

# INCIDENCIA DE *Xylotrechus arvicola* EN EL RENDIMIENTO DE PODA Y EN LA VIDA ÚTIL DE LA VID EN CASTILLA Y LEÓN

Álvaro Rodríguez González

Ingeniero Agrónomo, por la Universidad de León.

Dr. Pedro Antonio Casquero Luelmo

Departamento de Ingeniería y Ciencias Agrarias. Universidad de León.

Dr. Horacio José Peláez Rivera

## RESUMEN:

Los daños producidos por *Xylotrechus arvicola* son visibles tanto por los agujeros producidos por los adultos, como por las galerías ocasionadas por las larvas que además favorecen el ataque de otras enfermedades. Se ha trabajado en aspectos relacionados con su ciclo biológico, en la búsqueda de feromonas y sustancias alimenticias atrayentes para conseguir el control integrado de la plaga y cómo los daños provocados por el mismo afectan al rendimiento de la poda, así como a la vida útil de la vid. Se concluye que es una plaga en la que ocurre el fenómeno de la protandria, siendo la variedad Tempranillo la más afectada, con buenos resultados de capturas de adultos con la combinación de feromonas, atrayentes y deslizantes y observando que la intensidad de ataque es variable en función del ambiente produciéndose grandes daños en los brazos lo que requiere su poda, limitando la vida útil de la vid.

**PALABRAS CLAVE:** coleóptero cerambícido, plaguicida, feromonas, protandria, gestión integrada.

## ABSTRACT:

The damage caused by *Xylotrechus arvicola* are visible both through the holes produced by adults, for the galleries caused by larvae which also favours the attack of other diseases. It has been worked on aspects of their life cycle, in search of attractive pheromones and food substances to achieve the integrated pest control and how the damage caused by the same affect the performance of the pruning, as well as life the vine. We conclude that it is a blight on the occurrence of the phenomenon of protandry, being the most affected Tempranillo, with good catches of adults results with the combination of pheromones, attractants and sliding and noting that the intensity of attack is variable function of the plot produced extensive damage in the arms required for their pruning, limiting the life of the vine.

**KEY WORDS:** cerambycid beetle, pesticides, pheromones, protandry, integrated management

## 1. INTRODUCCIÓN

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

### 1.1. Morfología

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

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



Figura 1: Adultos de *Xylotrechus arvicola*. Izquierda (Macho), derecha (Hembra).

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

Los huevos (Figura 2a) son de color blanquecino o crema bastante homogéneo y alargados, con una longitud media en torno a 1,8 mm y una anchura media de aproximadamente 0,7 mm (Moreno, 2005).



Figura 2: Huevos (a), larva (b) y estadio pupal (c) de *Xylotrechus arvicola* en sustratos de puesta

Las larvas (Figura 2b) son ápodas, blancas y troncocónicas, de un tamaño medio de unos 22 mm en el último estadio, aunque pueden llegar a los 32 mm (Moreno *et al.* 2003). La cápsula cefálica, muy embutida en el protórax, es de color blanquecino con la parte anterior fuertemente esclerotizada. Las antenas son triarticuladas y las mandíbulas, robustas de color marrón rojizo con puntas redondeadas (Moreno, 2005).

Las pupas (Figura 2c) son exaratas, de color crema y ligeramente ovaladas, de unos 17,5 mm de tamaño medio. Presentan fuertes espinas en el séptimo segmento abdominal (Moreno, 2005).

## 1.2. Biología

Esta especie es esencialmente xilófaga. Las larvas se alimentan de madera sana, muerta o enferma, algunas especies viven en el interior de los tallos de las plantas herbáceas o incluso en los rizomas y fascículos radiculares de diversas plantas. Muy pocas especies ibéricas pueden vivir sobre madera viva (Moreno, 2005).

El ciclo biológico de *Xylotrechus arvicola* dura como máximo dos años (Vives-Noguera, 2000). La emergencia de adultos es muy escalonada y se produce principalmente entre finales de marzo y finales de julio, coincidiendo con la subida de temperatura. El pico de máximo vuelo suele producirse en los meses de mayo y junio, observándose un mayor número de machos en los primeros días. Se mueve, principalmente, entre la vegetación y las flores, pero tiene capacidad para dar vuelos cortos. (García Ruiz, 2005).

Después de la cópula, pocos días tras la emergencia, realizan la puesta. Los huevos se concentran en rendijas de la madera de plantas leñosas o debajo del ritidoma (Peláez *et al.* 2002). La localización de la puesta facilita que las larvas emergentes no tengan problemas para introducirse en la madera y realizar galerías hacia el interior de la planta. (García Ruiz, 2005).

La fase larvaria tiene una duración media de dos años en condiciones de campo, aunque puede reducirse a la mitad en condiciones controladas de laboratorio. A medida que las larvas van realizando las galerías las van taponando por detrás con serrín y restos propios. Aún no se conoce el número exacto de estadios larvarios, posiblemente entre 6 y 8, aunque se cree que pueda ser variable, como ocurre en otras especies de la misma familia (Adachi, 1988).

Permanecen alimentándose de la madera en los brazos, el tronco e incluso en algunos casos en la zona del patrón, durante aproximadamente dos años en condiciones de campo, realizando galerías, en sentido horizontal o vertical, ascendente o descendente, en madera sana o afectada (Moreno, 2005).

Transcurrido ese tiempo excavan la cámara ninfal, una galería de una anchura mayor que el resto, limpia de serrín y conectada con el exterior. (García Ruiz, 2005) (Figura 3)



Figura 3: Detalle de cámara ninfal (Dcha.) con orificio de salida hacia el exterior. (Izq.)

Ahí la larva se transforma en pupa y permanece hasta convertirse en adulto, que emerge una vez que se ha quitinizado y melanizado correctamente, entre 20 y 30 días después. Este periodo se alarga desde finales del invierno hasta poco antes de la emergencia de los últimos adultos, en verano (Moreno, 2005).

Por tanto, durante los meses de abril, mayo y junio pueden verse simultáneamente en el campo y en el laboratorio los cuatro estados de desarrollo de la especie.

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

## 1.3. Distribución

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

Especie típicamente holomediterránea, se encuentra distribuida por Europa, Asia Menor hasta Irán y norte de África (Villiers, 1978). Es común en toda la Península (aunque más abundante en la parte norte) y en las Islas Baleares (García Ruiz, 2005).

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

Desde mitad de los años 90 viene siendo detectada como causante de graves daños sobre parcelas de vid en diferentes zonas vitícolas españolas. El mayor nivel de infestación se produce en viñedos situados cerca de formaciones boscosas cercanas a ríos, sobre todo con presencia de *Populus*, que actúan como reservorio de individuos (Ocete & Del Tío, 1996).

En 1996 ya se citaba su presencia en La Rioja Alta y Alavesa (Ocete & Del Tío, 1996; Ocete & López, 1999), y en Navarra se han observado parcelas con un 81% de cepas infestadas (Ocete *et al.* 2002). En 1997 se detectaba en Castilla-La Mancha (Rodríguez & Ocaña, 1997) y posteriormente en Castilla y León (Ocete & López, 1999, Peláez *et al.* 2001), donde en los últimos años se ha producido un fuerte incremento en el número de parcelas afectadas (Moreno *et al.*, 2004a).

Se considera que es una plaga en progresión, ya que se ha producido un importante aumento en el número de parcelas y cepas afectadas en pocos años, incluso tratándose de viñedos jóvenes (García Ruiz, 2005).

#### 1.4. Síntomas y Daños

Los síntomas visibles de la presencia del coleóptero en un viñedo son las galerías producidas por las larvas, que se observan en los cortes de poda, y los orificios de emergencia de los adultos, circulares y de unos 5 mm de diámetro (Figura 4). Las galerías pueden estar rellenas de serrín de color blanquecino si son del año, debido a que el insecto ha discurrido por allí recientemente, o bien están ennegrecidas o vacías por el viento o lluvia cuando son galerías viejas (Peláez *et al.*, 2006).

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

Un síntoma que manifiesta la presencia de *X. arvicola* en un viñedo es el alto número de cepas con brazos o sarmientos quebrados, y nuevas redirecciones en formaciones (vaso ó espaldera) de cepas muy afectadas (García Ruiz, 2005).

Si existe una alta infestación, se puede producir la rotura de brazos y tronco como consecuencia de la pérdida de resistencia mecánica y la muerte precoz de la planta. (Figura 4)



Figura 4: Detalle de orificios de emergencia de adultos en viñedo y rotura de brazos (Formación en vaso)

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

Si la cepa se ve afectada durante varios años, el desarrollo foliar se vuelve escaso y los sarmientos poco vigorosos y productivos

(Moreno *et al.*, 2004). Los racimos son más pequeños, tanto en longitud como en número de flores, además de que éstas se desprenden más fácilmente (Ocete *et al.*, 2002). (Figura 4).

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

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

#### 1.5. Métodos de Control

A día de hoy, los viticultores no disponen de herramientas eficaces para combatir la plaga. Las larvas, por su situación en el interior de la madera, quedan inaccesibles a un control eficaz con insecticidas, así como a la acción mecánica, por la dificultad de localizarlas. En principio, es poco previsible un resultado eficaz de los tratamientos sobre los adultos por tener un patrón de emergencia tan escalonado en el tiempo (García Ruiz, 2005).

Aún no se ha aislado ninguna feromona que pueda ser utilizada en la monitorización o en control mediante trapeo masivo de esta especie, como ocurre con otras especies del mismo género, como *Xylotrechus quadripes* Chevrolat 1863 (Hall *et al.* 2006), *Xylotrechus pyrrhoderus* Bates 1873 (Sakai *et al.* 1984) o *Xylotrechus chinensis* Chevrolat 1852 (Kuwahara *et al.*, 1987), (García Ruiz, 2005).

Se conoce poco sobre los posibles organismos a utilizar en el control biológico de *X. arvicola*. Vives-Noguera (2000) afirma que sus larvas suelen ser parasitadas por los icneumonidos *Xorides filiformis* Gravenhorst 1829 (Hymenoptera: Ichneumonidae) y *Xorides rufipes* Gravenhorst 1829 (Hymenoptera: Ichneumonidae) y por el braconido *Doryctes leucogaster* Nees 1834 (Hymenoptera: Braconidae). Sin embargo, no se le conocen parasitoides de huevos y, más allá de la detección del hongo *Beauveria bassiana* (Balsamo.-Criv.) Vuillemin 1912 (Hypocreales: Clavicipitaceae) en individuos muertos (García-Calleja & Sánchez-Urraca, 2002), se desconoce el efecto que pueden tener los patógenos más comúnmente utilizados en la lucha biológica contra larvas, pupas o adultos (García Ruiz, 2005).

La búsqueda de feromonas (atrayentes sexuales) y sustancias alimenticias atrayentes se ha planteado en distintos proyectos. La intención es conseguir alguna sustancia que atraiga a los adultos y así poder, en primer lugar, estimar las poblaciones y después aplicar técnicas de captura masiva que disminuyan el apareamiento y las puestas de huevos. A pesar del esfuerzo realizado los resultados han presentado escasa eficacia hasta el momento (Moreno, 2005).

La DIRECTIVA 2009/128/CE del Parlamento Europeo y del Consejo de 21 de octubre de 2009 establece el marco de la actuación comunitaria para conseguir un uso sostenible de los plaguicidas.

El objeto de la presente Directiva es establecer un marco para conseguir un uso sostenible de los plaguicidas mediante la reducción de los riesgos y los efectos del uso de los plaguicidas

en la salud humana y el medio ambiente, y el fomento de la gestión integrada de plagas.

### 1.5.1. Control químico

Los estados más susceptibles de la especie son los huevos, aunque estén generalmente protegidos por la corteza, y los adultos. Las larvas, una vez que se introducen en la cepa, son inaccesibles a los compuestos químicos. Se han probado distintos productos insecticidas, todos inhibidores del crecimiento de los insectos, con resultados prometedores (Moreno, 2005).

### 1.5.2. Otros métodos

Existen una serie de medidas, aconsejables que pueden tener un control indirecto sobre la plaga (Peláez *et al.*, 2006) como: la evaluación de la presencia del coleóptero en el viñedo; el descortezado de las cepas, con lo cual se conseguirá una mayor dificultad en la hembra a la hora de realizar la puesta de huevos; la poda de eliminación, en la cual debemos ser capaces de eliminar toda la madera que presente síntomas de daños; la colocación de evolucionarios en campo, donde colocaremos madera infectada por la plaga, que nos indicarán las fechas en las que se han ido produciendo la emergencia de los adultos. Además se debe tener en cuenta las variedades de los viñedos, siendo Tempranillo una variedad muy sensible a la plaga.

Los objetivos que se plantean para este proyecto son:

- Estudiar si en la biología de la plaga de *Xylotrechus arvicola* ocurre el fenómeno de la protandria.
- De dos variedades estudiadas (Tempranillo y Cabernet-Sauvignon) estimar cuál es la variedad más sensible al ataque de la plaga.
- De cinco tipos de feromonas o combinaciones de feromonas, cuáles son más efectivas para la captura de adultos en campo.
- Que parte de la planta (Brazo, Cruz y Tronco) se ve más afectada por la plaga y cuáles son las consecuencias en el rendimiento de la poda y en la vida útil de la vid.

## 2. MATERIAL Y MÉTODOS

### 2.1. Obtención, identificación y clasificación de adultos de *Xylotrechus arvicola*

#### 2.1.1. Obtención de adultos a partir de madera de viñedo infectada

La población de *Xylotrechus arvicola* se inició en el mes de Abril de 2010, a partir de adultos que emergieron de madera de vid infestada, procedente de parcelas de las Denominaciones de Origen de Ribera de Duero y Toro. Esta madera fue mantenida en evolucionarios, consistentes en cajas de plástico de 55 x 40 x 35 cm (largo-ancho-alto), todo ello recubierto por malla anti-pulgón, para facilitar la captura de los adultos emergidos. (Figura 5)

Dichas cajas se colocaron en 4 repeticiones, con 2 variedades (Tempranillo y Cabernet-Sauvignon) y 3 partes de planta (Brazo, Cruz y Tronco), es decir, 6 cajas por repetición, las cuales se colocaban de forma aleatoria, tras habérselas asignado numeración.



Figura 5: Detalle de evolucionario para obtención de adultos a partir de madera infectada.

Dichos evolucionarios se colocaron en el exterior simulando las condiciones de campo, mediante sombreado y orientación Oeste-Este. Con revisiones diarias de abril a junio se supervisaban las emergencias. Al mismo tiempo que se anotaban las emergencias de adultos, se tapaban los orificios con plastilina y de este modo podía saberse cuáles eran los orificios nuevos.

Los adultos obtenidos se emparejaban, previa identificación de sexos, color del fémur en machos, y ovipositor en hembras, (Moreno, 2005), en botes cilíndricos de cristal, de 10 cm de diámetro con la tapa perforada (varios orificios de 2 mm de diámetro), con papel de filtro en el fondo, sobre el que se colocaban bebederos con algodón impregnados en hidromiel (solución de miel ecológica al 10% en agua destilada) y sustratos de puesta, consistentes en tiras de cartón ondulado (12 x 4 cm largo-ancho) enrollados sobre sí mismos.

Los botes con los adultos se mantuvieron en una cámara visitable (Fitotron) con condiciones controladas de temperatura ( $24 \pm 1^\circ\text{C}$ ) y humedad ( $60 \pm 5\%$ ) y se sometieron a un fotoperiodo (16:8). Estas condiciones que se mantuvieron para el resto del proceso de cría, haciendo coincidir el periodo de luz con el día natural, para facilitar el manejo.

Diariamente se cambiaban los algodones con la solución de hidromiel para evitar la proliferación de hongos y se limpiaban las cajas y sus tapas con ayuda de papel estéril. Los sustratos de puesta y las bases de papel de filtro se revisaban y las puestas se recortaban. Los huevos puestos se guardaban en placas Petri de 90 mm de diámetro.

Las placas se cubrían con papel de aluminio para asegurar una oscuridad total. Se revisaban diariamente hasta que se completaba la eclosión de todos los huevos, anotándose cuántos de ellos eclosionaban cada día y cuántos eran descartados al final. Igualmente, se anotaban los datos de fecundidad y longevidad de los adultos.

#### 2.1.2. Aplicación de técnicas de captura de adultos en campo

Las parcelas donde se han realizado las pruebas de campo, en las que se colocaron los difusores con feromonas, se ubicaban en parcelas de la D.O. Ribera de Duero (Formación en espaldera) y de la D.O. Toro (Formación en vaso) (Figura 6).

El método de captura utilizado consiste en una trampa de intercepción que posee dos placas verticales al suelo y en forma de cruz entre ellas, con un recipiente con embudo para la recogida de los adultos que interceptan en la trampa, atraídos o no por la combinación-formulado de atrayentes, deslizante y feromona

Cinco son los atrayentes-feromonas o combinaciones de los mismos que se han evaluado para la captura de adultos en condiciones de campo para el control integrado de la plaga. Los tipos de atrayentes-feromonas o combinaciones de estos utilizados en dichas pruebas, se especifica en la Tabla 1.

Tabla 1: Potenciales combinaciones - formulados de atrayentes, deslizante y feromona

Nº Feromona	Combinación
1	Feromona + Deslizante
2	Feromona
3	Testigo + Deslizante
4	Atrayente + Feromona + Deslizante
5	Feromona + Deslizante



Figura 6: Trampas colocada en viñedos  
(Izq: Formación en Vaso, D.O.Toro;  
Dcha: Formación en Espaldera, D.O.Ribera de Duero)

Para el cambio de las sustancias volátiles utilizadas en los distintos tipos de feromonas, se siguió la pauta de cambios de la feromona 4 cada 5 días, pipeteando 1ml de dicha sustancias, y para las feromonas 1, 2 y 5, que poseen saquitos, cada 10 días, la misma cantidad, 1ml.

La revisión de las trampas en campo se realizaba cada dos días, anotando el número de ejemplares capturados, los vivos se enviaban hacia el laboratorio y los fallecidos, se anotaban, pero no se enviaban. Dichas revisiones se realizaban siempre a primera hora de la mañana, tras la cual se procedía a la clasificación previa identificación de sexos, color del fémur en machos, y ovipositor en hembras (Moreno, 2005).

Una vez que dichos adultos llegaban al laboratorio se realiza el mismo procedimiento descrito en el apartado 2.1.1.

## 2.2. Cría en laboratorio de larvas de *Xylotrechus arvicola*

Las larvas neonatas (< 24 h) se recogían diariamente de las placas Petri (Figura 9) y eran trasladadas a la dieta artificial lo antes posible, para evitar una alta mortalidad (junio de 2010).

La dieta se cortaba en pequeños trozos que se introducían en botes cilíndricos de plástico de 3 cm de diámetro y 4 cm de alto. Esta dieta se presionaba con ayuda de toallitas de papel estériles, distribuyéndola en toda la caja y eliminando el exceso de humedad.

Con ayuda de un escalpelo se practicaba un surco central en la superficie para favorecer la penetración de la larva neonata. Con un pincel se colocaban las larvas neonatas de forma individualizada en cada caja y se colocaba un disco de papel de filtro estéril de 3 cm de diámetro encima de la dieta con la larva con el fin de absorber la posible condensación de humedad y a la vez reproducir el hábitat que tienen las larvas neonatas en la naturaleza, ya que suelen eclosionar debajo de la corteza. Los botes colocados en una bandeja por fechas de nacimiento y datos de los parentales, eran cubiertos con una tapa de cartón para asegurar la oscuridad.

Se realizaban revisiones semanales de cada uno de los botes con larvas, en los que se eliminaba el exceso de humedad y se anotaba la mortalidad que se iba produciendo, tras un mes, si las larvas ya habían alcanzado una longitud considerable, se transferían a botes cilíndricos de plástico de 4,5 cm de diámetro y 6,5 cm de alto.



Figura 8:(a) Reposición de dieta en larvas tras primer mes de vida. (b) Detalle de ingesta de recipientes por parte de las larvas

Estos botes se rellenaban de dieta de la misma manera que las utilizadas para larvas neonatas, con la excepción de que sólo se rellenaban hasta la mitad de su capacidad. Con una espátula se practicaba un surco en la parte central de la dieta ya presionada y se introducía una larva con ayuda de pinzas blandas.

Otro motivo por el cual se debían cambiar los botes cilíndricos en los primeros estadios larvarios era la alta voracidad de las larvas, que llegaban a comer el propio envase que las confinaba. (Figura 8).

La dieta de las larvas se cambiaba cada mes. Las cajas se revisaban dos veces por semana secando la humedad que se condensaba en la tapa y el interior de las paredes y se anotaba la mortalidad que se iba produciendo. Transcurridos entre 9 y 10 meses desde la eclosión (abril 2011) las larvas dejaban de comer, lo que indicaba que estaban entrando en diapausa. En ocasiones, algunas larvas no entraban en diapausa, sino que pupaban directamente. Las larvas diapausantes se sometían durante 45 días a un periodo de frío, dentro de una cámara frigorífica a  $8 \pm 1^\circ\text{C}$  de temperatura y en oscuridad.

Después del tratamiento de frío, se volvían a colocar a las mismas condiciones que tenían antes, hasta su pupación. Durante esta etapa se anotaba la mortalidad larvaria que iba teniendo lugar. Las larvas empezaban a prepupar aproximadamente 1 mes después de sacarlas del frío. Las prepupas se estiraban y se volvían rígidas, empezando a presentar poco tiempo después unos movimientos rotatorios característicos. Se produce un engrosamiento en la parte central del abdomen y los segmentos del tórax se vuelven translúcidos. (Figura 9).



Figura 9: Evolución morfológica entre prepupa (a), pupa (b) y adulto (c, d) de *Xylotrechus arvicola*

En cajas idénticas a las usadas para el desarrollo larvario se rodeaban las pupas con papel absorbente. De esa manera se mantenían hasta la completa esclerotización y melanización del adulto, anotándose la mortalidad que iba teniendo lugar.

La determinación del sexo se realiza en estos momentos (Figura 9 c,d), ya que es posible distinguir claramente el color claro de los fémures de las hembras del color pardo oscuro, casi negro, de los machos (Moreno, 2005).

La composición de la dieta artificial para la cría se especifica en la Tabla 2:

Tabla 2: Composición de la dieta artificial Semisintética de Iglesias (SSI)

Ingredientes	Cantidad (1.044,72 g)	Cantidad (500g)
Serrín de roble (g)	151,80	75,90
Levadura de cerveza (g)	33,00	16,50
Sémola /Harina de maíz (g)	66,00	33,00
Germen de trigo (g)	122,00	61,00
Etanol 70 % (ml)	37,50	18,75
Nipagina (metil-p-hidroxibenzoato) (g)	3,75	1,87
Ácido benzoico (g)	3,00	1,50
Ácido ascórbico (g)	1,80	0,90
Agar (g)	30,00	15,00
Agua destilada (ml)	600,00	300,00

- La base de la dieta es el agar, para dar cuerpo y facilitar el manejo de la misma

- El ácido ascórbico, es un factor de crecimiento necesario para un desarrollo adecuado de insectos fitófagos (Chippendale & Beck, 1964).
- El serrín de roble actúa como fagoestimulante, por ser extracto o parte de la planta hospedadora natural (Necibi & Linit, 1997) y como promotor del crecimiento.
- El aporte de minerales se realizó mediante germen de trigo.
- La levadura de cerveza, es fuente de micro y macronutrientes necesarios para algunas especies de insectos (Tsitsipis, 1989), al igual que la sémola de maíz
- Tanto la nipagina como el ácido benzoico se incorporaron con el fin de inhibir el crecimiento de levaduras, bacterias y hongos filamentosos en las dietas.

En autoclave, se esteriliza serrín de roble, levadura de cerveza, sémola de maíz y germen de trigo, a 120°C durante 20 minutos en vasos de precipitados de cristal cerrados con papel de aluminio. A la vez se prepara una solución antifúngica de nipagina (metil-p-hidroxibenzoato), disolviéndola en etanol mediante un agitador magnético y una vez disuelto el primero, se añade ácido benzoico y se vuelve a agitar hasta su disolución completa.

En un vaso de precipitados de cristal, se homogenizan agua destilada, agar y la solución de nipagina con el ácido benzoico. La mezcla se calienta a continuación en un agitador magnético hasta que comienza la ebullición, se retira de la fuente de calor, y se deja descender la temperatura de la mezcla por debajo de 60°C, momento en el cual se añade el ácido ascórbico. Finalmente, toda la mezcla se homogeniza con una batidora eléctrica y el contenido se vierte en placas Petri de 90 mm de diámetro.

Utilizando papel absorbente se presiona el conjunto para distribuir mejor el contenido y reducir el nivel de humedad. La dieta así obtenida, se deja enfriar hasta temperatura ambiente y las cajas se tapan, fechan y guardan en frigorífico a  $4 \pm 1^\circ\text{C}$ .

La periodicidad de cambio se determinó por ensayos previos en función del grado de contaminación, del grado de deterioro o de las condiciones de la propia dieta artificial. Se llegó a la conclusión de que el cambio se realizaría cada mes, ya que en periodos superiores perdían su textura al secarse en exceso. Por ese motivo, se optó por realizar el cambio de dieta después de un mes, o bien antes, cuando se observaba que las larvas roían los envases, que las contenían, ya que había alto riesgo de contaminación o de escape de la propia larva.

Para la evaluación de la dieta cuya finalidad era conseguir adultos para realizar bioensayos, se emplearon 87 larvas iniciales, de las cuales 34 larvas, completaron el ciclo larvario y pupal en perfectas condiciones, llegando a obtener de ellas adultos nuevamente, y cerrando el ciclo nuevamente.

Esto confirma lo anteriormente comentado por algunos autores (Galford, 1985; Linit, 1985), que han demostrado la reducción del ciclo de vida del insecto al usar dietas artificiales, y que los cerambícidos son un grupo que presenta dificultades en su cría en laboratorio y que vienen condicionados por una alta tasa de mortalidad en el estado larvario (de 87 larvas iniciales a 34 larvas finales) y ciclos biológicos muy largos.

Se obtuvieron 18 machos y 16 hembras, que fueron sometidos a bioensayos para la obtención de feromonas para el control biológico de la especie.

### 2.3. Sintetización de feromonas para control biológico de la plaga mediante confusión sexual

Los adultos obtenidos en condiciones controladas de laboratorio y mantenidos mediante dieta artificial durante los 9-10 meses de estadio larvario se clasificaron por sexos, manteniéndose en tubos separados.

Para la colección de feromonas (machos), se eligieron 10 adultos machos vírgenes que se introdujeron individualmente en un matraz aforado de 2 litros de capacidad que contenía un papel de filtro (15 cm de diámetro). El aire a introducir en el matraz se elaboró a través de un filtro de carbón activo, (10 x 2 cm; 10–18 mesh) y 2 l/min<sup>-1</sup> y los compuestos volátiles quedaron atrapados en un filtro de Porapak (50-80 malla), para posteriormente ser introducidos en pipetas con tapones de lana de vidrio. El filtro Porapak se purificó por extracción Soxhlet con cloroformo durante 8 horas, y los filtros se lavaron bien con diclorometano antes de su uso (Hall *et al*, 2006).

Para la colección de feromonas (hembras), se eligieron nuevamente 10 adultos hembras vírgenes, que se consiguieron en las mismas condiciones. Para la obtención de las sustancias volátiles, se mantuvo a las hembras en contacto con diclorometano (3 x 0,5ml) durante 24-72 horas o bien alternativamente con CDCl<sub>3</sub> (1 ml) y éter (1 ml) para la resonancia magnética nuclear (RMN) o el análisis de microreducción, respectivamente (Hall *et al*, 2006).

De los 10 adultos machos que se obtuvieron en tubos separados, se procedió al lavado de los envases, a partir de los cuales, en un erlenmeyer (250 ml de capacidad) y con un papel de filtro (7 cm de diámetro) se sacó los adultos, después de haber permanecido allí durante 48 horas, dichos recipientes y el papel de filtro se lavaron con hexano (5 + 5 ml) (Hall *et al*, 2006).

Se procedió a la colocación de los adultos en hexano (2,5 ml) durante 3 horas posteriores a la puesta de sol. Después de 10 minutos, se procedió a la eliminación del disolvente, cuyo residuo se lavó con una cantidad adicional de hexano (1 ml) (Hall *et al*, 2006).

## 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 3.1. Obtención, identificación y clasificación de adultos de *Xylotrechus arvicola*

#### 3.1.1. Obtención de adultos a partir de madera de viñedo infectada

En la figura 10 se muestra la evolución temporal de emergencia de machos y hembras en el ensayo realizado en laboratorio a partir de madera infectada:

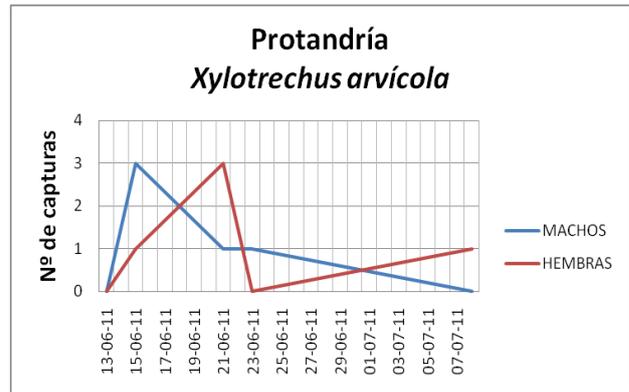


Figura 10: Evolución temporal de emergencia de machos y hembras.

Se pone de manifiesto el fenómeno de la protandría, pues emergen en primer lugar los adultos macho antes que las hembras, en emergencias escalonadas, y que al final del periodo de emergencia predominan las hembras, lo que coincide con lo observado por otros autores (García Ruiz, 2005).

Las horas en las que se realizaban las búsquedas de adultos en los evolucionarios, era en el ocaso de la tarde, puesto que antes los adultos permanecían inactivos, lo que nos indica que sus vuelos eran crepusculares.

En la figura 11 se muestran las diferencias significativas para la emergencia de adultos entre las variedades Tempranillo, con 10 adultos emergidos y la variedad Cabernet-Sauvignon en la que no emergió ningún adulto, siendo la madera en ambos casos procedentes de la misma parcela.

Esto coincide con lo observado por otros autores, (Moreno, 2005), en los que comenta que la variedad Tempranillo (Tinta del País o Tinta de Toro), ha presentado niveles similares de incidencia independientemente de su localización geográfica, en otras Denominaciones de Origen o Asociaciones de Vinos de la Tierra en Castilla y León. Las variedades Viura, Garnacha y Cabernet-Sauvignon han presentado también niveles de colonización, pero no tan elevados como la Tempranillo. En el lado de las poco colonizadas o afectadas destaca la Mencía. .

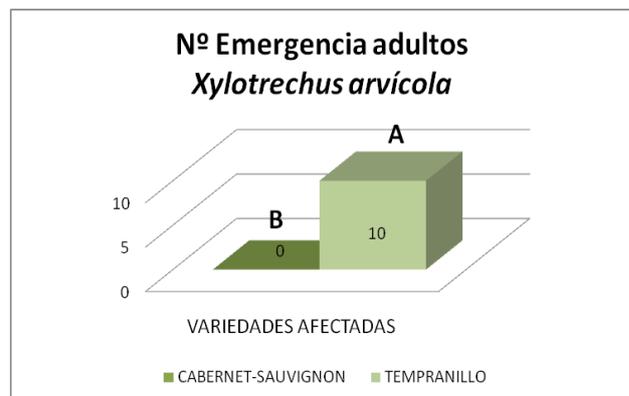


Figura 11: Emergencia de adultos en las variedades Tempranillo y Cabernet-Sauvignon

En la figura 12 se observan las diferencias entre las diferentes partes de la planta introducidas en los evolucionarios:

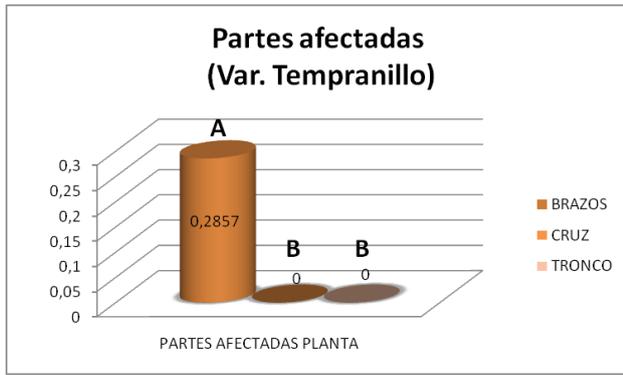


Figura 12: Emergencia de adultos en las diferentes partes de la planta

Se observa que hay diferencias significativas de la parte de la planta (Brazo), con respecto al resto de partes (Cruz y Tronco). Dichas cepas procedían de viñedos cuya formación era en espaldera. El elevado número de emergencias producido en los brazos, requiere una supresión del brazo afectado, lo que conlleva un menor rendimiento de poda y una reducción en la vida útil de la vid.

Estos datos corroboran los expuesto por otros autores (García Ruiz, 2005), quien cita que los síntomas iniciales que se manifiestan en un viñedo por la presencia de *X. arvicola*, es el alto número de cepas con brazos o sarmientos quebrados. En cepas muy afectadas, los daños aparecen en cruz y tronco, teniendo que hacer redirecciones en formaciones (vaso o espaldera).

### 3.1.2. Aplicación de técnicas de captura de adultos en campo

Los datos de las capturas de adultos en campo en la D.O. Ribera de Duero, aparecen en la figura 13:

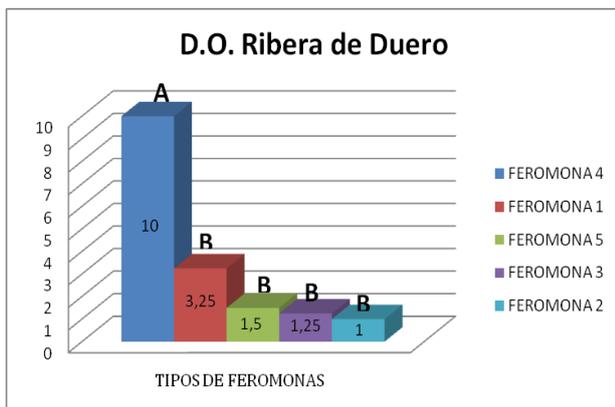


Figura 13: Captura de adultos en campo con los tratamientos de feromonas usados en la D.O. Ribera de Duero

Los datos de las capturas producidas en la D.O. Ribera de Duero, muestran diferencias significativas entre las capturas con la feromona 4 con respecto al resto de tratamientos ensayados (1, 5, 3 y 2) lo que indica que la feromona más efectiva en D.O. Ribera de Duero corresponde al tipo 4 (Atrayente + Feromona + Deslizante).

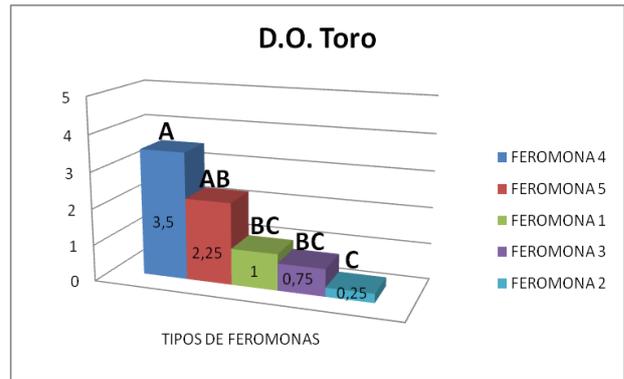


Figura 14: Captura de adultos en campo con los tratamientos de feromonas usados en la D.O. Toro.

Observando los datos de las capturas producidas en D.O. Toro (Figura 14), se aprecia que existen diferencias significativas entre las capturas con la feromona 4 con respecto a la feromona 2, pero no con el resto de feromonas 5, 1, 3; y a su vez, la feromona 5, tiene diferencias significativas con respecto a la feromona 2, pero no con el resto de feromonas 1 y 3.

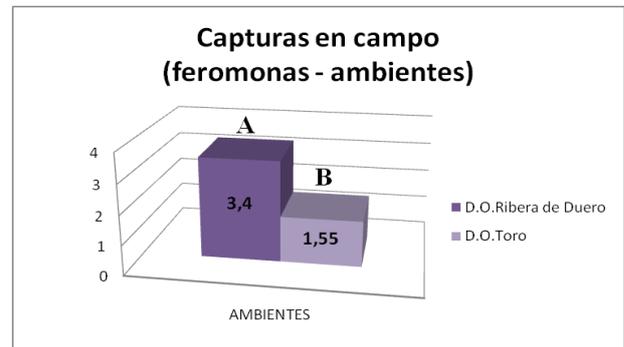


Figura 15: Captura de adultos en campo entre ambientes

La figura 15 muestra el mayor número de capturas en la D.O. Ribera de Duero, pues la incidencia a nivel de parcela es variable como lo demuestran los datos, siendo mayores en la parcela de la D.O. Ribera de Duero que en la parcela de D.O. Toro. Similar comportamiento al detectado en la D.O. Ribera de Duero se observó en la D.O. Cigales, (Moreno, 2005), donde la plaga mostró un intenso ataque durante los años 2005 al 2007.

### 3.2. Cría en laboratorio de larvas de *Xylotrechus arvicola*

A la hora de elegir las larvas de las parejas que se iban a destinar a cría en laboratorio, se optó por aquellas parejas cuya prolificidad superase el 80%.

De los datos obtenidos de la cría en laboratorio se deduce en primer lugar, la variación de fecundidad en función de las parejas establecidas, y de la viabilidad de las puestas que han realizado. Se dan los casos de ser muy prolíficos y diferentes grados de viabilidad, y por el contrario ser menos prolíficos y una viabilidad de sus puestas del 100% o cercanas.

Tabla 3: Parejas de *Xylotrechus arvicola* destinadas a obtención de huevos para cría de larvas con dieta artificial.

Proc <sup>1</sup>	H.Tot <sup>2</sup>	H.Día <sup>3</sup>	H.Ecl <sup>4</sup>	%Prolif <sup>5</sup>
VA	34	3,78	25	73,53
<b>VA</b>	<b>178</b>	<b>4,34</b>	<b>144</b>	<b>80,90</b>
<b>VA</b>	<b>23</b>	<b>0,52</b>	<b>23</b>	<b>100,00</b>
VA	338	5,45	211	62,43
VA	17	0,41	5	29,41
<b>VA</b>	<b>6</b>	<b>0,55</b>	<b>5</b>	<b>83,33</b>
VA	72	2,48	46	63,89
VA	42	1,68	14	33,33
VA	19	0,53	11	57,89
VA	4	1,33	2	50,00
ZA	32	5,33	5	15,63
<b>ZA</b>	<b>1</b>	<b>0,33</b>	<b>1</b>	<b>100,00</b>
<b>ZA</b>	<b>21</b>	<b>0,32</b>	<b>19</b>	<b>90,48</b>
<b>HIBR</b>	<b>33</b>	<b>11,00</b>	<b>32</b>	<b>96,97</b>
<b>HIBR</b>	<b>43</b>	<b>7,17</b>	<b>39</b>	<b>90,70</b>
HIBR	26	0,60	11	42,31
<b>HIBR</b>	<b>45</b>	<b>9,00</b>	<b>39</b>	<b>86,67</b>

<sup>1</sup> = Procedencia, <sup>2</sup> = Huevos Totales, <sup>3</sup> = Huevos Día, <sup>4</sup> = Huevos Eclosionados, <sup>5</sup> = %Prolificidad

En segundo lugar, se observa que hay un control natural de la especie, no todos los adultos que emergen son capaces de procrearse en gran número o simplemente procrearse, y si se procrean, varía la viabilidad de sus puestas y de las larvas que emergen. Las razones: disponibilidad de alimento, condiciones de temperatura y humedad durante su ciclo, momento en que emergen los adultos.

Dicho control natural de la especie es un factor importante a resaltar a la hora de denominar a este insecto como plaga o potencial plaga, su procreación tiene muchos factores limitantes.

Una cuestión a reseñar es que al cruzar ejemplares de diferentes localizaciones, la viabilidad de las puestas hechas en el conjunto general de los cruces es muy alta.

### 3.3. Sintetización de feromonas para control biológico de la plaga mediante confusión sexual

La identificación y la síntesis de la feromona sexual masculina de *Xylotrechus arvicola* podría proporcionar la base para el desarrollo de un sistema de control de esta plaga, con el fin de determinar, su distribución, y control (Hall *et al.*, 2006).

La utilización de trampas impregnadas con tales feromonas, proporcionará un método para el control de esta plaga, para conseguir densidades bajas de machos, lo cual redundará en la cópula de adultos y en la puesta de huevos.

El (S)-2-hidroxi-3-decano se ha identificado como el principal componentes de la feromona sexual masculina de *Xylotrechus quadripes* en la India (Hall *et al.*, 2006). La síntesis de feromonas sería el siguiente paso del proyecto basado, en el procedimiento usado por (Hall *et al.*, 2006), para la obtención del (S)-2-hidroxi-3-decano como el principal componentes de la feromona sexual masculina de *Xylotrechus quadripes*.

La obtención en laboratorio de adultos de *Xylotrechus arvicola*, permite formar parejas desde su día cero de vida, con lo cual se estima cuando se producen las mayores ovoposiciones por parte de la hembra, a partir de esos huevos, cuando comienza el nacimiento de las larvas, y a partir de qué fechas esos huevos dejan de ser fértiles, y disminuye el riesgo en el viñado.

En la figura 16 se muestran los huevos (eclosionados y no) y larvas a partir de una pareja procedente de D.O. Ribera de Duero.

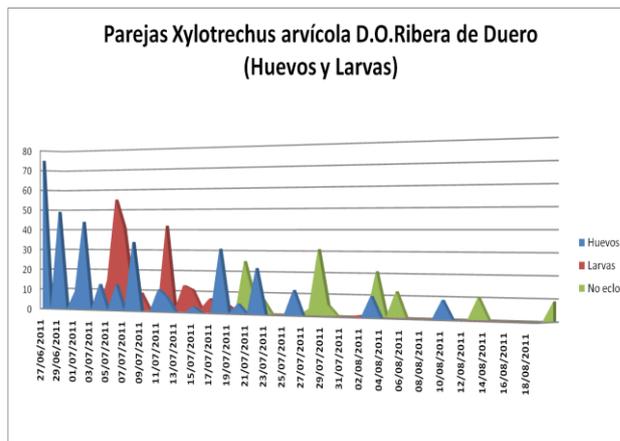


Figura 16: Huevos (eclosionados y no eclosionados) parejas con procedencia D.O. Ribera de Duero.

En D.O. Ribera de Duero se observa que las hembras comienzan a poner huevos, en número considerable (75 huevos) de los cuales se consiguen tras 8 días en condiciones controladas 55 larvas, esto corrobora lo descrito por otros autores, que observan que la mayor actividad de los adultos se desarrolla a finales de junio. A medida que avanza el tiempo de vida de la pareja, se detecta una menor puesta de huevos, la mayoría de los cuales no son viables.

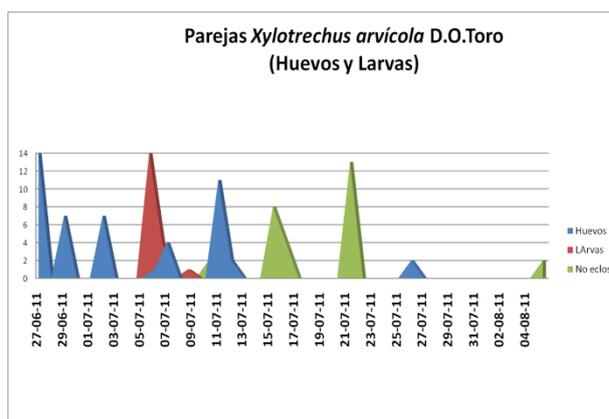


Figura 17: Huevos (eclosionados y no eclosionados) parejas con procedencia D.O. Toro

En D.O. Toro (Figura 17) se observa que las hembras no realizan ovoposiciones tan grandes como en el otro ambiente (14 huevos), pero sí que se consiguen un gran éxito en cuanto a eclosiones, llegando a rozar el 100% de los mismos.

Tras la realización de lo anteriormente descrito tanto en pruebas de laboratorio como en campo, y tras haber obtenido una combinación-formulado de atrayentes, deslizante y feromonas que ha obtenido buenos resultados en capturas de campo, unido a los resultados iniciales obtenidos, se continuará para obtener más resultados que nos lleven a un mejor conocimiento de la especie mediante la realización de ensayos de campo (los ensayos de campo se llevan a cabo en parcelas ubicadas dentro de las D. O. Ribera de Duero y Toro) y bioensayos tal como proponen (Hall *et al.*, 2006).

#### 4. CONCLUSIONES

Se trata de una especie plaga en la que ocurre el fenómeno de la protandria, es decir, emergen en primer lugar los adultos macho antes que las hembras, en emergencias escalonadas, y al final del periodo de emergencia, predominan las hembras.

La variedad Tempranillo-Tinta del País-Tinta de Toro, por su mayor representatividad y presencia en las parcelas estudiadas es la más afectada.

Se obtienen resultados alentadores en la combinación de feromonas, atrayentes y deslizantes, respecto al uso individual de estos componentes.

La intensidad de ataque o infestación es variable en función de la parcela (mayor en la D.O. Ribera de Duero), localización, variedades, sistema de conducción, edad, tipo de poda, técnicas culturales.

El elevado número de emergencias producido en los brazos, requiere en muchas ocasiones una supresión del brazo afectado en la variedad Tempranillo, lo que conlleva un menor rendimiento de poda y una reducción en la vida útil de la vid.

#### 5. REFERENCIAS

- Bahillo, P. 1996. *Cerambycidos (Coleoptera, Cerambycidae) del País Vasco*. Cuadernos de Investigación Biológica. Vol. nº 19. 274 pp.
- Biurrun R.; Yanguas R.; Garnica I.; Benito A. *Xylotrechus arvicola: el taladro del endrino*. I.T.G.Agrícola
- Boletín Oficial del Estado, www.boe.es
- Evena, 2005. *Recomendación de prácticas culturales*. Boletín nº. 7, junio de 2005
- García Ruiz E. 2005. *Contribución al Manejo de Plagas en vid: Xylotrechus arvicola y Lobesia botrana Denis & Schiffermüller (Lepidoptera: Tortricidae)*. Tesis Doctoral. Universidad de La Rioja. Departamento de Agricultura y Alimentación
- Hall, D.R., A. Cork, S. J. Phythian, S.Chittamuru, B. K. Jayarama, M. G. Venkatesha, K. Sreedharan, P. K. Vinod Kumar, H. G. Seetharama, And R. Naidu. 2006. *Identification of components of male-produced pheromone of coffee white Stem borer, Xylotrechus quadripes*. Journal of Chemical Ecology, Vol. 32, No. 1, January 2006.
- Ministerio de Medio Ambiente, Rural y Marino, www.marm.es
- Moreno, C.M. 2005. *Xylotrechus arvicola (Olivier 1795) (Coleoptera: Cerambycidae): descripción morfológica, ciclo*

*biológico, incidencia y daños en el cultivo de la vid*. Tesis Doctoral. Publicaciones del ITACYL, 191 pp.

Moreno, C.M., Martín, M.C., Urbez, J.R., Marañón, R., Moro, S., García, D. y Peláez, H. 2003. *Descripción de dos coleópteros que afectan al viñedo en Castilla y León*. Phytoma, 147: 34-42.

Moreno, C.M., Santiago, Y.; Martín, M.C., De Evan, E. y Peláez, H. 2004. *La incidencia de Xylotrechus arvicola sigue creciendo en todas las denominaciones de origen de Castilla y León*. Tierras de Castilla y León, 101; 64-70.

Ocete, R. y Del Tío, R. 1996. *Presencia del perforador Xylotrechus arvicola (Olivier) (Coleoptera, Cerambycidae) en viñedos de Rioja Alta*. Bol. San Veg. Plagas, 22 (1): 199-202.

Peláez, H., Hernández, J.M., Martín, M.C., Moreno, C.M. y Santiago, Y. 2002. *Determinación de las características del huevo de Xylotrechus arvicola (Coleoptera: Cerambycidae, Olivier 1795)*. Libro de Resúmenes X Congreso Ibérico de Entomología: 52. 33

Peláez, H.; Moreno, C.M; Santiago, Y.; Marañón, R.; Urbez, J.R.; Moro, S. Martín C.; De Evan E.; Barrigón, J.M. y Vázquez De Prada P. 2006. *Xylotrechus arvicola: un Cerambycido en el cultivo de la vid*. Terralia nº 55.

Peláez, H.J.; Marañón, R.; Urbez; Barrigón, J.M. 2001. *Xylotrechus arvicola (Ol., 1795) presencia en los viñedos de Castilla y León*. IV Congreso Ibérico de Ciencias Hortícolas: 1326-1331.

Rodríguez Pérez, M.; Ocaña Muñoz, P.J. y Oliver Sánchez, M. 1997. *Presencia del perforador Xylotrechus arvicola Olivier en viñas de la provincia de Ciudad Real – 1996*. XXII Reunión del Grupo de Trabajo de los Problemas Fitosanitarios de la Vid

Vives, E. 2000. Coleoptera, Cerambycidae. En fauna Ibérica, 12. Museo Nacional de Ciencias Naturales y C.S.I.C. Madrid.730 pp.

#### 6. AGRADECIMIENTOS

Al Centro de Estudios e Investigación para la Gestión de Riesgos Agrarios y Medioambientales (CEIGRAM) por su financiación para la realización de éste Trabajo Fin de Máster en su convocatoria de ayudas a jóvenes investigadores de 2011.

Al Instituto de Recursos Naturales (IRENA) de la Universidad de León, Departamento de Ingeniería y Ciencias Agrarias, Área de Producción Vegetal.

A D. Pedro Casquero Luelmo y D. Horacio José Peláez Rivera por sus consejos y orientaciones a la hora de realizar éste trabajo.

A los viticultores que facilitaron sus viñedos para la realización de estos trabajos.

Al Laboratorio de Diagnóstico de Plagas y Enfermedades Vegetales de la Escuela Superior y Técnica de Ingeniería Agraria de la Universidad de León, en especial a Eva María Gómez-Bernardo Villar y M<sup>a</sup> Fé Marcos Fernández

A mis compañeros de laboratorio Óscar, Sara, Julie y Juanjo, por tantas horas de dedicación, fines de semana incluidos, y ayuda a la hora de llevar adelante este trabajo.

Muchas gracias a todos