS

Se recomienda realizar al menos, las dos primeras aplicaciones de fungicidas en el cultivo con ESCOLTA, para aprovechar las ventajas que este programa nos proporciona :

Ventajas:

Primer Tratamiento	Segundo Tratamiento
escolta Eficacia, Polivalencia, Persistencia, Efecto + Rendimiento	escolta Eficacia, Polivalencia, Persistencia, Efecto + Rendimiento(*)

(*) Acumulativo con el primer tratamiento.

CONCLUSIONES GENERALES

- Producto exclusivo de Bayer CS y diferente por su modo de acción y prestaciones.
- Complementariedad y sinergismo de sus dos componentes.
- Eficacia contra el complejo de hongos que afectan al cereal.
- Eficacia contra el complejo de hongos que afectan a la remolacha azucarera.
- Efecto positivo sobre el rendimiento.
- Seguro para el cultivo, el usuario, el medio ambiente y el consumidor.
- Sus dos componentes, con diferentes modos de acción, minimizan el riesgo de aparición de resistencias.

PIRACLOSTROBIN+BOSCALID: FUNGICIDA POLIVALENTE EN LOS CULTIVOS Y EN LAS ENFERMEDADES DE LAS HORTÍCOLAS.

Francesc Riera Forcades
Ingeniero Agrónomo
BASF ESPAÑOLA, S.A.

Hace años BASF AG inició unas líneas de investigación en el campo de los fungicidas, de ellos caben resaltar la Viclozolina (Ronilan) antibotrítico, Tridemorf (Calixin) y Fenpropimorf (Funbas / Corbel) antioidios. Epoxiconazol (Lovit / Opus) fungicida de cereal entre otros. Más adelante abrió la investigación en el campo de las strobilurinas con Stroby, primera strobilurina que salió al mercado en 1995, y también en el campo de las anilidas. Fruto de estas dos investigaciones, sale a la luz una segunda generación de strobilurinas, el piraclostrobin y del grupo de las anilidas, el boscalid.

Dichas materias activas, junto con otras que se han desarrollado en una serie de mezclas por dos razones fundamentales, para ampliar el espectro y como lucha antiresistencias.

BASF AG continuó con la investigación de las strobilurinas para desarrollar otras nuevas; el segundo resultado fue el F 500 (piraclostrobin) que tiene la propiedad de combatir un número aún más elevado de enfermedades fúngicas en un número aún mayor de cultivos, con una eficacia y seguridad extraordinariamente superior. Fue lanzado en España en viña con el nombre de Cabrio Top.

Más tarde y fruto de la investigación, daría a la luz el Boscalid de la familia de anilidas que completaría el espectro del piraclostrobin.

Piraclostrobin

Piraclostrobin tiene un espectro de acción de extraordinaria amplitud en más de 60 cultivos. Esta strobilurina controla los más relevantes patógenos de importancia económica en estos cultivos, controlando Oomicetos, Ascomicetos, Deuteromicetos y Basidiomicetos.

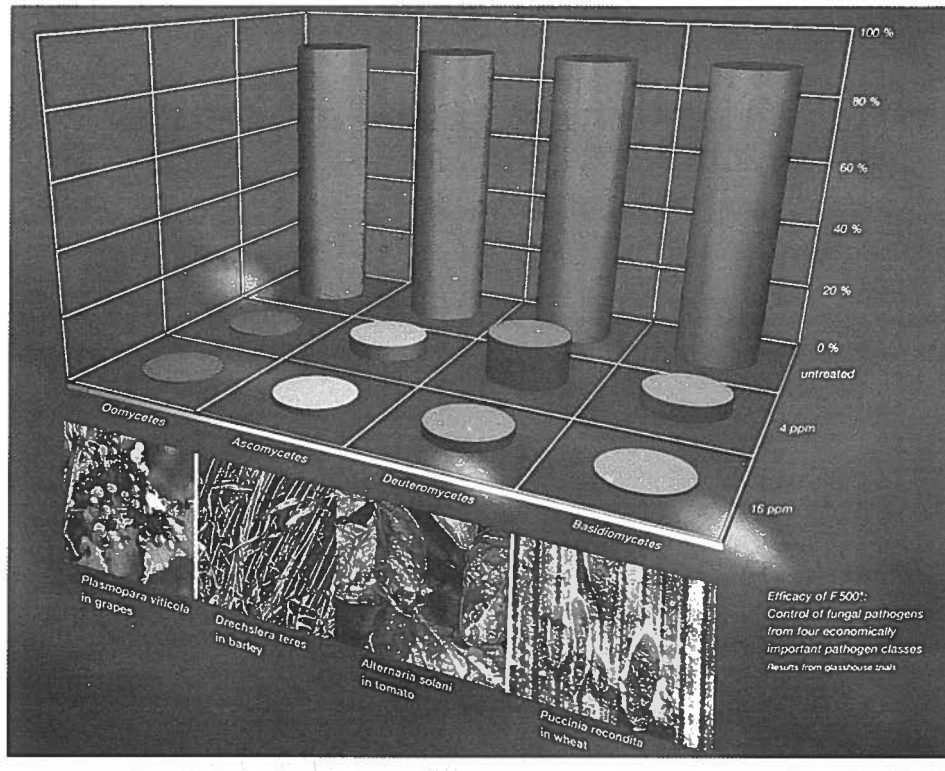


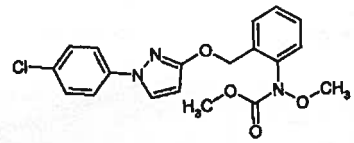
Figura 1. Acción sobre diferentes familis de hongos

Esta característica excepcional tiene una notable relevancia en cultivos que son amenazados simultáneamente por diferentes patógenos.

Como se puede ver, el producto tiene un perfil ecotoxicológico excelente.

– Descripción del ingrediente activo

Materia activa :	**Piraclostrobin**
Clase química:	**Estrobilurinas**
Fórmula estructural:	



Nombre químico:	**Metil N-[2-[[[1-[4-clorofenil]-1H- pirazol- 3il] oximetil]etil] n – metoxicarbamato**
Peso Molecular:	**387,8**
Fórmula empírica:	**$C_{19}H_{18}ClN_3O_4$**

– Propiedades físico-químicas

Aspecto a 20º C:	**cristales blancos a beige claro**
Olor:	**sin olor**
Punto de fusión:	**63.7-65.2 º C**
Presión de vapor a 20º C:	**2.6x 10-8 Pa**
Coef. de partición n-octanol / agua:	**log Pow : 3.99 at 22oC Solubilidad a 20º C**
(g de sustancia por 100 ml)	
agua:	**0.00019**
n-neptano:	**0.37**
toluol:	**>57**
diclorometano:	**>57**
metanol:	**10.0**
acetona:	**>65**
etilacetato:	**>65**

– Toxicidad

Aguda oral:	**DL_{50} rata>5000 mg/Kg**
Aguda termal:	**DL_{50}rata>2000 mg/Kg**
Irritación en piel:	**irritante**
Irritación en ojos:	**no irritante**
Sensibilización:	**no sensibilizante**
Inhalación:	**CL_{50} rata > 4.07 < 7.3 mg/L (4 horas)**
No carcinogénico	
No mutagénico	
No tóxico para la reproducción	

– Ecotoxicidad

Pájaros:	**Sin riesgo, LD_{50} >2000 mg/Kg**
Organismos del suelo:	**(Lombrices) Sin riesgo, LD_{50} >566 mg/Kg**
Organismos auxiliares:	**(6 especies) Sin riesgo**
Abejas:	**Sin riesgo**
Organismos acuáticos:	**tóxico para peces, daphnia y algas LC /EC_{50} <1mg/L***

– Toxicidad vida salvaje

Pájaros (codorniz americ.):	**No perjudicial**
Abejas (oral):	**No perjudicial**
Peces (trucha arcoiris):	**0.006 mg/litro**

– Aspectos medioambientales

Hidrólisis en agua DT50: >	**50 días**
Fotolisis en agua:	**DT_{50} < 2**
Degradación en suelo:	**DT_{50} entre 2 - 37 días**
Movilidad en suelo:	**K_{OC} 6000**

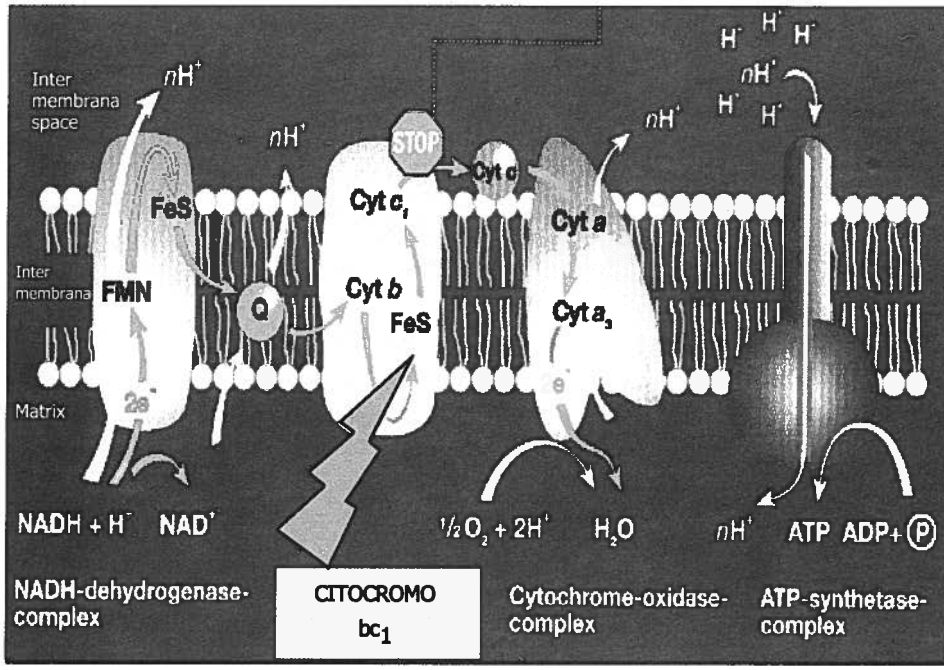
Modo de acción:

El producto ataca al hongo como otras strobilurinas, en la cadena de respiración de la mitocondria. No vamos a extendernos en su modo de acción ya que ha sido sobradamente explicado en otros artículos de esta revista.

Hay que destacar que a los pocos minutos de la aplicación de la sustancia activa, parte del Piraclostrobin está solubilizado y penetra en el interior de la hoja

La materia activa actúa como las demás strobilurinas, bloqueando la respiración a nivel del citrocromo bc1

Fig.2: Acción del Piraclostrobin en la cadena de respiración mitocondrial



Cabe destacar también su acción translaminar, depositándose el producto en la capa cerosa de la hoja y difundiéndose lentamente

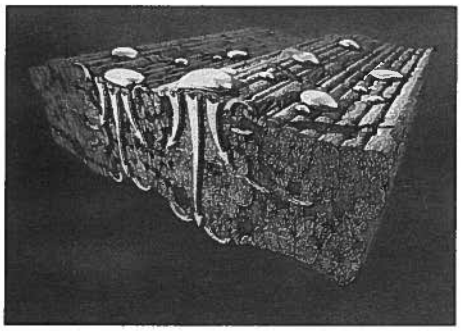


Fig.3: actuación del piraclostrobin en la hoja

– Características biológicas

Una de sus características más importantes es su alta acción fungicida, en lo referente a la inhibición de la germinación de la espora

Piraclostrobin	2,9 X 10-8 mol/l
Strobilurina XXX	9,7 X 10-8 mol/l

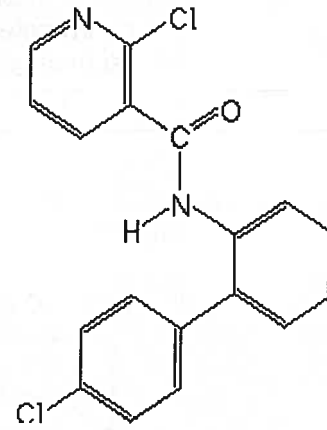
Boscalid

Materia activa de la familia de las anilidas, presenta un espectro de acción mucho más amplio que las viejas anilidas, que actuaban principalmente y casi exclusivamente a nivel de Basidiomicetos.

– Descripción del ingrediente activo

Nombre común	**Boscalid-Boscalida**
Clase química:	**Anilidas**

Fórmula estructural:



Nombre químico: (IUPAC):	**2-Cloro-N-(4,-cloro-bifenil-2-il) nicotinamida**
Fórmula empírica:	**C_{18} H_12 C_{l2} N_2 O6**
Peso molecular:	**343.2**

– Propiedades físico-químicas

Apariencia a 20º C:	**cristales blancos**
Olor:	**sin olor**
Punto de fusión:	**142.8-143.8º C**
Presión de vapor a 20º C:	**7x10-7**
Solubilidad a 20º C:	
g de sustancia por 100 ml	
agua	**0.0006**
acetona	**6-20**
acetonitrilo	**4-5**
metanol	**4-5**
etilacetato	**6.7-8**
diclorometano	**20-25**
tolueno	**2-2.5**
octanol	**< 1**

– Toxicidad	
Aguda oral	DL_{50} rata > 5000 mg / kg
Aguda dermal	DL_{50} rata>2000 mg / kg
Aguda por inhalación	LC_{50} >6.7 mg / L
Irritación en ojos	no irritante
Irritación en piel	no irritante
Mutagénesis	no mutagénico

– Ecotoxicidad	
Aves	prácticamente no tóxico, DL50 > 2000mg/kg
Gusanos de tierra	prácticamente no toxico,, CL 50 (14 d) >1000 mg/kg
Artropodos (6 tipos)	prácticamente no tóxico
Abejas	prácticamente no tóxico
Organismos acuáticos	moderadamente tóxicos CL_{50} peces=2.7 mg/i CE_{50} Dafnia=5.3 mg / l CE_{50} algas=3.8

MODO DE ACCIÓN

Boscalid inhibe la enzima succinato ubiquinona reductasa, también conocida como complejo II, en la cadena de transporte de electrones en la mitocondria.

Como en otros complejos de la cadena respiratoria (I, III y IV), esta enzima es un componente de la membrana mitocondrial interna. Consiste en sólo cuatro núcleos codificados en sub-unidades. Funciona como una bomba de protones y sirve también para la construcción de componentes. Dos de estos polipeptidos anclados en el complejo de la membrana mientras los otros se proyectan en la matriz mitocondrial donde catalizan la oxidación del sucinato a fumarato como parte del ciclo del acido tricarboxilico (ATC). Los electrones se difunden canalizados a través de la cadena de transporte de electrones vía el co-substrato ubiquinol (QH2).

El Complejo II ocupa un lugar central en el metabolismo del hongo. No sólo provee la materia a los electrones para que tengan un alto poder de energía para su producción, sino que forma también un desvío donde los componentes esenciales del ciclo TCA se pueden desviar para constituir elementos de construcción de aminoácidos o lípidos.

Mediante la inhibición del complejo II BOSCALID interrumpe el crecimiento del hongo e impide la producción de energía. En este aspecto, se

parece a las strobilurinas, pero no hay riesgo de resistencias cruzadas dado la diferente lugar de acción en la cadena de transporte de electrones.

También inhibe el desarrollo del hongo por eliminación de la posibilidad de construir los elementos químicos para la síntesis de otros componentes esenciales de la célula.

Boscalid difiere de las strobilurinas y de la mayoría de otros fungicidas en el modo y lugar de acción. Es el primer producto que utiliza este efectivo modo de acción contra una nueva variedad de enfermedades en importantes cultivos. Y aún en el caso de patógenos que hayan desarrollado resistencias a otra clase química de fungicidas, se pueden controlar con Boscalid, es decir, no existen resistencias cruzadas con otros fungicidas.

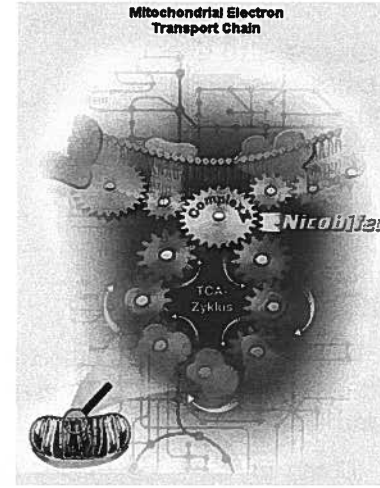


Fig.4: Modo de actuación del Boscalid en la cadena de respiración de la mitocondria.

Boscalid+Pyraclostrobin

Sinergia:

Basf AG desarrolló a partir de estos dos principios activos, una serie de mezclas en diferentes proporciones, entre ellas el Signum, mezcla de piraclostrobin+boscalid en la proporción siguiente:

67 g de piraclostrobin+ 266 g de boscalid

Con ello se consiguieron mejores eficacias gracias a la sinergia de las dos sustancias activas y ampliación del control de patógenos.

El producto resultante tiene acción sobre las principales enfermedades de las hortícolas, fundamentalmente sobre *Leveillula taurica, Botrytis y Esclerotinia y otras como Rizoctonia, Phoma, Mycosphaerella, Erysiphe, Colletotrichum, Ascochyta, Alternaria* etc.

Eficacia:
4 - excelente
3 - buena
2 – moderada
1 - baja

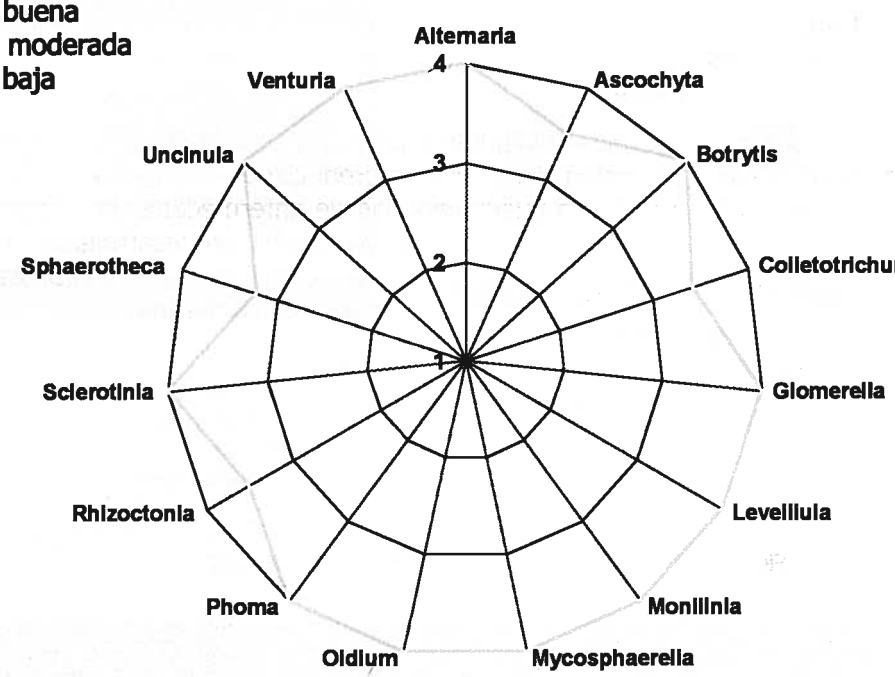


Fig.5 : Espectro de acción sobre enfermedades

Como se puede ver en el gráfico, es un producto que controla gran parte de las enfermedades de las hortícolas y de otros cultivos intensivos.

Modo de acción:

Conjuga el modo de acción de ambos ingredientes tanto a nivel de desplazamiento en el vegetal como también a nivel de ataque al hongo.

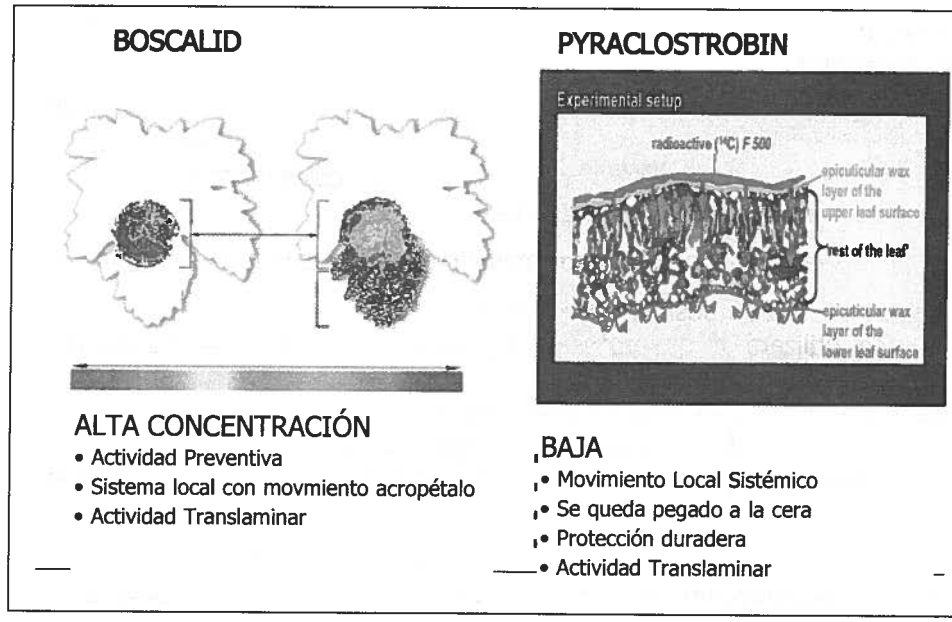


Fig. 6: Movimiento de las materias activas en las hojas

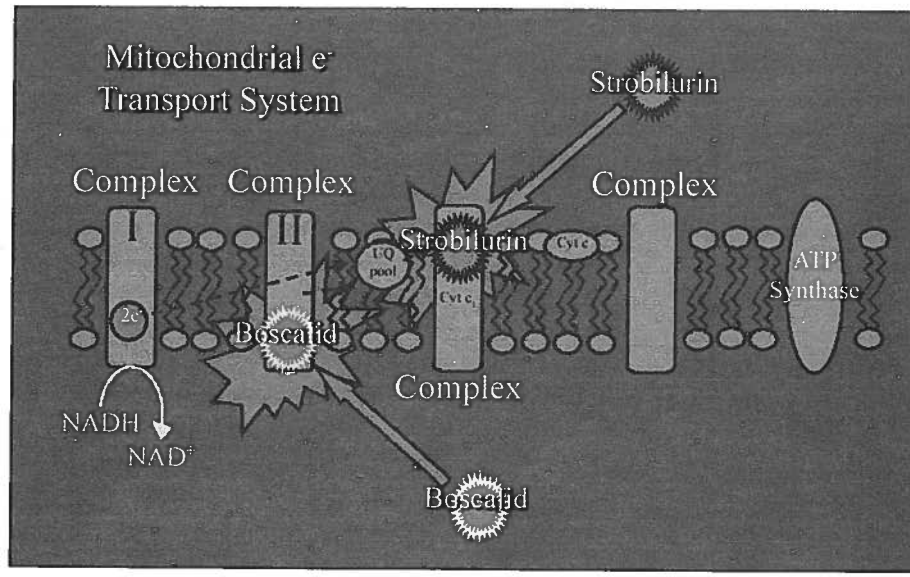


Fig. 7: Actuación de las materias activas en la cadena de respiración de la mitocondria

Pero en la práctica, la mezcla de estas dos materias activas **qué aporta a la agricultura**:

Polivalencia en cultivos y enfermedades: BASF va a registrarlo en la mayoría de cultivos hortícolas, entre ellos, solanáceas, lechuga, fresa, cebolla, ajo, zanahoria, puerro, alcachofa, espárrago, coles y ornamentales; para un amplio espectro de enfermedades.

Eficacia y persistencia: Mostramos varios ensayos con ambos parámetros

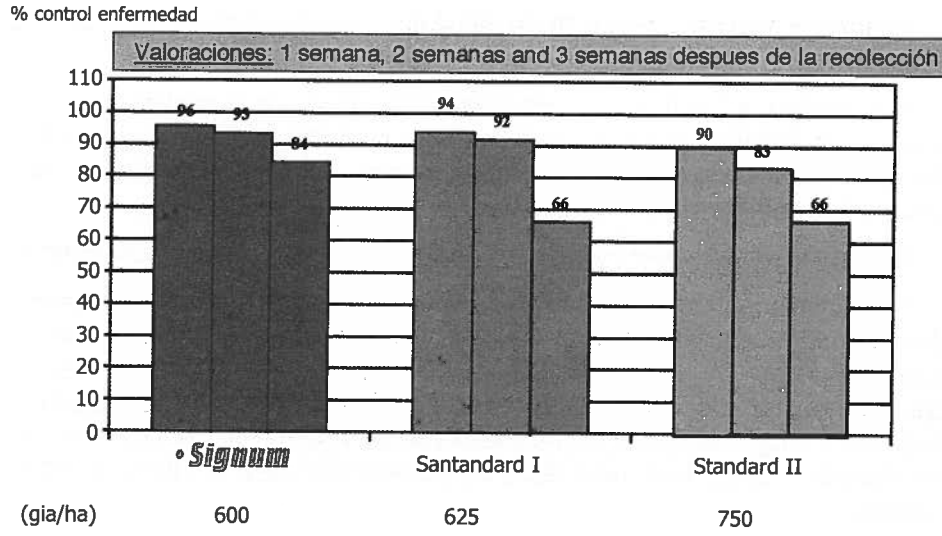
Polivalencia en dosis: En un mismo cultivo, dependiendo de la enfermedad se utilizará a diferentes dosis, estamos hablando por ejemplo de Solanáceas que se utiliza a 1 kg / ha contra *Leveillula taurina*, mientras que para *Botrytis* sp. Se utilizará a la dosis de 1.5 kg / ha, para Lechuga a la dosis de 1.5 kg / ha para *Botrytis* y esclerotinia y para fresa 1.8 kg / ha contra *Botrytis* y otras dosis para otras enfermedades. Pasa lo mismo en otros cultivos.

Dos modos de acción, dos familias: Esto nos da una sinergia, un gran abanico de enfermedades, una estrategia antiresistencia.

Condiciones de almacenamiento: En diferentes ensayos se ha comprobado que fundamentalmente el Boscalid, nos aporta un muy buen efecto para enfermedades de conservación, como una reducción en la liberación de etileno.

Salud de la planta: Fundamentalmente por el pyraclostrobin, nos hace que nos aumente la actividad de nitrato reductasa, lo que nos aumenta la asimilación del nitrógeno del suelo

Es un producto perfecto para lucha integrada y con LMR armonizados para toda Europa. Tenemos ante nosotros una herramienta muy poderosa para nuestros cultivos hortícolas.



Fuente: Royal Research Station of Gorsem (Belgium)

nº aplicaciones: 2-4
intérvalo: 6-14 días
caldo: 1000 l/ha

BAS 510 F, BAS 500 F+BAS 510 F, BAS 500 F+KM: Efecto en Rendimiento y Calidad

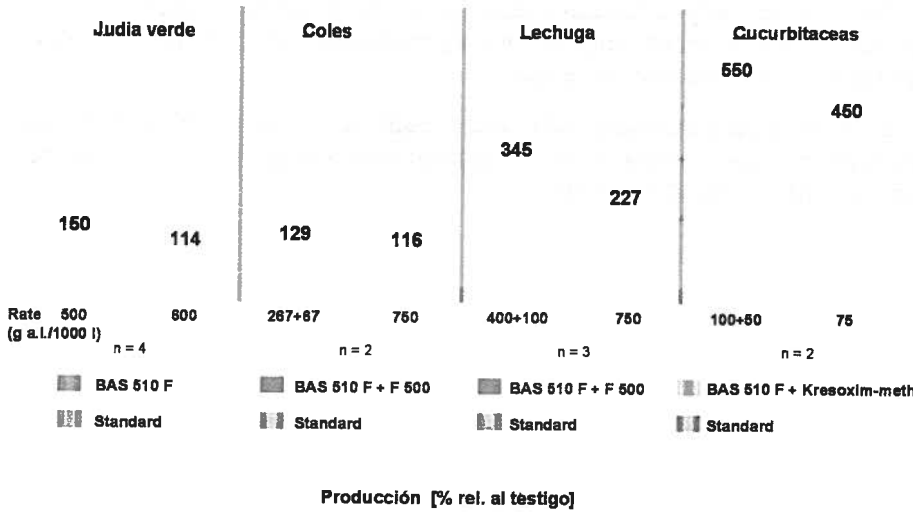
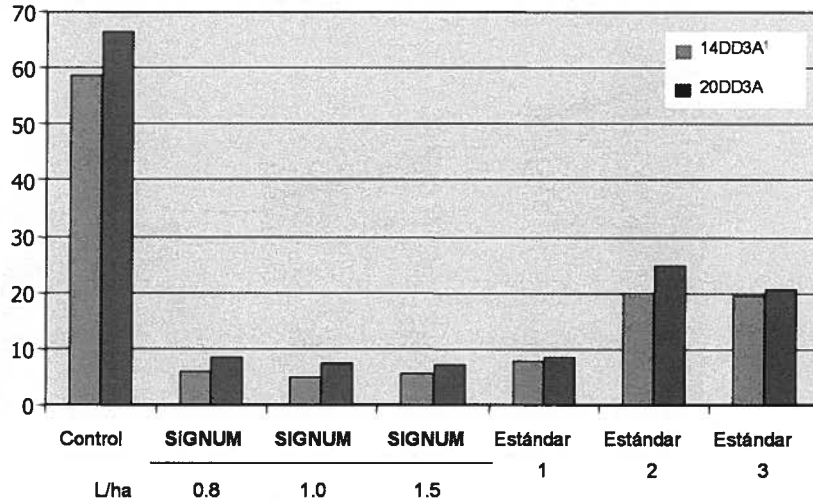


Fig. 9: Acción de Signum sobre el rendimiento

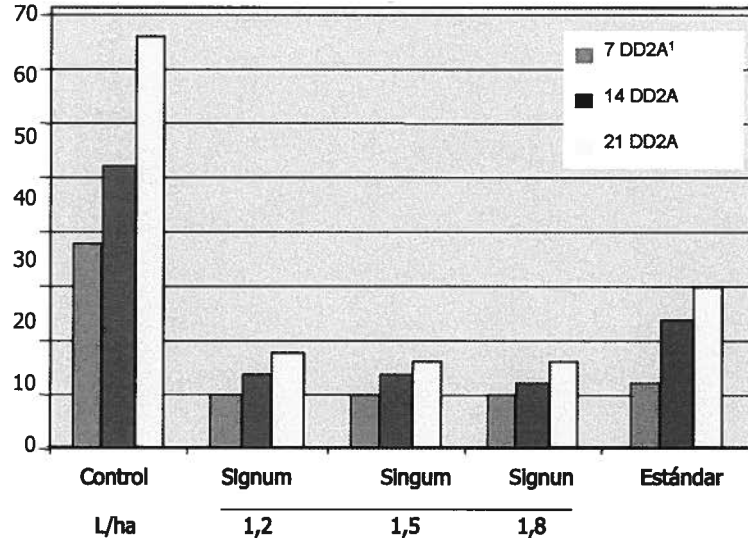
Eficacia en el control de OIDIO en Pimiento



[1]DD1A: Días después de la 1ª Aplicación etc.

Fig. 10: Eficacia del control de OIDIO en PimientoFig.

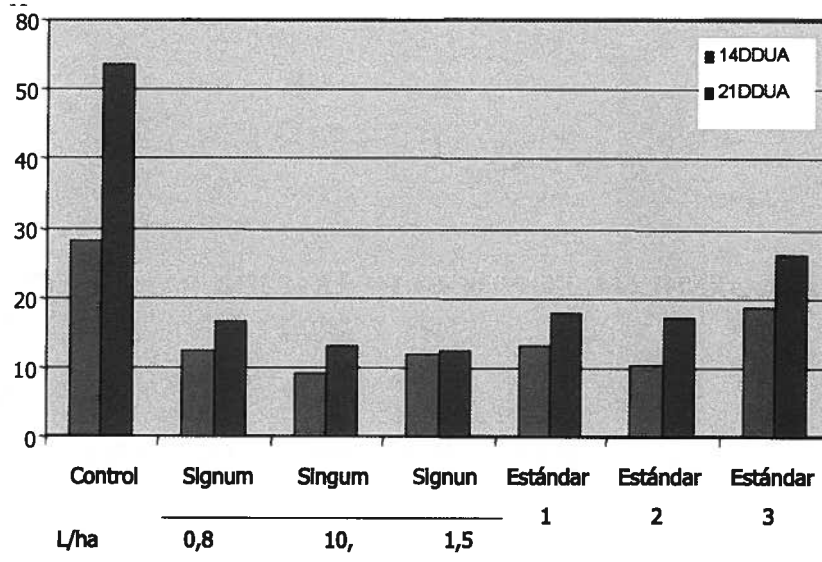
Eficacia en el control de BOTRITIS en lechuga



[1]DD2A: Días después de la 2ª Aplicación etc.

Fig. 11: Eficacia en el control de Botritis en lechuga

Eficacia en el control deBITRITIS en tomate



[1]DD1A: Días después de la 1ª Aplicación etc.

Fig. 12: Eficacia del control sobre Botritis en Tomate

PENOXSULAM, EL NUEVO HERBICIDA PARA EL CULTIVO DEL ARROZ

Sorribas M., Romero M., Bernes R., Larelle D.
Departamento Técnico
DowAgrosciences Ibérica, S.A.

RESUMEN

Viper® es un nuevo herbicida de post-emergencia selectivo para el cultivo del arroz desarrollado por Dow AgroSciences, que posee una altísima eficacia contra todas las especies de *Echinochloa* spp, así como ciperáceas y dicotiledóneas. Viper® está formulado como una dispersión oleosa (GIFAP: OD), con una concentración de 20 gramos de sustancia activa por litro (g sa/L) de Penoxsulam. Esta formulación está especialmente diseñada para el cultivo del arroz y no necesita la adición de mojante. La materia activa Penoxsulam, pertenece a la familia Triazolopirimidina sulfonamida, que como tal, provoca la inhibición de la enzima acetatolactato sintetasa (ALS), que interviene en la síntesis de aminoácidos esenciales: valina, leucina e isoleucina. Esta inhibición impide la síntesis de proteínas y como consecuencia interfiere en el crecimiento celular, originando la muerte de la mala hierba. Viper® es un herbicida sistémico, por lo tanto es absorbido por vía foliar y por vía radicular, siendo traslocado por el xilema y el floema. Numerosos ensayos en España y en otros países confirman que este nuevo herbicida es totalmente selectivo para el cultivo del arroz y ofrece un amplio espectro de eficacia en numerosas especies: *Echinochloa* spp., *Cyperus difformis, Alisma plantago-aquatica, Scirpus mucronatus, Polygonum persicaria, Typha angustifolia, Heteranthera limosa, Lindernia dubia, Nasturtium officinale*, entre otras. La seguridad para cultivos posteriores se ha comprobado en laboratorio y en campo. Viper® posee un buen perfil toxicológico, medioambiental y ecotoxicológico.

INTRODUCCIÓN

Viper®, perteneciente a la familia de las triazolopirimidina sulfonamidas, es la quinta molécula de este tipo desarrollada, registrada y lanzada al mercado por Dow AgroSciences; otras fueron: metosulam, flumetsulam, cloransulam-methyl y diclosulam. Penoxsulam fue descubierta por primera vez en 1997 y partir de entonces numerosos ensayos de laboratorio y de campo se han desarrollado para acreditar las características más destacables de Viper®:

- Su excelente control en todas las especies, subespecies y/o biotipos del género Echinochloa, además de su eficacia en ciperáceas y dicotiledóneas.
- Su alto nivel de selectividad sobre el cultivo para todas las variedades de arroz, tanto las de tipo índica como las de tipo japónica, en un amplio rango de condiciones climáticas y de estadios del cultivo en el momento de la aplicación.
- Su flexibilidad de uso para el agricultor, manteniendo dichas características independientemente de las prácticas agrícolas locales.

Viper®, ya registrado para el cultivo del arroz en otros países como Argentina, Indonesia, Italia, Corea, Malasia, Turquía y EEUU en 2004 y recientemente en Portugal en 2006, está actualmente en España en proceso de inscripción en el registro de producto fitosanitarios.

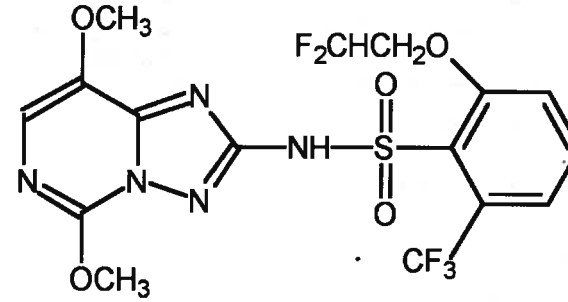
PROPIEDADES FÍSICO - QUÍMICAS

Marca comercial: **Viper®**

Materia activa: **Penoxsulam**

Familia química: **Triazolopirimidina sulfonamida**

Formula desarrollada:



Nombre químico: **2-(2,2-difluoroetoxi)-N-(5,8-dimetoxi[1,2,4]triazolo[1,5-c]pirimidin-2-yl)-6-(trifluorometil)benzenesulfonamida.**

Formula empírica: **C16H14F5N5O5S**

Peso Molecular:	**483.373**
Punto de Fusión:	**212 ºC**
Densidad Relativa:	**1.61 g/cm^3 a 20ºC**
Tensión de vapor:	**2.50 x 10^{-16} Pa a 20 ºC**
Solubilidad en agua:	**0.408 g/L a pH 7**

Viper® no es explosivo, ni oxidante ni inflamable. Su estabilidad permite almacenarlo en condiciones prácticas y comerciales. Sus propiedades técnicas indican que no es de esperar que se produzcan problemas especiales, siempre y cuando se utilice de modo recomendado.

PERFIL TOXICOLÓGICO

Todos los estudios toxicológicos realizados, muestran una baja toxicidad para el usuario y para todos los usos propuestos (Tabla 1).

Tabla 1. Estudios toxicológicos.

Tipo de estudio	Especie	Resultados
Oral aguda	Rata	LD_{50} >5000 mg p.f./kg p.c. No sujeto a requisitos de clasificación.
Dermal aguda	Conejo	LD_{50} >5000 mg p.f./kg p.c. No sujeto a requisitos de clasificación.
Inhalación aguda	Rata	LC_{50} >2.1 mg p.f./l. No sujeto a requisitos de clasificación
Irritación dermal	Conejo	Sustancia clasificada como irritante con R38: "Irrita la piel".
Irritación ocular	Conejo	Irritación moderada, no sujeta a clasificación.
Sensibilización dérmica	Cobaya	No sujeto a requisitos de etiquetado porposesión de propiedades de sensibilización de la piel.

No es carcinogénico,
No es mutagénico,
No es teratogénico.

PERFIL ECOTOXICOLÓGICO

Efecto sobre aves

Basándose en los resultados de los ensayos realizados de toxicidad (Tabla 2), se puede concluir que el uso de Viper® como herbicida para el arroz, a una dosis máxima de aplicación de 40 g s.a./ha en una sola aplica-

ción por campaña no presenta ningún riesgo para las especies de aves que habitan en los arrozales, así como para las aves que frecuentan las áreas adyacentes a los arrozales

Tabla 2. Estudios ecotoxicológicos en aves.

Especie	Estudio y Resultado
Colinus Virginianus	LD_{50} > 2000 mg s.a./kg p.c. oral aguda
Anas platyrhynchos	LD_{50} > 2000 mg s.a./kg p.c. oral aguda

Efecto sobre organismos acuáticos

A partir de los resultados de esta evaluación de toxicidad (Tabla 3), se puede indicar que el uso de Viper®, como herbicida para el arroz, a una dosis máxima de aplicación de 40 g s.a./ha en una única aplicación por campaña, presenta un riesgo despreciable para los organismos acuáticos que habitan las aguas del arrozal, así como para las aguas superficiales adyacentes a los arrozales.

Tabla 3. Estudios ecotoxicológicos en organismos acuáticos.

Especie	Estudio y Resultado
Oncorhynchus mykiss	LC_{50} 96h > 100 mg p.f./L
Daphnia magna	EC_{50} > 100 mg p.f../L
Pseudokircheriella subcapitata *Selenastrum caprocornutum*	EC_{50} 96h 4 mg p.f./L
Procambarus clarkii	LC_{50} 96h > 116 mg s.a./L

Eecto sobre Abejas

Se ha observado a partir de los estudios realizados (Tabla 4) que el uso de Viper® a una única dosis de 40 g s.a./ha, presenta un riesgo aceptablemente bajo (de hecho, ningún riesgo) de efectos adversos sobre las abejas melíferas (Apis mellifera) expuestas tanto dentro como fuera del área del cultivo.

Tabla 4. Estudios ecotoxicológicos sobre abejas.

Especie	Estudio y Resultado
Apis mellifera	LD_{50} 48h > 100 µg p.f./abeja oral aguda

Efecto sobre otros artrópodos beneficiosos

Todos los estudios indican (Tabla 5) que el riesgo para los artrópodos no objetivo, por el uso de una aplicación por campaña de Viper® a 40 g sa/ha, es bajo.

Tabla 5. Estudios ecotoxicológicos sobre artrópodos beneficiosos.

Especie	Clasificación IOBC
Typhlodomus pyri	Baja
Aphidius rhopalosiphi	Baja
Chrysoperla carnea	Baja

Lombriz de tierra

En los estudios toxicológicos (Tabla 6), Viper® no presentó ningún riesgo en la lombriz de tierra (Eisenia foetida).

Tabla 6. Estudios ectoxicológicos sobre la lombriz de tierra.

Especie	Estudio y Resultado
Eisenia foetida	LC_{50} de 14 días>10.0000 mg producto/kg p.f. suelo

CLASIFICACIÓN

En base a todos los estudios anteriores, la clasificación propuesta para Viper®, de acuerdo con la directiva 67/548/CEE, es la siguiente:

Símbolo de peligro: Xi
Indicaciones de peligro: Irrita la piel
Frases de riesgo: R38
Consejos de prudencia: S2, S20/S21, S24

PROPIEDADES MEDIOAMBIENTALES

Comportamiento en el suelo

– Viper® es rápidamente absorbido por el suelo y tiene bajo potencial de lixiviación en la mayoría de suelos del arroz. La degradación del producto se debe principalmente a la fotólisis y actividad de los microorganismos, siendo la vida media del producto en el suelo de 5 a 6 días en función de la actividad microbiana, la luz, la humedad y la temperatura.

Comportamiento en el agua

– Viper® en las condiciones habituales de cultivo, tiene una vida media en el agua de 2 días. Como en el suelo, la principal vía de degradación del producto en el agua es la fotólisis.

Comportamiento en el aire

– Viper® posee baja tensión de vapor, por lo tanto bajo riesgo de contaminación en cultivos colindantes.

PROPIEDADES BIOLÓGICAS

Modo de acción

Viper® forma parte de la familia de las triazolopirimidinas sulfonamidas, una familia de herbicidas que actúan en la planta por inhibición de la enzima acetolactato sintetasa (ALS). El I_{50} (concentración de la sustancia que causa un 50% de inhibición de la actividad de la ALS) fue de 4.5 nM lo que indica que Viper® es un inhibidor muy potente de la ALS (Schmitzwe, P.R., 2002). Viper® es un herbicida sistémico, que penetra en la planta principalmente por vía foliar (hojas y tallos) y en menor medida por vía radicular, siendo traslocado por el floema y el xilema hasta los tejidos meristemáticos.

Rapidez de acción

La inhibición de la ALS provoca en la planta una serie de síntomas característicos. Sólo unas horas después de la aplicación, el crecimiento de las especies sensibles se ve afectado aunque los efectos pueden tardar unos días en ser visibles. Como media, en condiciones de campo, los síntomas aparecen de 5 a 10 días después de la aplicación y la eficacia máxima se obtiene al cabo de 3 a 4 semanas. Los primeros síntomas se manifiestan en las zonas meristemáticas apicales en forma de clorosis y necrosis. Luego los efectos se generalizan a las demás partes de la planta

Actividad herbicida

Viper® aplicado en post-emergencia ha demostrado después de muchos ensayos, una alta eficacia en un amplio espectro de especies:

Especies sensibles (>90-95% Eficacia)		Especies medianamente sensibles(>75-80 % Eficacia)
Echinochloa spp	*Polygonum persicaria*	*Scirpus maritimus*
E. crus-galli	*Typha angustifolia*	*Ammania spp*
E. oryzoides	*Heteranthera limosa*	*A. coccinea*
E. oryzicola	*Nasturtium officinale*	*A. robusta*
E. hispidula	*Bacopa rotundifolia*	*Bergia capensis*
Cyperus difformis	*Butomus umbellatus*	*Lindernia dubia*
Alisma plantago-aquatica		*Cyperus serotinus*
Scirpus mucronatus		

Ensayos de Eficacia y Selectividad (1999-2006)

Para el desarrollo de Viper®, se han realizado un total de 87 ensayos desde 1999 hasta 2006 en las distintas zonas arroceras de España, los cuales han demostrado la eficacia del producto para principales malas hierbas en el cultivo del arroz, así como la selectividad para todas las variedades de arroz, tanto de tipo *índica* como *japónica*.

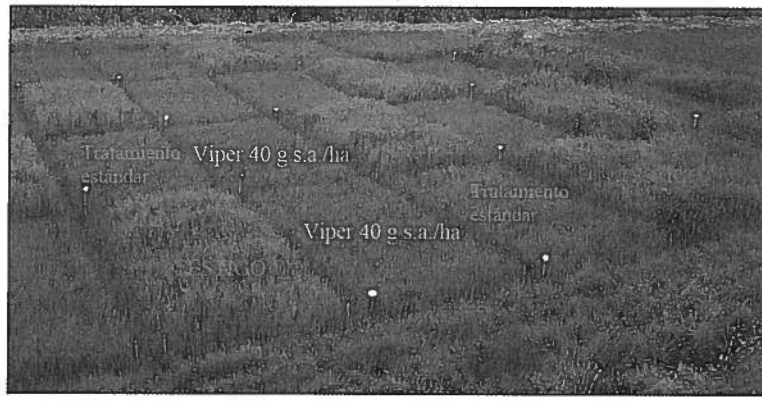


Figura 1. Eficacia de VIPER en Echinochloa sp. 2006.

En el Gráfico 1. se resume la eficacia media de Viper® en las principales malas hierbas en el conjunto de los ensayos realizados. El momento de tratamiento en todas las especies fue desde las 2 hojas hasta los 2 hijos (BBCH 12-22) de la mala hierba y dentro del género *Echinochloa* spp. se incluyen todas las subespecies y biotipos típicos de las zonas arroceras de la península (*E. crus-galli, E. oryzoides, E. oryzicola* y *E. hispidula*).

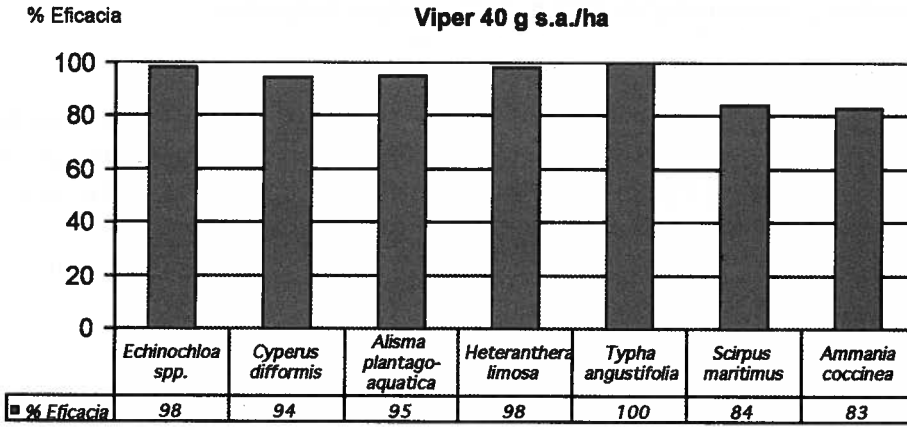


Gráfico 1. Resumen de la eficacia de VIPER a partir de ensayos realizados entre 1999-2006. N= número de datos.

En el gráfico siguiente (Gráfico 2), se compararon los efectos de Viper®, sobre el vigor en % de cultivo, a 40 y 80 g s.a./ha (dosis recomendada y dosis doble) en tres momentos de aplicación distintos, con el tratamiento de referencia cyhalofop-butyl en su momento óptimo a dosis de registro y dosis doble. En este estudio realizado se observa como Viper® muestra total selectividad en los diferentes estadios del arroz. Otros estudios realizados, comprobaron la selectividad de Viper® en todas las variedades de arroz (*índicas* y *japónicas*) tanto de siembra directa como de transplante.

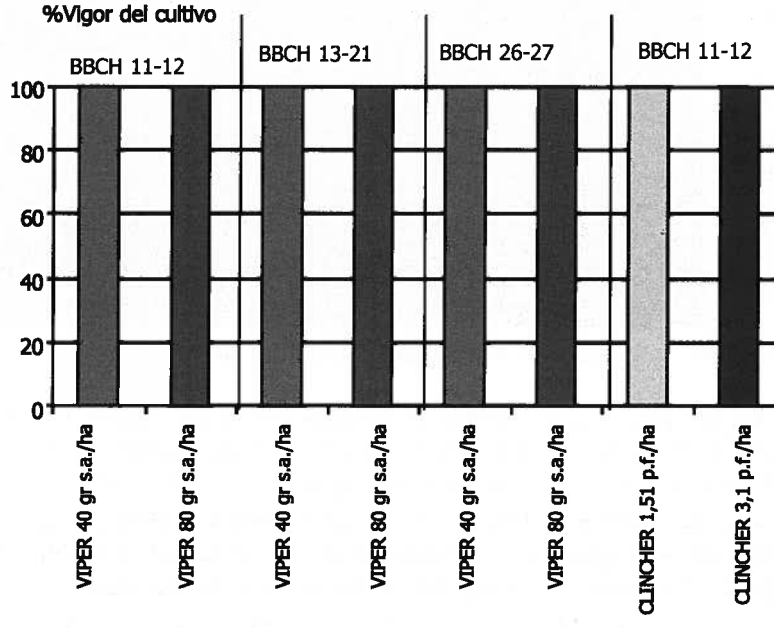


Gráfico 2. Selectividad de VIPER en % de vigor del cultivo.

MANEJO DE RESISTENCIAS

Para un correcto manejo del riesgo de aparición de resistencias, se recomienda realizar una única aplicación de Viper® por campaña. En el caso de que sea necesario incluir Viper® en programas de tratamiento se recomienda siempre utilizar productos con diferentes modos de acción.

Viper® se puede utilizar en mezclas con otros herbicidas del tipo ALS.

RECOMENDACIONES DE USO

– **Dosis:** En aplicaciones terrestres 2 L/ha con un volumen de caldo entre 150-400 L/ha y en aplicaciones aéreas 2 L/ha con un volumen de caldo entre 80-100 L/ha.

– **Momento óptimo:** tratamiento para el control de todas las especies de Echinochloa spp. desde el estado de la mala hierba que comprende desde las 2 hojas a los 2 hijos (BBCH 12-22). Para el tratamiento de ciperáceas y dicotiledóneas tratar desde 1 a 4 hojas (BBCH 11-14) de las malas hierbas.

– **Manejo del agua:** Drenar al máximo la parcela en el momento de la aplicación, de forma que Viper® entre en contacto con todas las malas hierbas (Figura 2). Tras la aplicación, Viper® permite flexibilidad en el manejo del agua, ya que, se puede reinundar a partir de las 24 horas hasta los 5 días.

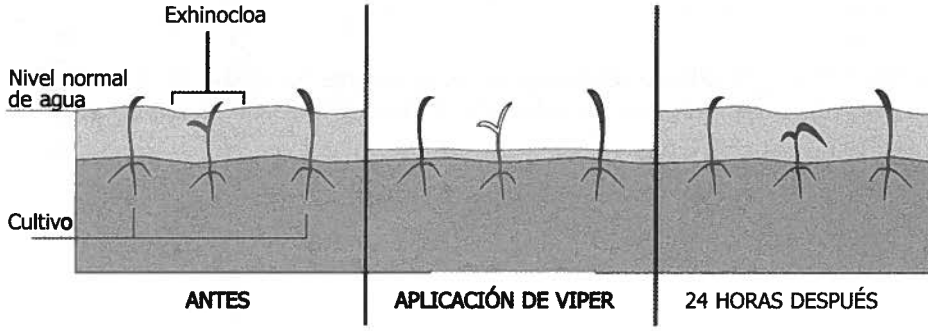


Figura 2. Esquema del manejo del agua

– **Compatibilidad:** Viper® se puede mezclar con Sulfonilureas (SU's) y MCPA, y es compatible en mezcla o en secuencia con insecticidas autorizados como Malatión y Triclorfon. Sin embargo, puede ver reducida su eficacia sobre Echinochloa spp. y Scirpus maritimus en mezcla con propanil o bentazona. Viper en secuencia con Propanil y Bentazona no presenta ningún problema de control sobre estas hierbas (Savage T., Hewitt C., 2002).

– **Rotación de cultivo:** Después de una aplicación de Viper® pueden sembrarse siguiendo las prácticas habituales de rotación de cultivo: alfalfa, algodón, arroz, cebada, cebolla, colza, maíz, melón, remolacha azucarera, soja y trigo.

RESUMEN DE BENEFICIOS

Nueva materia activa de la investigación de Dow AgroSciences.
Formulación especialmente diseñada para el cultivo del arroz.
No es necesaria la adición de mojante.
Eficacia contra todos los biotipos de Echinochloa spp.
Máxima eficacia contra las ciperáceas y dicotiledóneas.

Totalmente selectivo para el arroz.
Flexibilidad de uso, amplia ventana de aplicación y fácil manejo.
Aplicación terrestre y aérea.
Buen perfil toxicológico y ecotoxicológico.

REFERENCIAS

Penoxsulam, Broadspectrum herbicide for Rice. 2003. *Global Technical Bulletin.*

SAVAGE T., HEWITT C. 2002. *Tank mix compatibility of GF-657, a herbicidal Oil Dispersion containing 20 g/L of penoxsulam, with prospective mixing partners.* Dow AgroSciences, informe no publicado. # GHE-P-9710-R. 01 Julio 2002.

SCHMITZER, P.R. 2002. *Inhibition of Acetolactate Synthase by DE-638.* Dow AgroSciences, informe no publicado # DAI0439, 15 de Marzo de 2002.

INNOVACIÓN Y FUTURO EN LA FERTILIZACIÓN

Pablo Ramos Pedragosa
Jefe de I+D, Responsable de Calidad y Medio Ambiente
HEROGRA FERTILIZANTES, S.A.

1.- INTRODUCCIÓN

Estamos viviendo una época de cambios rápidos, de vertiginosa evolución. En la mayoría de los sectores esta evolución es en progresión geométrica. Criterios muy estables se han desechado de la noche a la mañana, apareciendo nuevos productos y nuevas técnicas que avanzan impetuosamente en los mercados. Se alcanzan sistemas más rentables, más cómodos y sobre todo, más respetuosos con el Medio Ambiente. Toda una batería de criterios innovadores.

Junto a la agricultura tradicional, un tanto inmovilista, aparece la agricultura empresarial, atenta a los nuevos cambios, a la disminución de costes, a la productividad, con productos menos contaminantes. Cada día la agricultura tradicional es menor y la que hemos llamado empresarial cada vez es más importante, no hay otro camino. La fertilización convencional y clásica, deja paso de forma acelerada a nuevos modelos. A este fenómeno, han contribuido entre otras razones un cambio en la política agraria europea junto con la liberalización de los mercados agrícolas.

En HEROGRA FERTILIZANTES queremos ser líderes o punta de lanza en el avance, es nuestra manera de entender la vida, es la forma de entender la empresa. Viajamos y visitamos diversos puntos del mundo para ver conocimientos modernos, nuevas tecnologías. Investigamos y pensamos en nuestra razón de ser que no es otra que la fertilización.

En Andalucía hay una expansión muy importante del olivar, con aproximadamente 1.300.000 hectáreas y tendencia a 1.600.000 en cuatro años. De cítricos hay unas 90.000 hectáreas con tendencia a 120.000.

Con esta comunicación queremos dar nuestro punto de vista sobre todo aquello que hemos visto y todo lo que hemos desarrollado. El tiempo nos dará o quitará la razón. Nos vamos a centrar en tres grandes temas: Abonado en riego por goteo, abonado en secano de cultivos arbóreos y abonado en secano de cultivos bajos.

2.- ABONADO EN RIEGO POR GOTEO

El tradicional y arcaico riego de a pie, hoy en día no tiene sentido ni por aprovechamiento por parte de la plante del agua ni por un uso razonable de éste recurso natural tan escaso. Tampoco se ve progreso en el riego por aspersión o por pivot. El gran progreso está en el riego por goteo, donde ya hay aproximadamente 1.500.000 hectáreas pero en su mayoría terriblemente mal abonadas. Esta es la revolución agrícola pendiente: La Fertirrigación, que ampliará producciones. Se ve aún aplicaciones incorrectas de la fertirrigación como por ejemplo el uso de fertilizantes sólidos teniendo una instalación de riego por goteo, uso de materiales no adecuados, etc.

Hay una serie de "mandamientos" que no vamos a discutir y que están plenamente aceptados y que son:

- Abonar siempre que se riega, incluso si está lloviendo.
- No cambiar nunca los goteros de sitio.
- Es mejor los riegos de alta frecuencia (mayor número de riegos para una misma cantidad de agua).
- Utilizar siempre un producto complejo: NPK con elementos secundarios y/o microelementos.
- Utilizar fertilizantes líquidos por comodidad, por seguridad de aplicación y en definitiva por rentabilidad.

Tradicionalmente, para determinar las necesidades nutritivas se han venido realizando análisis foliares, análisis de savia, análisis de suelo, etc... y en función de éstos se hacía el plan de abonado de todo el año. Pero el último grito tecnológico que se está imponiendo de forma vertiginosa es situar Lisímetros o sondas de succión en la zona del gotero y periódicamente extraer las muestras de la solución nutritiva que haya penetrado en estos dispositivos y analizarlas. Cada parcela tiene sus características pero podemos afirmar que con tres muestreos al año es suficiente.

Pasos para un buen diagnóstico nutricional:

1.- Se hace un diagnóstico general, mediante análisis de suelo sin regar, y suelo regado, agua de riego y foliar. Una sola vez, como

estudio general, pero no decisorio. Una vez cada tres o cuatro años para saber un poco el contexto. Y se hace un informe. Ello es recomendable pero no imprescindible.

2.- El plan es hacer análisis del agua del suelo (solución del suelo) que se extrae mediante sonda que está permanentemente clavada en el suelo.

3.- Se extrae agua de la sonda del suelo, en las siguientes fechas: entre los días 1 y 3 de los siguientes meses:

–Marzo.
–Julio.
–Septiembre.

4.- Con el análisis inicial del agua de riego, con el análisis de la solución de suelo, que es lo que realmente toma el olivo, y con la solución ideal de acuerdo con los conocimientos de la técnica en la fecha de hoy, se determina la formula de abonado a aplicar en ese periodo de tiempo.

Bases:

1.- Si hay muchos Carbonatos, usar Fertigota desbloqueante.

2.- Si hay muchos cloruros, usar formulas exentas o bien bajas de Cloruros, y si hay mucho cloruro, también Fertigota desbloqueante porque hay menos antagonismo.

3.- Si sobra Sodio, usar, Fertigota desalinizador.

4.- Estudiar y ver contenidos en Calcio y Magnesio.

5.- Plan de micro: Un riego cada 15 días con una concentración en la solución que sale por el gotero de: 1 ppm para Boro y Manganeso; y 0.05 ppm para Molibdeno y Cinc. Para el Hierro es más recomendable aplicar el FERROLIN (quelato de hierro).

Ejemplo:

EJEMPLO CÁLCULO FERTIGOTA A APLICAR DESDE ABRIL HASTA JUNIO

	ANIONES (meq/l)					CATIONES (meq/l)					PH	CE
	$NO3^-$	$H2PO4^-$	$SO4^{--}$	$HCO3^-$	Cl^-	$NH4^+$	K^+	Ca^{++}	Mg^{++}	Na^+		(mS/cm)
Solución sonda	0,00	0,06	0,00	1,00	0,08	0,07	0,06	0,00	0,00	0,00	7,80	0,10
Agua de riego	1,20	0,00	3,80	5,95	1,91	0,06	0,14	7,06	2,76	1,58	7,6	
Disolución ideal	2,00	1,50	2,00	0,50	<15	2,00	2,00	4,00	2,00	<15	5,0	<2,5
Aportes previstos	**0,80**	**1,44**	**-1,80**	**-6,45**		**1,87**	**1,80**	**-3,06**	**-0,76**			

CÁLCULO EQUILIBRIO

	N	P_2O_5	K_2O	CaO	MgO	SO_3
mg/l	37,38	102,24	84,78			
equilibrio	0,44	1,21	1,00			

FÓRMULA HEROMECUM 3+8,5+7 EXTRA NA-V FERTIGOTA, código ADL685
LITROS FERTILIZANTE POR CADA 1000 LITROS DE AGUA
1 LITRO DE FERTILIZANTE

Lo mismo haríamos para el período Julio-Agosto e igualmente para Septiembre hasta final de riego.

Fertigota Desbloqueante: Familia de productos con pH tremendamente ácido. Ventajas:

- Actúa más eficazmente (rápido) en la bajada de pH en la zona del bulbo que un producto ácido normal.
- Permite desbloquear los elementos nutritivos que estén inmovilizados debido a un pH alto del suelo.
- Neutraliza más cantidad de bicarbonatos que un fertigota normal, así que es más eficaz su uso en cuanto a prevenir la aparición de obturaciones en los goteros y conducciones producidas por sales.

Fertigotas exentos o bien bajo en cloruros:

En riego por goteo, al abonar fuertemente con Potasio y tradicionalmente casi siempre en forma de cloruros, en el bulbo se van acumulando éstos. Por otra parte, también es conocido el antagonismo entre los nitratos y los cloruros, por tanto puede ocurrir que la planta no pueda tomar nitratos por la abundancia de cloruros.

El aumento de la conductividad como consecuencia de los altos contenidos en cloruros crea un ambiente estresante para las plantas no apto para la asimilación de nutrientes.

Recomendamos el uso de productos exentos o bien bajo en cloruros.

Fertigota desalinizador:

- Disminuye sales del área regada.
- Aumenta la actividad microbiana.
- Mejora la aireación del suelo.
- Mejora la retención de nutrientes.

3.- ABONADO EN SECANO DE CULTIVOS ARBÓREOS: OLIVAR EN SECANO

Nos centraremos en el olivar por su extensión ya que hay unos 100 millones de olivos en secano. Las premisas de partida son:

- Nuestros suelos son, salvo excepciones, calizos o muy calizos. Esto quiere decir que bloquean el fósforo, magnesio, hierro, boro, manganeso y cinc, de forma clara.
- El olivo tiene una hoja fuerte, muy resistente que permite soportar sin problemas una nutrición foliar intensa.
- Es claro y nítido que hay que aportar por vía foliar el máximo posible.
- También es claro que si se aplica cobre no puede llevar fósforo en la cuba bajo ningún concepto.
- También es muy claro que el hierro tiene que ser aplicado al suelo con quelato tipo EDDHA, EDDHSA o EDDHMA.
- El olivo es un fuerte demandante de boro.
- Hemos de buscar sistemas de aplicación cómodos.
- Hemos de aplicar abonos eficaces y solubles. Esto es sinónimo de abonos líquidos.
- Queremos desmitificar materias orgánicas vía suelo.
- Otro tema es materias orgánicas vía foliar en olivos de secano, donde hay que destacar de forma clara los aminoácidos.
- El olivo tiene unos altos requerimientos claros y nítidos en potasio, que son fundamentales.
- Hay que tener en cuenta que el olivo de tamaño medio absorbe unos nutrientes, y que no hay películas ni historias: 100 kg aceitunas extraen 1 kg nitrógeno, 0,3 de P_2O_5 y 1,5 de K_2O

Con estas premisas, hay que tener en cuenta que de **la ración a utilizar, emplear a tope todo lo que se pueda vía foliar y el resto de la ración, vía suelo.**

Los productos más baratos y eficientes para utilizar vía foliar así como las cantidades máximas a utilizar de cada uno son: Urea 3.5%, Fosfato Monoamónico 1%, Cloruro Potásico 2.5% y Fosfato Monopotásico 1.5 % . Con estos productos veamos cuantas unidades fertilizantes podemos cubrir vía foliar en cuatro tratamientos al año. La siguiente tabla es para 100 litros de caldo con el que hay para unos 20 olivos.

	1º Tratamiento (con Cobre)			2º Tratamiento (con Cobre)			3º Tratamiento (Floración. Sin Cobre)			4º Tratamiento (Abscisión)			TOTALES		
Dósis máxima recomendada	N	P_2O_5	K_2O	N	P_2O_5	K_2O	N	P_2O_5	K_2O	N	P_2O_5	K_2O	N	P_2O_5	K_2O
3.5 kg Urea	1.61			1.61			1.61						4.83		
1 kg MAP							0.12	0.60					0.12	0.60	
2.5 kg ClK			1.50			1.50			1.50						4.50
1.5 kg MKP											0.78	0.50		0.78	0.50
TOTAL													4.95	1.38	5.00

Si calculamos el equilibrio entre los nutrientes y vemos que fórmula de abono líquido se puede fabricar, llegamos para cada tratamiento a:

	1º Tratamiento (con Cobre)	2º Tratamiento (con Cobre)	3º Tratamiento (Floración. Sin Cobre)	4º Tratamiento (Abscisión)
Equilibrio Fórmula	1 – 0 – 0.93 10+0+9	1 – 0 – 0.93 10+0+9	1 – 0.35 – 0.86 10+4+9	0 – 1 – 0.65 0+10+7
	FOLIGRA TRA-CU	FOLIGRA TRA-CU	FOLIGRA TRA-CU	FOLIGRA ABSCISIÓN

Para 1000 litros de caldo:

	N	P_2O_5	K_2O
1 tratamiento 173 kg. FOLIGRA FLORACION 10-4-9	1,73	0,70	1,60
2 tratamientos a 163 kg. FOLIGRA FLO-CU 10-0-9	3,26		2,94
1 tratamiento 78 kg. FOLIGRA ABSCISION 0-10-7		0,78	0,50
	4,99	**1,48**	**5,04**

La idea es la de servir los productos a granel, eliminando envases, aprovechando los tanques de almacenamiento ya existentes en las fincas.

Ya decíamos que las extracciones debidas a la aceituna son por cada 100 kg de aceitunas: 1 Kg Nitrógeno, 0.3 Kg de P_2O_5 y 1.5 Kg de K_2O. Supongamos un olivo de 50 kg de aceituna:

Extracciones:

0,50 Kg. de Nitrógeno.
0,15 Kg. de P_2O_5.
0,75 Kg. de K_2O

Lo aplicado por vía foliar con las soluciones FOLIGRA:

0,25 Kg de N
0,07 Kg de P_2O_5
0,27 de K_2O

Por tanto queda por aportar a cada olivo:

0.25 kg de N
0.07 kg de P_2O_5
0.48 kg de K_2O

Equilibrio 1 – 0.28 – 1.92, Fórmula: FERTIGOTA 5+1.5+10 que además se puede completar con Magnesio, añadir inhibidor de nitrificación, etc. De esta fórmula tendríamos que aplicar al suelo 4.8 kg/olivo para completar las unidades fertilizantes que nos han faltado vía foliar.

Resumiendo: Con productos líquidos, se puede abonar también en secano con las siguientes ventajas:

- Una persona de forma cómoda hace el abonado foliar y de suelo.
- Más rapidez en la aplicación. Doble de lo convencional.
- No requiere esfuerzo físico.
- Ahorro considerable de mano de obra.
- Se obvian problemas.
- Formulas racionalizadas y optimizadas.
- Solubilidad total.
- Sistema moderno y de futuro.
- Diseñado para ser eficaz.
- Mas completo que sistemas convencionales.
- Aumentaremos producción de aceituna

4.- ABONADO EN SECANO DE CULTIVOS BAJOS: CEREALES

Cada vez se está imponiendo más el no aplicar nada en otoño, o casi nada; y sustituir por una fórmula en cobertera tal como 19+4+5 con inhibidor de la nitrificación o de lenta liberación.

En los últimos 20 años, en Francia ha bajado el consumo de fertilizantes a 10 millones de toneladas de las que 2 son de líquidos. En Alemania se consume aproximadamente 1 millón de toneladas de fertilizantes líquidos. En ambos países para trigo, cebada y colza.

El agricultor tiene su tanque, muchas veces comprado de segunda mano, bajo la recomendación del fabricante de abonos; o bien un contenedor flexible igual que las piscinas de plástico que montamos en el jardín de casa.

También es normal tener tanques de polietileno de 12.500 litros, de manera que nos sirven el abono líquido y una sola persona puede aplicar al día unas 100 hectáreas con una barra de 18 metros. Se abandona por tanto la penosa aplicación de sólidos.

ABONO STARTER LÍQUIDO

Se aplica con un aparato que es más económico que el del sólido y de igual o mayor eficacia.

Fertilizantes de alta eficiencia. Combinados con abonos especiales de cobertera, es utilizado en programas de bajo consumo de fertilizantes. Dichos programas tratan de maximizar el uso de fertilizantes al tiempo que se busca una reducción de costes de cultivo y de contaminación ambiental.

Son fertilizantes de diseño. Han sido estudiados específicamente para satisfacer las necesidades nutritivas de los cultivos desde las primeras fases de desarrollo hasta el momento de la complementación en cobertera. Su aplicación se realiza con la máquina de siembra, con un aparato independiente de la semilla.

Generan los siguientes beneficios en el cultivo:

- Mayor vigor de nascencia.
- Mejor respuesta de la planta frente a situaciones de estrés (frío, sequía, ataque de plagas y enfermedades...).
- Mejora general de la sanidad.
- Aumento del sistema radicular.
- Precocidad en recolección.
- Mayor aprovechamiento del NPK circundante.

Es un sistema muy eficaz para aportar zinc (como quelato), nitrógeno y fósforo que la planta necesita es esas fases. También puede aportar una compleja y completa fracción orgánica, formada a su vez por agentes bioestimulantes del crecimiento radicular y vegetativo aéreo, así como agentes activadores de la microflora del suelo y agentes desbloqueadores de nutrientes principales, secundarios y microelementos habitualmente inaccesibles en el suelo.

MÁQUINA INYECTORA PARA CEREAL

Novedad impresionante que queremos presentar en el Symposium. Proyectaremos un video de corta duración.

5.- CONCLUSIONES

Está claro que el futuro de los fertilizantes es de los líquidos, sobre todo por comodidad. Vemos como el mercado está en recesión en cuanto al consumo de fertilizantes y sin embargo los líquidos van en aumento. Cada día la mano de obra es más cara, motivo que contribuye al desarrollo de los líquidos.

Recuerde que: ¡LAS PLANTAS NO COMEN, BEBEN..!

NBT: SOLUCIONES A LA CARTA PARA LA AGRICULTURA SOSTENIBLE

Alfonso Rodríguez
Responsable Ensayos
Newbiotechnic S.A. (NBT)

Newbiotechnic, S.A. (NBT) es una empresa privada fundada en enero de 1999 perteneciente al Grupo Empresarial EL MONTE Caja de Huelva y Sevilla. NBT es una empresa *intensiva en conocimiento* basada y dedicada principalmente a la Investigación Científica, el Desarrollo Tecnológico y la Innovación (I+D+i) en Agrobiotecnología.

El equipo humano, altamente cualificado, está constituído por 23 empleados en plantilla (de ellos 6 doctores y 14 licenciados) y colaboradores externos: 4 asesores científicos de alto nivel, 1 asesor en propiedad industrial (experto en patentes biotecnológicas), y 5 becarios de investigación. Además, la empresa mantiene colaboración con más de 40 grupos pertenecientes a centros públicos de investigación, constituyendo la llamada *Red de I+D de NBT* en la que participan alrededor de 200 investigadores.

NBT es una empresa biotecnológica orientada a los sectores agrario y agroalimentario. Está implicada en diversos proyectos de I+D para el desarrollo de herramientas microbiológicas y moleculares de interés agronómico: mejora vegetal y del rendimiento de las cosechas, sanidad vegetal, nuevas alternativas –más seguras para el consumidor y el medioambiente– a los productos agroquímicos, aditivos de bajo riesgo para la industria alimentaria, y métodos innovadores de biorremediación.

El objetivo principal de estos proyectos es la identificación y traslado al mercado de soluciones innovadoras como:

- Agentes de biocontrol
- Fitopatología molecular
- Certificación Agrícola
- Genes implicados en actividades microbianas
- Tecnología de genes para la mejora de cultivos y aplicaciones industriales
- Genes y productos génicos de interés en biorremediación

Recursos de I+D

Los servicios del Departamento de I+D de NBT incluyen acceso a un amplio espectro de biodiversidad microbiana, secuenciación, *arrays* de ADN, análisis bioinformático, sistemas de expresión de proteínas, equipos de fermentación para producción de inóculos microbianos y proteínas, así como acceso a ensayos de campo e invernadero.

Estos recursos se emplean para desarrollar las distintas áreas de negocio, y se basan en una colección amplia y bien caracterizada de cepas microbianas, una base de datos de genes y proteínas de interés biotecnológico, y cuatro plataformas tecnológicas:

- **Molecular y Genómica.** Un completo laboratorio de Biología Molecular equipado para servicios genómicos que incluyen: extracción de ADN y secuenciación capilar de alto rendimiento, construcción de *macro-arrays* de alta densidad, análisis de muestras de ADN y proteínas, herramientas hardware y software para la adquisición y tratamiento de datos y análisis bioinformático.
- **Diagnóstico Fitopatológico**, consistente en un laboratorio completamente dotado para el trabajo de análisis microbiológico y fitopatológico.
- **Ensayos de Eficacia**, para la realización de ensayos en ondiciones reales de cultivo (tanto en campo abierto como en invernadero).
- **Producción**, diseñada para el desarrollo y puesta a punto a nivel industrial de métodos de producción de agentes de biocontrol, "del laboratorio al mercado".

La empresa ha desarrollado una red de grupos de investigación, vinculados mediante acuerdos decolaboración a largo plazo, con importantes centros de investigación españoles einternacionales, y también con empresas de los sectores biotecnológico y agroalimentario. Esta estrategia de alianzas tecnológicas ha permitido a NBT tener acceso a un amplio horizonte de conocimientos, técnicas y recursos en biología molecular y agricultura, así como explorar y explotar unas igualmente amplias oportunidades de negocio.

Áreas de Negocio

Biocontrol de enfermedades y plagas de plantas

I+D en agentes de control biológico: selección y mejora de microorganismos con actividad biológica contra plagas y patógenos de plantas, optimización de formulaciones y producción comercial. Ya están disponibles algunos biofungicidas y bioinsecticidas en el mercado, y otros están en fase de registro de productos fitosanitarios.

Identificación de patógenos de plantas y variedades vegetales

I+D y servicios para:

- Diagnóstico molecular de patógenos de plantas y plagas, y
- Marcadores moleculares de plantas para identificación y certificación varietal y su seguimiento (herramientas útiles para productores de semillas y viveristas, así como para la protección de derechos de propiedad).

Este área de agrodiagnóstico cuenta con un Laboratorio de Fitopatología completamente equipado, que utiliza tanto técnicas moleculares propietarias como otros métodos moleculares y microbiológicos de identificación disponibles comercialmente o descritos en la literatura científica.

Gestión integrada de enfermedades y plagas en cultivos

Este es un concepto de negocio integral, orientado al diseño de soluciones a medida para agricultores que se enfrentan a problemas específicos en cultivos de alto valor. El servicio incluye tanto el estudio e identificación de las enfermedades y/o plagas que limitan la producción, como el desarrollo, aplicación y seguimiento de una estrategia adaptada a las condiciones específicas del cultivo, basada en la amplia experiencia agronómica y fitopatológica de nuestro equipo. Diagnosis y tratamiento específico, integrando soluciones de control biológico y otras disponibles comercialmente, constituyen la base de este programa de protección vegetal.

Servicios de diagnóstico molecular

La capacidad de la plataforma genómica es compartida entre los proyectos de I+D internos y estos servicios comerciales. Además de diagnosis fitopatológica e identificación molecular de variedades vegetales, el laboratorio de Biología Molecular ofrece servicios externos de secuenciación de ADN y *macro-arrays*, diagnóstico genético humano y servicios de identificación molecular veterinaria. También desarrolla y dispone de tecnologías propietarias para la identificación molecular de patógenos de plantas, y de microorganismos de interés en los sectores médico y/o agroalimentario.

Tecnología de genes para la mejora de cultivos

Varios proyectos de I+D en genómica funcional y proteómica de plantas (fresa, *Arabidopsis,* olivo, garbanzo) y microorganismos del suelo (*Trichoderma, Pseudomonas*) constituyen la base para desarrollar herramientas de mejora vegetal por transformación genética. La cartera actualmente disponible incluye tecnologías propietarias y licenciadas que se pueden agrupar en tres líneas:

- Genes de resistencia/tolerancia a enfermedades y plagas: genes que codifican para proteínas o péptidos con actividad antifúngica, insecticida o nematicida.
- Genes que mejoran la calidad comercial de frutos: genes implicados en la maduración del fruto, y que mejoran sus propiedades organolépticas (dureza, aroma, color, sabor, valor nuticional, etc).
- Herramientas moleculares para la mejora de cultivos por técnicas de obtención tradicionales o por modificación genética: promotores para expresión dirigida en tejidos/órganos específicos en diferentes estadíos de desarrollo (promotores específicos de fresa, promotor específico en anteras para la andro-esterilización de plantas, promotor específico de tricomas).

Algunas de estas aplicaciones son desarrollos internos, para determinados cultivos de interés prioritario (resistencia fúngica en fresa, andro-esterilización en cereales, colza, solanáceas y leguminosas), y se han producido algunas variedades transgénicas que actualmente se están caracterizando. Por otra parte, se han firmado acuerdos de licencia con empresas biotecnológicas para explorar aplicaciones en otros cultivares de interés y en distintas áreas geográficas.

¿Qué aporta NBT a la certificación dentro de un marco de Agricultura Sostenible?

La *Agricultura Sostenible* se define como "un sistema integrado de prácticas de producción, de aplicación ambiente-dependiente, que a largo plazo pueda satisfacer las necesidades de alimentos y fibras de la población mediante la utilización eficiente de ínsumos y tecnologías agrarias, sin comprometer la conservación de los recursos naturales, la calidad del medio ambiente y la competitividad de los productos en precios y calidades que requiere el comercio internacional".

La aplicación de estrategias no-químicas para el control de plagas y enfermedades no debe conseguirse a expensas de afectar la producción necesaria de alimentos y la viabilidad de las explotaciones agrícolas (Jiménez-Díaz, 1998), por lo que deben arbritarse de forma combinada, secuencial o simultánea todas las medidas de control disponibles en el uso eficiente de la Agricultura Sostenible. Estas medidas incluyen:

- La elección de suelo de cultivo libre del patógeno, o conteniendo la menor cantidad posible de él.
- La utilización de material vegetal libre del patógeno.
- La utilización más eficiente de cultivares resistentes al patógeno.
- La aplicación de agentes de control biológico disponibles para proteger dicho material de la infección subsiguiente a su siembra o plantación.
- La modificación de prácticas de cultivo para evitar condiciones demasiado favorables para la enfermedad o el patógeno, y desfavorables para el agente de biocontrol.
- El uso de productos fitosanitarios para suplementar insuficientes niveles de control que resultan de la aplicación de otras medidas de lucha (Jiménez-Díaz y col., 2000).

En NBT contamos con elementos imprescindibles para conocer e interpretar mejor los procesos biológicos y para reducir la utilización de ínsumos perjudiciales para la salud y el medioambiente, dentro de sistemas más sostenibles y seguros. La creciente demanda social sobre sanidad y seguridad alimentaria, y calidad medioambiental, para reducir el uso de agroquímicos y desinfectantes volátiles del suelo, reflejada en la Ley de Sanidad Vegetal, nos lleva a poner al servicio de los agricultores distintas herramientas para que, en cumplimiento del Título II de la citada Ley, puedan abordar la vigilancia y notificación sanitaria de sus cultivos, mantener un buen estado sanitario en sus explotaciones, aplicar las medidas fitosanitarias obligatorias y racionalizar el uso de medios de defensa fitosanitaria.

Nuestra empresa dispone de un Laboratorio de Fitopatología que, además de apoyar el I+D de la empresa, tiene como objetivos el desarrollo de nuevos productos y la interacción con los departamentos de Biocontrol, Ensayos y Producción. Ofrecemos servicios de:

- Certificación sanitaria de cultivos
- Diagnóstico de enfermedades de plantas cultivadas mediante el uso de nuevas tecnologías en Fitopatología "clásica" y molecular.

Y temas en desarrollo productos de biocontrol a nivel de microorganismos, genes y productos génicos.

Certificación sanitaria de cultivos

La utilización de material de multiplicación de alta calidad es uno de los factores que determinan el éxito del cultivo. Para lograr mantener los niveles de producción con la calidad requerida, es necesario mantener unos controles fitosanitarios muy estrictos sobre el material vegetal importado, sobre el material vegetal de siembra y en general sobre todo el sistema de producción antes y después de la cosecha.

El Real Decreto 2071/1993 relativo a las medidas de protección contra la introducción y difusión en el territorio nacional y de la Comunidad Europea de organismos nocivos para los vegetales, productos vegetales, así como la exportación y el transito hacia países terceros, es la normativa básica legal en la Unión Europea en lo concerniente a la sanidad de los materiales vegetales. Se contemplan tres niveles de actuación según se trate de:

1. Patógenos de cuarentena de los cuales no se tiene constancia en la Comunidad Europea.
2. Patógenos de cuarentena de cuya presencia se tiene constancia en la C.E.
3. Otros organismos patógenos no objeto de regulaciones oficiales pero de importancia para considerar unas plantas en buen estado fitosanitario.

Si tomamos como ejemplo el cultivo de fresa, el citado Real Decreto establece que se deberá prohibir la entrada de los siguientes patógenos del grupo 1: Strawberry latent "C" virus, Strawberry vein banding virus y Strawberry witches broom mycoplasm. Así como se impedirá la movilidad de material vegetal que contenga los siguientes patógenos del grupo 2: el nematodo Aphelenchoides besseyi, la bacteria *Xanthomonas fragariae*, los hongos *Colletotrichum acutatum* y *Phytophthora fragariae* var. *Fragariae* y los virus y organismos afines: Arabis mosaic virus, Raspberry ringspot virus, Strawberry crinckle virus y Strawberry mild yellow edge virus.

De la misma forma, otros cultivos necesitan un tratamiento similar para conseguir una adecuada certificación fitosanitaria. En NBT, hemos pensado en ello y estamos al servicio del agricultor. Contamos con modernos equipos, personal cualificado y disponemos de técnicas moleculares para llevar a cabo diagnósticos fitopatológicos seguros. Clasificamos a los patógenos que detectamos en cuatro niveles: a) organismos de cuarentena no presentes en la UE, b) organismos nocivos de cuarentena presentes en la UE, c) organismos nocivos indeseables, y patógenos que afectan a la producción.

Es importante señalar que, en este tipo de trabajos, la clave está en el análisis y muestreo del material antes de ser plantado, ya que un rechazo numeroso de semillas o de plantas comprometerá las cifras de siembra. La primera fase de certificación deberá realizarse en los semilleros y viveros, y el agricultor estará en su derecho de exigir un material certificado y libre de patógenos. De lo contrario, la diseminación de los éstos en el campo de cultivo podrá tener consecuencias irreparables.

En NBT también hacemos desarrollos "a la carta", como estudios de germinación de semillas, control de calidad de productos que contienen microorganismos, y estudios varietales con aplicación de marcadores moleculares

a la identificación de material vegetal y a la selección en planes de mejora genética.

Lógicamente, la calidad fitosanitaria deberá certificarse sobre los patógenos presentes en cada etapa de producción, evitando la realización de ensayos supérfluos, sobre material vegetal inadecuado, para detectar la presencia de una concentración de inóculo suficiente de un determinado patógeno. Aquí juega un papel fundamental la sensibilidad de la técncia de diagnóstico propuesta. También resulta primordial la adopción de medidas correctoras, una vez detectada la causa del problema.

Control Biológico

La Política Agraria Común de la UE y la Ley Básica de Agricultura y Desarrollo Rural dibujan el marco general de la política agroalimentaria y agroambiental que se va a aplicar en el sector en los próximos años. Se primará la seguridad y trazabilidad de los alimentos, reforzando los sistemas de inspección y control, así como el fomento y compensación de los compromisos medioambientales de los productores.

Todos estos factores establecen el equilibrio entre ecológico y sostenible, y como resultado surge la necesidad de desarrollar productos acordes con las actuales exigencias y demandas del mercado y como consecuencia la oportunidad de nuevas líneas de negocio centradas en la sustitución de plaguicidas de origen químico por agentes de control de origen biológico, más respetuosos con el medio ambiente y más seguros para el consumidor. Desde NBT apostamos por los agentes de biocontrol sin importarnos el esfuerzo que supone abrir nuevas líneas de producto y ser pioneros en su registro.

NBT ha logrado hasta la fecha, en estudios de investigación y desarrollo, el diseño de formulaciones líquidas, en polvo mojable o en gránulos dispersables (**TUSAL**® LS , **TUSAL** ® WP y **TUSAL** ® WG), a base de esporas del hongo *Trichoderma* (Monte, 2001), para su aplicación en campo sobre cultivos de remolacha, lechuga, melón, fresa, tomate, pimiento, pepino, coliflor, vid, espárrago, algodón, clavel, olivo, castaño y aguacate entre otros, logrando efectos prometedores sobre el control de patógenos fúngicos tales como *Rhizoctonia, Phoma, Fusarium, Acremonium, Sclerotinia sclerotiorum, Verticillium, Pythium, Phytophthora, Botrytis* etc. Adicionalmente, NBT ha producido –a escala laboratorio– una serie de extractos proteicos a partir de diferentes cepas de Trichoderma que han mostrado su eficacia como inductores del crecimiento y estimulantes de respuesta sistémica en plantas ("vacunas de plantas"), mediante evaluaciones realizadas sobre planta de fresa y en tratamiento de frutos postcosecha sobre ciruela, naranja y fresa. Paralelamente, también se está desarrollando un producto a base del bioinsecticida *Beauveria bassiana* en medio oleoso.

El Control Biológico constituye una alternativa segura y limpia a los fumigantes y fitosanitarios de uso común en Agricultura. Como continuación a la participación de NBT en el proyecto de la UE FAIR6-CT98-4140, hemos desarrollado formulaciones a base de *Trichoderma* en un intento de cubrir parte del hueco dejado por la prohibición del bromuro de metilo como fumigante de suelo. Como el sector hortofrutícola ha venido dependiendo de éste desinfectante químico, será precisamente ese segmento productivo el máximo beneficiario de nuestra tecnología. Además nuestro modelo también puede servir para otros tipos de agricultura como la biológica, integrada o sostenible, y en aquellos casos en los que un pesticida o fumigante deba ser prohibido y sustituido por otros más ecológicos y saludables.

La utilización de extractos fúngicos para inducir respuesta sistémica en plantas se viene haciendo en los grupos académicos que colaboran en el I+D de NBT en los últimos cinco años. El componente novedoso de esta tecnología es la producción de proteínas a una escala superior a la del laboratorio y su empleo en cultivos en ambiente natural, junto a la puesta a punto en sistemas modelo de evaluación como pueden ser las células de perejil y fresa.

REFERENCIAS

JIMÉNEZ DÍAZ, R.M. (1998). Control de enfermedades. En R.M. Jiménez Díaz y J. Lamo de Espinosa eds., *Agricultura sostenible.* Agrofuturo, Life, Mundi-Prensa, Madrid. pp. 345-347.

JIMÉNEZ DÍAZ, R.M., NAVAS CORTÉS, J.A., HERVÁS VARGAS, A., LANDA DEL CASTILLO, B.B., JIMÉNEZ GASCO, M.M., BEJARANO ALCAZAR, J., RODRÍGUEZ JURADO D. y PÉREZ ARTÉS, E. (2000). Implicaciones del control de enfermedades en la agricultura sostenible. Phytoma España 116: 26-38.

MONTE, E. (2001). Editorial Paper: Understanding *Trichoderma:* Between Agricultural Biotechnology and Microbial Ecology. Int. Microbiol. 4:1-4.

MUNDT, C. (2000). Sustainability, productivity and the future of agriculture. *Phytopathology News* 34: 80.

TUSAL ®

TUSAL ® contiene una mezcla de cepas de los hongos T*richoderma harzianum* y *Trichoderma viride,* con una concentración mínima de 5 x 108 ufc (unidades formadoras de colonias) por gramo de producto. Las cepas son agentes de control biológico aisladas a partir de ecosistemas naturales, sin ninguna manipulación genética, y poseen actividad antagonista principalmente frente a hongos del suelo.

FORMULACIÓN

TUSAL ® WG son gránulos dispersables en agua, cuya composición es:

Trichoderma harzianum y *Trichoderma viride* .....1 %

Coformulantes inertes.....99 %

Dejar hidratar los gránulos 5 minutos antes de suspender en el agua con agitación. La suspensión debe ser utilizada el día de su preparación. Agitar antes y durante la aplicación.

MECANISMOS DE ACCIÓN

TUSAL ® actúa mediante los siguientes mecanismos:

- competición: colonizando el suelo y raíces de la planta, ocupando un espacio físico y evitando que los patógenos puedan multiplicarse.
- micoparasitismo: eliminando los patógenos mediante predación por medio de enzimas hidrolíticas que destruyen su pared celular e invasión de las hifas.
- promoviendo el desarrollo del sistema radicular de la planta.
- eliminando compuestos tóxicos y potenciando la asimilación de nutrientes y microelementos.
- activando los mecanismos de defensa de la planta.

El efecto de **TUSAL** ® se manifiesta en una protección de la planta frente a hongos patógenos, evitando la aparición de enfermedades, y en un mayor crecimiento radicular y vegetativo, que conlleva un aumento de rendimiento en la cosecha.

Debido a que **TUSAL** ® es sobre todo un biofungicida preventivo para el control de hongos del suelo, es preferible su aplicación antes o en el momento de plantar, para permitir el establecimiento de las poblaciones de *Trichoderma* en la rizosfera de la planta.

TUSAL ® es activo a temperaturas por encima de 10ºC y por debajo de 37ºC, siendo el intervalo óptimo de temperatura para su desarrollo entre 20

y 28ºC. Los tratamientos son más eficaces si se aplican a temperaturas suaves. Su actividad biofungicida es mayor en suelos neutros o ácidos, aunque es capaz de crecer incluso a pH 9. Es recomendable la aplicación a suelos húmedos.

TUSAL ® es eficaz tanto en agricultura convencional como en otros sistemas más sofisticados, como hidroponía o paper-pot.

TUSAL ®, al no dejar residuos, no necesita plazo de seguridad para recolección de la cosecha. *Trichoderma* es un hongo saprófito, cosmopolita, que se aísla con mucha frecuencia en la naturaleza y que no genera resistencias en otros patógenos. TUSAL ® constituye una alternativa biológica más sana, limpia, no acumulable en la cadena alimentaria y respetuosa con el medio ambiente, en contraposición a los pesticidas químicos polucionantes de uso común en Agricultura.

TUSAL ® no requiere un equipo especial para su aplicación.

CULTIVOS Y PATÓGENOS

TUSAL ® ha sido ensayado con resultados satisfactorios en muchos patosistemas, incluyendo:

- damping-off en remolacha
- podredumbre de raíz de remolacha por Rhizoctonia
- podredumbre de raíz de remolacha por Phoma
- virus de la rizomanía en remolacha (control del hongo vector Polymyxa betae)
- enfermedades de la fresa (Colletotrichum, Rhizoctonia y Phytophthora)
- enfermedades fúngicas de tomate, pimiento, pepino y coliflor (Fusarium, Rhizoctonia, Pythium y Phytophthora)
- lechuga (Sclerotinia sclerotiorum y S. minor)
- colapso del melón (Acremonium y Monosporascus)
- algodón (Verticillium)
- podredumbre de raíz en aguacate (Rosellinia necatrix y Phytophthora cinnamommi)
- verticilosis del olivo (Verticillium)
- vides (heridas de poda)
- clavel (Fusarium)
- espárrago (Fusarium)

FORMA, DOSIS Y FRECUENCIA DE APLICACIÓN

TUSAL ® se puede aplicar a través del sistema de riego, por inmersión de plantas, por pildoración y mezclado con sustratos.

TUSAL ® es útil para tratamiento en viveros e invernaderos, semillero y transplantes, aplicaciones en campo, cultivos hortícolas y ornamentales, así como para grandes extensiones de céspedes, jardines y áreas de recreo.

El uso de **TUSAL** ® está especialmente indicado en remolacha, fresa y hortícolas.

- Para inmersión: 2 g de **TUSAL** ® por 1 L de agua (0,2 %). Inmersión de plantas 10 minutos, con agitación constante y renovando la suspensión con frecuencia.
- Para aplicación a través del sistema de riego: 1 kg **TUSAL** ®/ha suspendido en una cantidad de agua suficiente para asegurar una aplicación uniforme. Se recomienda aplicar unos días (5-7 días) antes de la siembra o transplante o en el momento de la siembra o transplante, para permitir el establecimiento de *Trichoderma* en el suelo.
- Para utilizar en semilleros, macetas o bandejas, mezclar con el sustrato humedecido en proporción de 500 g/m^3 de **TUSAL** ®, suspendidos en agua.
- En todos los casos se recomienda, al menos, una aplicación adicional 20-30 días después de la aplicación inicial, a mitad del ciclo de cultivo, cuando las condiciones sean favorables para la aparición del patógeno, o en condiciones de estrés de la planta.
- La dosis de las aplicaciones de recuerdo será de 1 kg/ha ó 0,5 kg/ha de **TUSAL** ®.
- **TUSAL** ® es un producto preventivo, sin embargo se puede utilizar para tratamiento de suelos donde la enfermedad ya está establecida, reduciendo el potencial de inóculo del patógeno.
- Para tratamiento de semillas: consultar con el servicio técnico de NBT (955776710; info@newbiotechhnic.com).

COMPATIBILIDAD

Es posible utilizar **TUSAL** ® en sistemas de producción integrada (IPM) con otros métodos de control, incluyendo la aplicación de dosis reducidas de fungicidas químicos.

No mezclar con fungicidas cuyo principio activo sea benomilo, carbendazima, clortalonil, imazalil, quinosol ni TCMTB.

TUSAL ® es compatible con azoxistrobin, fosetil Al, himexazol, kresoxin-metil, mancozeb, pencicuron, polioxina B, pirimetanil y zineb. Como norma

general, es mejor dejar dos semanas entre la aplicación de fungicidas químicos y **TUSAL** ®. Consultar con nuestro departamento técnico cualquier duda sobre compatibilidades (955776710; info@newbiotechhnic.com).

Para utilizar **TUSAL** ® después de un tratamiento con agentes como bromuro de metilo, conviene hacerlo respetando los plazos de seguridad y aplicando antes de la siembra.

TUSAL ® es compatible con la mayoría de productos fitosanitarios, como herbicidas, insecticidas, etc. y productos nutricionales.

Trichoderma no es tóxico ni produce daños en la salud del hombre y de los animales, y es seguro para el medio ambiente. Es inocuo para artrópodos útiles y para abejas. Es un producto no alergénico.

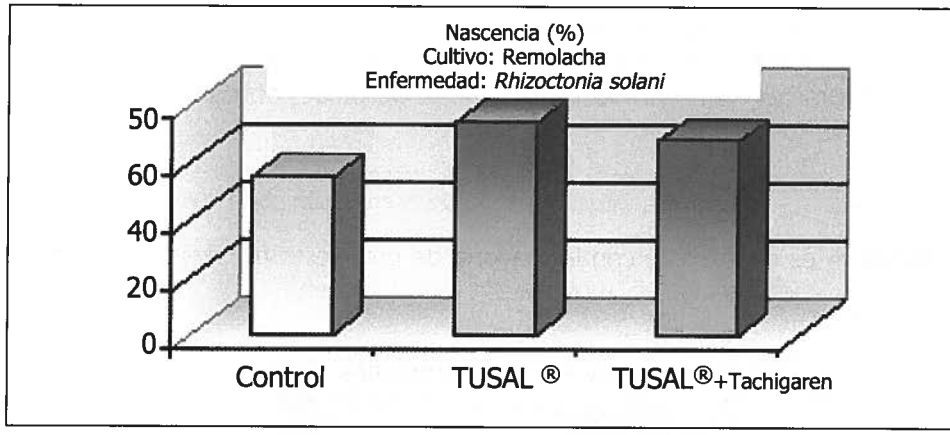
PRECAUCIONES

- Mantener fuera del alcance de los niños.
- Evitar el contacto con la piel y los ojos.
- Evitar respirar el polvo.
- No almacenar cerca de alimentos.
- No aplicar directamente al agua.
- Los manipuladores deben llevar gafas, guantes protectores y mascarilla, para evitar inhalación.
- Lavar las manos con agua y jabón después de su manipulación.
- No usar después de la fecha de caducidad.
- No aplicar a cultivos de champiñones.

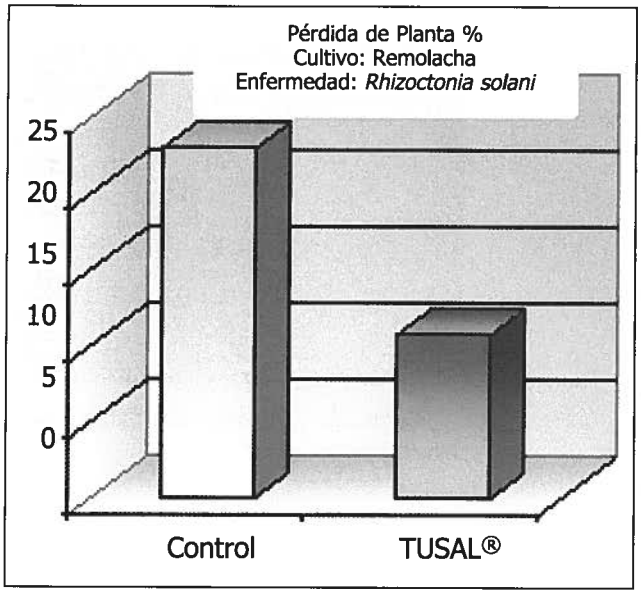
ENSAYOS DE EFICACIA

Remolacha

Desde 1990, venimos trabajando en la aplicación de *Trichoderma* sobre semillas de remolacha, rodeándolas junto con la matriz arcillosa que las recubre en su presentación comercial, formando una píldora, dando lugar a una serie de resultados muy positivos que nos ha permitido afrontar con éxito, de forma ininterrumpida durante los últimos siete años, el control biológico de *Rhizoctonia solani.* Desde 1996 se han evaluado más de 40 campos de ensayos de remolacha tratados con **TUSAL** ®, en diferentes localidades de Castilla y León. Los incrementos en el rendimiento en kg de azúcar por hectárea, observados para el tratamiento con **TUSAL** ®, fueron un 5% a un 20% superiores al rendimiento obtenido con las semillas pildoradas de forma convencional, con himexazol y tiram (Grondona y col., 2001). La pildoración de las semillas de remolacha con *Trichoderma* combinado con el fungicida himexazol dio lugar a incrementos en el rendimiento en azúcar inferiores a los obtenidos con la pildoración con **TUSAL** ® (Grondona y col., 2003).



En un ensayo llevado a cabo en Baños de Cerrato (Palencia), en 2002, **TUSAL** ® mejora significativamente el control de *R. solani,* con valores de incremento de la nascencia del 20% sobre el testigo.



En Vinaderos (Ávila), en 2002, **TUSAL** ® redujo la pérdida de plantas a lo largo del cultivo, debido a *R. solani*, un 6 y un 8 %, para dos variedades distintas de semillas de remolacha.

Fresón

TUSAL ® ha demostrado ser eficaz en la protección de cultivos de fresa frente a patógenos en vivero, en campos de producción de fresa y en cultivos hidropónicos, incrementando además el rendimiento del cultivo.

En viveros de fresa de altura, localizados en Santervás de la Vega (Palencia), **TUSAL ®** ha demostrado efectos positivos en precocidad y desarrollo de raíces, observándose un número de plantas hijas comerciales 2-7% superior al testigo.

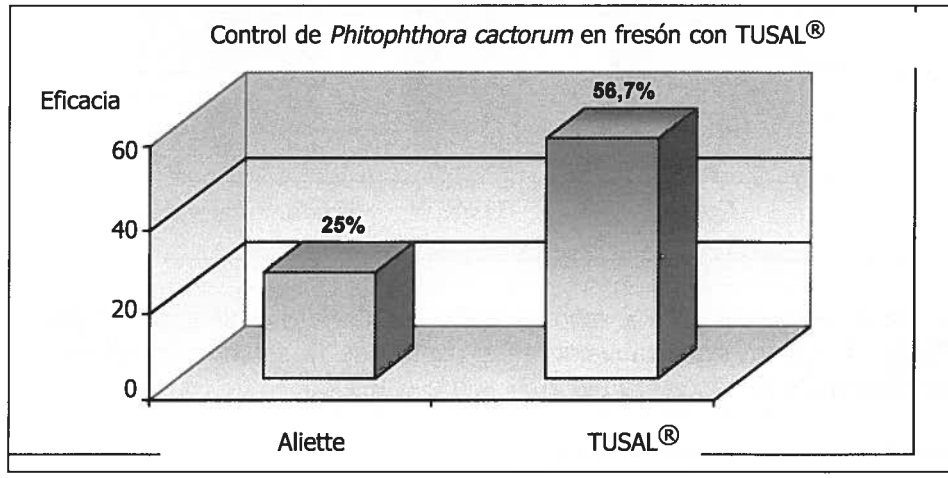


Foto 1: Aplicación de TUSAL®

Foto 2: Planta afectada por *Phytophthora*

En campos de producción de fresa, en distintas localidades de la provincia de Huelva: Almonte y Cartaya, se han observado incrementos en el rendimiento del 10%, expresado en peso de frutos, por efecto de **TUSAL ®**. En algunos casos la aplicación de *Trichoderma* se ha combinado con diferentes métodos de control, como solarización, observándose un efecto sinérgico entre solarización y aplicación de **TUSAL ®**, que dio lugar a un incremento del 16% sobre el testigo en peso de frutos por planta. Los campos ensaya-

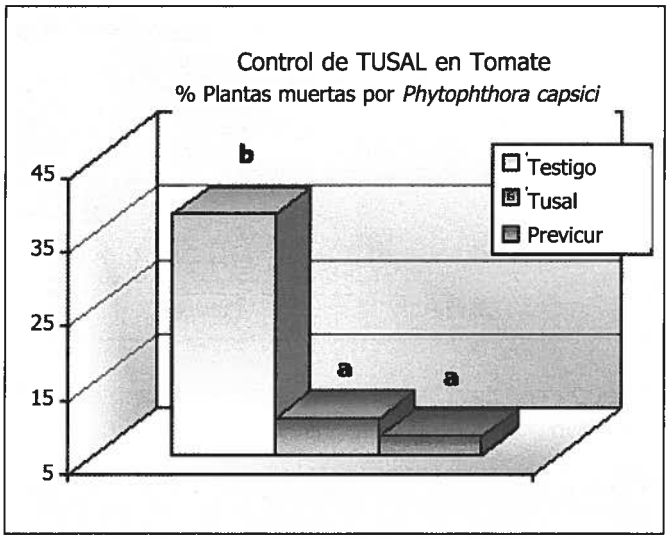
dos estaban sin bromurar y en ellos se habían desarrollado los patógenos Phytophthora cactorum y, en menor medida, *Colletotrichum acutatum.*

En ensayos de inoculación artificial con *Phytophthora cactorum*, **TUSAL ®** ha manifestado una interesante acción sobre este Foto 2: Planta afectada por Phytophthora sp. patógeno del suelo, superior al producto de referencia químico Aliette, obteniendo un buen nivel de protección del cultivo y mejora del rendimiento.

En cultivos de fresa hidropónicos diferentes tratamientos con **TUSAL ®** proporcionaron una producción de frutos de primera categoría superior al testigo, fundamentalmente y con diferencias significativas, para los tratamientos que incluían aplicación al sustrato e inmersión de plantas. Las aplicaciones de recuerdo mejoraban estos valores.

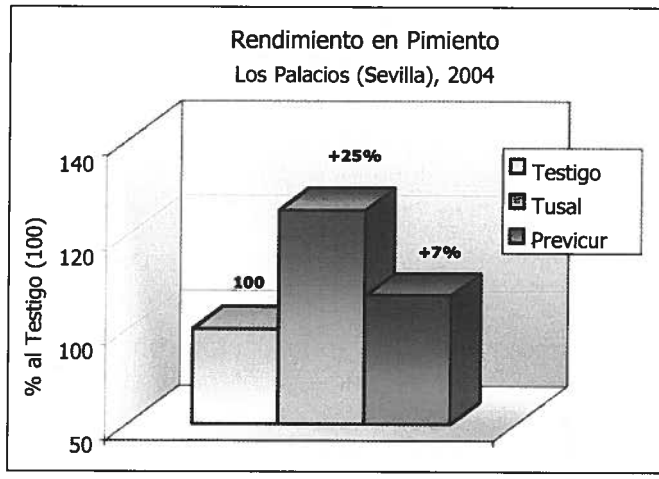
Hortícolas

Se ha observado un efecto beneficioso de **TUSAL ®** en diferentes cultivos hortícolas.



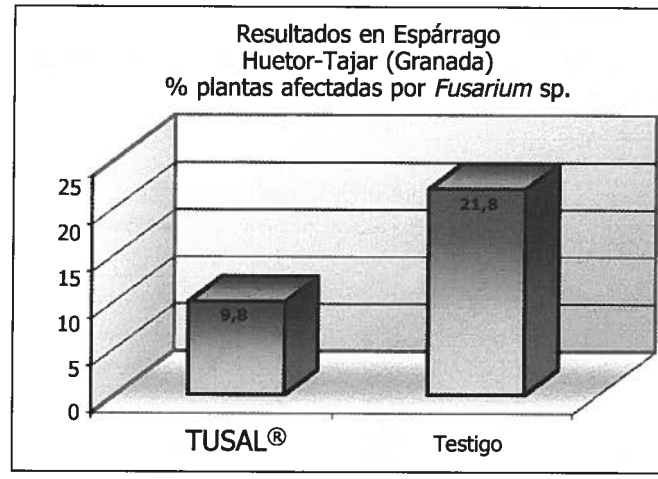
En lechugas protegidas con **TUSAL ®**, en Benicarló (Castellón), se ha obtenido una reducción de la enfermedad producida por *Sclerotinia* sp. entre un 40 y un 45%.

TUSAL ® reduce la incidencia de *Phytophthora capsici* en plantas de tomate en invernadero un 73%, con un incremento de rendimiento en frutos del 26%.

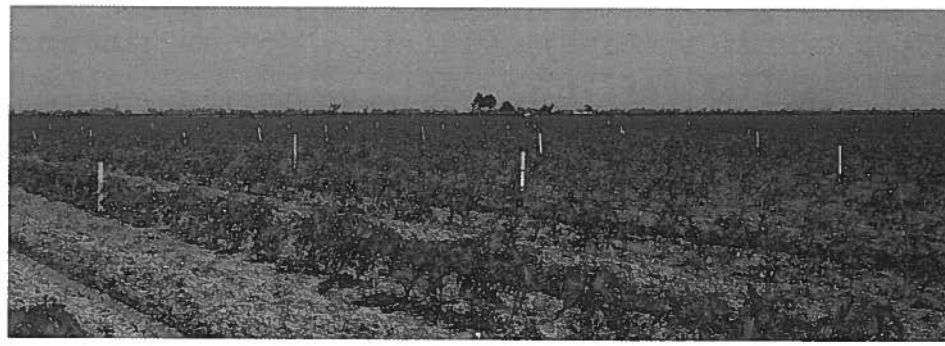


En pimiento en invernadero, las plantas afectadas por Fusarium disminuyeron un 68% mediante la aplicación de **TUSAL ®**, produciendo un incremento en el rendimiento del 25%.

La aplicación de **TUSAL ®** en el transplante de espárragos, en Huétor-Tájar (Granada), redujo considerablemente (45%) la incidencia de *Fusarium* spp. durante la época vegetativa del cultivo.



En tomate industrial se han realizado varios ensayos con resultados espectaculares, obteniéndose una media de 63% de aumento de producción.



Vista General del Ensayo en Tomate destinado a la Industria – Pinzón 2004 NBT inició el proceso de registro, con la solicitud de autorización de ensayos de eficacia en ambiente natural a escala agronómica, en 2001. Actualmente se está completando el expediente sobre la caracterización tanto de la materia activa como del producto formulado. Asímismo, en octubre de 2002, NBT presentó notificación de inclusión de sustancia activa en la lista europea de agentes de biocontrol, para *Trichoderma harzianum* y *T. viride,* y en enero de 2003 se completó la notificación en la UE. Dado que el control biológico constituye una línea de negocio global, aplicable a distintos tipos de agricultura en diferentes países, su comercialización se extenderá al extranjero y, de igual forma, compañías de otros países, intentarán comercializar sus productos en España.

REFERENCIAS

GRONDONA, I., MORALES, R., HERMOSA, M.R., REDONDO, J., RICO, C., and MONTE, E. (2001). Biological control of Rhizoctonia solani in traditional-sowed and transplanted sugarbeet. *Journal of Plant Pathology* 83: 483-485.

GRONDONA, I., LLOBELL, A., REDONDO, J., RICO, C. y MONTE, E. (2003). *Trichoderma*: un hongo capaz de controlar *Rhizoctonia solani* en remolacha. Tierras de Castilla y León 93: 12-22.

MONTE, E., GRONDONA, I., DE LA VIÑA, G. and LLOBELL, A. (2003). *Trichoderma* as a tool for IPM strategies in strawberry. HRI Reports. Soft Fruit: 10-14.

VITAGRO ®

Una de las necesidades fundamentales de la agricultura sostenible es la renovación continua de los nutrientes del suelo.

El empleo habitual de fertilizantes químicos en agricultura conduce a la contaminación de las aguas subterráneas por nitratos y nitritos. Estas sustancias son perjudiciales para el ser humano y los animales, especialmente los nitritos, que presentan actividad pro-cancerosa (Shuval *et al*, 1977; Spalding y Exner, 1993). Por este motivo, cada vez es más frecuente el desarrollo de fertilizantes/bioestimulantes respetuosos con el medio ambiente.

Desde hace ya unos años se ha demostrado que la aplicación de aminoácidos y péptidos pequeños ejerce un efecto favorable en las plantas (Zhao, 1989), proporcionándoles una mayor resistencia a las heladas y a los daños producidos por la poda. Además aumentan la producción de los cultivos, la maduración de los frutos y su contenido proteico (Aktas *et al*, 1993; Gunes *et al*, 1994; Aylgworth, 1996). Este efecto es lo que se denomina bioestimulación.

Los bioestimulantes se han obtenido tradicionalmente a partir de materias primas de origen animal, como residuos de matadero (Ordóñez *et al*, 2001), empleando hidrólisis química. Este proceso se caracteriza por la utilización de ácidos fuertes y temperaturas elevadas, que deterioran la calidad del producto final (degradación de ciertos aminoácidos) y no garantizan por completo la eliminación de sustancias tóxicas, virus, priones..., presentes con frecuencia en harinas animales.

Para evitar los problemas mencionados, la tendencia actual está orientada a la producción de bioestimulantes de origen vegetal (Kubo *et al*, 1994; Soetrisno y Holmes, 1992) mediante hidrólisis enzimática. El origen vegetal del producto permite obtener un perfil de aminoácidos adaptado a las necesidades de la planta, muy diferente del perfil característico de las proteínas animales. Ello se traduce en una mejor y más eficaz asimilación por parte de la planta.

IMPORTANCIA DE LOS OLIGOPÉPTIDOS

Los oligopéptidos son transportados al interior de las células a través de la membrana celular, e hidrolizados posteriormente por peptidasas. Los aminoácidos resultantes (Steiner *et al*, 1995; Perry, 1994) se emplean para

- Síntesis de proteínas,
- fuente de nitrógeno y
- fuente de carbono

Según estudios realizados por Higgins y Payne en 1982, los péptidos constituyen una fuente de Nitrógeno para la planta más eficaz que los aminoácidos libres.

Por otra parte, los bioestimulantes que contienen péptidos son de mayor calidad que aquellos constituidos únicamente por aminoácidos libres, ya que existen aminoácidos esenciales inestables, como el triptófano (precursor de hormonas de crecimiento vegetal), que se destruye con la luz solar. Además, los aminoácidos hidrófobos no pueden administrarse por vía líquida (valina, leucina, isoleucina...), al ir englobados en péptidos su asimilación es total por parte de la planta.

VITAGRO ® es un bioestimulante ecológico obtenido mediante hidrólisis enzimática de productos vegetales. Aporta nitrógeno a las plantas a través de oligopéptidos y aminoácidos libres, y contiene fósforo, potasio, fitohormonas naturales y micronutrientes diversos, regulando de forma equilibrada el metabolismo vegetal. El alto contenido en oligopéptidos de **VITAGRO** ® juega un papel fundamental en procesos clave del desarrollo del vegetal (crecimiento, floración, fructificación y situaciones de estrés biótico y abiótico).

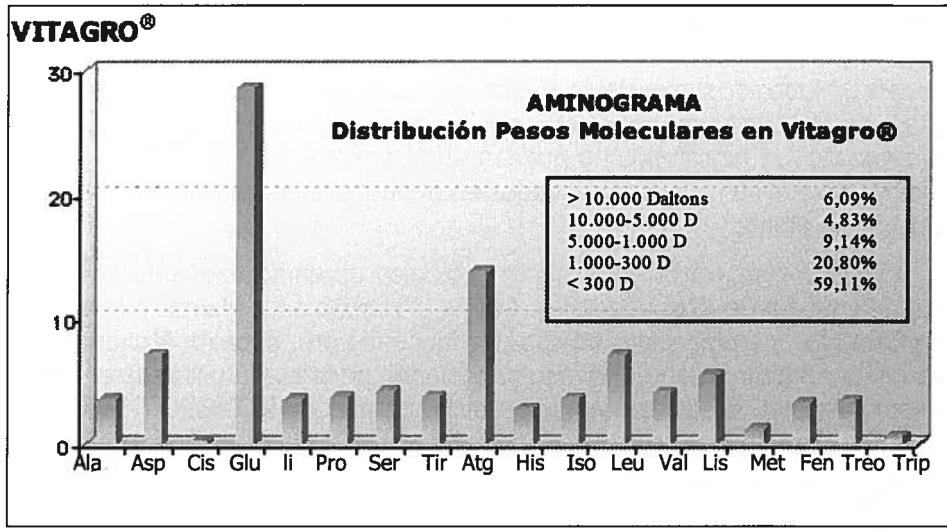
El procedimiento enzimático empleado en la obtención del producto, permite la extracción de las hormonas vegetales presentes en la materia prima. El contenido total de auxinas de **VITAGRO** ® es de 36 ppm. Esta hormona está implicada en la regulación de procesos fisiológicos. Entre otras funciones, estimula el crecimiento de la planta, la floración y la maduración de frutos.

Las plantas tratadas con glutamina acumulan amidas (glutamina y asparagina) en sus raíces. La glutamina se puede utilizar como sustrato en una serie de reacciones importantes para el metabolismo vegetal. Se emplea en la síntesis de proteínas y permite la llegada de nitrógeno y carbono a partes específicas de las plantas (Sechley *et al*, 1992). Diversos estudios sugieren que este aminoácido es una fuente natural importante de nitrógeno para las plantas, induciendo un crecimiento más rápido (Majerowicz *et al,* 2000).

VITAGRO ® se obtiene mediante un proceso de hidrólisis enzimática, evitando la presencia de D-aminoácidos. Éstos aparecen con frecuencia cuando el producto se fabrica mediante hidrólisis química (Bada, 1985), y pueden presentar efectos negativos o tóxicos en organismos vivos (Friedman, 1999), disminuyendo la calidad del fertilizante.

COMPOSICIÓN DE VITAGRO ®

VITAGRO ® presenta un perfil aminoacídico completo y equilibrado.



CONTENIDO GARANTIZADO

Aminoácidos libres	12,5 % (p/p)
Oligopéptidos	14,5 % (p/p)
Nitrógeno total	3,0 % (p/p)
Nitrógeno orgánico	2,3 % (p/p)
Nitrógeno amoniacal	0,7 % (p/p)
Nitrógeno ureico	0,1 % (p/p)
Materia orgánica total	24,0 % (p/p)

Además del alto contenido en péptidos y aminoácidos libres, **VITAGRO®** contiene macro y microelementos que se encuentran formando quelatos naturales con dichos péptidos y aminoácidos, facilitando así su absorción por la planta.

Fósforo (P2O5)	0,61 % (p/p)	Manganeso	13 ppm
Potasio (K2O) total	0,4 % (p/p)	Cobre	11 ppm
Calcio (CaO)	0,15 % (p/p)	Hierro	29 ppm
Magnesio (MgO)	0,20 % (p/p)	Zinc	16 ppm
Sodio (Na2O)	0,04 % (p/p)	Azufre	0,24 % (p/p)
Boro	22 ppm		

APORTE DE FITOHORMONAS

Debido al origen vegetal de las materias primas de las que se extrae **VITAGRO** ® y al proceso enzimático empleado, se ha conseguido extraer fitohormonas, quelatadas por los péptidos.

Las **auxinas** determinan el crecimiento de la planta y favorecen la maduración del fruto. En la composición de **VITAGRO** ® se encuentran: Acido Indolacético (AIA), Acido Indlbutírico (AIB) y Acido Naftilacético (ANA)

Las **giberelinas** incrementan la tasa de división celular, es decir, aumentan el crecimiento de los tallos, inducen la brotación de las yemas, promueven el desarrollo de los frutos, etc. En la composición de **VITAGRO** ® se encuentran: Acido giberélico y Giberelinas GA4 + GA7

Las **citoquininas** estimulan la división celular y el crecimiento, retrasan el envejecimiento de los órganos vegetales, mejoran la floración, inducen la formación de brotes, etc. En la composición de **VITAGRO** ® se ha encontrado: Kinetina

CARACTERISTICAS FISICO QUIMICAS

Grado de solubilidad total	99,86%
Humedad	65,46%
Cloruros	0,13%
Conductividad	20300 µS/cm
Densidad	1,089 g/ml
pH	5,3

MODO DE EMPLEO Y DOSIS

VITAGRO ® puede ser empleado en cualquier tipo de cultivo y en cualquier momento del ciclo, especialmente en los procesos clave del desarrollo del vegetal: crecimiento, floración, fructificación, estrés abiótico y biótico.

VITAGRO ® se puede aplicar tanto foliarmente como por fertirrigación.

Aplicación foliar: 200-400 cc/Hl
Fertirrigación: 5-30 l/ha

VITAGRO ® es totalmente compatible con fertilizantes y fitosanitarios de uso generalizado.

VITAGRO ® es un producto autorizado por la Dirección General de Agricultura e inscrito en el Registro de Fertilizantes y Afines con el nº 5313/09.

VITAGRO ® es un producto registrado por el CAAE para ser utilizado en Agricultura Ecológica con el número FE/001/039

ENSAYOS DE EFICACIA

A lo largo del desarrollo del producto se han realizado una serie de ensayos de eficacia del producto, en diferentes cultivos (hortícolas, fresón, olivar y cítricos) que nos han permitido alcanzar el formulado definitivo de **VITAGRO ®**. Como ejemplo de este trabajo se presentan los datos de un ensayo en tomate de invernadero en condiciones comerciales frente a un producto comercial obtenido mediante hidrólisis química y de origen animal, de uso común en agricultura.

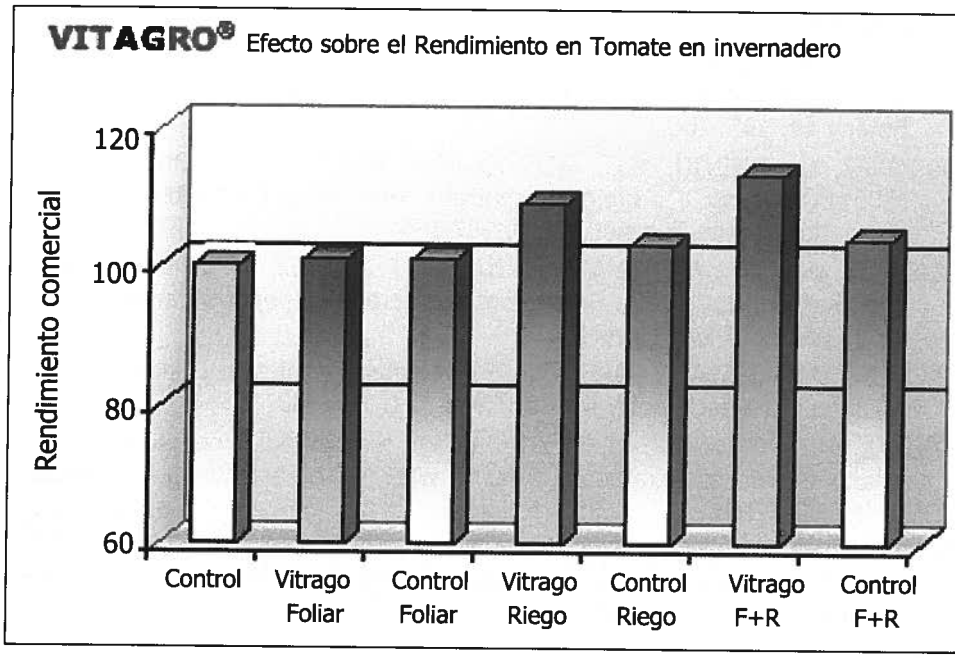
FICHA TÉCNICA DEL ENSAYO

LOCALIZACIÓN DEL ENSAYO			
Finca:	La Atalaya, Los Palacios (Sevilla)		
Fecha de Inicio:	Marzo 2002	**Finalización:**	Julio 2002
DESCRIPCIÓN DEL CULTIVO			
	Nombre Científico	**Nombre Común**	**Variedad**
Cultivo	Lycopersicon lycopersici	Tomate	Bond
Fechas de Plantación:	24/03/02	**Método:**	Transplante
Densidad:	25.000 plantas /ha	**Marco:**	0,4 x 1,0 m
Distancia entre calles:	1,20 m	**Condiciones:**	Invernadero
DISEÑO EXPERIMENTAL			
Tamaño parcela:	16 m^2	**Anchura:**	**Longitud:**
Repeticiones:	4	**Diseño:**	Completamente aleatorizado

DESCRIPCIÓN DE LOS TRATAMIENTOS			
Nº	**Tratamiento**	**Tipo Aplicación**	**Dosis**
1	Control		
2	**VITAGRO ®**	Foliar	300 cc/hl
3	Control Comercial	Foliar	300 cc/hl
4	**VITAGRO ®**	Riego	15 l/ha
5	Control Comercial	Riego	15 l/ha
6	**VITAGRO ®**	Foliar y Riego	300 cc/hl y 15 l/ha
7	Control Comercial	Foliar y Riego	300 cc/hl y 15 l/ha

RESULTADOS

Los resultados tras la evaluación continuada a lo largo de la campaña muestran un claro efecto de **VITAGRO ®** sobre el rendimiento final del cultivo. Se observa un efecto diferencial en función del método de aplicación empleado, con mejores resultados de la aplicación mediante el sistema de fertirrigación del agricultor (+9%) que en aplicaciones foliares (+3%), sin embargo es destacable el efecto que la aplicación foliar ejerció sobre plantas tratadas también vía riego, potenciando su efecto (+13%).



REFERENCIAS

AKTAS, M., GUENES, A., BALTUTAR, N. (1993). Effects of various forms of nitrogen sources on nitrate and nitrite accumulation in maize. Doga Turkish Jounal of Agricultural and Forestry 17 (4), 931-937.

AYLGWORTH, J.D. (1996). Stretching fertilizer benefits. Polyaspartates- a new fertilizer enhacer- could increase yields. Farm Chemicals 159(2), 64-65.

BADA, J.L. (1985), in: G.C. Barret (Ed.), Chemistry and Biochemistry of amino acids, Chapman and Hall, London, p 339.

FRIEDMAN, M. J. (1999). Chemistry, nutrition, and microbiology of D-amino acids. J Agric. Food Chem.47 (9), 3457-3479.

GUNES, A., POST, W.N.K., KIRBY, E.A., AKTAS, M. (1994). Influence of partial replacement of nitrate by amino-acid nitrogen or urea in the nutrient medium on nitrate accumulation in the grown winter lettuce. Journal of Plant Nutrition 17(11), 1929-1938.

HIGGINS, C.F., PAYNE, J.W. (1982). Plant peptides. In: Boulder, D. and Parthier, B., (Eds.), Encyclopedia of Plant Physiology. Springer (Vol. 14A), pp. 438–458.

KUBO, M., OKAJIMA, J., HASUMI F. (1994). Isolation and characterization of soybean waste-degrading microorganisms and analysis of fertilizer effects of the Degraded Products Applied and Environmental Microbiology, 60 (1), 243-247.

MAJEROWICZ, N., KERBAUY, G.B., NIEVOLA, C.C., SUZUKI, R.M. (2000). Growth and nitrogen metabolism of Catasetum fimbriatum (orchidaceae) grown with different nitrogen sources. Environmental and Experimental Botany 44, 195–206.

ORDOÑEZ, C., ASENJO, M.G., ASENJO, M.G. BENITEZ, C., GONZÁLEZ, J.L. (2001).Obtaining a protein concentrate from integral defatted sunflower flour. Bioresource Technol 78 (2), 187-190.

PERRY JR, BASRAI MA, STEINER HY, NAIDER F, BECKER JM. (1994). Isolation and characterization of a Saccharomyces cerevisiae peptide transport gene. Mol. Cell. Biol.14, (1) 104–115.

SECHLEY KA, YAMAYA T, OAKS A, (1992). Compartmentation of nitrogen assimilation in higher plants. Int Rev Cytol 134, 185 163

SHUVAL, H.I., GRUENER, N. (1977). Infant methemoglobinemia and other health effects of nitrates in drinking water. Progress Water Technology 8(4/5), 183-184

SOETRISNO, U.S.S., HOLMES, Z.A. (1992). Functional properties of acid and salt extracted proteins of yellow peas. Journal of Agricultural and Food Chemistry 40(6), 975-980.

SPALDING, R.F., EXNER, M.E. (1993). Occurrence of nitrate in groundwater- a review. Journal of Environmental Quality 22, 392-402.

STEINER HY, NAIDER F, BECKER JM. (1995). The PTR family: a new group of peptide transporters. Mol. Microbiol.16 (5), 825–834.

ZHAO, G. (1989). Studies on the changes in protein and amino acid contents in developing grain and the effects of foliage nitrogen spray on winter wheat. Scientia Agricultura Sinica 22 (5), 25-34.

BECAN ®

En las últimas décadas, de ser insectos de importancia secundaria, la moscas blanca (*Bemisia tabaci* y *Trialeurodes vaporariorum*) se ha convertido en uno de los principales problemas agrícolas a nivel mundial.

Afectan a un gran número de cultivos hortícolas y ornamentales provocando pérdidas tanto por su alimentación directa como por la transmisión de enfermedades virales. Según estudios de Oliveira y colaboradores en 2001, entre los años 1991 y 1995 las pérdidas ocasionadas por este insecto en estados Unidos (California, Texas, Florida y Arizona) se estimaron entre 200 y 500 millones de dólares.

La alta capacidad reproductiva de estas especies, la facilidad de dispersión, la diversidad de hospedantes alternos y principalmente el desarrollo de poblaciones resistentes a los insecticidas de síntesis, como consecuencia del uso intensivo de este tipo de productos, han estimulado estudios de nuevas estrategias de lucha mediante el manejo integrad, en los cuales el control biológico juega un papel importante.

NBT y el Departamento de Entomología de la Universidad de Córdoba han trabajado conjuntamente para desarrollar un producto que responda a estas necesidades de la agricultura moderna.

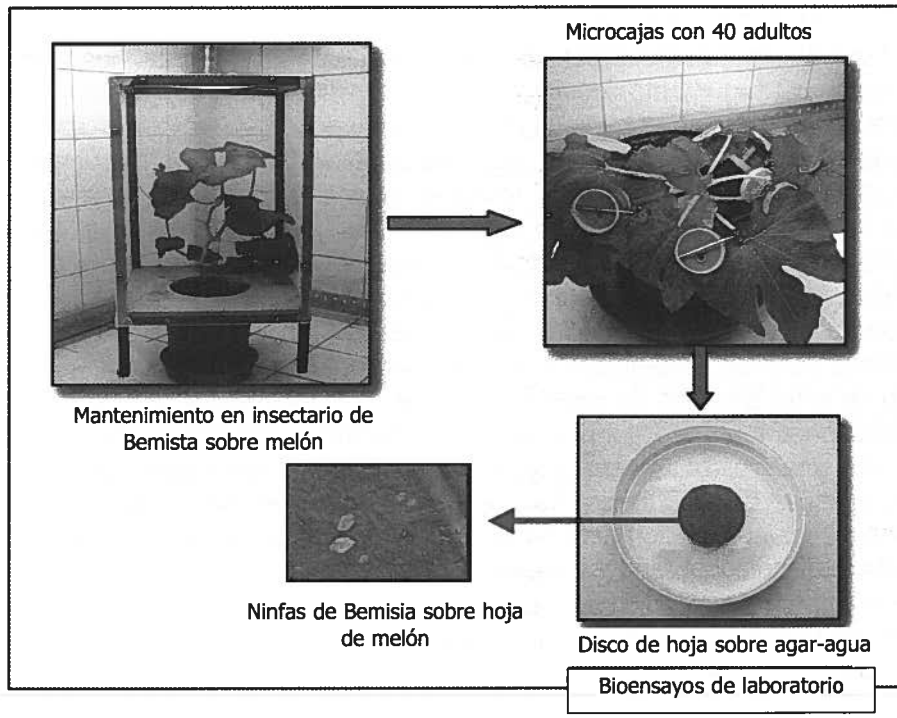
Los hongos entomopatógenos, por su modo de invasión del hospedante a través del tegumento, pueden infectar a insectos con hábito alimenticio masticador o picador-chupador bien se encuentren en el suelo, sobre la planta o incluso dentro de ésta. Las infecciones micóticas son muy frecuentes en poblaciones naturales de insectos, algunas alcanzan el grado epizoótico como las originadas por los Entomoftorales, otras en cambio, las causadas por Deuteromicetos, *Beauveria bassiana, Metarhizium anisopliae,* etc. no rebasan, en general, el nivel enzoótico. Sin embargo aunque no tengan gran impacto en la reducción de las poblaciones naturales de insectos, resultan idóneos para los programas de control biológico de plagas. El empleo práctico de estos agentes de control se aviene, de manera casi exclusiva, a las aplicaciones inundativas de propágulos infectivos, que obtenidos por adecuados procesos biotecnológicos, e incorporados en apropiadas formulaciones se dispersan con entera facilidad por el medio. Nuestro objetivo fundamental es la elaboración de formulados micoinsectidas dirigidos al control de plagas de insectos tanto de interés agrícola y forestal, como médico-veterinario y urbano (cucarachas, termitas, etc.), para lo que contamos con una gran colección de aislados fúngicos autóctonos, en continuo crecimiento, así como con la correspondiente biotecnología para producción y elaboración de formulaciones.

A partir de aislados de la especie Beauveria bassiana realizadas por toda la geografía andaluza, se seleccionaron aquellas cepas con mayor nivel de control en bioensayos en laboratorio.

LA SELECCIÓN DE AISLADOS SUSCEPTIBLES DE FORMULACIÓN

1.-Valoración de la patogenicidad y virulencia

Esto se realiza en laboratorio por la técnica de bioensayo que se ajusta a cada una de las especies de insectos para las cuales se quiere desarrollar el correspondiente micoinsecticida. En el caso de la mosca blanca, *Bemisia tabaci* y *Trialeurodes vaporariorum,* se toman discos de 20 mm de diámetro de hojas de melón, la planta que sirve para mantener las poblaciones en insectario, infestados con ninfas, se tratan por inmersión en una suspensión de conidias en agua con 0,05% de Tween 80 de concentración conocida, luego se disponen en placas petri con agaragua y se dejan en el insectario a 25ºC. El número de ninfas por tratamiento siempre fue de aproximadamente 40 y la concentración de conidias varió entre 2 a 5x107 conidias/ml, el testigo se trató de igual modo pero sólo con agua y Tween 80, por cada tratamiento se hicieron 5 repeticiones.



En la primer fase, sobre ninfas de *B. tabaci,* se probaron 27 aislados de B. bassiana y 9 de M. anisopliae, con resultados que nos decantaron por los de B. bassiana entre los cuales, la mortalidad de las ninfas tratadas superó el valor del 50 %. Los seis aislados seleccionados, 3 procedentes de insectos y 3 procedentes del suelo, en un nuevo ensayo que incluía a *Trialeurodes vaporariorum,* mostraron una actividad similar para ambas especies, dato que nos permite confiar en la obtención de un producto de amplio espectro. De este segundo ensayo se seleccionaron las 2 cepas de mayor eficacia, con valores de 78 y 84% de eficacia del control medio de ambas especies.

2.-El factor temperatura

El comportamiento térmico de los aislados fúngicos es determinante, tanto para la producción a gran escala como para la evaluación de su eficacia en las aplicaciones en invernadero o pleno campo.

OBTENCIÓN DEL PRINCIPIO ACTIVO Y FORMULACIÓN

Los aislados seleccionados se crecieron en substrato sólido a la temperatura óptima, a los 25 días de incubación se recogieron las conidias que una vez limpias y secas se pasan a la formulación en la que representan un 2,3% (p/p) y el 97,7% (p/p) restante son aceites vegetales y coadyuvantes. Así se ha obtenido el **BECAN** EC que tiene como principio activo conidias viables de *B. bassiana* en Suspensión Concentrada Emulsionable, a una concentración de 5x1012 conidias por litro de producto.

Ensayos de Eficacia

A partir de la obtención del formulado y la cepa seleccionada el departamento de desarrollo de NBT inició los ensayos de eficacia en campo, en condiciones comerciales de cultivo, tanto bajo plástico como al aire libre, principalmente en cultivos hortícolas. Una vez comprobado la elevada eficacia de **Becan** ® en el control de la mosca blanca, se iniciaron los ensayos de Registro del producto.

AS 5203 I 01

Se analizó el comportamiento de **BECAN** ® en el control del Insecto Mosca Blanca en Pimientos variedad "Itálico", mediante aplicaciones foliares a intervalos semanales, en la finca "Adriano" de Los Palacios (Sevilla), elegida por la presencia endémica del insecto en cualquiera de los cultivos existentes tanto en los de invernadero como al aire libre.

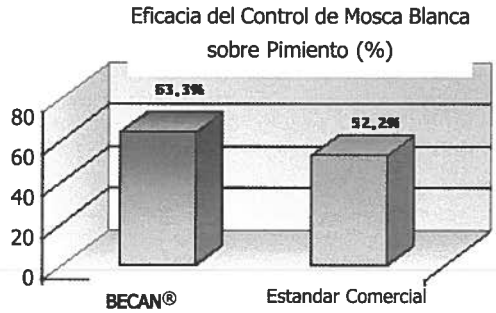
Las condiciones de cultivo fueron las habituales de la zona, cultivo protegido bajo plástico en invernadero de estructura metálica, dotado de un sistema de riego localizado por goteo. En él, las plantas estuvieron dispuestas en líneos separados entre sí 1 m y a una distancia de 0.40 m entre ellas, lo que supone una densidad de 25.000 plantas/ha.

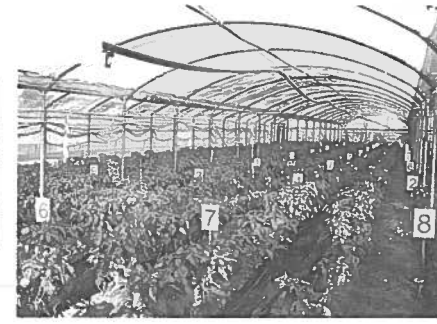
Las parcelas han sido distribuidas en bloques al azar con cuatro repeticiones, incluyendo 30 plantas por parcela elemental de una superficie de 5 x 2 m^2.. Se emplearon como controles un producto comercial basado en B. Bassiana y un control no tratado sobre el que se valora la eficacia final. La dosis empleada de **BECAN** ® fue de 300 ml/hl.

Las aplicaciones se iniciaron cuando el cultivo estaba en el estado fenológico 67-68, correspondiente a 7ª u 8ª flor abierta y el nivel de infestación de la plaga objetivo era de 113.3 larvas/10 hojas (medio-alto). En las aplicaciones se utilizó un equipo pulverizador que proporciona una presión de 1000 kPa. El volumen de caldo osciló entre 556 l/ha de la primera y 1083 l/ha de la última (4ª).

Para estudiar el comportamiento de los diferentes tratamientos durante el ensayo, el parámetro determinado en campo se concreta en el número de larvas presentes en 10 hojas de otras tantas plantas diferentes por parcela elemental. La gráfica siguiente muestra los resultados de eficacia, según Henderson-Tilton, 7 días después de la última aplicación (4ª).

Los resultados muestran un interesante nivel de control superior significativamente al estándar comercial.





Vista general del Ensayo

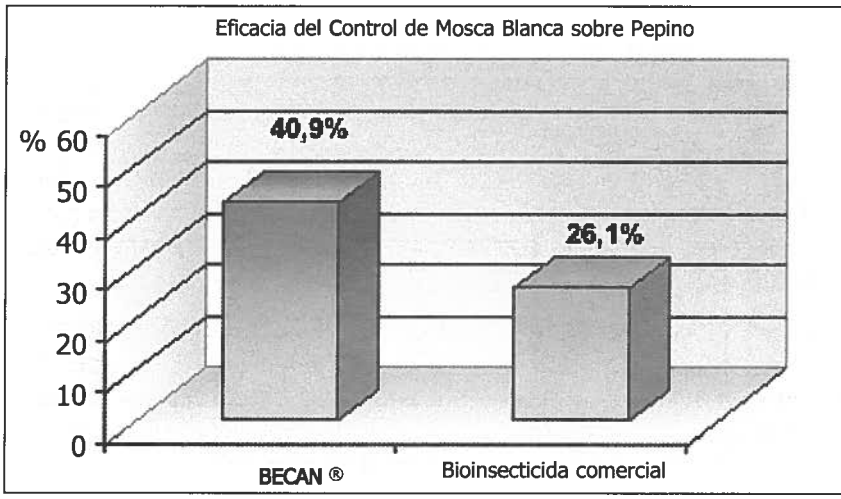
AS 5203 I 02

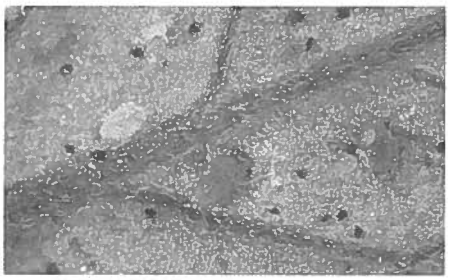
Ensayo realizado sobre pepinos variedad "Torres" en la finca denominada "Sigma" en Los Palacios (Sevilla), con una plaga identificada como *Trialeurodes vaporariorum,* con un nivel de plaga alto.

Se realizaron cinco aplicaciones con un intervalo establecido de 7 días, pulverizando un volumen de 556 l/ha en la primera y 1129 l/ha en la última, todas ellas a una presión de 1000 kPa.

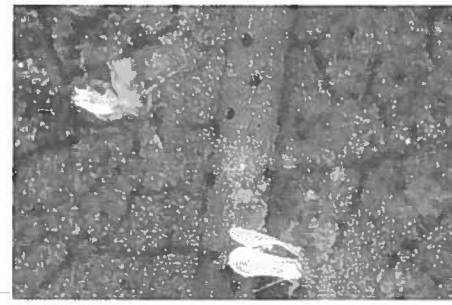
Las condiciones de aplicación sigue el mismo protocolo descrito en el anterior ensayo.

El comportamiento del producto experimental **BECAN ®** fue bueno, con una eficacia media, que superó significativamente la eficacia del bioinsecticida comercial empleado como control.





Minfa infectada por Becan ®



Adulto micosado por Becan ®

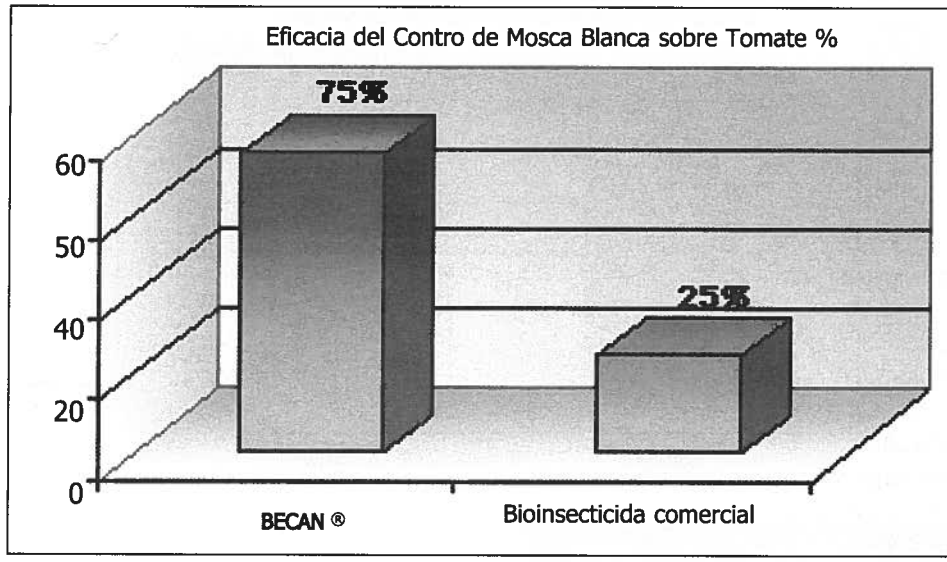
AS 4804 I 01

Ensayo realizado sobre **Tomate,** variedad "Genaro" en la finca denominada "La Atalaya" en Los Palacios (Sevilla), con un nivel de plaga, de *Bemisia tabaci,* medio-bajo.

Se realizaron seis aplicaciones con un intervalo establecido de 7 días, pulverizando un volumen de 1400 l/ha en la primera y 1600 l/ha en la última, todas ellas a una presión de 1000 kPa.

Las condiciones de aplicación sigue el mismo protocolo descrito en los ensayos anteriores.

La eficacia de **BECAN** ® en el control de la plaga de mosca blanca fue excelente, alcanzando un alto nivel desde la segunda aplicación (45%) y una eficacia final del 75% en el control de larvas, que superó significativamente la eficacia del bioinsecticida comercial empleado como testigo.



CLOUD, LA SOLUCIÓN PARA LA ABCISIÓN DE LA ACEITUNA Y LA SOLUCIÓN PARA SU RECOLECCIÓN MECANIZADA

Miguel Devesa Mañá
Director Ejecutivo
SAPEC AGRO ESPAÑA

INTRODUCCIÓN

Antes de nada decir que esta es la historia de una ejemplar colaboración entre una organización profesional agraria **ASAJA** Sevilla; un centro de investigación andaluz, **CIFA** de Córdoba perteneciente al **IFAPA** y este a su vez a la **Junta de Andalucía**, otro centro de alta investigación el **INSTITUTO DE LA GRASA**, perteneciente al CSIC (Centro Superior de Investigaciones y Ciencia) y por lo tanto al **Ministerio de Educación y Ciencia** y la Empresa privada Fitosanitaria **SAPEC AGRO, S.A.U.**; unidos todos con el único afán de encontrar una solución que hiciera viable la recolección mecanizada del la aceituna de mesa, siendo este factor clave para la pervivencia de esta modalidad de cultivo.

Y de otro lado, que el uso de esta técnica en la aceituna de almazara permitiera mejorar en todos los sentidos y de forma evidente su recolección tanto si esta se realiza por medios mecánicos como de forma tradicional (vareo).

Hace ya unos años y fundamentalmente movidos por la imperiosa necesidad de abaratar los costes de recogida de la aceituna de mesa los citados organismos se ponen a trabajar sobre la base conocida desde hace muchos años de la aplicación de una materia activa el "ETEFON" capaz de inducir a la abscisión de la aceituna. El principal problema consistía en que su aplicación a la dosis eficaz provocaba una importante defoliación.

Tras un esfuerzo de investigación el CIFA de Córdoba y especialmente D. Vitorino Vega y su equipo de colaboradores dan con una mezcla de Etefon y de ión fosfato que obtiene los dos objetivos tan buscados: por un lado la perdida de la fuerza de retención con la que la aceituna está cogida al olivo y por otro que la caída de hoja sea similar a la producida de forma natural. Y ello se consigue sustituyendo parte de la acción del Etefon por la acción de abscisión que la aplicación del ión fosfato produce en el olivo y sin defoliar. Se produce una acción sinérgica y que alcanza ambos objetivos y a la vez.

Llegados a este punto se nos convoca a las Compañías propietarias de registro de esta materia activa y es finalmente **SAPEC AGRO, S.A.U.** quien en solitario apuesta decididamente por hacer la inversión y los trabajos que restan para poder registrar el uso de su formulado a base de Etefon llamado **"CLOUD"** para su uso en Olivar tanto de verdeo (mesa) como de almazara (molino) en mezcla con fosfato monopotásico como aporte para el ión fosfato.

Y gracias a estos trabajos y al apoyo unánime de todos los sectores involucrados se obtiene un primer registro provisional para su uso en olivar de verdeo en Agosto del año 2005 y mas tarde en diciembre del mismo año 2005 se consigue también para olivar de almazara.

A partir de ahí y con la colaboración de todos los citados se inicia su difusión a través de una primera Campaña totalmente monitorizada y siendo hoy en día una realidad.

De otro lado también se empieza a trabajar para su inclusión en el Registro Producción Integrada de la Junta de Andalucía ya que creemos que sin este segundo requisito, clave de cara al futuro, la viabilidad del proyecto era dudosa y ello se consigue en el verano de este año 2006.

También iniciamos la exposición y difusión de esta técnica en todas las provincias españolas donde se cultiva el Olivo, es decir en toda España. Siendo por tanto **CLOUD** el único Etefon registrado para este uso en España.

DOSIS y MOMENTO DE APLICACIÓN

OLIVAR PARA ACEITUNA DE VERDEO (mesa)

Se harán dos aplicaciones, la primera con la siguientes dosis **para cada 1.000 litros de caldo**:

0,75 lts. de **CLOUD OLIVAR** + 30 kgs. de fosfato monopotásico

Una segunda aplicación con un intervalo entre los 7 y los 10 días de la primera aplicación con la siguiente dosis por cada 1.000 litros de caldo :

1 lto. de **CLOUD OLIVAR** + 30 kgs. de fosfato monopotásico

Recolectando transcurridos 11 días de esta segunda aplicación.

OLIVAR PARA ACEITUNA DE ALMAZARA **(molino)**

Se realizará una sola aplicación al menos 11 días antes de la fecha en que decidamos cosechar con la siguiente dosis **por cada 1.000 litros de caldo**:

1 lto. de **CLOUD OLIVAR** + 30 kgs. de fosfato monopotásico

VOLUMEN DE CALDO A APLICAR (ver fig. nº 1)

Este es un tema importante en todos los casos y aun mas cuando se trata de un fitoregulador como es el caso.

La dosis de caldo es la resultante de aplicar aproximadamente :

200 cm^3. por cada m^2. de superficie foliar del árbol medida desde la base de las faldas hasta la copa.

La superficie foliar es sencilla de calcular con tan solo tomar tres mediciones con un flexómetro , dos diámetros en la zona media del árbol (D1 y D2) y la altura del mismo (H , tomada desde la falda del árbol hasta la copa) expresando todas las medidas en metros y aplicando la siguiente formula :

Volumen de caldo/árbol **(litros/árbol)** = **3,14 x[(D1+D2)/2] x H x 0,2.**

Deben de hacerse un buen reparto del caldo a aplicar hasta punto de goteo teniendo especial énfasis en dejar mojadas las aceitunas y su punto de inserción con el pedúnculo. (Fig nº 2)

RESULTADOS

RESULTADOS DE EFICACIA

Es absolutamente recomendable para tomar decisiones del momento idóneo para su recogida tras la aplicación así como para determinar la eficacia del tratamiento con CLOUD el estar provisto de un dinamómetro que sea capaz de medir la fuerza de retención con la que la aceituna está retenida por el olivo.

Esta varia muchísimo dependiendo de la variedad, de las condiciones climáticas y del momento de madurez del fruto.

Por lo que dar normas exactas no tiene sentido, se trata de medir tomando una muestra sufuciente la citada fuerza de retención, aplicar CLOUD y

volver a medir cada tres a cinco días hasta obtener la disminución de la fuerza de retención que haga absolutamente viable y económica su recogida.(Fig. nº 3)

Hablando en términos generales y de medias de la multitud de ensayos y de aplicaciones comerciales que hemos realizado al cabo de estos años, cabe concluir que entre la parcela no tratada y la parcela tratada con CLOUD en igualdad de condiciones, los porcentajes de derribo varían a favor de la parcela tratada cuanto menos en un 25% a favor de la tratada con CLOUD.

Ello quiere decir que porcentajes de derribo de un 70% cuando hemos tratado con CLOUD se convierten en un 95%.

RESULTADOS CAIDA DE HOJAS

En cuanto a caída de hoja, no hemos observado en los ensayos realizados y en las aplicaciones comerciales ninguna diferencia significativa entre las parcelas tratadas y las no tratadas cuando el producto se trata a la dosis y volumen adecuados.

Cuando ha surgido alguna caída mayor y hemos intentado averiguar lo sucedido, siempre ha sido por una aplicación inadecuada y generalmente por un volumen de caldo desproporcionado, razón por la cual para este producto no recomendamos el uso de aplicación con pistola dada la dificultad de control del caldo usado a que esta modalidad da lugar. (Fig. nº4)

RESULTADOS RESIDUOS

En lo referido a residuos, aplicando a las dosis y respetando los intervalos descritos y que vienen en la etiqueta, no se encuentran residuos detectables ni en las aceitunas, ni en el aceite listo para su consumo.

Una lluvia tras la aplicación de CLOUD puede dar lugar a su lavado y a que las ventajas de su aplicación puedan perderse, en cuyo caso la repetición de la aplicación es necesaria y no presenta ningún tipo de problema. Ahora bien y como ya se ha comentado lo adecuado es medir la fuerza de retención y en función del resultado tomar la decisión mas idónea.

OTROS RESULTADOS

La aplicación del producto no hace otra cosa que adelantar a nuestra conveniencia el momento de la recolección en función de la disminuir la fuerza de retención en todas las aceitunas tratadas y por lo tanto ni el viento, ni otro accidente meteorológico afecta a la cosecha de forma diferente a como lo hace en caso de no haber tratado.

Tanto es así que si se pasa de los días adecuadas tras la aplicación, el efecto del Etefon puede perderse y la fuerza de retención volvería a recuperarse, tal y conforme ocurre tras un fuerte lavado.

En las fincas donde llevamos tratando sobre los mismos árboles varios años tampoco hemos podido observar efectos negativos de ningún tipo y si muchos de los positivos que hemos descrito.

VENTAJAS Y BENEFICIOS DE LA APLICACIÓN DE CLOUD EN OLIVAR

La aplicación de CLOUD OLIVAR da lugar a las siguientes ventajas y beneficios comprobados y observables,

- Aumento muy significativo en el arbolado tratado con CLOUD del porcentaje de derribo de la aceituna por cualquier medio de recogida que vayamos a utilizar, bien sea mecánico (todos los tipos) o manual. Y ello con cualquier tipo de variedad y forma de cultivo.
- La posibilidad de mecanizar la recogida en cualquier tipo de olivar: verdeo y almazara, con cualquier variedad puesto que siempre hay respuesta y en cualquier sistema de cultivo.
- Importante reducción de los costes de recolección, pudiendo llegar a reducirlos a la mitad.
- Importante disminución del daño efectuado al arbolado por el vareo debido a la enorme disminución de la fuerza de retención del fruto al árbol y por lo tanto al escaso vareo necesario para su derribo.
- Una consecuencia de ello es la reducción de la veceria en las variedades mas propensas.
- Debido a lo anterior la aceituna mas limpia al llegar a la almazara ya que el numero de "ramones" es insignificante, con el consiguiente ahorro de tiempo y una menor acumulación de restos orgánicos.
- Disminuye de forma radical los posibles daños al tronco (descortezado) cuando se vibra arbolado joven, o tierno debido al momento de recogida (verdeo) o a debido a los nuevos sistemas intensivos o a la nuevas variedades,...y ello fundamentalmente ocasionado por la reducción en el tiempo de vibración que necesitan los árboles tratados con CLOUD.
- Posibilidad de cosechar en el momento idóneo en cuanto a contenido en acido graso pues no necesitamos espera a una sobremaduración para que pierda fuerza de retención.
- Capacidad de decisión respecto a cuanto y como recogemos un olivar.

- Capacidad de maximizar y optimizar los medios de recogida tanto humanos como mecánicos.
- Las operaciones realizadas por las personas, se ven claramente beneficiadas ya que con un menor esfuerzo se consiguen mejores resultados.
- Capacidad de maximizar los rendimientos a la hora de cosechar.
- Aumento de la duración de toda la maquinaria involucrada en la vibración debido al escaso tiempo por árbol utilizado en el derribo de la aceituna.
- Aportamos una importante cantidad de fósforo y potasa merced a la aplicación de fosfato monopotásico, que debemos deducir de nuestros planes de abonado.

RESUMEN DE LAS VENTAJAS Y BENEFICIOS

Las ventajas y como consecuencia los beneficios son realmente espectaculares y ello tanto a nivel económico como incluso a nivel de pervivencia por ejemplo del caso de la aceituna de mesa, dado que esta aplicación junto a otras nuevas técnicas de transporte para su posterior entamado permiten la total mecanización de esta modalidad de cultivo, lo cual supone que pueda seguir manteniéndose esta actividad olivarera.

Además la aplicación de CLOUD aporta otros beneficios difíciles de cuantificar en este momento, pero que somos conscientes todos los que estamos trabajando en este proyecto que realmente los ofrece.

Y todo ello con unos riesgos realmente mínimos y asumibles.

Se debe de tener en cuenta que en líneas generales este tipo de tratamientos es influenciado por las condiciones climáticas obteniéndose los mejores resultados con temperaturas medias y humedad altas.

Y siempre teniendo en cuenta que estamos hablando de seres vivos y de respuestas a estímulos fitoreguladores, por lo que puede haber una enorme variabilidad dependiendo de multitud de factores imposibles de predecir "a priori". Nosotros estamos haciendo un trabajo profesional poniendo el máximo esfuerzo y seguimiento pero es la respuesta en el campo y la visión de los olivicultores lo que con el paso del tiempo decidirá si el uso de este tipo de ayuda es necesaria y útil tal y conforme nosotros pensamos y estamos convencidos.

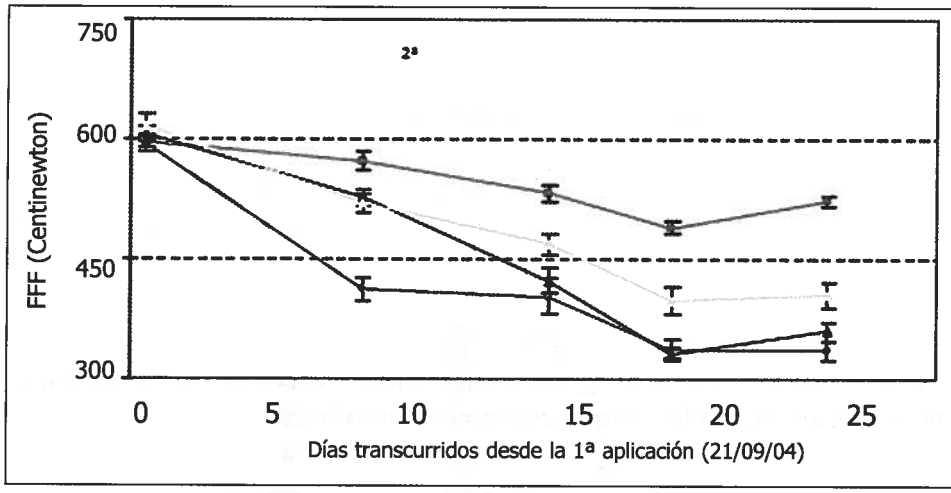
AGRADECIMIENTO

La lista seria muy prolija, pero básicamente a cuantos Organismos y esencialmente a las personas de dichas instituciones que se citan en el ini-

cio de este articulo.Pero queremos hacer una mención especial al Investigador del CIFA de Córdoba D. Victorino Vega y a su Equipo por su total y desinteresada aportación y constante dedicación y colaboración para encontrar una solución para nuestra olivicultura.

DATOS DE ENSAYOS DE EFICACIA

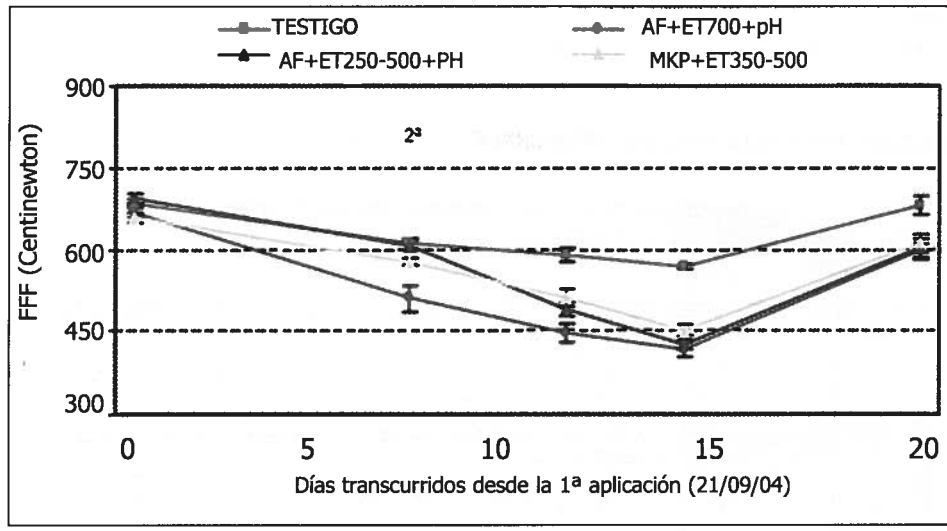
Ensayo 2004 .Osuna / Manzanillo



Cuadro: Eficacia de derribo de fruto y porcentaje de hoja caída en recolección en "Manzanilla" (Osuna, Sevilla 2004). Los valores seguidos de letras iguales no difieren significativamente (p<0,05).

Tratamiento	% de fruto derribado con vibrador sobre cosecha total	% de hoja caída con vibrador sobre total de hoja y fruto derribado
Testigo	72,5 c	7,4 a
AF+ET700+pH	92,8 a	9,7 a
AF+ET250-500+ph	94,2 a	7,7 a
MKP+ET350-500	85,8 b	8,6 a

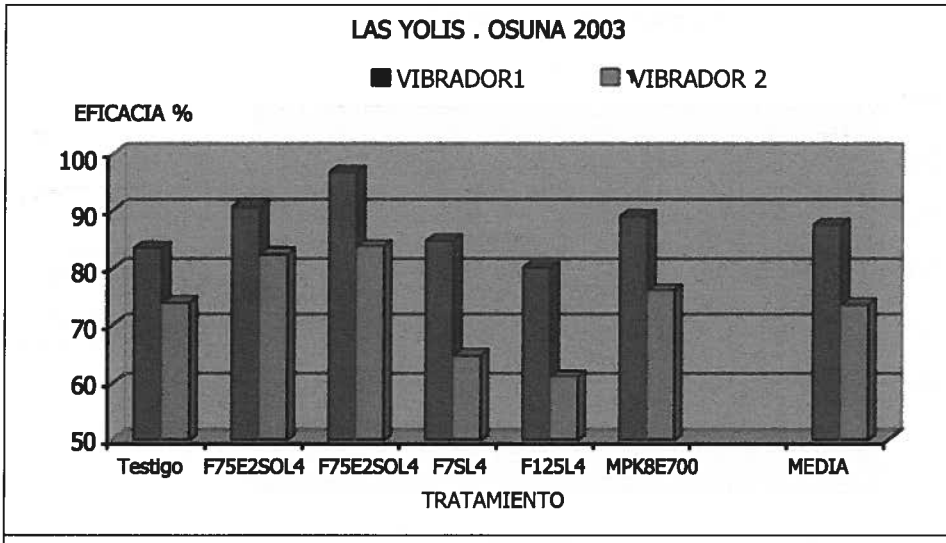
Ensayo 2004 . Alcalá de Guadaira / Manazanilo

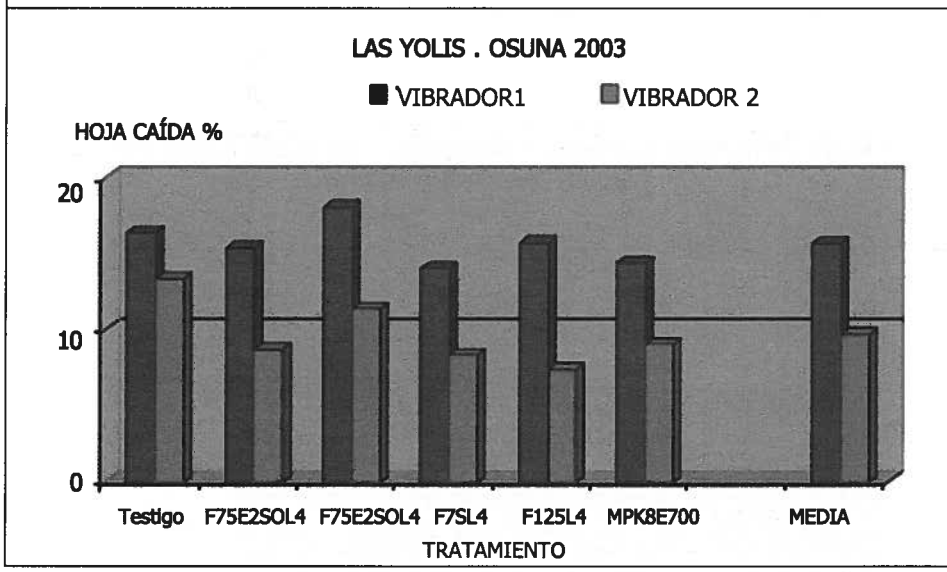


Cuadro: Eficacia de derribo de fruto y porcentaje de hoja caída en recolección en "Manzanilla" (Alcalá de Guadaira, Sevilla 2004). Los valores seguidos de letras iguales no difieren significativamente (p<0,05).

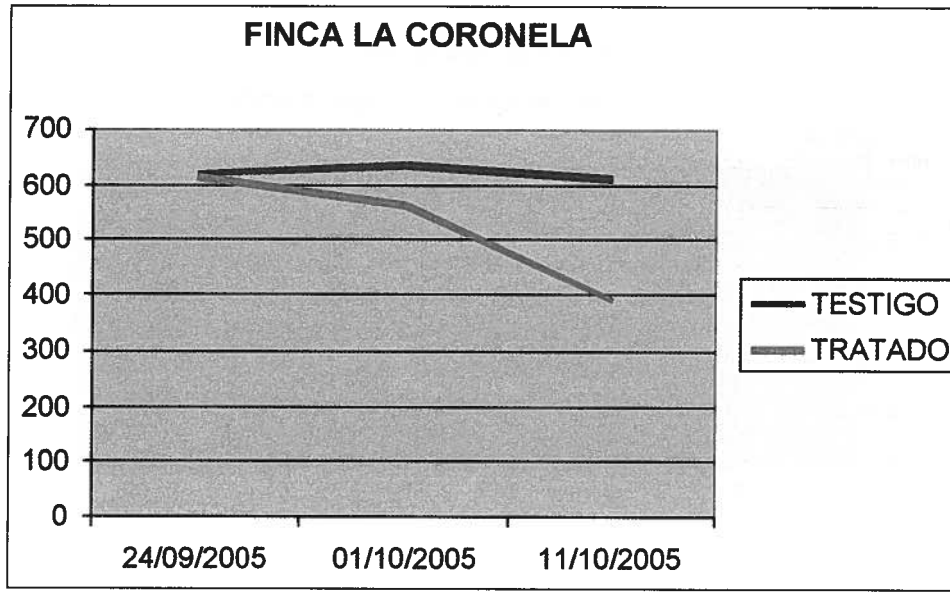
Tratamiento	% de fruto derribado con vibrador sobre cosecha total	% de hoja caída con vibrador sobre total de hoja y fruto derribado
Testigo	60,3 b	4,7 a
AF+ET700+pH	75,6 a	5,4 a
AF+ET250-500+ph	72,3 a	5,8 a
MKP+ET350-500	71,0 a	6,5 a

Ensayos 2003. Variaciones debidas al tipo de vibrador en Eficacia de derribo de aceituna y en Caida de hoja en testigo sin tratar y diferentes tratamientos de Cloud.

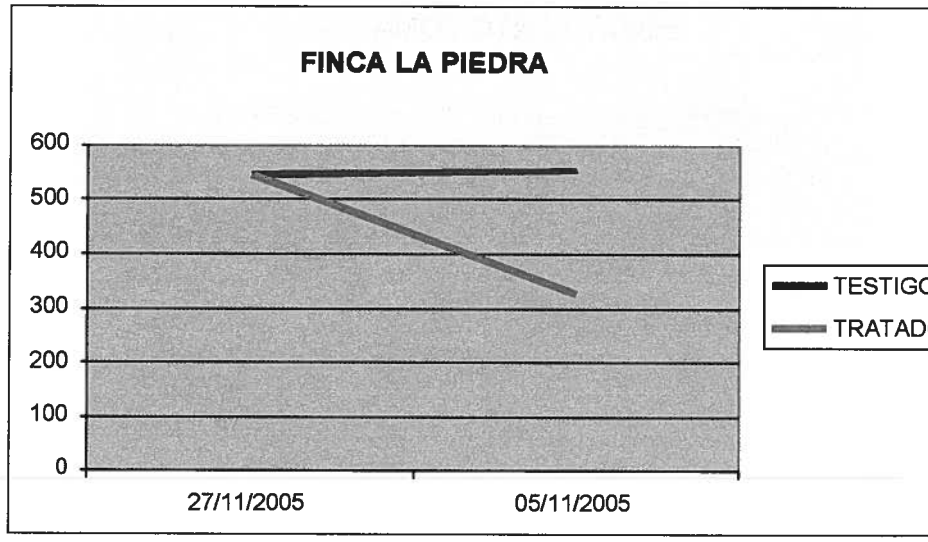




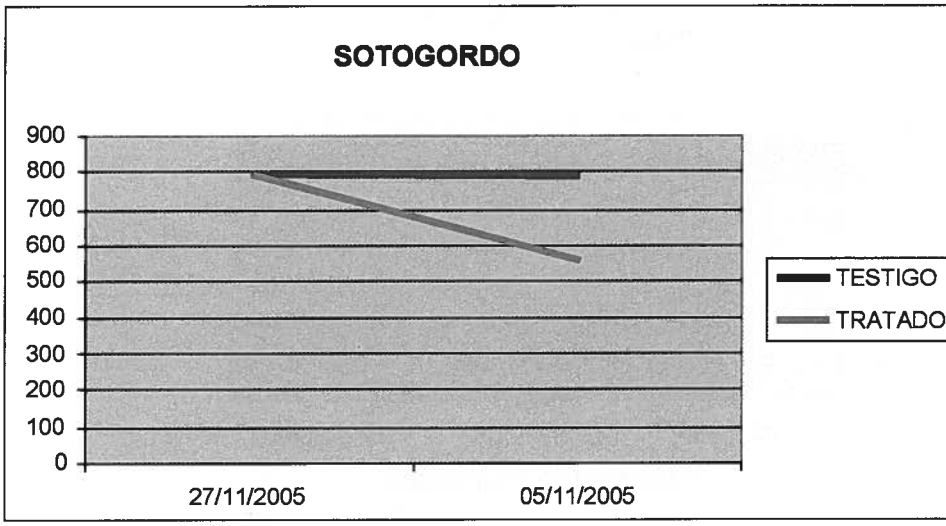
Ensayo 2005. Finca La Coronela / Hojiblanca/ Evolución fuerza retención Tratado con CLOUD OLIVAR



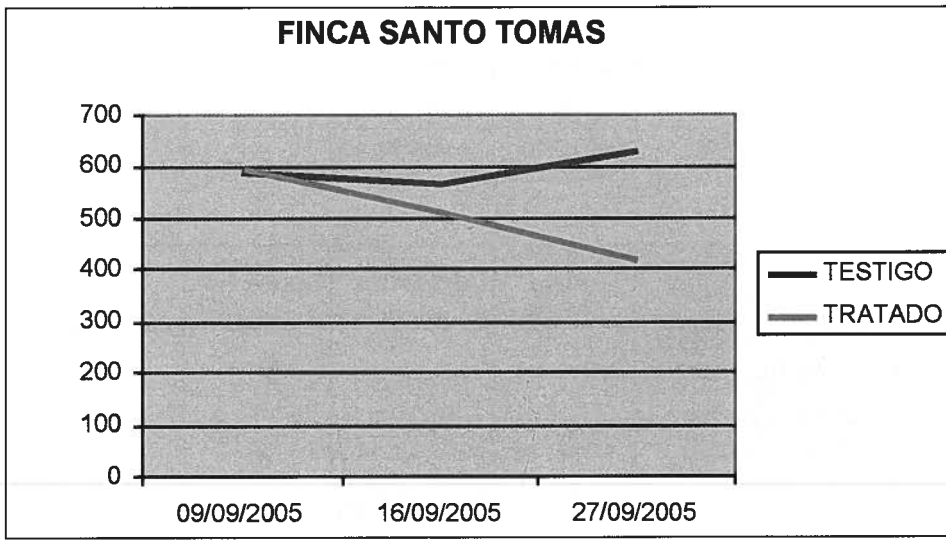
Ensayo 2005.Finca La Piedra / Arbequina / Evolución fuerza retención Tratado con CLOUD OLIVAR



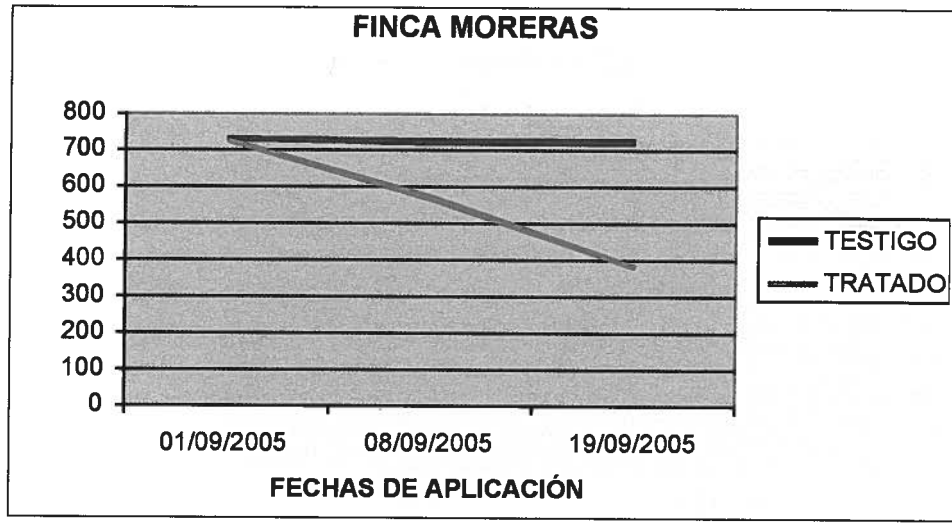
Ensayo 2005. Finca Soto Gordo / Picual/ Evolución fuerza retención
Tratado con CLOUD OLIVAR



Ensayo 2005 .Finca Sto.Tomás / Manzanilla / Evolución fuerza retención
Tratado con CLOUD OLIVAR



Ensayo 2005. Finca Las Moreras./ Manzanilla /Evolución fuerza retenciónTratado con CLOUD OLIVAR



DATOS ENSAYOS DE RESIDUOS PARA REGISTRO (GLP)

.3. Residue levels of ethephon in laboratory specimens

PROMO-VERT Specimen Reference	DEFITRACES Specimen Reference	Sub-specimen	Specimen Type	Results (mg/kg)
Field trial No. 04 D OL SC P01				
04/SCP01/SH-001	DEF05-0102	RAC olives	NT	<0.050
04/SCP01/SH-002	DEF05-0103	RAC olives	T	0.51
04/SCP01/SH-005	DEF05-0104	Processed olives	NT	<0.050
04/SCP01/SH-006	DEF05-0105	Processed olives	T	<0.050

NT: Not Treated T: Treated

PROMO-VERT Specimen Reference	DEFITRACES Specimen Reference	Sub-specimen	Specimen Type	Results (mg/kg)
Field trial No. 04 D OL SC P02				
04/SCP02/SH-001	DEF05-0106	RAC olives	NT	<0.050
04/SCP02/SH-002	DEF05-0107	RAC olives	T	1.9
04/SCP02/SH-005	DEF05-0108	Processed olives	NT	<0.050
04/SCP02/SH-006	DEF05-0109	Processed olives	T	<0.050

PROMO-VERT Specimen Reference	DEFITRACES Specimen Reference	Sub-specimen	U / T	Results (mg/kg)
ield trial No. 04 D OL SC P07				
04/SCP07/SH-001	DEF05-0075	RAC olivess	NT	< 0.050
04/SCP07/SH-002	DEF05-0076	RAC olivess	T	1.7
OLI 0501 PRO 029 S	DEF05-0077	Virgin oil	U3	< 0.050
OLI 0501 PRO 031 S	DEF05-0078	Virgin oil	T3	< 0.050
OLI 0501 PRO 033 S	DEF05-0079	Refined oil	U3	< 0.050
OLI 0501 PRO 035 S	DEF05-0080	Refined oil	T3	< 0.050

PROMO-VERT Specimen Reference	DEFITRACES Specimen Reference	Sub-specimen	U / T	Results (mg/kg)
Field trial No. 04 D OL SC P08				
04/SCP08/SH-001	DEF05-0081	RAC olivess	NT	< 0.050
04/SCP08/SH-002	DEF05-0082	RAC olivess	T	1.3
OLI 0501 PRO 041 S	DEF05-0083	Virgin oil	U4	< 0.050
OLI 0501 PRO 043 S	DEF05-0084	Virgin oil	T4	< 0.050
OLI 0501 PRO 045 S	DEF05-0085	Refined oil	U4	< 0.050
OLI 0501 PRO 047 S	DEF05-0086	Refined oil	T4	< 0.050

RAC olives were analysed without pits:
Ratio of the flesh and pit mean weight: 0.38

ANEXO FOTOGRÁFICO

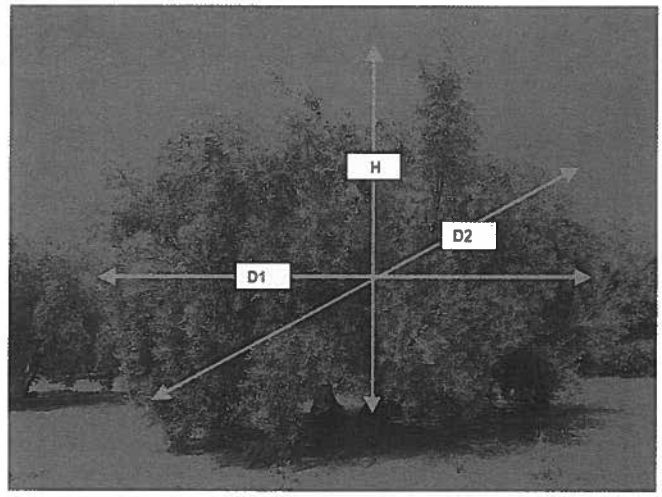


Figura nº 1 : esquema para la toma de los dos diámetros (D1 y D2) y la altura (H) desde la copa hasta falda del olivo con un flexómetro.

Figura nº 2 : Es muy importante mojar bien la aceituna, la actividad del producto se produce en la inserción del fruto con el pedúnculo.

Figura nº 3: Es clave poder hacer un seguimiento de la fuerza de retención de la aceituna y para ello es clave poder medirla con un dinamómetro digital o con uno manual de precisión.

Figura nº 4 : Se debe de aplicar CLOUD con un atomizador correctamente calibrado para aportarnos el volumen de caldo calculado y para asegurar una correcta distribución del caldo y un mojado del fruto a punto de goteo.

REFERENCIAS

Monopotassium phosphate for olive fruit abscission. AUTHORS- Barranco, D.; Arquero, O.; Navarro, C.; Rapoport, H. F. JOURNAL NAME- HortScience

Monopotassium phosphate (PO4H2K) for olive fruit abscission. AUTHORS- Barranco, D.; Toro, C. C. de; Oria, M.; Rapoport, H. F. EDITOR- Vitagliano, C.; Martelli, G. P. JOURNAL NAME- Acta Horticulturae

Feasibility studies on phosphorus as a fruit loosening agent to facilitate mechanical harvest of olive. AUTHORS- Yamada, H.; Martin, G. C.; Nishijima, C.; Costa, G. JOURNAL NAME- Bulletin of the Faculty of Agriculture, Niigata University

Olive oil quality characteristics of 'Mastoides' olives remaining on the tree after ethephon spray. AUTHORS- Metzidakis, I.; Gerasopoulos, D.; Naoufel, E. EDITOR- Metzidakis, I. T.; Voyiatzis, D. G. JOURNAL NAME- Acta Horticulturae

Ethephon sprays affect harvest parameters of 'Mastoides' olives. AUTHORS- Gerasopoulos, D.; Metzidakis, I.; Naoufel, E. EDITOR- Metzidakis, I. T.; Voyiatzis, D. G. JOURNAL NAME- Acta Horticulturae

Field studies for mechanical harvesting by using chemicals for the loosening of olive pedicel on cv. Koroneiki. AUTHORS- Metzidakis, I. EDITOR- Metzidakis, I. T.; Voyiatzis, D. G. JOURNAL NAME- Acta Horticulturae

In vitro studies of ABA and ethephon induced abscission in olive organs. AUTHORS- Kitsaki, C. K.; Drossopoulos, J. B.; Aivalakis, G.; Anastasiadou, F.; Delis, C. JOURNAL NAME- Journal of Horticultural Science and Biotechnology

The effects of Ethrel on the ripening and harvesting of olive. AUTHORS- Ozguven, A. I.; Ozguven, F.; Gezerel, O.; Tatli, H.; Yilmaz, C. EDITOR- Guardiola, J. L.; Garcia Martinez, J. L.; Quinlan, J. D. JOURNAL NAME- Acta Horticulturae

Chemical loosening of olive pedicels for mechanical harvesting. AUTHORS- Ben-Tal, Y.; Wodner, M. EDITOR- Lavee, S.; Klein, I. JOURNAL NAME- Acta Horticulturae

The role of phosphorus as an abscission-inducing agent for olive leaves and fruit. AUTHORS- Banno, K.; Martin, G. C.; Carlson, R. M. JOURNAL NAME- Journal of the American Society for Horticultural Science

Quantification of ethephon requirements for abscission in olive fruits. AUTHORS- Ben-Tal, Y. JOURNAL NAME- Plant Growth Regulation

PHYSIOLOGICAL STUDIES OF ETHYLENE-INDUCED OLIVE (OLEA EUROPAEA L.) FRUIT AND LEAF ABSCISSION (ETHEPHON, MECHANICAL HARVEST, NMR) AUTHORS- LANG, GREGORY ALAN.

LUFOX® NUEVA HERRAMIENTA DE SYNGENTA PARA EL CONTROL DE LA POLILLA DEL RACIMO DE LA VID.

A. Díaz, J.M. Cantus; E. Sanz

Syngenta Agro, S.A.

RESUMEN

En un mercado como el actual que demanda calidad tanto en los vinos como en la uva de mesa, una protección adecuada contra la polilla del racimo (Lobesia botrana Den. y Schiff.) es fundamental.

Todos conocemos los daños directos que ocasiona esta plaga sobre las bayas, mordeduras y perforaciones que al mismo tiempo son puntos de entrada preferentes de otras enfermedades como las podredumbres del racimo ocasionadas por diferentes hongos (*Botrytis, Rhizopus, Aspergillus, Penicillium, Alternaria, Cladosporium,...*) los cuales merman considerablemente la calidad de las uvas y de los vinos. Concretamente los hongos del género Aspergillus son los principales responsables de la presencia de micotoxina (sustancia tóxica de origen fúngico) Ocratoxina A (OTA), en las uvas, mostos y vinos.

LUFOX® es un nuevo insecticida de Syngenta con **doble** actividad, ovicida y larvicida, formulado como concentrado emulsionable (EC). Contiene dos sustancias activas IGR (reguladoras del crecimiento de los insectos) y modo de acción diferente, Lufenuron (30 g/l) y Fenoxicarb (75 g/l). El primero inhibe la síntesis de quitina y el segundo es un mimético de la hormona juvenil, ambos insecticidas son activos sobre huevos y larvas de las polillas del racimo. Estas características le hacen ser único ya que al ser un ovi-

cida, presenta la ventaja de que actúa antes de que las larvas causen el daño, reduciendo los niveles de podredumbres y por consiguiente los de OTA en el producto final.

LUFOX ®, aporta no solo una mejor eficacia contra la polilla del racimo sino que además aporta una mayor flexibilidad a la hora de realizar las aplicaciones debido a su **doble** actividad insecticida.

INTRODUCCION

El control de las polillas del racimo (*Lobesia botrana* Den. y Schiff. y *Eupoecilia (=Clysia) ambiguella* Hb.) es fundamental para la producción de uva de vinificación y uva de mesa, ambas presentan unos ciclos biológicos bastante parecidos. La más importante en España es *Lobesia botrana*.

Los daños producidos no afectan solo a la cantidad sino que también afectan gravemente a la calidad. En la primera generación los daños no suelen reducir la producción, a excepción de variedades de grano pequeño (ej. Pinot) y situaciones de problemas de cuaje (debido a la variedad o condiciones climáticas). Aunque en las generaciones estivales, los ataques de grado débil o medio impactan poco en la cantidad de cosecha los daños ocasionados por estás plagas son la vía de entrada de las podredumbres del racimo, causadas por los hongos *Botrytis, Rhizopus, Aspergillus, Penicillium, Alternaria y Cladosporium,* entre otros. Estas podredumbres son las responsables de la disminución de la calidad de los vinos (reducción de color en los tintos con colores marrones, amarilleces de los blancos, pérdidas de aromas, sabores desagradables, etc.). En el caso de la uva de mesa, los daños que ocasionan las polillas del racimo y podredumbres consecuentes son la reducción de la producción y calidad de esta y el incremento de los costes de mano de obra para separar las bayas sanas de las dañadas. (Fig.1,2,3 y 4).

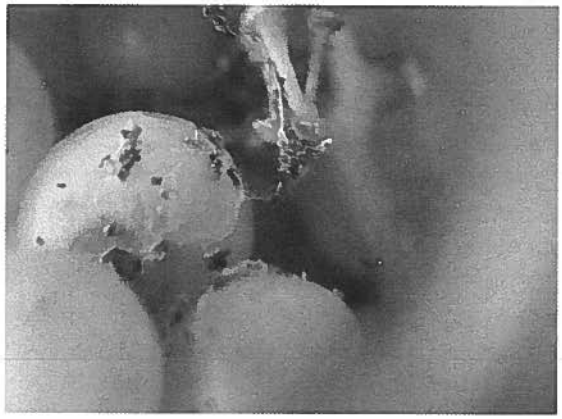


FIGURA 1. El daño inicial provocado por *Lobesia*, es vía de entrada de las podredumbres del racimo

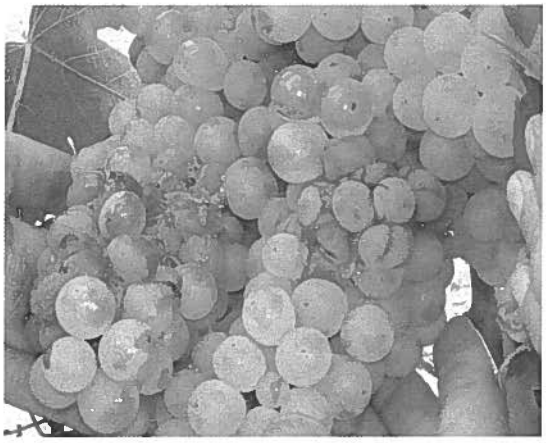


FIGURA 2. Podredumbres del racimo. *Botrytis* y *Rhizopus* sobre un mismo racimo

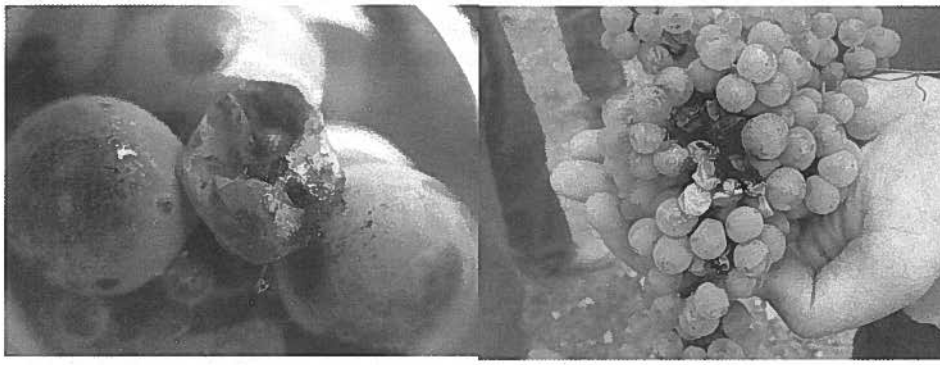


FIGURA 3. Podredumbres del racimo: *Aspergillus* en el interior de una baya atacada previamente por *Lobesia* y sobre racimo

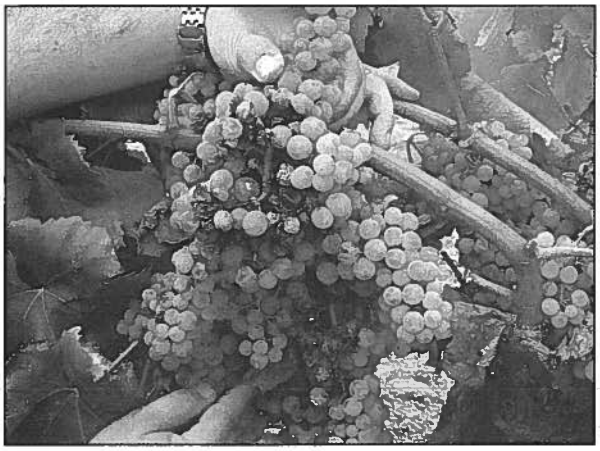


FIGURA 4. Desarrollo de podredumbres a partir del daño ocasionado por *Lobesia*

Por añadidura, como recientemente se ha descubierto en España, algunas especies de Aspergillus son las principales agentes responsables de la presencia en la uva de la micotoxina Ocratoxina A (OTA), sustancia tóxica de origen fúngico, que pasa después a los zumos, mostos y vinos elaborados con estas uvas contaminadas. La cantidad máxima de Ocratoxina A en los vinos esta limitada por la normativa vigente a 2 µg/l.

La reducción de los niveles de OTA en nuestras uvas, zumos, mostos y vinos pasa por una integración de técnicas agronómicas tales como el uso racional de abonos nitrogenados, manejo adecuado del riego, podas, deshojados, etc., seguidas de buenos controles de plagas y enfermedades que puedan producir daños mecánicos en la baya como la polilla del racimo y por último el empleo de fungicidas efectivos contra estas especies de hongos como SWITCH" (Ciprodinil+ Fludioxonil) (MINGUEZ *et al.*, 2004).

LUFOX ® es un insecticida de baja toxicidad para las personas, formulado como un concentrado emulsionable (EC) que contiene 30 g/l de Lufenuron y 75 g/l de Fenoxicarb, desarrollado para reducir en el cultivo de la vid los daños provocados por las polillas del racimo y conseguir la mejor calidad en los vinos y uvas de mesa.

PROPIEDADES BIOLOGICAS

Lufenuron

Es una sustancia activa de la familia de la benzoilureas que actúa como regulador del crecimiento de los insectos (IGR). Aplicado sobre la planta perturba los procesos de muda de los insectos, en los huevos y en las fases larvarias, inhibiendo la síntesis de quitina. No presenta actividad sistémica ni translaminar, actúa por contacto y sobretodo por ingestión. Aunque Lufenuron no es un adulticida, se ha observado también una acción ovicida en los adultos por efecto transovárico.

La absorción dérmica y el efecto de contacto son extremadamente bajos, lo cual explica la selectividad para los insectos beneficiosos, particularmente en la fase adulta.

En *Lobesia y Clysia*, la acción ovicida y larvicida son igualmente importantes. Para la acción ovicida, se ha visto claramente la importancia de la edad de los huevos, sólo es eficaz sobre huevos recién puestos, los que tienen más de un día se ven poco afectados.

Fenoxicarb

Fenoxicarb es un inhibidor de los procesos de transformación de los insectos, pertenece al grupo de los reguladores del crecimiento (IGR), sub-

grupo de los inhibidores de la metamorfosis, diferente del subgrupo de los inhibidores de la síntesis de la quitina. El producto no presenta resistencia cruzada con los insecticidas IGR inhibidores de la síntesis de la quitina como Lufenuron.

Fenoxicarb produce los mismos efectos biológicos que la hormona juvenil, sustancia producida por los propios insectos, un incremento en los niveles de dicha hormona en los insectos impide el paso de un estadio a otro, especialmente el paso de huevo a larva y de larva a pupa en lepidópteros. Estas interrupciones en el desarrollo de las plagas producidas por Fenoxicarb, en ciertos momentos críticos en su ciclo, consiguen detener definitivamente la evolución natural de aquellas y por tanto proteger a multitud de cultivos de los daños que ocasionan. Fenoxicarb actúa por contacto e ingestión y posee actividad translaminar.

LUFOX ®.

Tiene una mejor eficacia contra las polillas del racimo (Lobesia botrana y Clysia ambiguella) debido a la sinergia de estas dos materia activas, aunando su doble acción insecticida tanto contra huevos como larvas, permitiendo una mayor flexibilidad en las aplicaciones y disminuyendo el riesgo de aparición de resistencias respecto a la utilización de cada una de las materias activas individualmente. (Fig. 5 y 6)

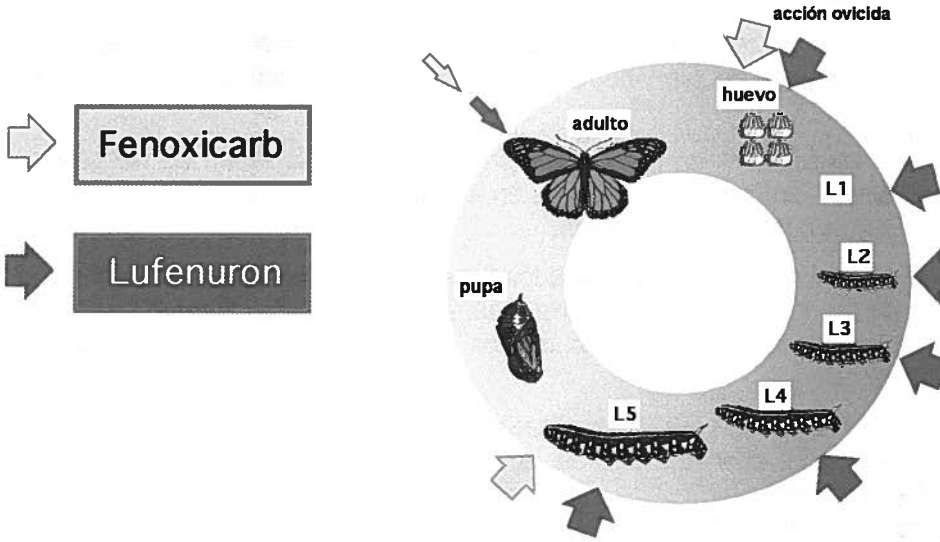


FIGURA 5. Gráficos con puntos de acción de Fenoxicarb y Lufenuron en el ciclo de los lepidópteros (el grosor de la flecha indica el grado de actividad)

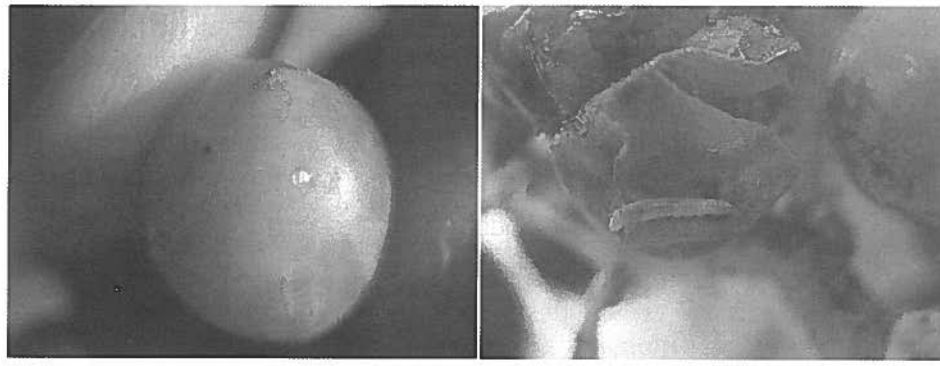


FIGURA 6. LUFOX es activo contra huevos y larvas de Lobesia

TOXICOLOGÍA Y ECOTOXICOLOGÍA

LUFOX ® tiene una baja toxicidad sobre mamíferos, no obstante será clasificado como producto nocivo (Xn), es irritante para la piel y los ojos por lo que el operario debe adoptar las medidas de protección oportunas, como gafas y ropa apropiada durante la preparación del caldo y la aplicación.

Los estudios realizados han mostrado que LUFOX ® es peligroso para los organismos acuáticos. Se recomienda respetar una banda de seguridad de 15 m hasta las masas de agua superficial.

Estudios sobre toxicidad aguda, a corto plazo y subcrónica indican que las aplicaciones en los viñedos de LUFOX no suponen un riesgo para las aves.

Las aplicaciones en los viñedos de LUFOX ® no suponen un riesgo para las abejas siempre que se elimine en las parcelas a tratar la parte aérea de la flora espontánea en floración.

En cuanto a artrópodos útiles los fitoseidos son fundamentales en el cultivo de la vid. En los estudios realizados tanto Fenoxicarb como Lufenuron han sido clasificados como "No tóxicos" según las escala IOBC en condiciones de campo.

Los estudios de residuos realizados con LUFOX ® a la dosis de 1 l/ha dieron, a los 21 días después de la aplicación, unos niveles de residuo de Lufenuron entre 0,07 y 0,15 ppm y de Fenoxicarb entre 0,02 y 0,07; muy por debajo de los LMR solicitados de 1 ppm para ambos ingredientes activos. En todos los estudios realizados en vinos el nivel de residuo estuvo por debajo del límite de detección <0,01 ppm.

EFICACIA DE LUFOX CONTRA LOBESIA EN ESTUDIOS DE SEMI-CAMPO

En estudios de semi-campo se ha evaluado tanto la eficacia ovicida como larvicida de las aplicaciones de LUFOX ® en tres momentos diferentes:

- Pre-oviposición: tienen un importante efecto en el nº de huevos puestos por hembra respecto a un testigo no tratado (66% de reducción), una ligera acción ovicida (20%) y una eficacia larvicida alta (90%).
- Oviposición+ 3 días (huevo cabeza negra): tiene un efecto ovicida mayor (40%) y eficacia larvicida muy alta (100%).
- Oviposición+ 7 días (inicio de eclosión): la eficacia larvicida fue algo inferior (80%).

ENSAYOS DE CAMPO

Eficacia y tolerancia:

En los ensayos internos realizados por Syngenta, LUFOX ® aplicado a la dosis de 1 l/ha (30 g/ha de Lufenuron + 75 g/ha de Fenoxicarb), generalmente en base a 1 a 2 pulverizaciones, aportó una excelente actividad contra los ataques de polilla de racimo y mostró ser, como mínimo, igual a los productos de referencia comúnmente utilizados en el cultivo de la vid. En una media de 12 ensayos la eficacia media fue del 83,9% frente a un 79,7% de eficacia media en los estándares. (Fig. 7)

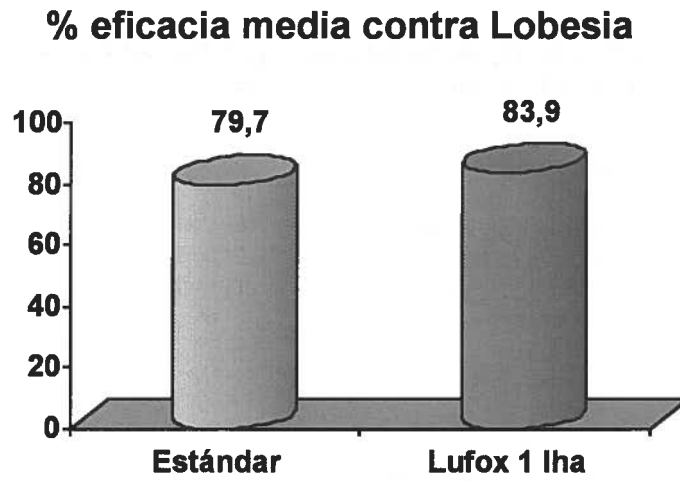


FIGURA 7. Eficacia media de 12 ensayos en la que se compara con diferentes estándares

En uva de mesa, en parral, dos aplicaciones seguidas con un intervalo de 7 días entre ellas, la primera al inicio de la curva de vuelo o a inicio de puestas proporcionaron una eficacia muy alta, alrededor del 95% (LUCAS *et al*., 2006).

Por otro lado en ninguno de los ensayos ni en la experiencia comercial del producto en Francia se ha reportado ningún problema de intolerancia del cultivo a las aplicaciones.

En ensayos de campo realizados en Francia han mostrado que el producto es **resistente al lavado producido por aguas de lluvia**, se ha podido comprobar que una lluvia ocurrida dos horas después de realizada la aplicación no reduce la eficacia de las aplicaciones de LUFOX ®.

Ocratoxina A

Estudios realizados por el ICV (*Institut Coopératif du Vin*) en Francia durante las campañas 2001 y 2002, muestran que los vinos producidos a partir de uvas tratadas contra *Lobesia* con productos ovicidas presentan unas reducciones de los contenidos de OTA de alrededor del 80% en comparación con un testigo no tratado, mientras que los productos larvicidas, con una eficacia contra Lobesia muy similar, presentaron reducciones de OTA entre el 40 y 60% (ROUSEAU, 2003).

En ensayos de campo realizados por Syngenta en colaboración con el INCAVI *(Institut Catalá de la Vinya i el Vi*), se ha constatado que las aplicaciones de LUFOX ® reducen los niveles de daños de *Lobesia* y, como consecuencia, los niveles de OTA respecto a un testigo no tratado. Las reducciones más importantes se consiguen cuando se combina una buena estrategia contra Lobesia, seguida de aplicaciones con productos eficaces contra el *Aspergillus* como SWITCH (MINGUEZ *et al.*, 2004).

Estudios de vinificación

Los estudios realizados y la experiencia comercial del producto en Francia muestran que las aplicaciones en campo de LUFOX ®, contra polillas del racimo, no tienen efectos adversos ni sobre la vinificación ni sobre la calidad de los vinos.

RECOMENDACIONES DE USO

- Tratar entre el inicio de la curva de vuelo y el inicio de la eclosión, el óptimo es en el estadio huevo cabeza negra (oviposición+ 3 días) (Fig. 8)

- Dosis: 1 lt/ha.
- Pulverización dirigida a los racimos, es importante asegurar una deposición uniforme sobre los mismos (una correcta calibración de los equipos, podas y deshojados ayudan a mejorar las eficacias).
- Si el vuelo es muy escalonado (más de tres semanas) hacer una 2ª aplicación a los 21 días después de la 1ª, o con un producto larvicida como Karate Zeon.
- Hacer un máximo de dos aplicaciones por campaña preferiblemente al inicio de la curva de vuelo de la 2ª y 3ª generación.
- Plazo de seguridad: 21 días entre la última aplicación y la recolección.

Ciclo 2ª generación Lobesia

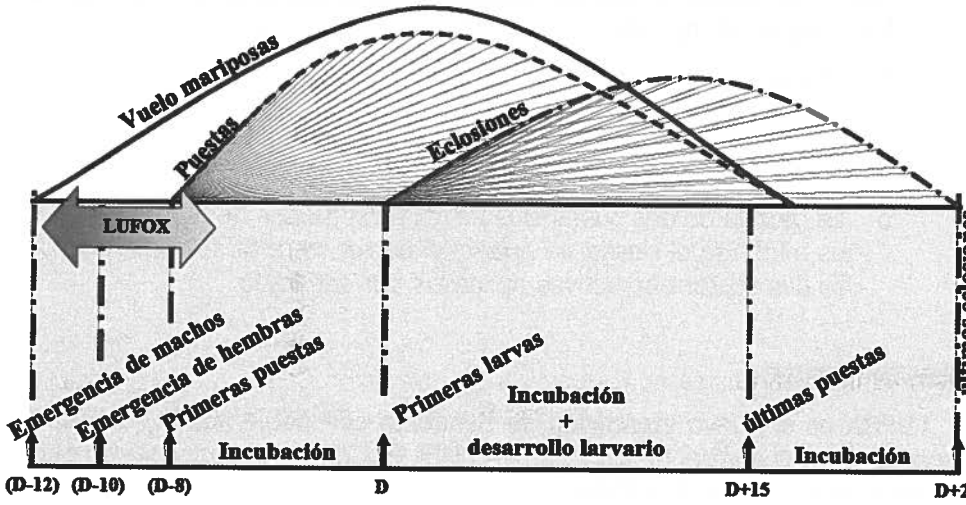


FIGURA 8. Los mejores resultados se obtienen cuando LUFOX se aplicaca entre el inicio de la curva de vuelo el inicio de la eclosión, con un óptimo en el estadio huevo cabeza negra (oviposición+ 3 días).

CONCLUSIONES

- LUFOX ® es altamente eficaz contra las polillas del racimo.
  - o Actúa por contacto e ingestión

- LUFOX ® tiene doble acción:
  - o Con acción Ovicida y Larvicida (IGR) permitiendo una mayor flexibilidad en la aplicación.
  - o Debido a su acción ovicida, reduce los daños producidos por las larvas recién eclosionadas sobre las bayas y como consecuencia disminuyen las podredumbres del racimo y los contenidos de micotoxinas (OTA) en los mostos y vinos.
- LUFOX ® respeta insectos beneficiosos.
  - o Fitoseidos
- LUFOX ® es respetuoso con el medio ambiente.
- LUFOX ® es seguro para el operario:
  - o No es neurotóxico.
- LUFOX ® no afecta la fermentación ni las cualidades organolépticas de los vinos ni de las uvas.
- LUFOX ®tiene elevada persistencia:
  - o Resistente al lavado producido por aguas de lluvia.
- LUFOX ® tiene baja probabilidad de desarrollo de resistencias:
  - o La mezcla de dos sustancias activas con modos de acción diferentes minimiza el riesgo de aparición de resistencias frente al uso de las dos sustancias activas aplicadas por separado.

RESUMIENDO:

LUFOX es el nuevo insecticida de Syngenta con doble acción, ovicida y larvicida para el control de las POLILLAS DEL RACIMO y el mejor aliado para producir uvas y vinos de calidad.

AGRADECIMIENTOS

Queremos expresar nuestro agradecimiento a todos los colaboradores que han contribuido al desarrollo de LUFOX.

REFERENCIAS

COSCOLLÁ R., 1992. Polillas del racimo (*Lobesia botrana* Den. y Schiff.). In A. Arias *et al.* (eds.), *Los parásitos de la vid*, MAPA-Mundi Prensa, Madrid, pp. 29-41.

TORRES VILA L.M., 2003. Un aniversario aciago: dos siglos de historia como plaga de la polilla del racimo de la vid, Lobesia Botrana Den. y Schiff. Sociedad Española de Entomología Aplicada www.seea.es ..

LUCAS A., HERMOSILLA A., RAMIREZ A, TORTOSA J.L., LOPEZ F.S., PEÑA M. 2006. Eficacia de varios insecticidas aplicados en diferentes momentos, en el control de la 2ª generación de polilla del racimo (Lobesia botrana Schiff)en el cultivo de uva de mesa.. Agrícola Vergel, junio 2006, pp 293-394

CASTILLO R., PEREZ MARIN J.L., LUCAS A., CASTILLO M.A..1994.El método de confusión contra las polillas del racimo (Lobesia botrana Schiff. y Eupocilia ambigüella Hbn.) en el cultivo de la vid. Phytoma España, nº 56, Feb 19, pp.33-40

P.VILLARONGA, BALLVÉ A., BARRIOS G., CASADEVALL M., GIRALT Ll., MARQUES J., REYES J., CASANOVA S.1992. Contribución al estudio de fitoseidos y tetraníquidos de los viñedos de Cataluña. Vitivinicultura 1992/4. pp. 30-36.

COSCOLLÁ R. 1996 La polilla del racimo de la vid Lobesia botrana. Phytoma España, nº 83 pp 30-35.

PEREZ MORENO I. MORAZA M.L.1996 Los ácaros fitoseidos de los viñedos de La Rioja.. Phytoma España. nº83. pp. 209-213

COSCOLLA R. 1992. Medios selectivos de lucha contra la polilla del racimo de la vid. Vitivinicultura 1992/2. pp 56-60

ITV FRANCE. 2003. Maîtrese des tordeuses de la grape. Les cahiers itinerarires d'itv France. nº 7.

ROUSSEAU J., BLATEYRON L, DRPOUILLARD J.B., BONNET N. 2005. Tordeuses de la grappe et moisissures asssociées, incidences sur la vinifications et la qualité du vin. Phytoma. La defense des Vegetausx, nº 587.

ROUSEAU, 2003. Ochratoxine A dans le vins, état des connnaisances. Publication ICV.

MINGUEZ S., J.M. CANTUS, PONS A., MARGOT P., CABANES F.X., MASQUE C., ACCENSI F., ELORDUY, GIRALT Ll.,VILAVELLA M., RICO S., COMINGO C., BLASCO M., CAPDEVILA J., 2004. Influence of the fungus control strategy in the vineyard on the presence of Ochratoxin A in the wine. Bulletin de l'OIV, vOL 77 (PP821-831)

VISIÓN GENERAL DEL USO DE NEMATODOS ENTOMOPATOGENOS EN DIFERENTES CULTIVOS EN ESPAÑA

Alejandro Martínez Peña, Mª del Mar Martínez de Altube
Idebio S.L.

Resumen: IDEBIO S.L., es una compañía de biotecnología que ha dedicado los diez últimos años, al desarrollo de diferentes productos para una nueva agricultura biológica, intentando reducir el uso de productos químicos.

Con este fin, se han desarrollado dos productos diferentes, Biorend ® y Biorend R ® (Biorend + Nematodos entomopatógenos)

Biorend ® es un producto natural derivado de la quitina, es orgánico, biodegradable, no-toxico y no contaminante y se usa en la agricultura como bioestimulante-protector de cultivos.

Su ingrediente activo es la N-acetil-glucosamina (Quitosano) un polímero derivado de la quitina, principal componente para la producción del Biorend®

El Biorend ® se absorbe sistemáticamente por las plantas a través de las semillas, hojas y raíces. Esto desencadena un crecimiento más fuerte del cultivo.

Debido a la composición del Biorend ® el cultivo, en teoría, piensa que esta siendo atacado por un patógeno, induciendo una respuesta de defensa en la planta a este ataque. Esta respuesta se manifiesta en cambios bioquímicos, citogenéticos y estructurales, que se traducen en un aumento significativo en la producción y en la biomasa.

El otro producto Biorend R ®, es una combinación de este producto derivado de la quitina mas nematodos entomopatógenos, obteniendo con esta

mezcla, dos efectos diferentes, de una manera los nematodos entomopatógenos controlan la plaga y por otro lado el Biorend ® bioestimula y protege el cultivo para una mejor recuperación después del ataque de una plaga.

En todos los ensayos de campo y aplicaciones comerciales siempre hemos podido observar:

Buen control contra la plaga, en muchos casos mejor o el mismo que el ejercido por los químicos; Bioestimulación del cultivo con mayores producciones en la cosecha y una importante recuperación de las plantas; Efecto nematostatico.

Actualmente hay mas de 1.000 ha de frutales de hueso tratados en España con Biorend R ® contra *Capnodis tenebrionis, más de 150 ha. de Olivos tratados contra Anoxia Villosa y Othiorrhynchus sulcatus, mas de 60 hectáreas de invernaderos contra Frankliniella occidentales, Bemisia tabaci, Trialeurodes vaporariorum, Spodoptera litorales y Meloidgyne* spp. Y más de12 ha. de viña contra *Meloidogyne* spp.

INTRODUCCIÓN

IDEBIO S.L., es una compañía de biotecnología que ha dedicado los diez últimos años, al desarrollo de diferentes productos para una nueva agricultura biológica, intentando reducir el uso de productos químicos.

Con este fin, se han desarrollado dos productos diferentes, Biorend ® y Biorend R ® (Biorend + Nematodos entomopatógenos)

Biorend ® es un producto natural derivado de la quitina, es orgánico, biodegradable, no-toxico y no contaminante y se usa en la agricultura como bioestimulante protector de cultivos.

Su ingrediente activo es la N-acetil-glucosamina (Quitosano) un polímero derivado de la quitina, principal componente para la producción del Biorend®, La quitina es el segundo polímero mas abundante en la naturaleza, se puede encontrar en las paredes celulares de algunos hongos patógenos, en los exoesqueleto de insectos, y en el cartílago bovino. Se puede extraer de los caparazones de los crustáceos marinos como centollas centellones, ambos abundantes en Magallanes, región antártica de Chile.

El Biorend ® se absorbe sistemáticamente por las plantas a través de las semillas, hojas y raíces. Como consecuencia de esto se produce un crecimiento más fuerte del cultivo. Debido a la composición del Biorend ® (derivado de la quitina) el cultivo, en teoría, piensa que esta siendo atacado por un patógeno, induciendo una respuesta de defensa en la planta a este ataque. Esta respuesta se manifiesta en cambios bioquímicos, citogenéticos y

estructurales que se traducen en un aumento significativo en la producción y en la biomasa. Algunos de estos efectos importantes son:

- Aumenta el desarrollo del sistema aéreo y radicular (Ait Barka E. *et al* , 2003), permitiendo a las plantas ocupar mas suelo pudiendo absorber con ello mas agua y nutrientes.
- Aumenta significativamente la resistencia y el grado de lignificación de las plantas (Walker-Simmons, M 1984) haciéndolas menos susceptibles a condiciones de estrés como sequía, frío, y menos susceptibles a los ataques de insectos u hongos, especialmente en aquellos casos donde el sistema radicular está implicado.
- Estimula la síntesis de compuestos bioquímicos, que se producen cuando se desencadena los mecanismos de defensa en las plantas frente al ataque de patógenos. (Hadwinger *et al* , 1981, 1984; Hirano, S. and Nagao, N. 1989).
- Activa genes de resistencia y la síntesis de proteínas inhibidoras.(Walkers-Simons *et al* , 1983)
- Reduce la deshidratación post-transplante mejorando significativamente su desarrollo y aumentando las producciones. (Bitelli, M *et al* . 2001).
- Reduce la transpiración en las plantas y aumenta la eficiencia fisiológica en el uso de agua. (Lee, Y, 1999), (Bitelli, M *et al* , 2001).
- Tiene efecto fungiestatico (Allan, C.R. and Hadwiger, L.A. 1979) frente algunos hongos patógenos que causan enfermedades con un impacto económico importante y que son difíciles de controlar con productos químicos como son, *Fusarium* spp, *Phytophtora* spp, *Botrytis* spp, y otros.
- Tiene un efecto nematostatico y una mejor absorción del agua debido al aumento en la producción de raíces y raicillas. (Magunacelaya, J.C. M. Peña. A 2005)
- Aumenta la producción y la cosecha. (Fernandez Rodriguez E.J. *et al* 2002).
- Tiene algunos efectos positivos para el almacenaje de alimentos bañando frutas y verduras en el. (Galed, G *et al* . 2004).
- Estimula la microflora antagonista de nematodos fitopatógenos. (Kloeper, J.W *et al* .)

IDEBIO S.L tiene amplia información experimental sobre el Biorend ® que ha conseguido trabajando conjuntamente con universidades y estaciones experimentales como:

- Universidad Complutense de Madrid.
- Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA).
- Departamento de Microbiología Universidad de Salamanca.
- Departamento de Microbiología Universidad de Sevilla
- Universidad Católica de Chile, Escuela de Agronomía.
- Instituto Agrícola Pascual Baburiza, Chile
- Instituto Nacional de investigación Agraria, INIA La Platina, Chile
- Instituto Nacional de Tecnología y Agricultura. INTA, Argentina.
- Universidad Nacional de Lujan, Argentina
- Estación Experimental de la Mojonera, Almería, España
- Centro Regional de Investigación agraria. CRIA, Paraguay
- Aplicaciones Bioquímicas, Salamanca España. Empresa acreditada por el MAPA reconocida para la realización de ensayos oficiales EOR28/ 97.

El otro producto, Biorend R ®, es una combinación de este producto derivado de la quitina mas nematodos entomopatógenos, obteniendo con esta mezcla, dos efectos diferentes, de una manera los nematodos entomopatógenos controlan la plaga y por otro lado el Biorend ® bioestimula y protege el cultivo para una mejor recuperación después del ataque de una plaga.

Diferentes cepas de nematodos fueron aisladas en distintas regiones de España y después fueron testada frente a distintos insectos plaga como *Galleria mellonella, Capnodis tenebrionis, Anoxia villosa, Agrotis* spp, etc. para determinar su capacidad para parasitarlos. Después de que las cepas más virulentas fueron seleccionadas, se paso a la producción masiva de nematodos en medio liquido de acuerdo con Ehlers *et al* . (1998).en fermentadores.

Después de los buenos resultados obtenidos en el laboratorio con los nematodos entomopatógenos, se realizaron ensayos de campo de 1.000 - 2.500m^2 en frutales de hueso (albaricoque y cerezos) contra *Capnodis tenebrionis* con Biorend R ® entre 1998-2001, intentando conocer el mejor momento de aplicación y la dosis adecuada, de acuerdo con el ciclo de vida de esta plaga. Se evaluaron diferentes métodos de aplicación como riego por goteo, inyección, poceta y pulverización para ver si existían diferencias en la eficacia de los nematodos usando estos distintos métodos. También se evaluó la persistencia de los nematodos en el suelo. Y de la misma manera se evaluaron los efectos del Biorend ® en los árboles.

Después de dos años teniendo buenos resultados la compañía empezó a comercializar el producto aplicando dosis de un millón de nematodos por árbol mas 3-5 litros de Biorend por hectárea durante la primavera y el otoño mediante riego por goteo en zonas de regadío o inyección en zonas de secano durante al menos tres años.

Actualmente hay más 1.000 hectáreas de árboles frutales tratadas en España con este sistema. Y después de la evaluación llevada a cabo por la administración en los ensayos experimentales, este tratamiento tiene subvención por parte de la Junta de Castilla y León.

Durante los ensayos llevados acabo entre 1998-2001 en albaricoque y cerezos pudimos observar un buen control contra otras plagas como *Anoxia villosa, Othiorrynchus sulcatus, Ceratitis capitata* y *Kaloteremes flavicolli*, extendiéndose los ensayos a otros cultivos como olivos, perales, cítricos, y cualquier tipo de frutal de hueso como melocotón, nectarina, y ciruela.

En 2003 se realizaron cuatro ensayos de campo comerciales de 2000m2 contra *Anoxia villosa* y *Othiorrynchus sulcatus* en Olivo. Actualmente hay más de 150 hectáreas de Olivos tratadas de forma similar que se hace con los árboles frutales.

También cuando se estaba analizando el suelo para ver la persistencia de los nematodos entomopatógenos y se evaluaban las raíces en los ensayos llevados a cabo en albaricoque (1998-01) se pudo ver un descenso en la población de nematodos fitopatógenos como *Melydogine* spp. Fue entonces cuando en 2004, Idebio S.L realizó 12 ensayos de campo con Biorend R ® en tomate, calabacín, pimiento, judías, zanahorias, y viñedo contra *Meloydogine* spp, en diferentes regiones en España, algunos de estos ensayos fueron evaluados también por la Administración.

En todos estos ensayos y en las aplicaciones comerciales siempre se pude observar:

- Buen control frente a la plaga, en muchos casos con mejor efecto que los productos químicos comparados o por lo menos el mismo control.
- Bioestimulación con mayores cosechas y una importante recuperación de los cultivos.
- Un efecto nematostatico.

Debido a esto Idebio S.L. pensó que quizá hubiera un efecto sinérgico en el uso conjunto del Biorend ® con los nematodos entmopatógenos y por eso decidió patentarlo. Actualmente hay una patente internacional para el uso de esta mezcla en agricultura EP: 1 332676B1. W.O: 2002/037966 Inventor: Alejandro Martínez Peña. Propietario. IDEBIO S.L (2004).

Después de estos buenos resultados Idebio S.L comenzó a trabajar en Almería (2001) en cultivos hortícolas de invernaderos como tomate, melón, sandia, pepino, calabací, etc. En ensayos comerciales de 5.000 m^2. Probando de nuevo distintos métodos de aplicación (riego por goteo y pulverización), dosis y momentos de aplicación en función del ciclo biológico de la plaga y del cultivo y también el numero necesario de tratamientos en función de la persistencia de los nematodos.

En la actualidad se están aplicando dosis de 500.000 nep/m^2. + 1 litro de Biorend ® por hectárea cada diez días por el riego por goteo y aplicaciones foliares de 500.000nep/m^2. Dependiendo de la necesidad. Con esto, los efectos que obtenemos son:

- Efecto nematostatico contra *Meloydogine* spp.
- Buen control contra: *Frankliniella occidentalis, Bemisia tabaci, Trialeurodes vaporariorum* y *Spodoptera litoralis.*
- Bioestimulación del cultivo con una mayor producción y mejor calidad.

También se ha observado, en invernaderos comerciales donde solo se usó Biorend R, sin ningún tratamiento químico, un aumento en la población de insectos autóctonos auxiliares beneficiosos como *Coenosia* spp. (Mosca tigre) y una mejor adaptación de insectos auxiliares beneficiosos como *Orius laevigatus, Amblyseius cucumeris, Encarsia formosa* y *Erectmocerus mundus* en los invernaderos.

Algunos de estos ensayos comerciales fueron controlados por la administración y después de los buenos resultados que pudieron observar, Bioren ® esta incluido en la lista de productos biológicos dentro del programa llevado a cabo en Almería contra insectos vectores de virus con una subvención al agricultor que use los productos incluidos en esta lista.

En la actualidad Idebio S.L continua investigando para mejorar el control biológico en invernaderos además de la realización de pruebas contra otras plagas de interés como *Rhynchophorus ferrugineus, Paysandisia archon* y *Psylla pyri.*

INCONVENIENTES PARA EL DESARROLLO DEL PRODUCTO EN EL FUTURO

No tiene efecto choque, como los productos químicos, a los que los agricultores están acostumbrados. Esto genera en ellos una situación de desconfianza unido a la poca información sobre estos nuevos productos biológicos.

La recuperación en el caso de los árboles frutales después de un ataque por parte de la plaga empieza a ser visible después de un año. En algunos casos, los agricultores no esperan el tiempo necesario y vuelven al uso de productos químicos aunque no obtengan buenos resultados.

Bajo conocimiento por parte de los agricultores sobre este tipo de productos biológicos unido además a que es necesario cierto conocimiento sobre el ciclo de vida de las plaga, cultivo, etc. En este caso, las aplicaciones no son sistemáticas como en el caso de los productos químicos. La media de propiedad de invernaderos en España es de 2 hectáreas generalmente controladas por una sola familia que generalmente no dispone de tiempo para esta formación.

El nivel de tolerancia para algunas plagas en invernaderos es cero, como en el caso de insectos transmisores de virus. Actualmente se utilizan sistemáticamente mezclas de 4 o 5 productos químicos distintos, sin buenos resultados y generando además resistencias en los insectos y haciendo con esto imposible que se puedan establecer insectos auxiliares. No es fácil cambiar estos hábitos y mentalidad.

En Almería los invernaderos están muy juntos y no muy bien conservados por lo que la presión de plaga es muy elevada y además se crean interferencias con los invernaderos vecinos.

Todavía hoy, el control biológico es mas caro que el control químico, pero los agricultores no reciben mas por producir cosechas biológicas, aunque el consumidor final si encuentra diferencias en los precios de estos productos, siendo generalmente mas caros los biológicos.

No hay todavía una alta demanda de estos productos por los consumidores debido a la baja información de los problemas de los productos químicos.

VENTAJAS PARA EL DESARROLLO DEL PRODUCTO EN EL FUTURO.

Es un potente agente de control biológico compatible con productos químicos. Esto da al producto la oportunidad de que los agricultores lo usen pudiendo, en un principio, combinarlo con sus productos químicos habituales y una vez que ellos mismos van comprobando su eficacia ir sustituyéndolos por alternativas biológicas.

Es fácil de usar para los agricultores.

Es un producto biológico, no toxico, no contaminante, exento del requerimiento de tolerancia de acuerdo con la EPA (Environmental Protection Agency).

Este producto está certificado para agricultura biológica por IMO, CERTICAE.

Admitido por el Ministerio de Agricultura de España como biopesticida y en algunos casos con subvenciones para los agricultores por su uso.

No origina resistencia en las plagas.

REFERENCIAS:

AIT BARKA, E. EULLAFFROY, P. CL_MENT, C. VERNET ,G. (2004) Chitosan improves development, and protects Vitis vinifera L. against Botrytis cinerea. Plant Cell Rep.

ALLAN, C.R. AND HADWIGER, L.A. (1979). The fungicidal effect of chitosan on fingi of varying cell wall composition. Exp. Mycol., 3:285-287.

BITELLI, M., FLURY, M., CAMPBELL, G,S., AND NICHOLS, E.J. (2001). Reduccion of transpiration through foliar application of chitosan. Journal of agricultural and forest meteorology 107, 167-175OLOGY AND BIOCHEMI

FERNANDEZ RODRIGUEZ, E.J. CAMACHO FERRE, F. DÍAZ PÉREZ, M. GOMEZ QUESADA, E.M CARMONA MEDINA, J.J. (2002). Efectos de la aplicación del quitosano (Biorend ®) sobre la producción y componentes de rendimiento de pimiento bajo invernadero. Departamento de producción Vegetal. Universidad de Almeria. 12º Symposium Internacional. Ecologia y producción integrada en cultivos horticolas de invernadero. Phytoma.

GALED, G. FERNANDEZ-VALLE, M.E. MARTINEZ, A. HERAS A. (2004). Application of MRI to monitor the process of ripening and decay in citrus treated with chitosan solutions. Magnetic Resonance Imaging 22 127-137.

HADWINGER, L.A AND 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.

HIRANO, S. AND NAGAO, N. (1989). Effects of chitosan, pectic .acid, lysozyme, and chitinase on the growth of several phytopathogens. Agric. Biol. Chem., 53(I 1):3065-3066.

KLOEPER, J.W. REDDY, M.S. RODRIGUEZ-KABANA, R.. KENNEY D,S, KOKALIS-BURELLE, N. MARTINEZ OCHOA. N. Application for Rhizobacteria in transplant production and yield enhancement. XXVI Internacional Horticultural Congress: Issues and Advances in transplant production and Stand Establishment research

LEE, S., CHOI, H., SUH, S., DOO, Y., OH K CHOI EJ., SCHROEEDER A. T., LOW P.S., LEE Y. (1999). Oligogalacturonic acid and chitosan reduce stomatal aperture by inducing the evolution of active oxygen species from guard cells of tomato and Commelina communis. Plant phisilogy, 121, 147-152.

MAGUNACELAYA, J.C. M. PEÑA. A (2005) Uso del quitosano para el control de enfermedades y nematodos fitoparasitos. Univerisidad de Chile. Facultad de ciencias agronómicas. Digital book: Control biologico e integrado de enfermedades y nematodos en frutales y hortalizas.

MUZZARELLI RICARDO A.A. (2001). Biocontrol harvest Chitin enzymology 121-210.

WALKER-SIMMONS, MARY AND CLARENCE A. RYAN. (1984) Proteinase Inhibitor Synthesis in Tomato Leaves Induction by Chitosan Oligomers and Chemically Modified Chitosan and Chitin. Plant Physiol. 1984 November; 76(3): 787–790.

WALKER-SIMMONS, M., JIN, D. WEST, C.A., HADWIGER, L. AND RYAN. C.A. (1984). Comparison of proteinase inhibitor-inducing activities and phytoalexin elicitor activities of a pure fungal endopolygalacturonase, pectic fragments, and chitosan. Plant Phisiology 76, 833-836

IDEBIO

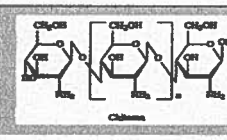
- Inicio: 1996.
- Objetivo: Desarrollo y comercialización de diferentes productos para una agricultura biológica innovativa.

BIOREND®

BIOREND®

BIOREND®

- Producto natural derivado de la Quitina. Es orgánico biodegradable y su ingrediente activo es el quitosano. (N- acetyl-guicosaina).
- Bio-estimulante y protector de cultivos.



BIOREND®

EFECTOS EN PLANTAS:

- Aumenta el desarrollo del sistema aéreo y radicular.
- Aumenta la producción y las cosechas.
- Aumenta el grado de lignificación y resistencia.
- Activa genes de resistencia, estimulando la síntesis de compuestos bioquímicos de mecanismos de defensa.

BIOREND®

EFFECTOS EN PLANTAS:

- Reduce la transpiración en plantas.
- Tiene efecto fungistático y nematostático.
- Estimula el crecimiento de la microflora antagonista de nematodos fitopatogenos.
- Tiene ciertas ventajas en el almacenamiento de alimentos. (Cubriendo frutas y vegetales).

BIOREND® EFECTOS

NEP

+ BIOREND®

CONTROL PLAGA

RECUPERACION DE LAS PLANTAS

BIOSTIMULA EL CULTIVO

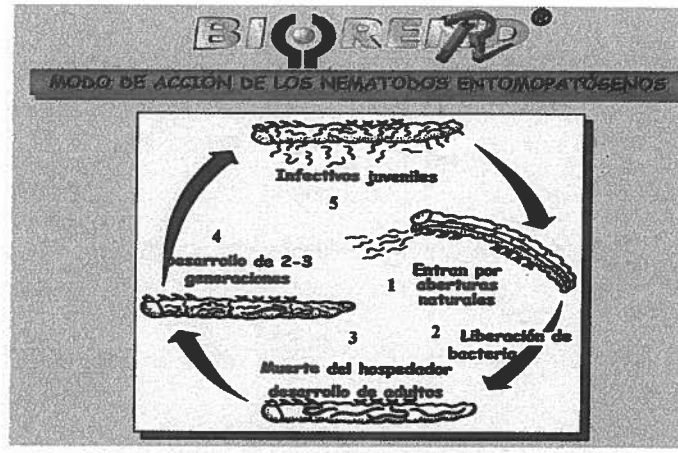
PROMUEVE MEC. DE DEFENSA

BIOREND®

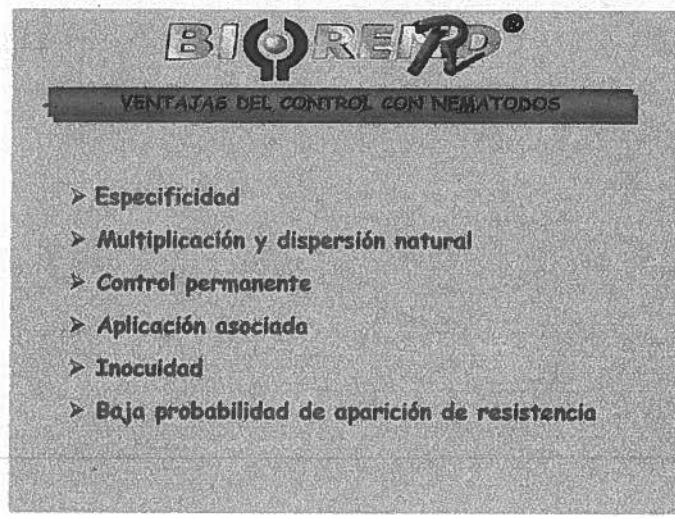
NEMATODOS ENTOMOPATÓGENOS: Nematodo + Bacteria

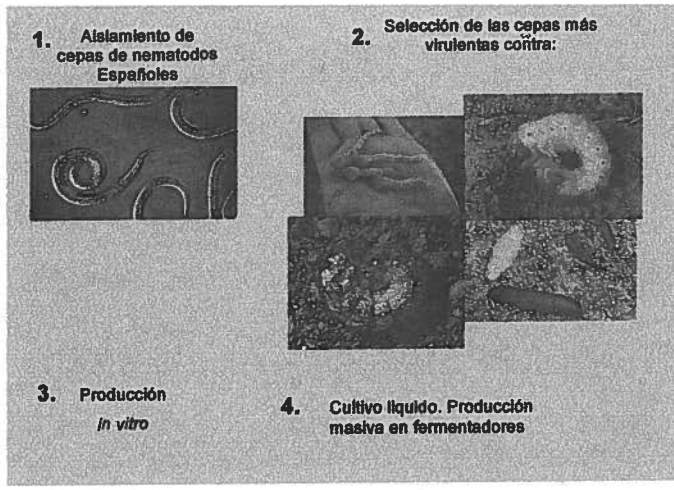
- Los nematodos entomopatógenos *Steinernema* y *Heterorhabditis* ofrecen la solución ideal para la lucha biológica frente a importantes plagas.
- La fase denominada dauer juvenil (DJ) es el único estadío de vida libre y tolerante al ambiente.
- En el interior del insecto liberan una bacteria simbiótica (*Xenorhabdus o Photorhabdus*) que ocasiona la muerte del insecto diana por septicemia.

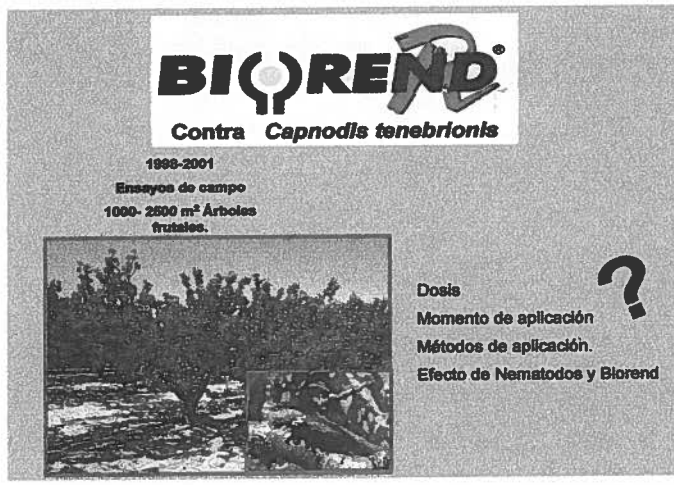
+

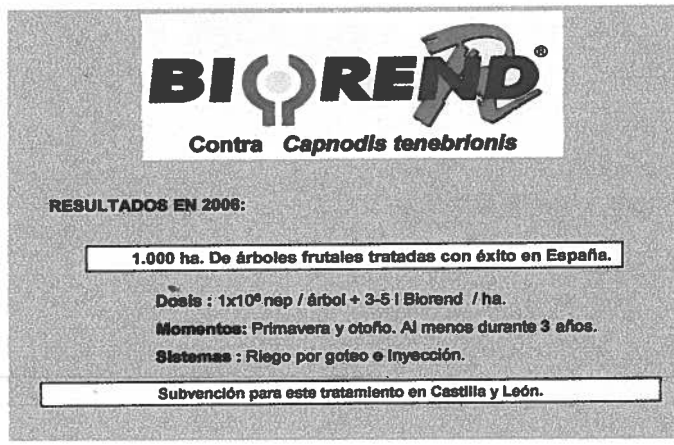

BIOREND
MODO DE ACCION DE LOS NEMATODOS ENTOMOPATÓGENOS
Infectivos juveniles
5
4
desarrollo de 2-3 generaciones
1
Entran por aberturas naturales
3
2
Liberación de bacteria
Muerte del hospedador
desarrollo de adultos


BIOREND
CICLO DE VIDA: NEMATODOS ENTOMOPATÓGENOS


BIOREND
VENTAJAS DEL CONTROL CON NEMATODOS
➢ Especificidad
➢ Multiplicación y dispersión natural
➢ Control permanente
➢ Aplicación asociada
➢ Inocuidad
➢ Baja probabilidad de aparición de resistencia


1. Aislamiento de cepas de nematodos Españoles
2. Selección de las cepas más virulentas contra:
3. Producción in vitro
4. Cultivo líquido. Producción masiva en fermentadores


BIOREND®
Contra Capnodis tenebrionis
1998-2001
Ensayos de campo
1000- 2500 m² Árboles frutales.
Dosis
Momento de aplicación
Métodos de aplicación.
Efecto de Nematodos y Biorend
?


BIOREND®
Contra Capnodis tenebrionis
RESULTADOS EN 2006:
1.000 ha. De árboles frutales tratadas con éxito en España.
Dosis : 1x10⁹ nep / árbol + 3-5 l Biorend / ha.
Momentos: Primavera y otoño. Al menos durante 3 años.
Sistemas : Riego por goteo e inyección.
Subvención para este tratamiento en Castilla y León.

BIOREND®

Anoxia villosa and Otiorhynchus sulcatus

2003

4 Ensayos de campo 2000 m².

Olivos.

Dosis

Momento de aplicación

Métodos de aplicación.

Efectos de Nematodos y Biorend.

BIOREND®

Anoxia villosa and Otiorynchus sulcatus

RESULTADOS EN 2006:

150 ha. De Olivos tratadas con éxito en España.

Dosis : 1x10⁶ nep / árbol + 3-5 l Biorend / ha.

Momentos: Primavera y otoño.

Sistemas : Riego por goteo e Inyección.

BIOREND®

Contra *Melodogyne spp*

2004

12 Ensayos comerciales en Viña 2000 m².

Dosis

Momento de aplicación.

Métodos de aplicación.

Efectos Nematodos y Biorend

BIOREND®

Contra *Meloydogine spp.*

RESULTADOS EN 2006:

12 ha. De viña tratadas con éxito en España.

Dosis : 0.3 - 0.5x10⁶ nep / árbol + 3-5 l biorend / ha.

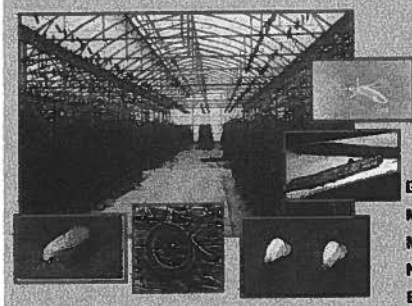
Momentos: 2-3 veces por año.

Sistemas : Riego por goteo e inyección.

Subvención para este tratamiento en tres regiones Castilla La Mancha, Extremadura y Andalucía.

BIOREND®

En invernaderos



2001

Ensayos comerciales 5000 m².

En invernaderos

Dosis

Momento de aplicación

Métodos de aplicación.

Numero de tratamientos

Efecto de Nematodos y Biorend

?

BIOREND®

En invernaderos

RESULTADOS EN 2006:

60 ha. De invernaderos tratadas con éxito en España.

Dosis : 500.000 nep/m² + 1l biorend / ha.

Momentos: Cada 10 días.

Sistemas : Riego por goteo.

Aplicaciones foliares: 500.000 nep/m² + 1l biorend / ha.

Dependiendo de la necesidad.

Subvención para este tratamiento en Almería.

BIOREND R

"BUEN CONTROL CONTRA LA PLAGA.

BIOESTIMULACION CON MAYORES COSECHAS Y PRODUCTOS DE MEJOR CALIDAD.

IMPORTANTE RECUPERACION DE LOS CULTIVOS

EFECTO NEMATO-STATICO

MEJOR ADAPTACION DE INSECTOS AUXILIARES, AUMENTO DE INSECTOS AUTOCTONOS BENEFICIOSOS

EFECTO SINERGICO??? → PATENTE INTERNACIONAL

EP: 1 332 676 B1

WO: 2002/037966

IDEBIO

OBJECTIVOS EN EL FUTURO

•MEJORAR LA EFICACIA EN INVERNADEROS AJUSTANDO DOSIS FRECUENCIA Y METODOS DE APLICACIÓN.

•PRUEBAS DE BIOREND R CONTRA OTRA PLAGAS IMPORTANTES EN CAMPO:

Rhynchophorus ferrugineus

Paysandisia archon.

Psylla pyri.

VENTAJAS PARA DESARROLLAR EL PRODUCTO EN EL FUTURO.

•POTENTE AGENTE DE CONTROL BIOLOGICO.

•COMPATIBLE CON PRODUCTOS QUIMICOS.

•FACIL USO PARA LOS AGRICULTORES.

•EXENTO DEL REQUERIMIENTO DE TOLERANCIA (E.P.A.)

•CERTIFICADO PARA AGRICULTURA ECOLOGICA (I.M.O).

•ADMITIDO POR EL MINISTERIO DE AGRICULTURA COMO BIOPESTICIDA.

•EN ALGUNOS CASOS SUBVENCIONADO PARA LOS AGRICULTORES.

•NO ORIGINA RESISTENCIA EN LAS PLAGAS.

DESVENTAJAS PARA DESARROLLAR EL PRODUCTO EN EL FUTURO

- NO TIENE EFECTO CHOQUE.
- LA RECUPERACIÓN EN ÁRBOLES EMPIEZA A SER VISIBLE DESPUES DE 1 AÑO.
- ALMERIA TIENE LA MAYOR CONCENTRACION DE INVERNADEROS EN EL MUNDO. 35.000ha. ANTIGUOS Y NO MUY BIEN CONSERVADOS.

+ ALTA PRESION DE PLAGA.

+ NIVEL DE TOLERANCIA EN INSECTOS TRANSMISORES DE VIRUS EN INVERNADEROS ES CERO.

DESVANTAJAS PARA DESARROLLAR EL PRODUCTO EN EL FUTURO

- CONTROL BIOLOGICO MAS CARO QUE EL QUIMICO.
- LOS AGRICULTORES NO RECIBEN MAS POR PRODUCIR COSECHAS BILOGICAS.
- TODAVIA NO HAY UNA ALTA DEMANDA DE ESTOS PRODUCTOS, INFORMACION CONFUSA Y ALTOS PRECIOS.

ALMACENAMIENTO Y TRANSPORTE DE FITOSANITARIOS: LEGISLACIÓN APLICABLE Y RESPONSABILIDAD DE TODOS LOS INTERVINIENTES

José Luis Casado Tapote
Administrador y Director General de **FITOTRANS, S.A.**
Santiago Madrigal Bureba
Responsable de Formación y Seguridad de **FITOTRANS, S.A.**
Experto en transportes por la Universidad Complutense de Madrid,
Director del "Centro de Estudios de Seguridad"

EL CAMBIO NORMATIVO Y LA RESPONSABILIDAD EN EL ALMACENAMIENTO Y LA DISTRIBUCIÓN

Por Real Decreto 2115/1998, de 2 de octubre, sobre transporte de mercancías peligrosas por carretera, se incorporó al ordenamiento interno la Directiva 94/55/CE, del Consejo, de 21 de noviembre, sobre la aproximación de las legislaciones de los Estados miembros con respecto al transporte de mercancías peligrosas por carretera, y se dispuso la aplicación al transporte interno de las normas internacionales reguladoras de estos transportes, fundamentalmente del Acuerdo Europeo sobre el Transporte de Mercancías Peligrosas por Carretera (ADR), celebrado en Ginebra el 30 de septiembre de 1957, con sus modificaciones. Por otra parte, de acuerdo con la normativa europea, se introdujeron algunas especialidades para el transporte interno; se regularon otras cuestiones como las relativas a la conducción y circulación y a las operaciones de carga y descarga; se establecieron normas técnicas sobre vehículos, unidades de transporte, envases y embalajes, y grandes recipientes para granel; y, finalmente, se reguló el régimen sancionador.

Desde la aprobación del citado Real Decreto, se han producido significativas modificaciones del ADR, de la normativa de ordenación de los transportes terrestres y avances técnicos que exigían su revisión general, sustituyéndolo por una nueva norma que mantiene la incorporación de la citada Directiva así como de sus modificaciones. Por otra parte, con esta revisión se persigue, además, aumentar la seguridad de estas operaciones. Con estos objetivos, se han revisado las definiciones; se amplían las necesidades de formación del personal; se concretan más las normas de circulación; se desarrollan y establecen nuevas especificaciones en las normas técnicas sobre vehículos, inspecciones y certificaciones, unificándose criterios hasta ahora dispares; se recogen nuevas normas sobre el parte de accidente y sobre los Consejeros de Seguridad; **se clarifican las responsabilidades de los intervinientes en las operaciones de carga, descarga y transporte** y se suprime el régimen sancionador por haber sido recogido en la Ley 29/2003, de 8 de octubre, sobre mejora de las condiciones de competencia y seguridad en el mercado del transporte por carretera, por la que se modifica la Ley 16/1987, de 30 de julio, de Ordenación de los Transportes por Carretera.

A través de la Ley 29/2003, de 8 de octubre, sobre mejora de las condiciones de competencia y seguridad en el mercado del transporte por carretera, se han introducido importantes modificaciones sobre el texto de la Ley 16/1987, de 30 de julio, de Ordenación de los Transportes Terrestres.

Se ha hecho preciso, como consecuencia, una modificación paralela del Reglamento, aprobado por Real Decreto 1211/1990, de 28 de septiembre, en adelante ROTT, por el que se desarrolla la segunda de las mencionadas leyes, a fin de acomodar el contenido de aquél al de ésta.

Teniendo en cuenta, además, la fecha en que se aprobó el ROTT, se hizo conveniente no desaprovechar la oportunidad que la referida modificación brindaba para realizar una revisión a fondo de su contenido que permita acomodar sus preceptos a los cambios operados desde entonces en el mercado de transportes.

Razonablemente, esta modificación ha venido presidida por la orientación marcada por el Plan Estratégico para el Transporte de Mercancías por Carretera (PETRA) aprobado en junio de 2001, contando con el consenso generalizado del conjunto de los sectores empresariales y sociales involucrados en el mercado del transporte discrecional de mercancías.

Siguiendo tales orientaciones, se ha pretendido con la modificación del ROTT, la consecución de varios objetivos de carácter general.

Por una parte, se intenta facilitar e incentivar la competencia a través de una mejora de la estructura empresarial, eliminando o reduciendo todas aquellas exigencias normativas que, sin resultar imprescindibles para la adecuada ordenación del mercado, suponían trabas para ello.

Asimismo, se pretende mejorar las condiciones de competencia, a través del refuerzo y equiparación de las condiciones de acceso al mercado.

Paralelamente, se introducen modificaciones tendentes a mejorar la competitividad empresarial a través de la ampliación del ámbito de autonomía económica y de gestión de las empresas, profundizando en el concepto de explotación de los servicios a su riesgo y ventura.

Cabe destacar, como aspectos más significativos de la modificación llevada a cabo, los siguientes:

En el ámbito sociolaboral, se extienden a los conductores autónomos las protecciones que, en materia de seguridad y salud en el trabajo y prevención de riesgos laborales, resulten, en su caso, de aplicación a los conductores por cuenta ajena en la realización de operaciones de carga y descarga de los vehículos.

En relación con las Juntas Arbitrales del Transporte, se introducen pequeños cambios de procedimiento, aconsejados por la experiencia acumulada durante años de funcionamiento de las Juntas, en orden a aumentar su eficacia.

Se da cabida en el Consejo Nacional de Transportes Terrestres a sendas representaciones de las personas de movilidad reducida y de las empresas ferroviarias distintas de RENFE y FEVE que pudieran existir en el futuro.

Por lo que respecta a las condiciones de acceso al mercado de transportes, se exceptúa algún supuesto más de la obligación de obtener autorización de transporte, se eleva el nivel de exigencia en materia de honorabilidad de los empresarios y se introducen modificaciones que permitirán establecer al Ministro de Fomento criterios destinados a aumentar las exigencias de formación profesional.

Por cuanto se refiere al régimen económico-financiero de las empresas transportistas, se trata de precisar el concepto de autogestión, afirmando su identificación con la contratación y facturación del transporte en nombre propio y su realización a través de la propia organización empresarial.

En relación con el transporte privado complementario, se posibilita la aproximación de las condiciones exigidas para la realización de esta clase de transporte con las requeridas para la realización de transporte público, al objeto de facilitar la externalización de flotas dedicadas al transporte privado complementario.

Por lo que respecta a la actividad de arrendamiento de vehículos, se equiparan las condiciones de utilización de vehículos arrendados sin conductor para la realización de transporte público y privado complementario y se

refuerzan los requisitos exigidos para el acceso al mercado y funcionamiento de las empresas de arrendamiento de vehículos con conductor.

Por último, y en materia de inspección y sanciones, aparte de haberse ajustado el contenido del reglamento a las modificaciones introducidas por la Ley 29/2003, se ha desarrollado con mayor precisión los procedimientos a seguir en la realización de actuaciones inspectoras e imposición de sanciones, en orden a aumentar la seguridad jurídica tanto de los administrados como de la propia Inspección del Transporte Terrestre.

INHIBIDORES DE LA NITRIFICACIÓN: UNA HERRAMIENTA PARA LA NUTRICIÓN EQUILIBRADA DE LOS CÍTRICOS Y EL OLIVAR EN EL MARCO DE LA AGRICULTURA SOSTENIBLE

Cristina Casar Fernández y Luis M. Muñoz-Guerra Revilla
Dpto. de Investigación y Desarrollo Técnico de **COMPO Agricultura, S.L.**

Una de las muchas descripciones que se podría hacer de la agricultura sostenible es aquella que la define como una agricultura rentable que respeta el medio ambiente y produce alimentos de alta calidad. Dentro de este marco la agricultura moderna se enfrenta a retos tan variados como la introducción de los cultivos transgénicos, la búsqueda de métodos de sanidad vegetal más eficaces y seguros, la gestión del agua o el mantenimiento de la fertilidad del suelo, y si nos centramos en el ámbito de la fertilización sin duda el reto será conseguir la máxima eficiencia en los aportes realizados potenciando la calidad de las producciones, pero evitando la contaminación agraria difusa debida sobre todo a los nitratos.

La acumulación de nitratos en las aguas subterráneas y superficiales constituye un problema ambiental y sanitario creciente. La presencia de esta sustancia en las aguas superficiales embalsadas es causante del fenómeno denominado "eutrofización", acumulación de algas que consumen de forma notable el oxígeno disuelto en el agua y bloquean el paso de la luz, causando una significativa reducción de la biodiversidad del ecosistema acuático. Además este mismo ion es un agente tóxico para diversa fauna acuícola, especialmente para los anfibios (Smith *et al*, 2005). Para la salud humana los nitratos ingeridos en el agua o en las verduras pueden ser precursores de sustancias cancerígenas como las nitrosaminas o, tras su transformación en nitritos, combinarse con la hemoglobina y promover la cianosis (Diaz, 2004).

Las causas principales del incremento de los nitratos en las aguas es atribuida a las inadecuadas prácticas ganaderas y agrícolas, siendo en este último caso la aplicación excesiva o inadecuada de fertilizantes nitrogenados minerales u orgánicos la fuente primordial de la contaminación (Ordoñez *et al* ., 1997).

La mayor parte del nitrógeno aportado al suelo, como urea o amonio, se transforma en un plazo de pocos días en nitrato, por la acción de las bacterias *Nitrosomonas* spp. y *Nitrobacter* spp. El nitrógeno en forma de nitrato es muy móvil en el suelo debido a su elevada solubilidad y escasa retención por el complejo de cambio iónico, al tener el mismo tipo de carga eléctrica. En condiciones de elevadas precipitaciones o riego abundante se facilita su movimiento vertical en el perfil del suelo hacia profundidades alejadas de la raíz, donde el nitrato no puede ser absorbido por la planta. Finalmente el nitrato es transportado por el flujo de agua hacia las corrientes subterráneas, siendo este fenómeno conocido como lixiviación. (Embleton y col., 1981; Legaz y Primo-Millo, 1992; Wild, 1992).

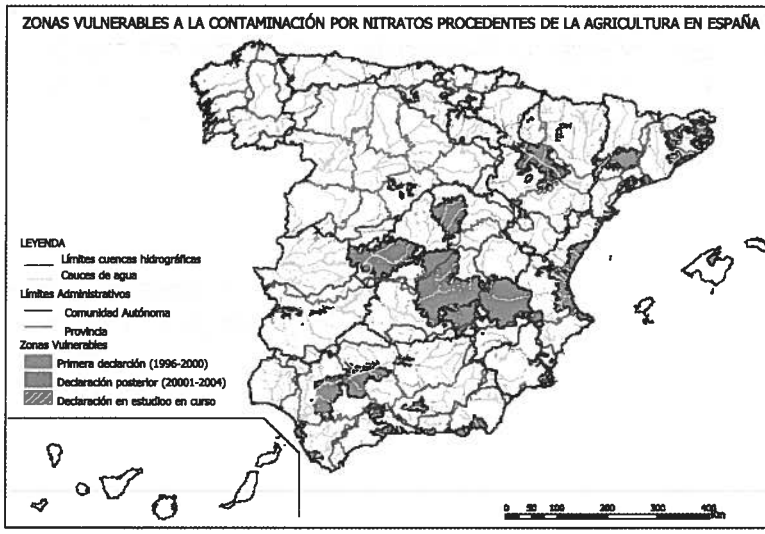
Además de la lixiviación existen otros procesos importantes de pérdidas de nitrógeno, siendo el más representativo la desnitrificación. Es este proceso bacteriano (*Pseudomonas, Bacillus, Paracocus*) el nitrato es transformado en N_2O o N_2 que finalmente difunden hacía la atmósfera. El proceso es favorecido por altas concentraciones de nitrato, elevada humedad, bajo contenido de O_2 y pH elevado. Estos compuestos gaseosos además de suponer una pérdida de nitrógeno son nocivos para la capa de ozono y favorecen el calentamiento de la atmósfera (Linzmeier *et al* ., 2001). Sin embargo, en las condiciones edafoclimáticas de la península ibérica posiblemente el proceso más relevante de pérdida de nitrógeno es la lixiviación.

Desde hace años la Unión Europa ha dado mucha importancia al control y mejora de la calidad de las aguas subterráneas y superficiales, siendo los nitratos una de las sustancias que más atención ha suscitado. Esta preocupación ha sido recogida en diferentes normativas comunitarias, estatales y autonómicas. La pionera fue la Directiva del Consejo 91/676/CEE de 12 de diciembre de 1991, relativa a la protección de las aguas contra la contaminación producida por nitratos utilizados en la agricultura. La incorporación al Ordenamiento Jurídico Español de esta Directiva se ha realizado mediante el Real Decreto 261/1996 de 16 de febrero, sobre protección de las aguas contra la contaminación producida por nitratos procedentes de fuentes agrarias. Esta normativa obliga a los Estados miembros a declarar las zonas de su territorio vulnerables a la contaminación por nitratos, a establecer un "Código de Buenas Prácticas Agrarias" y un "Programa de Actuación Específico". Esta normativa marca las prácticas de fertilización adecuadas para este tipo de zonas.

Según datos de la U.E en el año 2000 existían más de tres millones de hectáreas en zonas vulnerables a la contaminación por nitratos, existiendo países como Alemania u Holanda que habían optado por incluir todo el país dentro de las zonas vulnerables a la contaminación por nitratos u otros como Francia que habían incluido únicamente las áreas de mayor riesgo (48% de su superficie). En nuestro caso España ha incrementado de forma significativa las zonas vulnerables a la contaminación por nitratos, pasando de 3,1 millones de ha en la primera declaración (2000) a 6,3 millones de ha tras las últimas modificaciones en 2005 (figura 1).

La designación de las zonas vulnerables y la evolución de la calidad de las aguas en estas zonas es lenta y compleja, pues la reacción de los sistemas hídrogeológicos es muy lenta frente a las acciones llevadas a cabo. A modo de ejemplo podemos citar que con un volumen de agua de lixiviación de por ejemplo 100 mm anuales en un suelo arenoso se estima que el ión nitrato se movería alrededor de 1 metro/año, mientras que en uno arcilloso lo haría en 0,3 m/año. Estos valores son suficientes para alejar los nutrientes de área radicular pero implican que con una capa freática a 5 metros de profundidad el nitrato tardaría entre 5 – 15 años en llegar a ella, sumando además al cálculo anterior el tiempo necesario para que éste llegue a los pozos explotados. Por tanto es importante tener en cuenta que las acciones que se tomen ahora son importantes sobre todo para la evolución a medio plazo de los acuíferos.

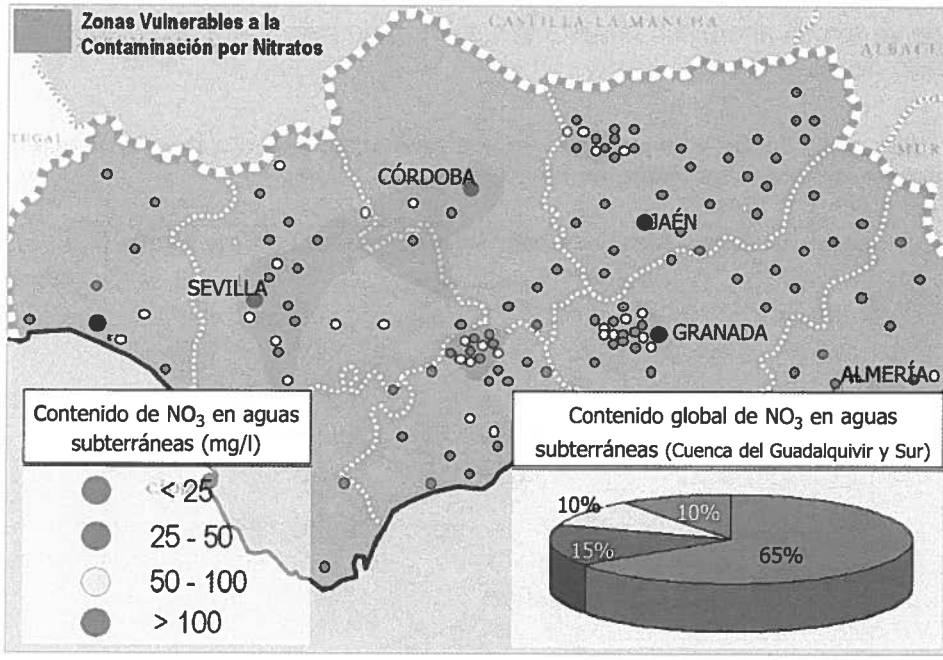
Figura 1. Zonas vulnerables a la contaminación por nitratos en España. Fuente: Ministerio de Medio Ambiente, 2005.



En el caso concreto de Andalucía tanto la eutrofización de aguas superficiales como la contaminación de las aguas subterráneas son problemas ambientales importantes. Como consecuencia de ello la Junta de Andalucía confeccionó su Código de Buenas Prácticas Agrarias (Decreto 261/1996), y designó las áreas vulnerables (Decreto 261/1998) y el programa de actuación (Orden de 27 de junio de 2001). La figura 2 muestra la concentración de nitratos en aguas subterráneas en distintas zonas de Andalucía y una valoración global de las mismas, junto con las zonas vulnerables designadas. Se considera que concentraciones por encima de 25 mg/l (en color azul, amarillo y rojo) constituyen aguas contaminadas por este compuesto, estando afectadas por tanto un 35% de los pozos analizados en este estudio del Instituto Tecnológico Geominero de España.

Figura 2. Concentración de nitratos en aguas subterráneas y zonas vulnerables a la contaminación por nitratos en Andalucía.

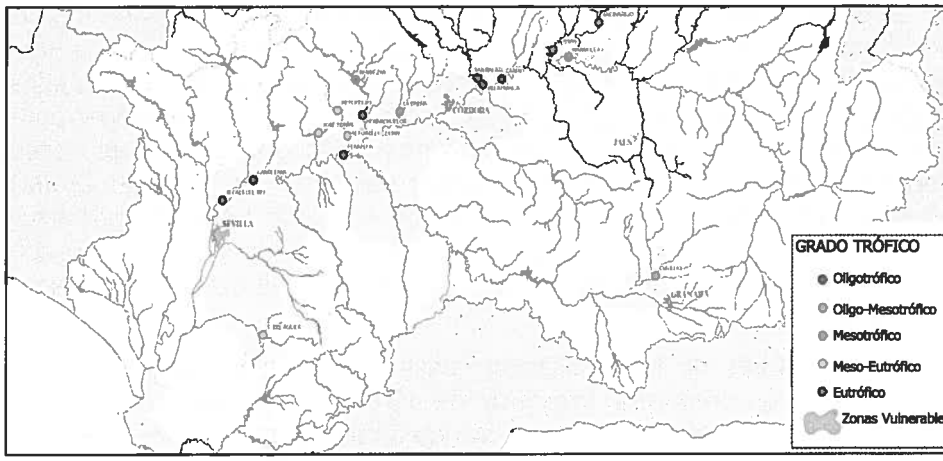
Fuente: Instituto Tecnológico Geominero de España (1998) y Ministerio de Medio Ambiente (2005)



La situación de las aguas superficiales no es mucho mejor, en la figura 3 se recogen los datos publicados por la Confederación Hidrográfica del Guadalquivir en 2005 sobre el grado de eutrofización de los embalses de la citada cuenca, destacando que una parte importante de estos se encuentran eutrofizados por el exceso de nutrientes en las aguas.

Figura 3. Grado de eutrofización de los embalses de la cuenca hidrográfica del Guadalquivir.

Fuente: Confederación Hidrográfica del Guadalquivir, 2005.



Tanto las zonas olivareras como las de citricultura están afectadas por las zonas vulnerables antes comentadas, lo que obliga a valorar con especial cuidado las prácticas de fertilización que se realizan en este cultivo con el fin de evitar agravar aún más la situación.

1. METODOLOGÍAS ECO-EFICIENTES DE GESTIÓN DE LA FERTILIZACIÓN NITROGENADA

El objetivo de todas las técnicas de mejora de la fertilización nitrogenada es la reducción de la concentración de nitratos en el suelo, pero sin comprometer la nutrición del cultivo. Para ello es posible recurrir a tres tipos de técnicas: el fraccionamiento de los fertilizantes (por ejemplo la fertirrigación), el uso de inhibidores de la nitrificación o la utilización de fertilizantes de liberación lenta. Esta última tecnología debido a mayor coste tiene mayor difusión en el ámbito de las áreas verdes que en la agricultura.

La fertirrigación supone un incremento significativo de la eficiencia comparado con los sistemas tradicionales, especialmente en lo que al nitrógeno se refiere (Cadahía, 2000). El aporte continuado de nutrientes de acuerdo con las necesidades de los cultivos provoca que las pérdidas puedan ser inferiores a las de una fertilización convencional. Sin embargo, fertirrigación no es sinónimo de inexistencia de pérdidas. En ensayos realizados en cítricos fertirrigados Bañuls *et al* . (2000) registraron pérdidas de N de 37%, y Urrestarazu (2000) recoge ensayos en cultivos hidropónicos fertirrigados con pérdidas importantes, de hasta un 43 y 74% de los nutrientes aplicados dependiendo del sistema de cultivo. En condiciones de utilización óptimas de una fertirrigación de alta frecuencia se alcanza una alta eficacia, sin embargo en condiciones de campo esta máxima optimización es difícil de lograr. Por ejemplo en el caso del olivo es frecuente la aplicación de riegos muy abundantes, de más de 48 horas, durante los fines de semana debido a los menores costes energéticos, sin embargo esta practica aporta elevadas concentraciones de nitrógeno y de agua, combinación que supone un riesgo importante de lavado de nitratos. Ensayos realizados por Troncoso (2000) en olivar fertirrigado mostraron que dosis de 400 g de nitrógeno por árbol producían concentraciones elevadas de nitratos fuera del bulbo fertirrigado (sondas a 80 cm), lo que entraña un claro riesgo de pérdidas y contaminación de acuíferos.

Los inhibidores de la nitrificación constituyen una tecnología relativamente nueva que reduce la presencia de nitratos en el suelo por métodos muy distintos a la fertirrigación, pero siendo totalmente compatible con esta. Numerosos ensayos de investigación muestran la capacidad de este tipo de moléculas para reducir la contaminación de las aguas por nitratos, así como para simplificar las prácticas de fertilización y disminuir el contenido de nitratos en los frutos (Zerulla *et al* ., 2000, Irigoien, 2001).

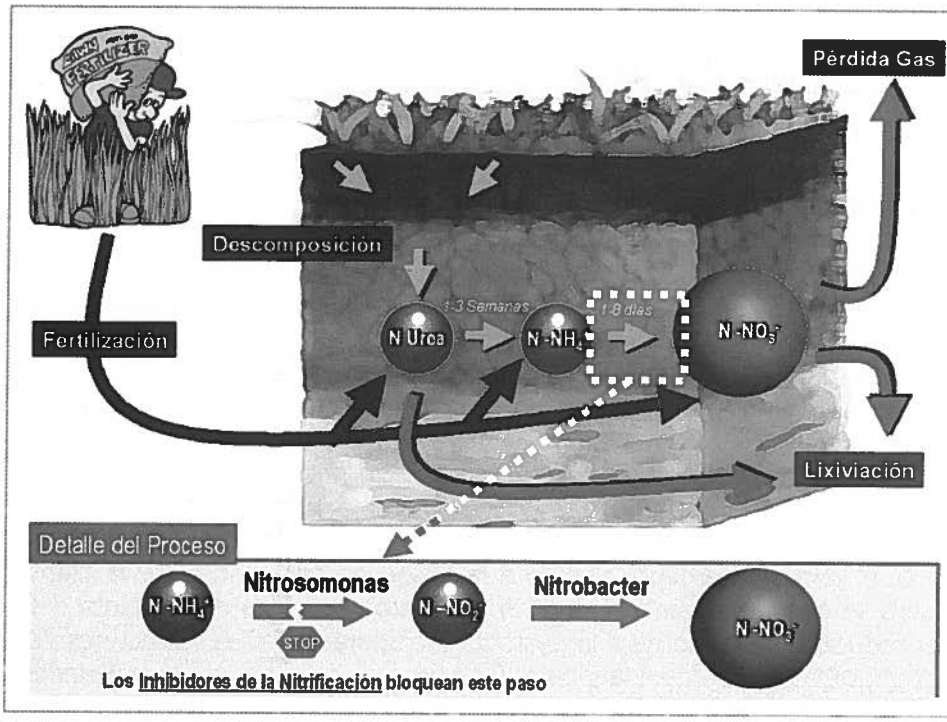
2. LOS INHIBIDORES DE LA NITRIFICACIÓN: EL 3,4 DIMETILPIRAZOL FOSFATO (DMPP)

Los inhibidores de la nitrificación son compuestos que, añadidos junto con los fertilizantes retrasan temporalmente la oxidación bacteriana del NH_{4+} a NO_{2-} (primer paso de la nitrificación) e imposibilitan su final transformación en nitrato, NO_{3-} (Trenkel, 1997; Prasad y Power, 1995).

En la figura 4 se detalla este proceso, los inhibidores de la nitrificación se unen a la enzima amonio monooxigenasa (AMO) y la inhabilitan definitivamente, por lo que hasta que la bacteria no desarrolla nuevas enzimas queda paralizada su capacidad para transformar el NH_{4+} en NO_{2-} (McCarty, 1999). La duración de este efecto depende de las condiciones agrícolas y edafocli-

máticas, en general en cultivos extensivos su duración alcanza los 3-4 meses mientras que en los fertirrigados son necesarias aplicaciones mensuales del inhibidor para mantener su efecto.

Figura 4. Ciclo del nitrógeno en el suelo y Funcionamiento de los Inhibidores de la Nitrificación.



Actualmente el inhibidor con mayor implantación comercial es el 3,4-dimetilpirazol fosfato (abreviado DMPP). Químicamente es un derivado del pirazol, que debido a los sustituyentes específicos que posee, hacen que este compuesto presente propiedades químico-biológicas más eficientes que sus predecesores, el DCD o la nitrapirina. Se trata de una molécula que actuá a muy bajas concentraciones (lo que reduce el coste de su uso) con una alta eficiencia y persistencia en el suelo. Además este inhibidor es inocuo para el resto de microorganismos presentes en el suelo.

Como ya se indicó en su momento el objetivo final de este tipo de productos es evitar la acumulación de nitratos y que el nitrógeno disponible para la planta lo este fundamentalmente como amonio (NH^{4+}), forma nitrogenada con escasa pérdidas por lixiviación y con importantes ventajas nutri-

cionales para los cultivos. Esta acumulación de amonio (NH^{4+}) en suelos con inhibidores de la nitrificación es la causante de una serie de efectos ambientales y productivos positivos que no se presentan en los suelos que son fertilizados con abonos convencionales.

ASPECTOS AMBIENTALES:

Más eficiencia en la fertilización nitrogenada ⟶ Menor Impacto Ambiental.

El uso de los inhibidores de la nitrificación reduce la concentración en el suelo del nitrato, sustancia que sufre fuertes pérdidas por lixiviación y que es el sustrato de la desnitrificación.

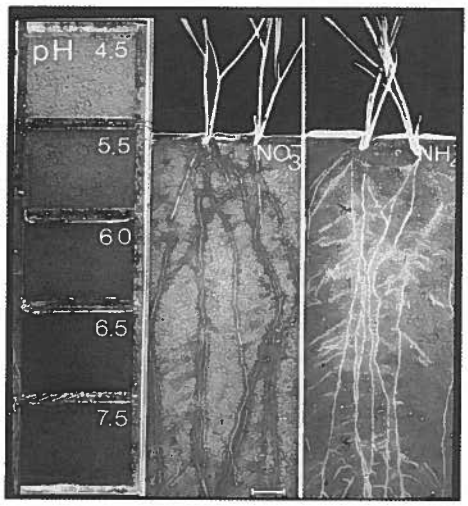
ASPECTOS NUTRICIONALES / PRODUCTIVOS:

Nutrición mixta amonio / nitrato.

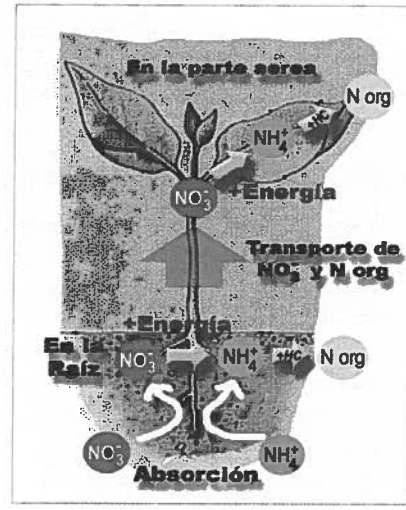
La absorción de amonio por la planta tiene consecuencias edáficas y de desarrollo vegetativo. Cuando la planta absorbe amonio la raíz libera iones H^+ y se produce una bajada importante de pH en el área radicular, que puede ser de hasta 2 unidades en la zona que más cerca está de la raíz. Como ejemplo en la figura 5.a se muestra una fotografía de dos raíces teñidas con un indicador de pH y con dos tipos de nutrición nitrogenada. Este efecto es importante dado que puede ayudar a una mayor absorción de micronutrientes como el Fe o el Zn. Un segundo efecto aún más importante es el ahorro energético debido a la absorción de amonio por la planta. Como se puede ver en la figura 5.b el nitrato que entra en la planta debe ser reducido a amonio para la posterior incorporación a las estructuras carbohidratadas que forman la planta. Este proceso es costoso energéticamente y si parte del aporte nitrogenado es absorbido como amonio supone un ahorro que habitualmente tiene como consecuencia un mayor desarrollo vegetativo, concretado en un incremento del área foliar y del contenido de clorofilas, lo que da un mayor potencial fotosintético e incrementa las posibilidades de obtener un rendimiento y calidad altos (Pasda *et al* ., 2001; Zerulla *et al* ., 2001). En condiciones de campo la aplicación de amonio junto con un inhibidor de la nitrificación permite suministrar de forma real amonio y nitrato conjuntamente (aspecto no garantizado en la fertirrigación convencional aún siendo diaria) lo que permite mayores tasas de crecimiento y rendimiento respecto al suministro único de abonos nítricos (Hidalgo y Pastor, 2005; Marschner, 1995; Goos *et al* ., 1999; Adriaanse y Human, 1993). Además un aporte importante de nitrato puede originar que no sea suficientemente asimilado en la raíz y viaje a las partes aéreas (Marshner, 1995), donde se puede acumular y ser negativo desde el punto de vista de calidad nutricional.

Figura 5. Efectos en suelo y planta del uso de los inhibidores de la nitrificación.

a) Efecto en el pH de la rizosfera del tipo de fertilización nitrogenada. A la derecha nutrición sólo con nitrato NO_3 y a la izquierda sólo con NH_4^+. Ensayo realizado con raíces de cereal. Fuente BASF.



b) Esquema de absorción y matabolismo del nitrato (NO_3) y el amonio (NH_4^+) en la planta. Descripción de los puntos del proceso con mayor coste de energía metabólica.



Con el fin de concretar estos efectos antes comentados en el caso del olivo y de los cítricos se comenta a continuación una breve revisión de ensayos realizados por la Universidad de Córdoba, la Universidad Politécnica de Valencia y por el Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias.

3. EFECTOS AMBIENTALES Y PRODUCTIVOS DEL USO DE INHIBIDORES DE LA NITRIFICACIÓN EN EL OLIVAR FERTIRRIGADO.

Los fertilizantes con inhibidores de la nitrificación, también conocidos como fertilizantes estabilizados, comienzan a tener peso en un cultivo tan importante como el olivar. La razón de su éxito responde tanto a su mejor eficiencia, que permite aportar más nitrógeno a la planta con menos unidades aportadas al suelo, como a los efectos antes comentados sobre el reequilibrio del desarrollo vegetativo.

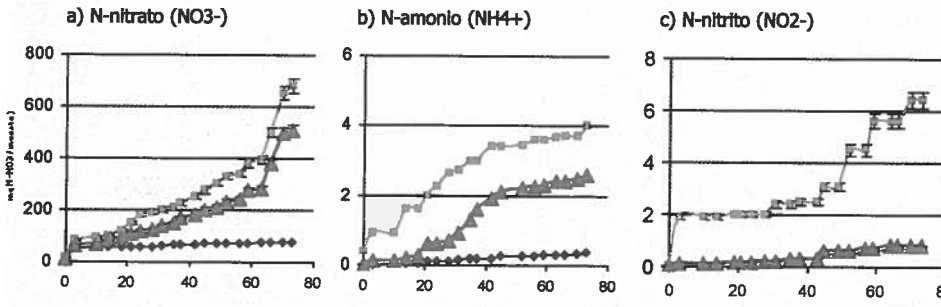
El grupo de Fernández Escobar (Universidad de Córdoba) llevó a cabo en el año 2005 un ensayo en condiciones controladas de invernadero sobre plántulas de olivo de la variedad picual (figura 6) en el cual se hacía un segui-

miento exhaustivo de las pérdidas de N por lixiviación, tanto como amonio como nitrato, al usar o no fertilizantes que incorporan inhibidores de la nitrificación. Además se controlaba la evolución vegetativa de las plántulas.

Figura 6. Ensayo de pérdidas de N en olivo fertirrigado. Fernández Escobar. Universidad de Córdoba

Los resultados (figura 7) mostraron que el uso del inhibidor de la nitrificación DMPP redujo un 33% las pérdidas de N del sistema suelo – planta, siendo además resultados estadísticamente significativos. Esta reducción es especialmente importante en la fase final del ensayo, cuando por motivos climáticos son necesarios mayores riegos. Como era de esperar el nitrato constituye casi el 98% del N perdido, siendo en este caso el nitrato lixiviado 200 veces mayor que el amonio (figura 7b y c).

Figura 7. Pérdidas de nitrógeno por lixiviación a lo largo del ensayo, expresados de forma acumulada. Datos suministrados por R. Fernández Escobar. Plántulas de olivo "Picual" en contenedor.. Datos en mg por maceta.



El impacto del uso del inhibidor de la nitrificación afectó también al desarrollo vegetativo de las plántulas y lógicamente a la eficiencia final del N aportado. En la figura 8.a se muestra el crecimiento acumulado de las plantas bajo los tres tratamientos comparados. Destaca el hecho de que al usar el sulfato amónico no existieron incrementos de crecimientos por encima del control, debido posiblemente a las elevadas pérdidas acaecidas. La figura 8.b muestra que al incorporar el inhibidor de la nitrificación el N que se quedo en el sistema suelo – planta creció hasta un 68%, lo que incremento en más de un 30% la eficiencia del N aportado.

Figura 8. Evolución del crecimiento de las plántulas del ensayo realizado por Escobar (2005) y evaluación de la eficiencia en la fertilización. Datos suministrados por R. Fernández Escobar. Plántulas de olivo "Picual" en contenedor.

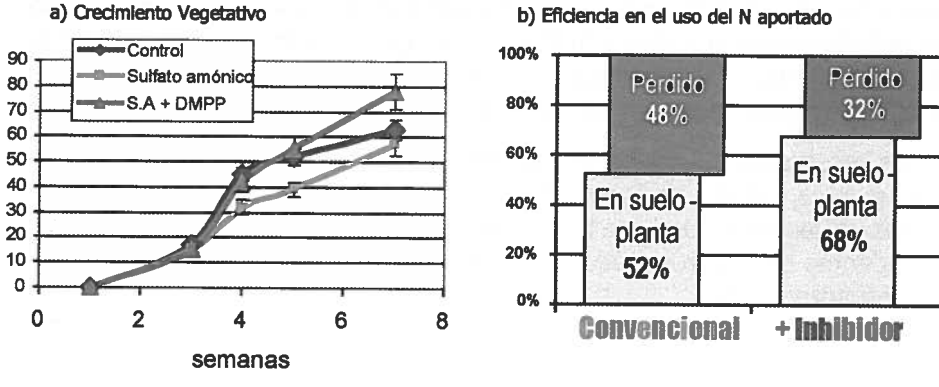
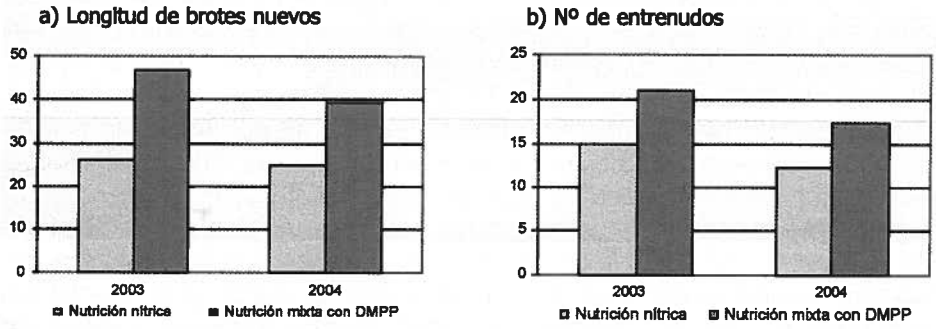


Figura 9. Ensayo de efecto del uso del inhibidor de la nitrificación DMPP en el desarrollo vegetativo y producción de olivar fertirrigado. Universidad Politécnica de Valencia

Los resultados de desarrollo vegetativo obtenidos por Fernández Escobar en olivo bajo invernadero ya fueron antes observados en campo en las investigaciones realizadas por D.Salazar en la Universidad Politécnica de Valencia. Este ensayo se realiza sobre dos parcelas de olivar de la variedad "*Serrana de Espadán*", uno de ellos con árboles de más de 20 años y otro con árboles de 7-8 años (figura 9). Se trata de árboles fertirrigados cuya fuente primordial de N es sulfato amónico con o sin el inhibidor 3,4 dimetil-pirazol fosfato (DMPP). Además se complementa el resto de la fertilización con nitrato potásico y ácido fosfórico, ambos en montante idéntico en los dos tratamientos. En este ensayo se controla el desarrollo vegetativo de los árboles y los principales aspectos productivos de estos.

Los resultados obtenidos en los dos primeros años del ensayo han sido concluyentes, siendo similares tanto las dos campañas de trabajo como en las dos ubicaciones donde se ha llevado a cabo (figura 10). Además han sido coincidentes con los resultados obtenidos por Fernández Escobar presentados con anterioridad.

Figura 10. Ensayo de efecto del uso del inhibidor de la nitrificación DMPP en el desarrollo vegetativo de un olivar fertirrigado. Universidad Politécnica de Valencia. Datos del 2º y 3er año del ensayo. Parcela con árboles de más de 20 años de edad.



En ambas localizaciones y los dos años mostrados indican que la incorporación del inhibidor de la nitrificación (DMPP) ha incrementado la longitud de los brotes de olivo (figura 9.a), y lo que es más importante el nº de entrenudos en cada brote. Ambos parámetros marcarán la futura cosecha del árbol y el resultado se observa en los datos de morfología de la aceituna y en sus rendimientos (tabla 1).

Tabla 1. Efecto del uso del inhibidor de la nitrificación DMPP en la producción de un olivar fertirrigado. Universidad Politécnica de Valencia. Datos del 2º y 3er año del ensayo.

		CAMPAÑA (Año)	ACEITUNAS			Rend. Industrial
			Peso fruto	Peso endocarpio	Relación pulpa-hueso	
VIVER (Olivo adulto)	+ Inhibidor	2003	3,58	0,63	2,95	29,4
		2004	2,89	0,67	2,22	29,0
	Tradicional	2003	3,25	0,64	2,61	28,8
		2004	2,35	0,58	1,77	27,2
SEGORBE (Olivo joven)	+ Inhibidor	2003	5,19	0,65	4,53	22,1
		2004	4,76	0,72	4,03	25,46
	Tradicional	2003	4,68	0,63	4,05	21,1
		2004	3,72	0,57	3,16	24,6

En los dos años se produjeron mejoras productivas totales (datos no mostrados), pero además se obtuvieron aceitunas con mayor relación pulpa-hueso y con ligeros incrementos del rendimiento graso de la cosecha. Todo ello puede ser consecuencia del ahorro energético de la fertilización mixta amonio / nitrato debido al uso del inhibidor de la nitrificación.

4. EFECTOS AMBIENTALES Y PRODUCTIVOS DEL USO DE INHIBIDORES DE LA NITRIFICACIÓN EN CÍTRICOS

Los cítricos son sin duda uno de los cultivos donde más trabajo de investigación sobre el uso de los inhibidores de la nitrificación se ha llevado a cabo, gracias fundamentalmente al trabajo del grupo de F.Legaz del Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (I.V.I.A). En este artículo recogemos las últimas investigaciones realizadas por este grupo sobre eficiencia del uso del nitrógeno usando la tecnología del nitrógeno isotópico (^{15}N o nitrógeno pesado). Esta tecnología utiliza un isótopo estable de nitrógeno (un tipo de nitrógeno más pesado) para marcar el fertilizante introducido en el sistema suelo planta. Este "nitrógeno pesado" se mueve igual que el nitrógeno natural pero tiene la ventaja de poderse medir mediante técnicas de gran sensibilidad y especificidad como la espectrometría de masas. Con esta metodología podemos conocer de forma casi inequívoca donde ha viajado el fertilizante que hemos aplicado, al poder distinguirse entre "nitrógeno natural", procedente del suelo, y "nitrógeno pesado o ^{15}N" aportado por el fertilizante.

En el primero de los ensayos se compararon dos tratamientos de $(^{15}NH_4)_2SO_4$ con y sin el inhibidor de la nitrificación 3,4 dimetilpirazol fosfato (DMPP) sobre naranjos navelinos de 8 años de edad cultivados en lisímetros de 5000 kg de suelo de capacidad, sobre un suelo arcillo arenoso de pH cercano a 8. Se hicieron 66 aplicaciones de abono + riego. Al finalizar el ciclo anual se arrancaron los árboles y se midió el "nitrógeno recuperado procedente del fertilizante" en cada una de las partes de los árboles y para cada uno de los tratamientos. Los resultados de este seguimiento se muestran en la tabla 2.

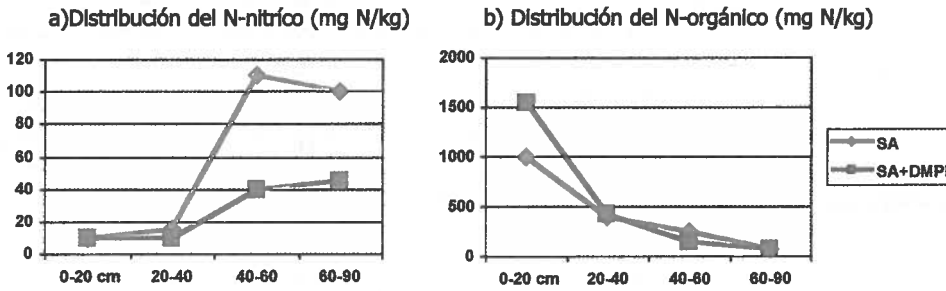
Tabla 2. Nitrógeno del fertilizante recuperado en el sistema planta –agua– suelo con y sin inhibidor de la nitrificación en un cultivo de cítricos. Elaborado a partir de datos de Quiñónes *et al* (2005).

N recuperado (%)			
	Sulfato Amónico.	Sulfato Amónico + DMPP	Diferencias Estadísticas (2)
Árbol completo	48.9 ± 3.6 (1)	64.9 ± 7.3	*
Órganos caídos	4.9 ± 1.0	1.8 ± 1.0	**
Suelo (retenido)	23.6 ± 3.1	26.3 ± 1.4	N.S.
Distribución porcentual:			
N-NH4+	3%	3%	
N-NO3-	13%	6%	
N-Org	84%	91%	
Lavado	8.7 ± 1.7	3.2 ± 2.1	*
Total	86.1 ± 2.8	96.2 ± 6.7	*

(1) Valores media ± desviación estardar de 3 repeticiones
(2) Diferencias no significativas entre tratamientos según el LSD-Fischer test para p>0.05 (N.S.) y significativas para p £ 0.05 (*) y p £ 0.01 (**).

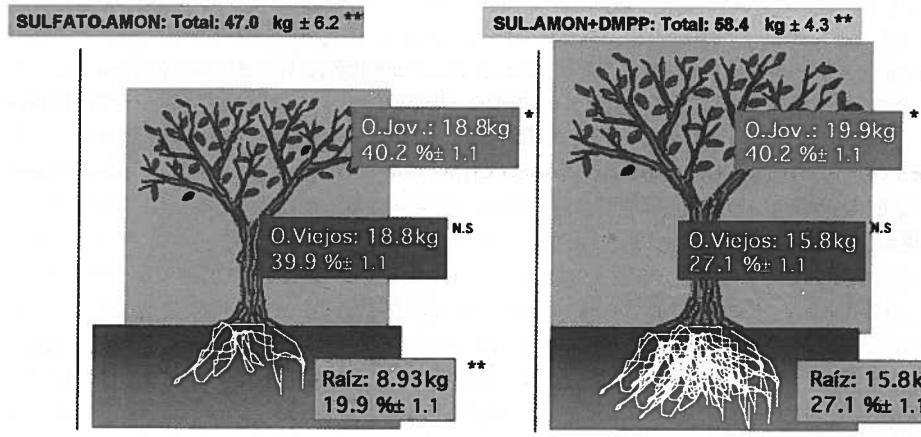
Los datos muestran que cuando se utilizó el sulfato amónico + DMPP la planta absorbió un 24% más de nitrógeno que en la fertirrigación convencional. En este caso las pérdidas por lixiviación fueron pequeñas (entre un 3,2 y un 8,7% del N aplicado) pero aún así la inclusión del inhibidor las redujo en un 63%. El N del suelo presentó ligeras diferencias en lo que a especiación química se refiere, la fertilización amoniacal + DMPP incremento del N retenido en forma orgánica y disminuyo la de N-nitrato, según Quiñónes *et al* (2005) el N-amonio es preferido por los microorganismos frente al N-nitrato. Este resultado es interesante porque la retención temporal biológica del N significa una fuente de reserva para etapas posteriores de cultivo. La distribución del N en el perfil del suelo también fue afectada por los tratamientos, en la figura 11.a se observa que en la fertirrigación convencional se produce un incremento importante de N-nitrato en profundidad procedente del fertilizante aplicado, que se reduce a más de la mitad al incorporar el inhibidor (DMPP). Por el contrario el N orgánico crece al incorporar éste, aunque lógicamente solo en superficie, pues la migración de este tipo de N es muy escasa.

Figura 11. Efecto del uso del inhibidor de la nitrificación (DMPP) sobre la distribución de distintas formas de N en el suelo en función de la profundidad. Elaborado a partir de datos de Quiñónes *et al* (2005)



Los datos de desarrollo vegetativo de este ensayo fueron coincidentes con los anteriormente mostrados para olivar, al finalizar el ciclo de cultivo se arrancaron los árboles y se contabilizó la biomasa de cada una de sus partes (figura 12). En este parámetro el uso del inhibidor incremento un 19% la biomasa total del árbol, especialmente la de la raíz, donde casi se duplicó. Este efecto puede deberse a la mejora de la absorción del fósforo, elemento muy relacionado al desarrollo radicular.

Figura 12. Efecto del uso del inhibidor de la nitrificación (DMPP) sobre el desarrollo vegetativo de naranjos. Elaborado a partir de datos de Quiñónes *et al* (2005)



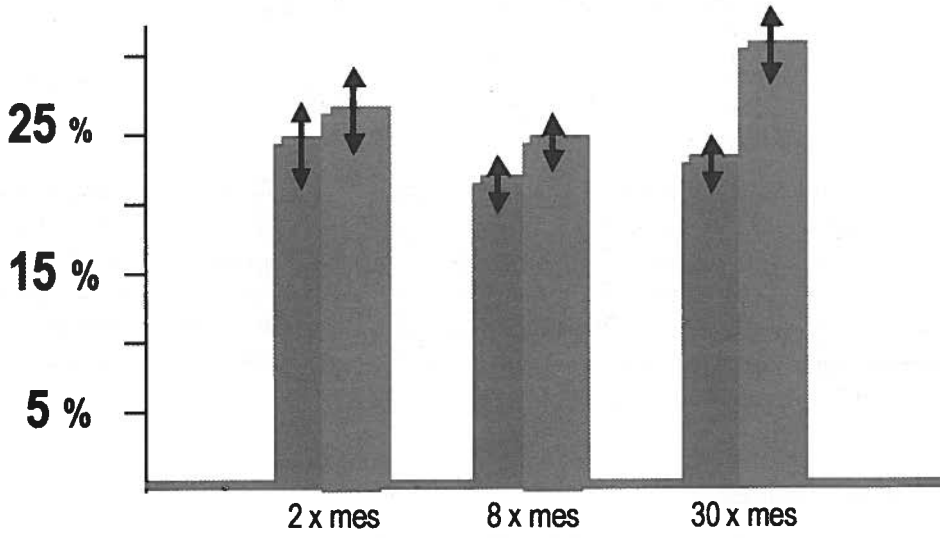
N.S. Sin diferencias estadísticamente significativas. * Diferencias con p>0.05. ** Diferencias con p > 0.01

Este mismo grupo llevó a cabo un segundo ensayo usando la técnica del isótopo ^{15}N, en este caso el objetivo era valorar el efecto de distintas frecuencias de fertirrigación sobre la eficiencia en el uso del nitrógeno, incluyendo también el uso o no de los inhibidotes de la nitrificación. En este caso se trataba de naranjos de la variedad Lane Late sobre citrus sinensis, de tres años de edad, en contenedores de 18kg de un suelo franco arenoso, de bajo contenido de materia orgánica y pH 7,8. En el ensayo se regó con un agua de 29 mg/l de NO_3- y estableciendo el volumen necesario usando la Eto calculada con el método de Penman-Monteith. Las frecuencias de fertirriego comparadas eran de 2, 8 y 30 veces por mes.

Al igual que en el primer ensayo presentado se estudio la distribución de "N pesado aportado por el fertilizante" en las distintas partes de la planta y aquel que se salió del sistema suelo-planta. En la figura 13 se muestran los resultados de eficiencia en el uso del nitrógeno (%N del abono absorbido por la planta) para las distintas frecuencias de aplicación sin y con el inhibidor de la nitrificación (DMPP). Destaca el hecho de que para la fertilización convencional, al menos en este ensayo realizado en contenedor, el incremento de la frecuencia de aplicación del N no supuso mejores eficiencias en el uso del N. Cuando se utilizó el inhibidor de la nitrificación siempre se consiguieron mejoras de la eficiencia en el uso del N, siendo estas más significativas cuanto mayor era la frecuencia de aplicación. La mejor eficiencia fue para la frecuencia de 30 días + inhibidor de la nitrificación. Este dato corrobora que aún con una ferirrigación diaria la inclusión de los inhibidores mejo-

ra la eficiencia de la fertilización, y que ambas técnicas son plenamente compatibles. De análisis de los datos surge otra pregunta *¿por qué es más eficiente el inhibidor en una fertirrigación diaria que en las otras frecuencias?*, es posible que en un sistema tan activo como la fertirrigación donde la mayor parte del ciclo las temperaturas del suelo y la humedad son óptimas para los procesos microbiológicos sea más eficiente hacer pequeños aportes continuos del inhibidor, manteniendo siempre una pequeña concentración constante de estos compuestos, frente a la posibilidad de aportes más grandes que generan más fluctuaciones en la concentración de éstos en el suelo y que posiblemente genere periodos en los que la actividad inhibidora sea baja.

Figura 13. Efecto de distintas frecuencias de fertirrigación y del uso de un inhibidor de la nitrificación (DMPP) sobre la eficiencia en el uso de nitrógeno en naranjos. Ensayos realizado usando la técnica del isótopo 15N. Las flechas representan el intervalo de confianza estadística de los datos con un alta de 0.05. Elaborado a partir de datos de Bañuls *et al* (2003).



Ya se ha comentado que la técnica del 15N es especialmente útil para conocer como el "N procedente del abono" se distribuye por la planta y el suelo y cuanto se pierde `por diversas causas. En la tabla 3 se detalla el "%N recuperado procedente del abono aplicado" en las distintas partes del sistema suelo – planta. En este caso la química del N fue distinta a la del primer ensayo presentado, detectándose valores muy elevados del N aportado transformados como nitrato (43-56% del N aportado con el abono) pero aún no incorporados a la materia orgánica (solo el 10-12% del N que se intro-

dujo como abono). Este importante montante de N-nitrato residual al final del ciclo de cultivo es un tipo de nitrógeno muy sensible a las pérdidas por lixiviación. De forma global se observa que a mayor frecuencia de aporte del N menos N-nitrato se acumula y más N-orgánico se produce, este efecto se incrementa al incorporar el inhibidor en la fertilización.

Tabla 3. Efecto de distintas frecuencias de fertirrigación y del uso de un inhibidor de la nitrificación (DMPP) sobre el N recuperado y perdido en el sistema suelo – planta en naranjos. Ensayos realizado usando la técnica del isótopo 15N. Elaborado a partir de datos de Orea *et al* (2004).

Nº de aplicaciones mensuales de	% N recuperado									
	Planta		N-nitrato		N-amonio		N-orgánico		N Perdido	
	SA	SA + DMPP	SA	SA +DMPP	SA	SA +DMPP	SA	Sa+ DMPP	SA	SA+ DMPP
2 apl.	23,6	26,2	57,1	55,7	0,6	2,4	5,3	7,5	13,4	8,2
8 apl.	21,7	26,5	50,8	48,8	2,5	4,6	7,4	9,6	17,6	10,5
30 apl.	22,2	29,6	51,7	43,4	2,0	5,6	10,6	12,2	13,5	9,2

Por tanto en este segundo ensayo y para la fertirrigación diaria (tabla 3) se obtuvieron incrementos de 7 puntos (33%) en la absorción de N global en la planta, un incremento de 2 puntos (15%) del N orgánico y una reducción de 4,3 puntos (32%) del N perdido. En ensayos previos realizados por el mismo grupo llegaron a registrar pérdidas de hasta un 40% del N aportado en naranjos fertirrigados, reduciéndose estas pérdidas prácticamente a la mitad cuando se aplicó el DMPP (Serna, 2000).

5. CONCLUSIONES

El análisis global de la bibliografía científica presentada muestra que el uso de los inhibidores de la nitrificación junto con abonos amoniacales o nítrico - amoniacales permite una nutrición nitrogenada mixta con importantes ventajas medioambientales y productivas, constatadas especialmente con los múltiples datos científicos obtenidos en olivar y cítricos por centros de investigación de reconocido prestigio. Los resultados indican que los inhibidores de la nitrificación son especialmente interesantes en las zonas vulnerables a la contaminación por nitratos, dado que permiten reducir la contaminación manteniendo el potencial productivo de los cultivos.

6. REFERENCIAS

ADRIAANSE F.G., HUMAN J.J., 1993. Effect of time of application and nitrate/ammonium ratio on maize grain yield, grain N concentration soil mineral N concentration in a semiarid region. Field Crops Research 34(1), 57-70.

BAÑULS, J., OREA, G,. QUIÑÓNEZ, A., LEGAZ, F. 2003. Mejora de la eco-eficiencia de uso del 15N del fertilizante con el inhibidor de la nitrificación (DMPP) en el sistema planta – suelo de cítricos. Nutri – Fitos. Tomo 2. 92-94.

BAÑULS J., SERNA M.D., QUIÑONES A., MARTÍN B., PRIMO-MILLO E., LEGAZ F. 2000. Optimización de la fertilización nitrogenada con el inhibidor de la nitrificación (DMPP) con riego por goteo en cítricos. Levante Agrícola 117-121.

CADAHÍA C. 2000. Fertirrigación de cultivos hortícolas y ornamentales. Mundiprensa, Madrid, 475 pp.

DIEZ, J.A. 2004. Manejo de los sistemas de producción para controlar la contaminación por nitratos de las aguas. Tierras de Castilla. Nº100. 46-52.

EMBLETON T.W., PALLARES C., JONES W.W., SUMMERS L., MATSUMURA M. 1981. Nitrogen fertilization management of vigorous lemons and nitrate-pollution potencial of ground water. Proc Int Soc Citriculture 1, 15-19A.

FERREIRA, J. GARCÍA-ORTIZ, A., FRÍAS, L, FERNÁNDEZ, A., 1986. Los nutrientes N, P, K en la fertilización del olivar. Olea, 17 : 141-152.

GOOS R.J., SCHIMELFENIG J.A., BOCK B.R., JOHNSON B.E. 1999. Response of spring wheat to nitrogen fertilizers of different nitrification rates. Agronomy Journal 91, 287-293.

HIDALGO, J.C Y PASTOR, M. 2005. Los nutrientes y el olivar. En: Cultivo del Olivo con Riego Localizado. M Pastor (ed.) Consejería de Agricultura-Mundi Prensa S.A., 505-645.

IRIGOIEN I. 2001. Acumulación de nitrato en espinaca (Spinacia oleracea L.) para congelado. Influencia de la fertilización nitrogenada. Universidad Pública de Navarra. Tesis doctoral.

LINAJE A. Y MUÑOZ-GUERRA L.M. Fertilización eco-eficiente del olivo y disminución de la contaminación por nitratos mediante inhibidores de la nitrificación. Comunicación en Expoliva 2005.

LEGAZ F., PRIMO-MILLO E. 1992. Influencia de la fertilización nitrogenada en la contaminación por nitratos de aguas subterráneas. Levante Agrícola 1992.

LINZMEIER W., GUTSER R., SCHMIDHALTER U. 2001. Nitrous oxide emission from soil and from a nitrogen-15-labelled fertilizer with the new nitrification inhibitor 3,4-dimethylpyrazole phosphate (DMPP). Biol. Fertil. Soils 34, 103-108.

MINISTERIO DE MEDIO AMBIENTE (MMA), Mapa de contenido de nitrato de las aguas subterráneas en España. 1998. Ministerio de Medio Ambiente. Instituto Tecnológico Geominero de España.

MARSCHNER H. 1995. Mineral Nutrition of Higher Plants. Academic Press. Londres.

MCCARTY G.W. 1999. Models of action of nitrification inhibitors. Biol. Fert. Soils 29, 1-9.

ORDOÑEZ, R., GONZÁLEZ P., GIRÁLDEZ J.V., 1997. Deterioro de la calidad nítrica de los acuíferos de una cuenca agrícola en el valle del Gudalquivir. XV Congreso Nacional de Riegos. 25-27 junio de 1997. Lleida.

OREA, G., MARTÍNEZ-ALCÁNTARA, B., QUIÑÓNES, A., GONZÁLEZ, C., MONTAÑA, C., PRIMO-MILLO, E., LEGAZ, F. 2004. Actas X Simposio Ibérico de Nutrición Mineral de Plantas. 427-431.

PASDA G., HÄHNDEL R., ZERULLA W. 2001. Effect of fertilizers with the new nitrification inhibitor DMPP (3,4-dimethylpyrazole phosphate) on yield and quality of agricultural and horticultural crops. Biology and Fertility of Soils 34, 85-97.

PASTOR, M., VEGA, V., HIDALGO, J.C., NIETO, J., 2005. La fertirrigación en el olivar de riego. En: Cultivo del Olivo con Riego Localizado. M Pastor (ed.) Consejería de Agricultura-Mundi Prensa S.A., 505-645.

QUIÑÓNES, A., MARTÍNEZ-ALCÁNTARA, B., RICARTE, B., GONZÁLEZ, M.C., MONTAÑA, C., LEGAZ F. 2005. Uso eficiente de la fertirrigación convencional en cítricos mediante el inhibidor de la nitrificación (DMPP) en riego por goteo. Levante Agrícola. 1er trimestre, 11-17.

PRASAD R., POWER J.F., 1995. Nitrification inhibitors for agriculture, health, and the environment. Advances in Agronomy 54, 233-281.

TRENKEL, M.E. 1997. Improving fertilizer use efficiency: Controlled-release and stabilized fertilizers in agriculture. International Fertilizer Industry association. Paris.

TRONCOSO A. 2005. Influencia de la fertirrigación sobre el contenido de nutrientes en el suelo, desarrollo de la planta de olivo y el rendimiento y calidad de la cosecha. Revista Oleonet. http://www.oleonet.net/.

URRESTARAZU M. 2000. Manual de cultivos sin suelo. Mundiprensa, Madrid, 648 pp.

WEISKE A., BENCKISER G., HERBERT T., OTTOW J.C.G. 2001. The new nitrification inhibitor 3,4-dimethylpyrazol phosphate (DMPP) in comparison to dicyandiamide (DCD) on nitrous oxide emissions, carbon dioxide fluxes and methane oxidation during 3 years of repeated application in field experiments. Biology and Fertility of Soils 34, 109-117.

WILD A. 1992. Condiciones del suelo y desarrollo de las plantas según Russell. Ed. Mundi-Prensa. 1045 pp.

ZERULLA W., KUMMER K.F., WISSEIMEIER A.H., RÄDLE M. 2000. The development and testing of a new nitrification inhibitor. International Fertiliser Society Meeting. November 2000. London.

ZERULLA W., BARTH T., DRESSEL J., HORCHLER K., PASDA G., RÄDLE M., WISSEMEIER A.H. 2001. 3,4-Dimethylpyrazole phosphate (DMPP) – a new nitrification inhibitor for agriculture and horticulture

FLONICAMIDA: NUEVO INSECTICIDA PARA EL CONTROL DE MOSCA BLANCA Y PULGÓN.

Joaquín Nieto Pallás
Director Técnico **ISK Biosciences Europe, S.A.**
Bernardo García Albert
Director de Marketing **Belchim Crop Protection España, S.A.**

1. INTRODUCCIÓN

TEPPEKI es un nuevo insecticida sistémico que se presenta formulado al 50% p/p como gránulos dispersables en agua (WG) y que contiene la nueva materia activa **flonicamida**. Es un producto sintetizado y desarrollado por la compañía japonesa Ishihara Sangyo Kaisha. Actualmente se encuentra registrado en distintos países de la Unión Europea (Francia, Inglaterra, Bélgica y Holanda) y se presentó para su homologación en España en la primavera del año 2004.

Empleado a dosis bajas de materia activa (entre 50 y 80 g m.a./ha) la flonicamida actúa inhibiendo el proceso de alimentación de los pulgones, sin tener efectos sobre otros insectos beneficiosos. Es una materia activa con un cierto nivel de sistemia y también de acción translaminar. La flonicamida tiene un efecto sobre estadios inmaduros de las moscas blancas a dosis entre 80 y 100 g m.a./ha en aplicaciones realizadas después del transplante, lo que ofrece un perfil muy adecuado para su empleo en distintos cultivos hortícolas y ornamentales.

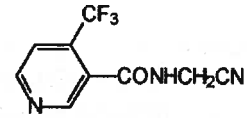
Los estudios realizados en poblaciones de pulgones conocidas en laboratorio han permitido determinar que la flonicamida no presente resistencia cruzada con ninguno de los insecticidas conocidos.

Los ensayos de campo realizados han demostrado una elevada eficacia de la materia activa para el control de diferentes especies de pulgones en

distintos cultivos anuales y perennes. Además se ha definido una interesante aplicación para control de moscas blancas en hortícolas. Lógicamente se ha comprobado la selectividad para los mismos cultivos a las dosis máximas propuestas en la etiqueta así como a dosis dobles.

Dada su tolerancia por los insectos beneficiosos, se considera que la flonicamida es una materia activa de interés para la inclusión en programas de lucha integrada o razonada. Finalmente se pueden mencionar además las favorables características toxicológicas, medioambientales y ecotoxicológicas del producto formulado TEPPEKI. Por todo ello se considera que la introducción de esta nueva materia activa en el mercado español será de gran utilidad para técnicos y agricultores como elemento para la protección y defensa de un número importante de cultivos.

2. IDENTIDAD Y PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS

Nombre químico (IUPAC)	N-(cianometil)-4-triflurometilnicotinamida
Nombre químico (CA)	N-(cianometil)-4-(triflurometil)-3-piridinocarboxamida
Número CAS	158062-67-0
Fórmula molecular	$C_9H_6F3N_3O$
Peso molecular	229.2
Fórmula estructural	
Punto de fusión	157.5ºC
Apariencia	Polvo inodoro Color Munsell - N9.25/84.2%R (Beige suave)
Densidad relativa	1.540 a 20°C 1.531 a 20ºC
Tensión superficial	47.3 mN/m a 25±1°C 47.0 mN/m a 40±1°C
Presión de vapor (en Pa)	2.55 x 10-6 Pa a 25°C 9.43 x 10-7 Pa a 20°C
Solubilidad en agua	5.2 g/L a 20ºC
Solubilidad en disolventes orgánicos	(g/L) a 20°C Acetona 163.5 Acetato de etilo 34.2 Metanol 104.3
Coeficiente de partición	POW = 1.9; Log POW = 0.3 a 29.8°C
Constante de disociación	pKa = 11.60 a 20 ± 1°C
Fotoestabilidad (DT50)	DT50 =267 días a 23°C y pH 7
Inflamabilidad	No inflamable

3. TOXICOLOGÍA

Toxicología aguda por ingestión	Producto técnico en ratón: LD_{50} = 884 mg/kg peso (macho) LD_{50} = 1768 mg/kg peso (hembra) Formulado 500 WG en ratón LD_{50} > 2000 mg/kg peso
Toxicología aguda cutánea	Formulado 500 WG en ratón LD_{50}> 5000 mg/kg
Toxicología aguda por inhalación (4 horas)	CL_{50} en ratón > 4,9 mg/l aire
Irritación cutánea (conejo)	No irritante
Irritación ocular (conejo)	No irritante
Sensibilización cutánea (cobaya)	No sensibilizante

Los estudios a medio y largo plazo han permitido definir una dosis diaria aceptable de 0,073 mg/kg. por kilo y día. Además la flonicamida no tiene efectos negativos sobre la reproducción y no es genotóxico.

4. TOXICOLOGÍA EN AVES

Toxicidad aguda en aves	Codorniz: LD_{50} > 2000 mg /kg peso (macho y hembra) Pato: LD_{50} =2621 mg /kg peso (macho) LD_{50} =1591 mg /kg peso (hembra)
Toxicidad sobre la reproducción en aves	Codorniz: NOEC = 1000 mg/kg (equivalente a 90 mg/kg peso y día) Pato: NOEC = 400 mg/kg

5. TOXICIDAD PARA ESPECIES ACUÁTICAS

Organismo	Sustancia analizada	Tiempo	Criterio	Toxicidad (mg/L)
Trucha	50 WG	96 horas	LC_{50}	> 51 mg m.a./L
Carpa	Producto técnico	96 horas	LC_{50}	> 100 mg m.a./L
Daphnia magna	50 WG	48 horas	EC_{50}	> 51 mg m.a./L
Alga Pseudokirchneriella subcapitata	50 WG	72 horas	EbC_{50}	43 mg as./L
Lemna gibba	Producto técnico	7 días	EC_{50}	> 119 mg m.a./L
Chironomus riparius	Producto técnico	48 horas	LC_{50}	> 200 mg m.a./L (=6.6 mg m.a./kg de sedimento

6. COMPORTAMIENTO MEDIOAMBIENTAL

Comportamiento en el suelo	DT_{50} (suelo en condiciones aeróbicas) DT_{50} (sistema agua/sedimento en fase acuosa)	1 a 2 días 30-37 días
Concentración prevista en aguas subterráneas	Modelo PELMO	< 0,1 mg/litro

La persistencia de la flonicamida en el suelo en el suelo es baja, entre menos de un día (DT_{50} a 20º C en condiciones aeróbicas) y un máximo de 8 días (DT90 a 10º C en condiciones aeróbicas).

Los valores de DT_{50} en suelo, según modelo en el caso más desfavorable (2 aplicaciones a una dosis de 80 gramos de materia activa por hectárea y un 50% de intercepción por el cultivo resultan en un valor de la DT_{50} de 1.05 días, muy favorable en cualquier caso.

7. CARACTERÍSTICAS

TEPPEKI es una formulación insecticida que se propone para el control de pulgones en aplicaciones foliares y moscas blancas en aplicaciones a través de los sistemas de riego por goteo en diferentes cultivos. Se presenta en forma de gránulos dispersables en agua. Se emplea en tratamientos insecticidas en cultivos de frutales de pepita (manzano y peral), frutales de hueso (melocotonero, nectarina y ciruela), en tomate y Cucurbitáceas (al aire libre y cultivo protegido), cítricos y algodón.

8. INFORMACIÓN SOBRE LAS ESPECIES DE PULGONES Y MOSCAS BLANCAS CUYO CONTROL SE PROPONE EN ESPAÑA

Se indican en la tabla siguiente las especies de pulgones y moscas blancas con interés agrícola donde la actividad de TEPPEKI es suficiente para proponer su aplicación comercial en los cultivos previstos en la etiqueta española.

Table 1. Especies de pulgones y moscas blancas propuestas para control con TEPPEKI en España

Nombre en latín	Nombre vulgar
Aphis pomi (De Geer)	Pulgón verde del manzano
Dysaphis plantaginea (Passerini)	Pulgón rosado del manzano
Dysaphis pyri (Boyer de Fonscolombe)	Pulgón del peral
Melanaphis pyraria	Pulgón marrón del peral
Myzus persicae (Sulzer) (Syn. *Nectarosiphon persicae* (Sulzer))	Pulgón verde del melocotonero
Brachycaudus persicae (Passerini), *Brachycaudus helichrysi* (Kaltenbach) y *Brachycaudus schwartzi*	Pulgones negro y amarillo del ciruelo y el melocotonero
Aphis gossypii Glover (Syn. *Aphis frangulae gossypii Glover*)	Pulgón negro del algodón
Macrosiphum euphorbiae (Thomas) / Syn. *Macrosiphum solanifolii Asmead*	Pulgón de la patata
Bemisia tabaci (Gennadius)	Mosca blanca del tabaco
Trialeurodes vaporariorum (Westwood)	Mosca blanca de los invernaderos

9. APLICACIONES Y DOSIS

TEPPEKI es un insecticida que puede emplearse para control de pulgones en aplicaciones foliares y de moscas blancas en tratamientos al suelo a través del riego por goteo.

Los distintos usos propuestos para el formulado en España se han resumido en las tablas siguientes, una primera para control de pulgones y una segunda para control de moscas blancas.

Table 2. Usos de TEPPEKI contra pulgones

Cultivo	Especies controladas	Dosis
Manzano	*Dysaphis plantaginea* *Aphis pomi*	0,12-0,14 Kg./ha
Peral	*Dysaphis pyri* *Melanaphis pyraria* *Aphis pomi*	
Melocotón, nectarina, ciruela	*Myzus persicae* *Myzus varians* *Brachycaudus helichrysi* *Brachycaudus schwartzi* *Hyalopterus pruni*	
Cítricos	*Aphis gossypii,* *Aphis spiraecola* *Toxoptera aurantii* *Myzus persicae*	0,10 Kg./ha
Algodón	*Aphis gossypii*	0,075 Kg./ha
Tomate	*Myzus persicae* *Aphis gossypii* *Macrosiphum euphorbiae*	0,10-0,12 Kg./ha
Melón, sandía, calabaza, calabacín y pepino	*Aphis gossypii*	0,10 Kg./ha

Table 3. Usos de TEPPEKI contra moscas blancas

Cultivo	Uso (mosca blanca)	Dosis
Tomate	*Trialeurodes vaporariorum* *Bemisia tabaci*	0,16–0,20 Kg./ha
Melón, sandía, calabaza, calabacín y pepino	*Trialeurodes vaporariorum* *Bemisia tabaci*	0,16–0,20 Kg./ha

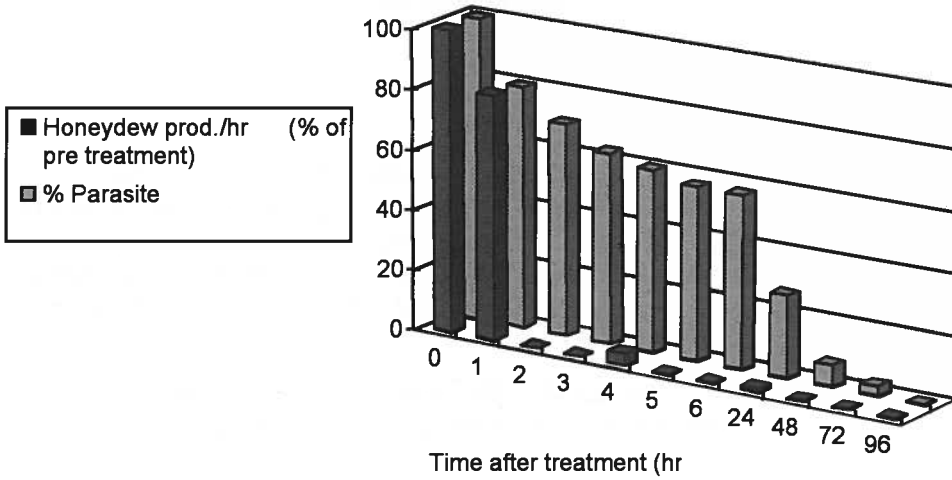
10. MODO DE ACCIÓN

Se ha investigado el efecto de la flonicamida frente a Myzus persicae con relación a la influencia en el modo de alimentación de dos formas diferentes. La melaza que excretan los pulgones es un buen indicador de su actividad alimenticia, por ello se ha realizado un experimento con ninfas de primer estadio que se pulverizaron con una solución de TEPPEKI.

Los pulgones se mantuvieron sobre hojas de rábano chino. La melaza excretada se recogía sobre papel de filtro y se tiñó con azul de bromofenol. Igualmente se evaluó la mortalidad de los pulgones durante el proceso de

recogida de melaza. Como se observa en la Figura 1, los pulgones cesaron de alimentarse dos horas después del tratamiento, aunque la desaparición de los mismos tuvo lugar más tarde.

Figura 1. Efectos de TEPPEKI sobre la producción de melaza



Los posibles efectos de TEPPEKI sobre la actividad del estilete, absorción de savia y producción de saliva se evaluaron empleando los métodos EMIF (Electronic Measurement of Insect Feeding Behavior = Medición Electrónica de Hábitos Alimenticios en Insectos). Una vez pulverizado con una solución de 100 mg / litro de IKI-220 se conectó al dorso de un pulgón adulto un alambre de oro (20 mm de diámetro, 5 cm de longitud), que a su vez estaba conectado a un oscilador por su otro extremo. El pulgón se colocó sobre una hoja de rábano chino con su pecíolo introducido en un frasco con agua. Un filamento de cobre conectado con el oscilador se introdujo en este frasco con agua de forma que se producía la conexión indirecta con el oscilador. La conducta alimenticia del pulgón se observaba durante una hora, y se grababan los impulsos transmitidos por el oscilador.

Las conductas observadas se han resumido en la siguiente tabla. Treinta minutos después de la aplicación de TEPPEKI el pulgón tratado detenía el proceso de salivación y se interrumpía el proceso de alimentación.

	Frecuencia de la conducta observada (número de veces)		Período de alimentación (minutos)
	Clavando el estilete en la hoja	Salivación	
TEPPEKI 100 mg / litro	9	1	0
Testigo	11	11	36.9

11. MOVIMIENTO EN LAS PLANTAS

La flonicamida se absorbe tanto por las raíces como por otras partes verdes de las plantas. Se desplaza de forma acropétala dentro de los tejidos vegetales. Para intentar comprender las propiedades sistémicas y translaminares de la flonicamida se aplicó el producto a diferentes partes de plantas berenjena mantenidas en macetas y se estudió el efecto aficida (Myzus persicae) frente a las partes no tratadas.

La flonicamida ha demostrado una elevada actividad insecticida en la parte aérea de la planta cuando el tratamiento se ha efectuado al suelo. Es por ello que se concluye la molécula presenta una buena actividad sistémica.

Para evaluar el movimiento vertical se aplicó TEPPEKI en el envés de la hoja para evaluar la actividad insecticida en el haz y viceversa. Los resultados indican que esta materia activa tiene acción translaminar y es capaz de moverse de una cara a la opuesta de una hoja tratada.

Para evaluar el movimiento horizontal se aplicó TEPPEKI a una de las mitades (derecha o izquierda) de una hoja separadas por el nervio principal. Se evaluó la actividad insecticida cinco días después del tratamiento en la parte no tratada. Los resultados indican que no existe movimiento lateral de la materia activa dentro de la hoja.

Translocación de tallo a hoja: En plantas de berenjena cultivadas en macetas se cubrió con algodón absorbente la parte del tallo comprendida entre las hojas octava y novena. Los productos se aplicaron sobre el algodón (1000 ml). A continuación se colocaron 10 pulgones en las hojas octava y novena. Cinco días después se evaluó la actividad insecticida.

Se observó una elevada actividad insecticida en la hoja que se encontraba en la parte superior a la parte del tallo tratada. Por el contrario en la hoja situada bajo la zona tratada no se observó actividad significativa.

Resistencia al lavado: En plantas de berenjena cultivadas en maceta se aplicaron los productos a ensayar y, a distintos intervalos después de los mismos (0, 6 y 24 horas respectivamente), las plantas se sometieron a una

lluvia simulada de 20 mm por hora (tamaño de gota 2 mm). Cinco días después se evaluó la actividad insecticida frente al pulgón verde (Myzus persicae). La flonicamida ha demostrado una elevada resistencia al lavado.

Table 4. Actividad insecticida de TEPPEKI después de una lluvia artificial

	Lluvia – Horas tras la aplicación‡ ppm	Mortalidad (%) de Myzus				
		100	50	12.5	3.1	0.8
TEPPEKI	Sin lluvia	-	100	100	100	90
(flonicamida)	6	-	100	100	100	80
	24	-	100	100	95	75
Permetrina	Sin lluvia	100	100	95	55	20
	6	100	90	25	0	0
	24	100	100	60	20	0
Testigo				0		

12. DIFERENCIAS ENTRE EL MODO DE ACCIÓN DE TEPPEKI Y OTROS INSECTICIDAS

Se han realizado distintos ensayos en laboratorio y en campo para evaluar los posibles fenómenos de resistencia cruzada entre la flonicamida y otros insecticidas. Estos estudios han demostrado que no existe tal resistencia cruzada con organofosforados, carbamatos, piretroides y neonicotinoides. Además, una población conocida de *Myzus persicae* resistente a organofosforados y carbamatos se ha tratado durante 71 generaciones con flonicamida y al final del estudio era igualmente sensible a la materia activa.

13. EFECTOS SOBRE INSECTOS BENEFICIOSOS

Se han llevado a cabo ensayos en laboratorio, invernadero y en campo para conocer la actividad secundaria de la flonicamida frente a numerosos insectos útiles. Entre aquellos que tienen mayor interés para los cultivos donde TEPPEKI se empleará en España podemos citar la abeja de la miel (*Apis mellifera*), ácaros predadores (*Phytoseiulus persimilis, Hypoaspis miles, Typhlodromus pyri, Kampimodromus aberrans y Amblyseius degenerans), el mírido Macrolophus caliginosus,* diferentes Coleópteros *A. rhopalosiphi, Poecilus cupreus, Coccinella septempunctata, Adalia bipunctata, Atheta coriaria y Cryptolaemus montruizieri)* y otros como *Episyrphus baleatus, Chrysoperla carnea, Aphidius colemani* o *Bombus terrestris.* Los estudios han incluido dosis de 0,040% de producto comercial TEPPEKI, equivalente a una concentración de 200 ppm de flonicamida, **doble a la dosis propuesta para su empleo en aplicaciones al suelo.**

14. EFECTOS SOBRE CULTIVOS EN ROTACIÓN

Los cultivos donde este efecto sería relevante son cultivos anuales (hortícolas y algodón). Se pueden considerar como cultivos que podrían sucederlos en una rotación la remolacha, el tomate, la berenjena, la lechuga, el maíz, la avena, la colza, el guisante, el nabo, las habas, el lino o la cebada. En todos ellos los estudios realizados para valorar posibles efectos de su siembra tras aplicaciones de TEPPEKI han resultado en la completa ausencia de síntomas.

15. RESULTADOS CON TEPPEKI EN DISTINTOS CULTIVOS

Evidentemente el número de ensayos realizados con una nueva materia activa es muy elevado, más si cabe para un producto que se propone para su empleo en una amplia gama de cultivos y para dos tipos diferentes de insectos de gran interés agrícola como son los pulgones y las moscas blancas. Se ha elegido pues presentar un resumen de resultados representativos para algunos de los cultivos más importantes.

15.1 Resultados frente a pulgones

Eficacia frente a Dysaphis plantaginea en manzanos: Se han realizado ensayos en presencia del pulgón sobre los brotes, con tratamientos realizados durante los meses de abril y mayo. Los resultados se expresan como porcentaje de control a partir del número de pulgones por brote utilizando la fórmula de Henderson-Tilton. El número de ensayos considerados en este resumen es de trece.

Intervalo tras la aplicación → Tratamiento y dosis	0 DAT	3-5 DAT	6-17 DAT	20-28 DAT
	(Entre paréntesis valor medio de infestación)			
Nivel de infestación por brote	Entre 3 y 96 (media de 21)	3 a 93 (35)	2 a 218 (83)	2 a 311 (118)
TEPPEKI 140 g/hl		70,4	96,5	96,6
Referencia 4 - 35 ml/hl		86,6	98,0	98,3

La eficacia a corto plazo (menos de 5 días) es inferior al producto de referencia, ya que TEPPEKI alcanza su máxima acción una semana después del tratamiento. El control a partir de este momento y la persistencia del efecto son tan buenos como el producto de referencia.

Eficacia frente a *Myzus* persicae en melocotonero: Los ensayos se han llevado a cabo con la misma metodología que en manzano, en este caso se presentan los datos medios de doce estudios. Se han realizado ensayos en

presencia del pulgón sobre los brotes, con tratamientos realizados durante los meses de abril y mayo. Los resultados se expresan como porcentaje de control a partir del número de pulgones por brote utilizando la fórmula de Henderson-Tilton.

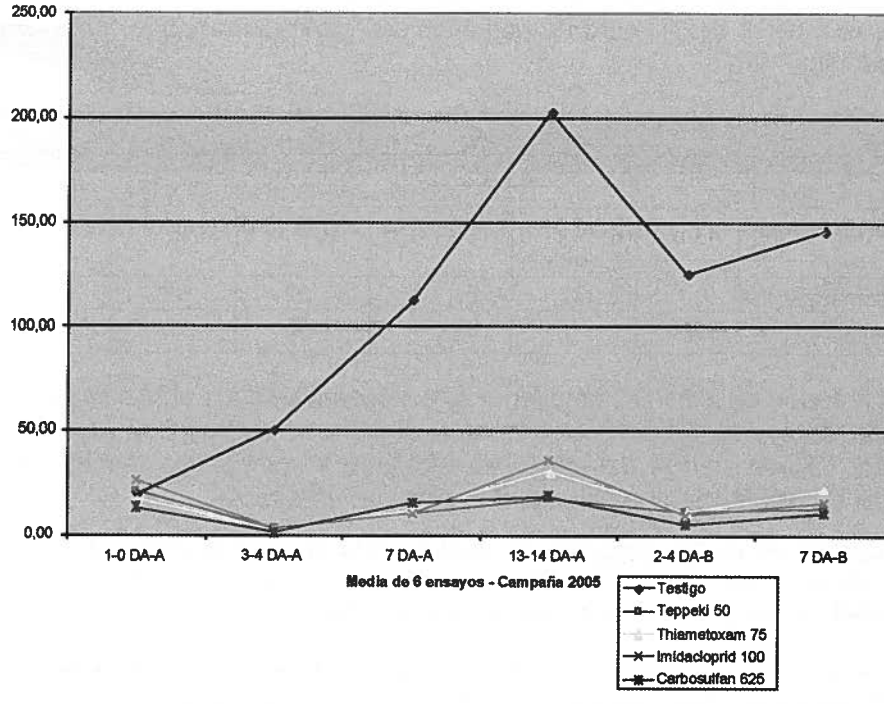
Intervalo tras la aplicación →	0 DAT	2-5 DAT	6-8 DAT	12-15 DAT	20-30 DAT
Tratamiento y dosis	(Entre paréntesis valor medio de infestación)				
Nivel de infestación por brote	Entre 3 y 35 (media de 12)	11-206 (70)	11-166 (64)	5-175 (73)	12-204 (61)
TEPPEKI 140 g/hl		81	99	95	90
Referencia 4 - 25 ml/hl		96	98	91	93

La acción de TEPPEKI es inferior a la referencia en los primeros días del tratamiento, mientras que a partir de la semana se alcanza la máxima actividad. La persistencia del efecto es excelente y comparable al mejor producto de referencia que ha sido el incluido en esta tabla.

Control de *Aphis spiraecola* en cítricos: Esta especie de pulgón ha tenido una especial incidencia en las últimas campañas, siendo conocida la gran presión que ocurrió durante la primavera del año 2005.

Se resumen en un gráfico los datos de 6 ensayos donde se llevaron a cabo dos aplicaciones con un intervalo de trece a catorce días. Las dosis de los distintos insecticidas ensayados se presentan en gramos de materia activa por hectárea. Se utilizaron volúmenes de caldo convencionales para tratamientos de cítricos y la evaluación de los resultados se llevó a cabo sobre una muestra de diez brotes previamente marcados por cada parcela elemental.

Gráfico 1.- Control de *Aphis spiraecola* en cítricos



La eficacia en condiciones de alta presión de pulgón ha sido excelente con la dosis recomendada, inferior en cantidad de materia activa por hectárea al resto de insecticidas empleados como referencias.

Control de *Aphis gossypii* en algodón: Se presenta una tabla con el valor medio de pulgones por hoja que se han evaluado en una muestra de 50 a 100 hojas por parcela elemental a distintos intervalos tras la única aplicación realizada. La dosis de empleo propuesta se ha comparado con carbosulfan como referencia.

Tabla 5. Efecto de dosis para control de APHIGO con TEPPEKI – Resultados campañas 2004 & 2005 en España

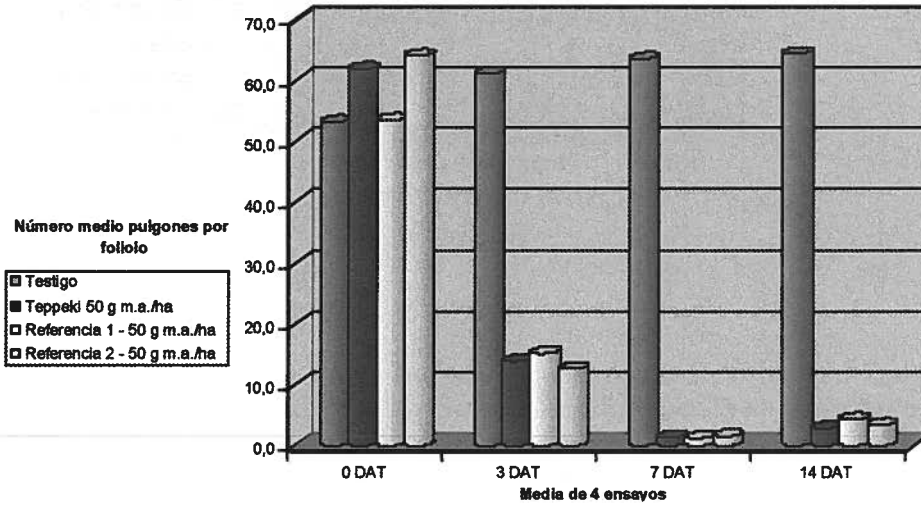
Intervalo tras la aplicación →	0 DAT		3-4 DAT		7-8 DAT		14-15 DAT		21-23 DAT	
Tratamiento y dosis	Media	Count (1)	Media	Count (1)	Media	Count (1)	Media	Count (1)	Media	Count (1)
Testigo	41 b	(6)	42 a	(6)	52 a	(6)	60 a	(6)	65 a	(6)
TEPPEKI 37,5 g m.a./ha	43 b	(6)	11 b	(6)	1 b	(6)	1 b	(6)	1 b	(6)
Referencia Carbamato 250 g m.a./ha	43 b	(6)	0 c	(6)	1 b	(6)	1 b	(6)	3 b	(6)

(1) Count = Número de datos analizados para obtener la media en cada fecha de evaluación

Los resultados son concluyentes, el control de *Aphis gossypii* con la dosis de TEPPEKI empleado a la dosis propuesta para su empleo es idéntico al obtenido con un carbamato de referencia excepto en velocidad de acción, donde este ultimo es más rápido. La persistencia del efecto es muy buena, y permite el control del pulgón durante las semanas sucesivas al tratamiento.

Control de *Macrosiphum euphorbiae* en tomate: Dentro de las distintas especies de pulgones que afectan al tomate se considera interesante presentar los resultados sobre Macrosiphum ya que frente a otras especies más polífagas como Myzus persicae o Aphis gossypii se incluyen datos en otros cultivos. Se ha preparado un gráfico con el valor medio de pulgones por hoja en cuatro ensayos donde se llevó a cabo una sola aplicación.

Gráfico 2.- Control de *Macrosiphum euphorbiae* en tomate

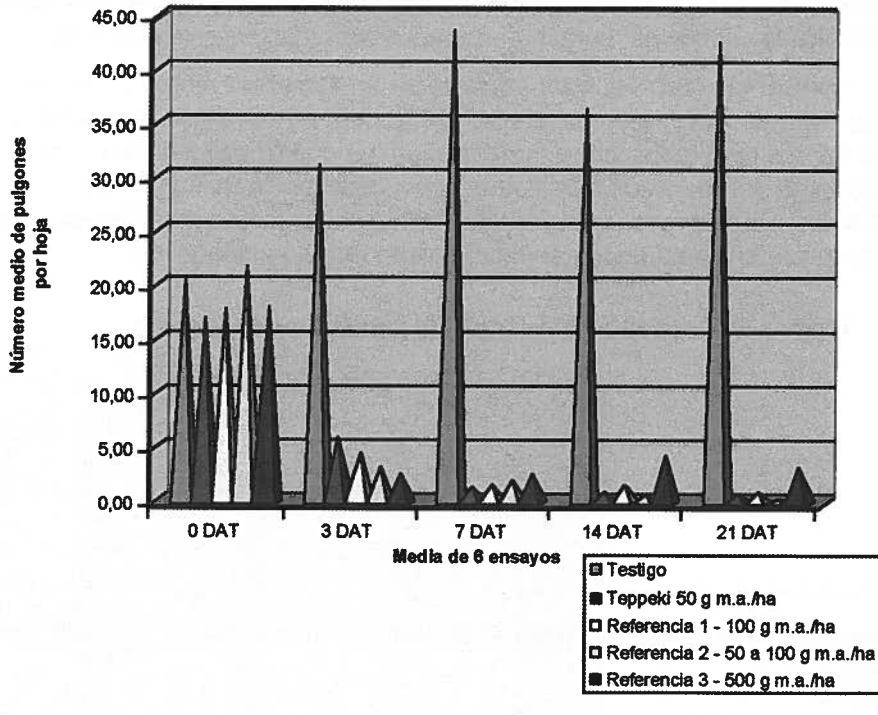


En condiciones de presión significativa el resultado de TEPPEKI ha sido tan bueno como las dos referencias utilizadas, incluso ligeramente superior en la persistencia a las dos semanas de la aplicación.

Control de *Aphis gossypii* en Cucurbitáceas: En esta familia, prácticamente el único pulgón que suele presentarse es el pulgón negro del algodón. Ya hemos analizado la actividad de TEPPEKI en el cultivo del algodón, pero resulta interesante analizar las diferencias que se encuentran para la misma especie en otro grupo de cultivos. La dosis recomendada de TEPPEKI es más elevada en este caso (100 gramos por hectárea de producto formulado frente a 75 en algodón).

Se ha preparado un gráfico que resume los resultados con TEPPEKI frente a tres productos de referencia, en un grupo de 6 ensayos con poblaciones y evolución homogéneas donde se ha podido evaluar tanto el efecto a corto plazo como la persistencia del control.

Gráfico 3.- Control de *Aphis gossypii* en Cucurbitáceas



Los resultados indican la menor velocidad de acción de TEPPEKI con respecto a otros insecticidas (3 días después del tratamiento), mientras que su control a medio y largo plazo (dos a tres semanas después) es excelente y en línea con las mejores referencias.

15.2 Resultados frente a mosca blanca

Se resumen los resultados obtenidos en todos los ensayos llevados a cabo durante los años 2004, 2005 y 2006, con el objetivo de presentar una visión global de la actividad del insecticida TEPPEKI para el control de estadios inmaduros de las dos especies de mosca blanca que afectan a los cultivos hortícolas (*B. tabaci* y *T. vaporariorum*).

La metodología que se ha seguido para producir las tablas que vienen a continuación es sencilla. Se expresan los datos de cada ensayo como número de estadios inmaduros por hoja o foliolo. A partir de estos datos se ha calculado el número medio de estadios inmaduros para cada tratamiento y en intervalos comparables después de cada aplicación. Como no todas las dosis se han ensayado en las diferentes campañas hay una diferencia en el número de valores considerados para hacer estos cálculos en cada caso.

Los resultados se presentan para las dos especies de mosca blanca por separado.

En primer lugar en *Bemisia tabaci*, donde se presentan datos representativos de los ensayos de los años 2005 y 2006.

TablA 6. Actividad global sobre estadios inmaduros - B. tabaci (Media 8 ensayos)

Tratamiento	Dosis g m.a./ha	0-3 DA-A	6-9 DÁ-A	13-14 DA-A	7 DA-B	14-17 DA-B
Testigo	-	1,90	7,19	13,45	14,26	16,15
TEPPEKI	80	1,93	5,01	6,97	5,43	6,22
TEPPEKI	100	1,61	3,99	6,06	5,10	5,54
Thiametoxam	100	1,69	4,83	6,69	9,45	8,43
Imidacloprid	100	1,30	4,25	5,16	5,41	7,25

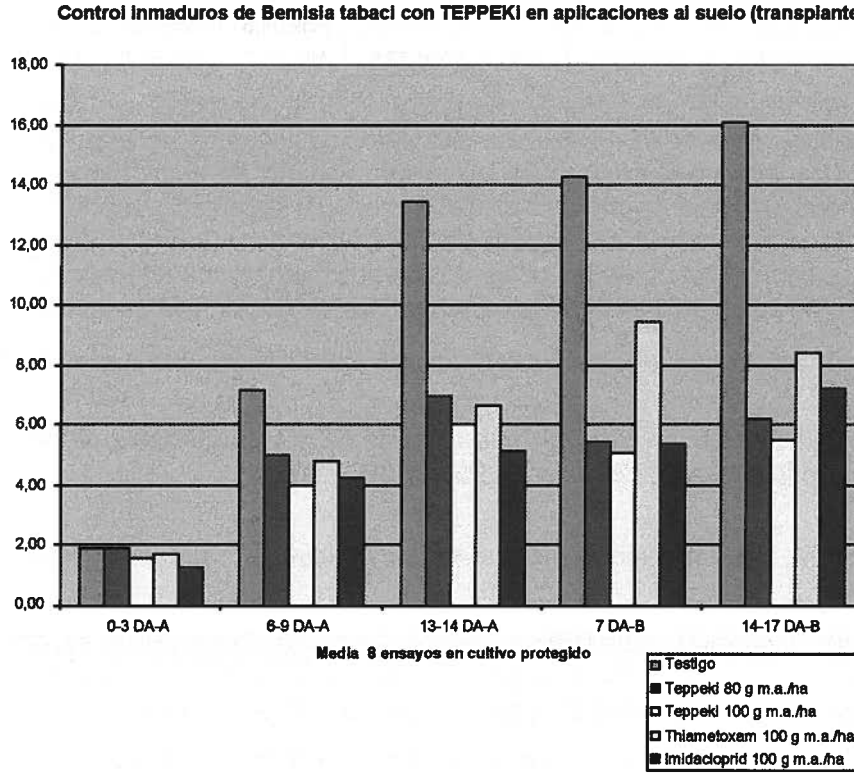
Un método sencillo para ilustrar los niveles de eficacia obtenidos es la transformación de los datos en porcentajes de control. Los resultados permiten seguir la evolución del control frente a los testigos sin tratar.

TablA 7. Porcentaje de control inmaduros de B. tabaci (Media de 8 ensayos)

Tratamiento	Dosis g m.a./ha	0-3 DA-A	6-9 DA-A	13-14 DA-A	7 DA-B	14-17 DA-B
TEPPEKI	80	0	30,31	48,17	61,92	61,48
TEPPEKI	100	15,26	44,50	54,94	64,23	65,69
Thiametoxam	100	11,05	32,82	50,26	33,73	47,80
Imidacloprid	100	31,57	40,89	61,63	62,06	55,10

Para ilustrar los resultados obtenidos se ha preparado un gráfico, un simple histograma de barras que representa el porcentaje de control de la tabla.

Gráfico 4.- Control de Bemisia tabaci en aplicaciones al suelo (inmaduros)



Para *Trialeurodes vaporariorum* se presentan resultados de tres años, con todas las dosis ensayadas en cada uno de ellos. Dado que hay dosis diferentes en cada una de las campañas se emplea como único criterio para presentar los datos el porcentaje de control, indicando en cada caso el número de ensayos que se ha empleado para su cálculo así como los valores máximo y mínimo.

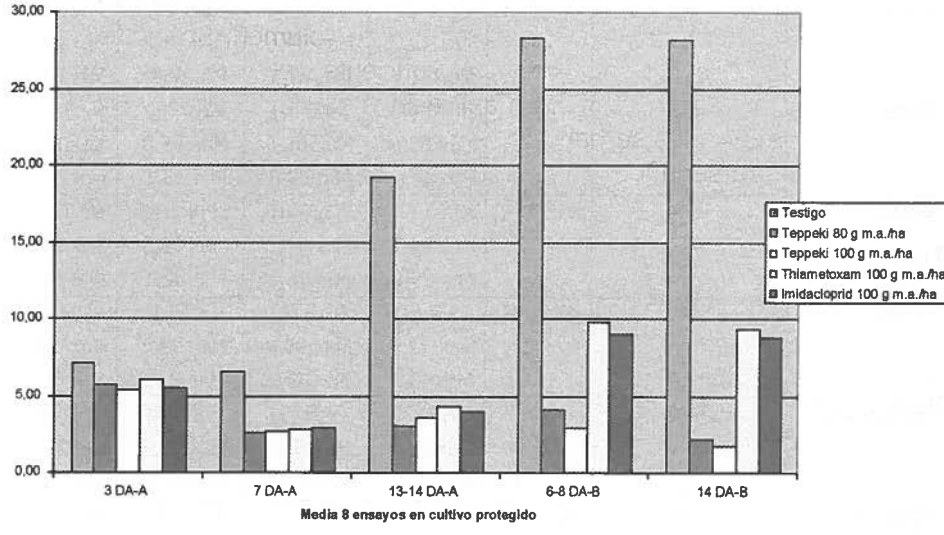
Table 8. Porcentaje de control inmaduros de T. vaporariorum (Media de 13 ensayos)

Tratamiento	Dosis g m.a./ha	3 DA-A	7 DA-A	12-14 DA-A	6-8 DA-B	14 DA-B
TEPPEKI	50	60,22 (1)	41,10 (2) Max 49,7 Min 32,5	67,5 (4) Max 94,6 Min 62,1	78,9 (4) Max 91,2 Min 65,9	74,9 (3) Max 82,2 Min 67,8
TEPPEKI	80		60,90 (7) Max 81,4 Min 42,4	84,0 (8) Max 88,6 Min 33,5	85,4 (9) Max 95,8 Min 45,1	92,3 (7) Max 98,1 Min 64,4
TEPPEKI	100	52,27 (1)	58,63 (7) Max 86,7 Min 39,0	81,3 (8) Max 97,3 Min 28,2	89,5 (12) Max 99,8 Min 32,1	93,7 (8) Max 98,7 Min 67,9
TEPPEKI	200	47,72 (1)	59,2 (2) Max 72,3 Min 46,1	87,9 (4) Max 96,4 Min 79,2	92,7 (4) Max 99,8 Min 85,2	90,9 (3) Max 98,6 Min 82,1
Thiametoxam	100		57,4 (7) Max 68,7 Min 50,0	77,6 (5) Max 86,5 Min 28,3	65,3 (8) Max 95,7 Min 12,5	66,7 (8) Max 97,1 Min 39,5
Imidacloprid	100	56,81 (1)	54,8 (7) Max 75,0 Min 33,2	79,3 (7) Max 87,3 Min 29,2	67,9 (8) Max 97,3 Min 31,9	68,5 (7) Max 97,2 Min 4,7

Entre paréntesis aparece el número de ensayos donde se ha llevado a cabo cada ensayo en particular. En todos los casos donde el valor de la tabla es la media de más de un dato se incluyen los valores máximo y mínimo.

También se añade un gráfico donde en un histograma de barras se presentan los resultados de la tabla anterior.

Gráfico 5.- Control de *Trialeurodes vaporariorum* en aplicaciones al suelo (inmaduros)



16. RECOMENDACIONES DE USO

Recomendaciones de aplicación *(tratamientos foliares):* TEPPEKI puede ser aplicado con los equipos habitualmente empleados en frutales y cultivos hortícolas (pulverizadores hidráulicos y atomizadores). En caso de producirse lluvias significativas dentro de las 4 horas siguientes al tratamiento se recomienda repetir este.

Recomendaciones de aplicación *(tratamientos al suelo en riego por goteo)*: TEPPEKI se utilizará como otros productos fitosanitarios en este tipo de aplicaciones, realizando una disolución del mismo en el tanque dosificador e inyectando la solución en la línea principal. Se aconseja realizar la incorporación del producto en la etapa final del ciclo de riego.

Velocidad de acción: El efecto de choque de TEPPEKI en aplicaciones foliares es reducido y, en algunas condiciones, inferior al que obtienen otros insecticidas de uso frecuente como imidacloprid o thiametoxam, es similar al de la pimetrozina.

Persistencia de acción: La persistencia del control oscila entre una y tres semanas tras la aplicación en presencia del pulgón y, en función de las condiciones para una re-infestación, se recomienda repetir el tratamiento en casos en los que sea necesario conseguir un control más duradero. En los

tratamientos al suelo contra mosca blanca la persistencia máxima es de dos semanas.

Volúmenes de caldo: Se han realizado aplicaciones foliares de TEPPEKI con volúmenes de caldo entre 250 y 3.000 l/ha, sin encontrarse diferencias en la actividad aficida cualesquiera que fuera el volumen. Se recomendará como buena práctica la aplicación con suficiente volumen de caldo para cubrir adecuadamente el follaje. En aplicaciones al suelo a través del sistema de riego localizado, se han empleado volúmenes entre 1000 y 20.000 l/ha, sin encontrarse influencia de estos en la actividad insecticida del producto.

Resistencia

 # Pulgones: En el estado actual de conocimientos sobre la materia activa flonicamida, y como estrategia orientada a reducir la presión de selección sobre los pulgones, se recomendará un máximo de dos aplicaciones consecutivas sobre la misma especie de pulgón con un máximo de tres aplicaciones por ciclo.

 # Moscas blancas: No utilizar TEPPEKI más de dos veces por ciclo de cultivo para control de mosca blanca y realizar estas aplicaciones en los días sucesivos al transplante. Continuar el programa de protección con otros insecticidas que tendrán un modo de acción diferente a TEPPEKI. Si durante el ciclo del cultivo se produjera un posterior ataque de pulgón, se podrá aplicar TEPPEKI una sola vez y recurrir a otros aficidas con distinto modo de acción si fuera necesario para un control más persistente.

En España existe un número importante de materias activas autorizadas para su uso en los cultivos donde se propone el empleo de TEPPEKI y que tienen actividad contra pulgones y mosca blanca. Es por ello que la posibilidad de continuar con tratamientos sucesivos durante el resto del ciclo de cultivo es perfectamente posible, lo que reducirá la presión de selección por la razón que el modo de acción de TEPPEKI es distinto al de los insecticidas conocidos hasta la fecha.

Selectividad: TEPPEKI es muy selectivo en todos los cultivos ensayados (frutales, cítricos, algodón y hortícolas). Su uso en las condiciones de uso propuestas no causa ningún efecto negativo directo sobre los cultivos ni tiene acción sobre el rendimiento o la calidad de los productos tratados.

17. CONCLUSIONES

TEPPEKI es un insecticida perteneciente a una nueva clase con actividad frente a pulgones y moscas blancas. Tiene unas propiedades de migración ascendente en los tejidos vegetales y actúa mediante inhibición de los pro-

cesos de alimentación de los insectos sensibles a la materia activa. Presenta una excelente eficacia así como una buena persistencia de acción frente a numerosas especies de pulgones y de moscas blancas con interés agrícola. Las dosis de empleo oscilan entre 37,5 y 100 gramos de materia activa por hectárea. Es un insecticida con una perfecta selectividad en todos los cultivos y su formulación en gránulos dispersables en agua permite una excelente miscibilidad con otros productos fitosanitarios. Tiene un modo de acción único que le confiere una ausencia de problemas de resistencia cruzada con otros insecticidas. Tiene un perfil toxicológico, ecotoxicológico y medioambiental adaptado a las exigencias actuales. Finalmente su selectividad frente a insectos beneficiosos le convierte en un producto de utilización en programas de protección integrada.

18. AGRADECIMIENTOS

Los autores desean manifestar su agradecimiento a los colegas de las empresas Ishihara Sangyo Kaisha y Belchim Crop Protection por la supervisión y seguimiento de los estudios de campo, así como a los técnicos de las distintas empresas acreditadas para la realización de ensayos en España que han participado en la realización de los mismos (AgroSoler, TrialCamp, Agrisearch, Recerca Agrícola, Agrología y Promo-Vert Hispania).

19.REFERENCIAS

La metodología experimental ha seguido los principios generales recogidos en las referencias de la Organización Europea para la Protección de las Plantas:

Método 1/24 (2): "Pulgones en cultivos hortícolas"

Método 1/36 (2): "Moscas blancas en cultivos hortícolas"

Método 1/21 (2): "Pulgones en árboles frutales"

Método 1/149 (2): "Aphis gossypii en algodón"

Método 1/135 (2): Evaluaciones de fitotoxicidad

Método 1/152 (2): "Diseño y análisis de ensayos de eficacia"

ISHIHARA SANGYO KAISHA, LTD., 1994. European Patent Application, EP 0580374, 26 January 1994.

LAURENTIE D. ET MORITA M. - LA FLONICAMIDE: UN NOUVEL APHICIDE. 26 ET 27 OCTOBRE 2005. AFPP – 7ème Conférence Internationale sur les Ravageurs en Agriculture, Montpellier.

MORITA M., UEDA T., YONEDA T., KOYANAGI T., MURAI S., MATSUO N., STRATMAN B., RUELENS P., 2000. IKI-220, a novel systemic aphicide. Brighton Crop Protection Conference. Pests and diseases, 59-65.

TOMIZAWA M., YAMAMOTO I., 1992. Binding of nicotinoids and the related compounds to the insect nicotinic acethylcoline receptor. Journal Pesticide Sciene 17, 231-236.

COMUNICACIONES

PROYECTO TOPPS: UN PROGRAMA DE DEMOSTRACIONES Y ACTIVIDADES FORMATIVAS PARA PREVENIR LA CONTAMINACIÓN DE AGUAS POR EL USO DE FITOSANITARIOS

Dr. Emilio Gil
Dpto. de Ingeniería Agroalimentaria y Biotecnología
Universidad Politécnica de Cataluña
Alexandre Escolà
Departamento de Ingeniería Agroforestal
Universidad de Lleida

INTRODUCCIÓN

La Unión Europea ha puesto de manifiesto en reiteradas ocasiones la necesidad de disminuir la cantidad de productos fitosanitarios que, de forma accidental, se depositan en los cauces y reservas de agua (tanto superficiales como profundas). En la mayoría de los casos, estos accidentes tienen lugar por una inadecuada selección de lo que se conoce como buenas prácticas agrícolas. Este tipo de errores y fallos en el manejo y actuación de los agentes implicados es, en muchos casos, consecuencia de una falta de información y formación por parte del usuario. Las acciones encaminadas a la mejora de la formación se presentan pues como una de las más eficientes acciones a desarrollar para la reducción del riesgo de contaminación de las aguas. De esta forma se pretende garantizar el adecuado uso de los productos fitosanitarios, manteniendo para ellos el adecuado y necesario papel en todo el proceso de producción de alimentos sanos y seguros.

Existen sin embargo muchas simples y económicas acciones que, bien aplicadas, pueden reducir de forma considerable el riesgo de contaminación de las aguas. Acciones como un cuidadoso proceso de llenado del tanque e

incorporación del producto fitosanitario realizado en superficies absorbentes, un manejo adecuado (junto con un cálculo previo) del caldo sobrante tras la aplicación, la realización de la limpieza del pulverizador y el tractor en la propia parcela en lugar de hacerlo en superficies no adecuadas, y un manejo sostenible de los envases de producto (llenos y vacíos) pueden incrementar de forma considerable el nivel de seguridad y sostenibilidad de todo el proceso.

Si bien es cierto que determinadas acciones e iniciativas puntuales puestas en marcha por diferentes agentes relacionados, como por ejemplo la campaña llevada a cabo por el Gobierno de La Rioja para el tratamiento y descontaminación de las aguas procedentes del lavado de las cisternas de los agricultores (http://www.larioja.org) han generado resultados alentadores, no es menos cierto que una visión global y coordinada de todos estos aspectos puede conducir, sin duda, a la consecución de objetivos globales mucho más ambiciosos. En este sentido la Unión Europea ha manifestado en reiteradas ocasiones su interés en el tema. La Directiva de Aguas y la recientemente publicada (diciembre 2006) directiva sobre niveles de calidad para las aguas subterráneas añade, si cabe, mayor importancia a la puesta en marcha de actuaciones encaminadas a la mejora de las prácticas de uso.

PUESTA EN MARCHA DEL PROYECTO TOPPS

A finales del año 2004 la ECPA (European Crop Protection Association) presentó la idea del proyecto en el marco del programa LIFE de la Unión Europea. El proyecto, conocido con el acrónimo de TOPPS (Train the Operators to Prevent Pollution from point Sources) se estructura de forma multi-disciplinar y multinacional, y propone como objetivos fundamentales la identificación de las fuentes puntuales de contaminación, y la difusión en el ámbito europeo de consejos, acciones formativas y material informativo con la intención de reducir la contaminación de las aguas superficiales y profundas durante el manejo de productos fitosanitarios.

El interés de la ECPA (http://www.ecpa.be) por el proyecto radica en el hecho de que se trata de una acción dirigida a la consecución de una agricultura sostenible en un futuro inmediato. En primer lugar, se trata de garantizar que las denominadas Buenas Prácticas Agrícolas se apliquen de forma adecuada en el uso de los fitosanitarios, de forma que éstos puedan seguir ejerciendo su necesario papel en el proceso de producción de alimentos, de una forma segura, sana y sostenible. Además, el tipo de proyectos de la magnitud del TOPPS, a escala Europea, son esenciales para demostrar los importantes beneficios que pueden derivarse de una adecuada labor formativa e informativa, permitiendo de éste modo el presentar la acción de las empresas fabricantes de productos fitosanitarios como agen-

tes activos interesados en la mejora de las acciones, trabajando de forma conjunta con otros nichos de expertos y agentes implicados (autoridades locales y estatales, asociaciones, usuarios,...) en la búsqueda de soluciones efectivas al problema.

La reciente evolución de las acciones legislativas llevadas a cabo por el Parlamento y la Comisión Europea, inicialmente con la elaboración y publicación del documento "Estrategia Temática para el uso sostenible de Plaguicidas", y más recientemente con la publicación de la propuesta de Directiva Europea para un uso sostenible de los plaguicidas, ha sido uno de los detonantes fundamentales para la puesta en marcha de este proyecto coordinado a nivel Europeo. Si bien es cierto que muchos de los agentes europeos involucrados opinan que algunas de las acciones hasta ahora llevadas a cabo han presentado resultados alentadores, no es menos cierto que, la opinión generalizada demanda acciones e iniciativas a gran escala con objeto de reducir los niveles de productos fitosanitarios presentes en el agua. En este sentido la implementación de la Nueva Directiva de Aguas, aprobada recientemente por el Parlamento Europeo (diciembre 2006) que marca niveles de calidad para las aguas subterráneas y obliga a prevenir los vertidos contaminantes de las mismas, ha supuesto un nuevo y renovado impulso al proyecto TOPPS que aquí se presenta.

OBJETIVOS

Bajo la premisa de la formación y la divulgación, el proyecto TOPPS ha estructurado sus objetivos en seis apartados principales:

- Análisis de la situación actual en el ámbito de la UE: búsqueda, selección y recopilación de todo aquel material publicado en diferentes soportes, y en cada uno de los países de la UE, relacionados con las buenas prácticas y el uso correcto de los productos fitosanitarios, con especial énfasis en todos aquellos aspectos relacionados con al contaminación de aguas.
- Diseño de una base de datos exhaustiva: también a escala europea, se propone la elaboración de una amplia base de datos, tanto de personas a título individual como organismos públicos y privados, todos ellos relacionados con el tema.
- Elaboración de la Guía de Buenas Prácticas (BMP- Best Management Practices) que engloben todos aquellos aspectos a tener en cuenta, así como las recomendaciones y normativas a cumplir, en todos los eslabones de la cadena de utilización de los productos fitosanitarios: almacenamiento, transporte, preparación de la mezcla, aplicación, limpieza y manejo y gestión de los residuos. El objetivo general es el de

establecer un marco único europeo, evitando en cualquier caso los conflictos con las diferentes legislaciones nacionales y/o autonómicas.

- Elaboración de material formativo y demostrativo: apoyándose en uno de los principios básicos de partida del proyecto, especial énfasis se dedica a los temas relacionados con la formación y la divulgación. Este objetivo contempla la elaboración de material para la "formación de formadores", en los diferentes formatos actualmente en uso (presentaciones, DVD's, etc.). Asimismo, se propone la selección, dotación y puesta en marcha en fincas y/o explotaciones representativas, en todos los países participantes, las denominadas "demofarms" o fincas de demostración. En ellas, la utilización del material y el equipamiento adecuado a cada una de las necesidades específicas, permitirá la organización de actividades formativas teórico-prácticas conducentes a la mejora de las técnicas durante el proceso de utilización de los productos fitosanitarios.
- Divulgación del proyecto en toda la geografía nacional e internacional: el proyecto TOPPS propone como uno de los objetivos el diseño y construcción de las denominadas "demostands", materiales móviles itinerantes que permitirán la difusión del TOPPS en diversas ferias nacionales e internacionales directamente relacionadas con el sector de los fitosanitarios y su utilización. Paralelamente a este objetivo, el proyecto se marca como meta la divulgación de los resultados en las más prestigiosas revistas técnicas del sector.

QUIEN PARTICIPA EN EL PROYECTO

Tal como se ha comentado al inicio, el proyecto TOPPS es un proyecto interdisciplinario y multinacional. En el participan un total de 12 organizaciones y se encuentran representados un total de 14 países. Con objeto de facilitar y agilizar el trabajo y, por afinidad climática y agronómica, los países se han agrupado en cuatro subgrupos o "clusters": a) Sur, que engloba a Italia (responsable del subgrupo), Portugal, España y el sur de Francia; b) Oeste, con Bélgica, Holanda, Alemania y el norte de Francia; c) Norte, en el que participan Dinamarca, Suecia y Finlandia; y d) Este, con representación de Polonia, Hungría, República checa y Eslovaquia.

El organismo responsable del proyecto TOPPS en España es el Departamento de Ingeniería Agroalimentaria y Biotecnología de la Universidad Politécnica de Cataluña (Emilio.Gil@upc.edu). En el proyecto participa también de forma activa AEPLA, la Asociación Empresarial para la Protección de las Plantas (http://www.aepla.es) y ANSEMAT, la Asociación Nacional del Sector de Maquinaria Agrícola y Tractores (http://www.ansemat.org).

DURACIÓN DEL PROYECTO Y ACTIVIDADES DESARROLLADAS

La duración total del proyecto es de tres años. Inició su andadura en noviembre de 2005 y está prevista su finalización para final de octubre de 2008. Sin embargo, una de las características interesantes del proyecto TOPPS es que está previsto que los logros alcanzados por el mismo sean utilizables mucho más allá de la estricta duración administrativa del proyecto.

Respecto a la situación actual, en estos momentos los resultados parciales y los objetivos alcanzados son los siguientes:

a) elaboración de una base de datos (personas e instituciones): la labor de recopilación hasta ahora llevada a cabo en todos los países participantes ha permitido la elaboración de una amplia base de datos de personas, organismos, instituciones, asociaciones, etc. directamente relacionados con el uso de los productos fitosanitarios. Una de las ventajas de esta base de datos es que se trata de una "base dinámica" con posibilidad de actualizarse y completarse, siendo el propio usuario el que puede realizarlo. Basta simplemente darse de alta en la página Web del proyecto.

b) análogamente a lo anterior, también disponible en la Web del TOPPS se puede acceder a toda una serie de artículos y material diverso publicado recientemente en todos los países participantes en el TOPPS, relacionados con el buen uso de los fitosanitarios.

c) Elaboración de la página Web: Una de las primeras acciones desarrolladas, que ha permitido a su vez la compilación y puesta a disposición de los usuarios de las bases de datos anteriormente descritas, es la creación de una potente página Web. Una visita exhaustiva a la misma (http://www.topps-life.com) permite conocer en profundidad el planteamiento, los objetivos y las entidades participantes en el proyecto. Además es posible, de forma totalmente gratuita, darse de alta como experto para, de este modo, pasar a formar parte de la base de datos, y disponer de todos los documentos que se encuentran disponibles. La página ofrece también la posibilidad de utilizarse como foro de discusión de determinados temas, entrar en contacto con expertos en cuestiones puntuales, etc. La página está disponible en todos los idiomas de los países participantes.

ACCIONES A DESARROLLAR

Una vez elaboradas las bases de datos de personas, organizaciones y documentos relacionados con el tema, el proyecto continúa con la labor de diseminación de la información y el desarrollo de actividades formativas. La

elaboración del documento definitivo de buenas prácticas fitosanitarias (BMP-Best Management Practices), con la correspondiente traducción a todos los idiomas, el diseño y creación de material formativo que permita la organización de cursillos y jornadas técnicas para los formadores (técnicos, asesores, empresas de servicios, organismos públicos,...) en contacto directo con el usuario, y la diseminación de toda la información y consejos de utilización a través de artículos divulgativos como éste, son en estos momentos actividades prioritarias del proyecto.

La diseminación de resultados del proyecto es uno de los aspectos fundamentales y uno de los objetivos prioritarios. En este sentido se planteó como objetivo a cumplir la presencia del TOPPS en las ferias nacionales e internacionales más importantes en el territorio europeo. De entre los 16 certámenes seleccionados, el proyecto TOPPS estará presente en las próximas ediciones de Euroagro (Valencia), Feria de Sant Miquel (Lleida) y FIMA (Zaragoza). Para estos casos se han diseñado y construido varios "demostand", equipos móviles que, en itinerancia por todos los países participantes, permitirán aglutinar y difundir todas las actividades y material generado por el proyecto. En este sentido, y como responsable del proyecto en España, sería interesante poder contar con la colaboración de los responsables autonómicos y estatales para la difusión de los resultados, de la misma forma que se ha llevado a cabo la presencia del proyecto TOPPS en la pasada edición de EIMA en Bolonia (Italia), bajo la coordinación del profesor Paolo Balsari de la Universidad de Turín, quien ha contado con la inestimable colaboración de UNACOMA, la asociación nacional de constructores de maquinaria agrícola, para la puesta en marcha del stand en la exposición.

Otra de las acciones en fase de desarrollo es la puesta en marcha de las "demofarm". Como consecuencia de la guía de buenas prácticas fitosanitarias elaboradas, el proyecto ha seleccionado diversas fincas o explotaciones agrícolas representativas de todas las zonas y/o agriculturas representadas, en las cuales está prevista la implementación del material y equipamiento necesario para el desarrollo de demostraciones prácticas. Aspectos como el almacenamiento, el transporte, la preparación del caldo, la calibración, la limpieza del equipo y el posterior manejo de los residuos generados (caldo sobrante, envases vacíos,...) serán tratados y explicados de forma práctica en las explotaciones seleccionadas. Una de las características interesantes, tanto de las "demofarm" como de los "demostand" es que ambos equipamientos estarán a disposición de organismos, instituciones y/o empresas del sector para la organización y desarrollo de actividades formativas.

Por un uso seguro y eficaz de los fitosanitarios

Acciones como la puesta en marcha por el proyecto TOPPS, junto con otras relacionadas con el tema como la inspección de equipos en uso o la

formación de técnicos y usuarios, son claves para la consecución del objetivo general de garantía de un uso seguro y eficaz de los productos fitosanitarios. Y todo ello con la mirada puesta en la recientemente publicada propuesta de Directiva del Parlamento Europeo y del Consejo por la que se establece "un marco para conseguir un uso más sostenible de los plaguicidas reduciendo los riesgos y los efectos del uso de los plaguicidas sobre la salud humana y el medio ambiente, de forma compatible con la necesaria protección de los cultivos".

Para más información:
Emilio Gil
Departamento de Ingeniería Agroalimentaria y Biotecnología
Universidad Politécnica de Cataluña
Tel. +34 93 552 10 99
e-mail: Emilio.Gil@upc.edu
http://www.topps-life.org