



BILOGÍA DEL GUSANO DE ALAMBRE (*Agriotus spp.*)
EN LA LLANADA ALAVESA Y DESARROLLO DE ESTRATEGIAS
DE CONTROL INTEGRADO EN EL CULTIVO DE LA PATATA

Ana Isabel Ruiz de Azúa Estívariz



TESIS DOCTORALES

N.º 63

UNIVERSIDAD DEL PAÍS VASCO

BIOLOGÍA DEL GUSANO DE ALAMBRE (*Agriotes spp.*) EN LA LLANADA ALAVESA Y DESARROLLO DE ESTRATEGIAS DE CONTROL INTEGRADO EN EL CULTIVO DE LA PATATA

Ana Isabel Ruiz de Azúa Estivariz

EUSKO JAURLARITZA



GOBIERNO VASCO

INGURUMEN, LURRALDE
PLANGINTZA, NEKAZARITZA
ETA ARRANTZA SAILA

DEPARTAMENTO DE MEDIO AMBIENTE,
PLANIFICACIÓN TERRITORIAL,
AGRICULTURA Y PESCA

Eusko Jaurlaritzaren Argitalpen Zerbitzu Nagusia

Servicio Central de Publicaciones del Gobierno Vasco

Vitoria-Gasteiz, 2009

Un registro bibliográfico de esta obra puede consultarse en el catálogo de la Biblioteca General del Gobierno Vasco: <<http://www.euskadi.net/ejgybiblioteca>>.

Edición: 1.^a diciembre 2009

Tirada: 30 ejemplares

© Administración de la Comunidad Autónoma del País Vasco
Departamento de Medio Ambiente, Planificación Territorial, Agricultura y Pesca

Internet: www.euskadi.net

Edita: Eusko Jaurlaritzaren Argitalpen Zerbitzu Nagusia
Servicio Central de Publicaciones del Gobierno Vasco
Donostia-San Sebastián, 1 - 01010 Vitoria-Gasteiz

Impresión: Eusko Printing Service, S.L.
www.eps-grupo.com

ISBN: 978-84-457-3031-7

D. L.: VI 681-2009

eman ta zabal zazu



Universidad
del País Vasco

Euskal Herriko
Unibertsitatea

dpto. zoología y biología celular animal
facultad de ciencias

zoologia eta animalia zelulen biologia saila
zientzi-fakultatea

**BIOLOGÍA DEL GUSANO DE ALAMBRE (*Agriotes* spp.) EN LA
LLANADA ALAVESA
Y
DESARROLLO DE ESTRATEGIAS DE CONTROL INTEGRADO
EN EL CULTIVO DE LA PATATA.**

Director: Dr. D. Francisco Javier Legorburu Faus



Tutor: Dr. D. Carlos Enrique Prieto Sierra

eman ta zabal zazu



Universidad
del País Vasco

Euskal Herriko
Unibertsitatea

Agradecimientos:

Me resulta muy difícil condensar en una hoja la gratitud que siento hacia todas las personas que me han ayudado durante estos años, gracias a ellas esta labor se ha llevado a cabo.

En primer lugar mi más profundo agradecimiento a Javier Legorburu, sin cuya orientación, rigor científico y horas de SAS me hubiera sido imposible llegar aquí.

Mi agradecimiento a Carlos Enrique Prieto, por la toma de la tutoría de la presente memoria.

También quiero agradecer a Amaia Ortiz que me llevara volando a Italia donde empezó todo.

A Lorenzo Furlan y Andrea Di Bernardo que me enseñaron que el gusano de alambre era mucho más que un gusanillo.

A la dirección de Neiker Tecnalia por prestar el apoyo y los medios necesarios para desarrollar esta labor.

Asimismo agradezco al Departamento de Industria, Comercio y Turismo del Gobierno Vasco la financiación necesaria para el desarrollo de este trabajo, así como a Garlan por propiciar en sus inicios esta investigación.

A Juan Manuel Rodríguez que me ayudó muchísimo en los comienzos.

A Javier Pascualena por facilitarme el arranque en los primeros años que siempre son peliagudos.

A los agricultores alaveses que me han abierto los ojos muchas veces, es a ellos a quienes va dirigido este trabajo.

A las sirenas; Leire, Sara, Marta y Argiñe con las que meterte en las profundidades del océano siempre es un placer a la par que un desastre para los fondos marinos.

A Imanol Barrena por estar siempre dispuesto a ayudarme en todo y en cualquier momento. Por las risas que nos echamos y nos echaremos.

A los chicos de campo con los que recoger patatas es más que doblar el lomo. Sobre todo a Pascual que consigue que aun lloviendo y helando sea agradable recoger trampas.

Y por supuesto a los del cafelito de las 10, las cenas, comidas y excursiones sin los que estos años hubieran sido muy distintos; Jon, Maite, Ernesto, Elena, Isabel, Mónica, Ana, Isbene, Isi, Eugenia, Iker, Santi, Carlos C., Begoña, Carlos H., Itxaso, M^a Eugenia, Gorka, Sergio, Eneka, Endika, Raquel, Montse,...

A mis amigas que después de pasar por esto, incomprensiblemente siguen ahí.

A Carlos, mi sol, que con su perpetuo buen humor hace que todo sea fácil y alegre. A Jon y a su futuro/a hermana/o que no paran de dar guerra.

Y por último a mi familia que siempre está ahí para todo. Por fin he terminado la “síntesis” ama.

A todos gracias. Muchísimas gracias.

INDICE

1. INTRODUCCIÓN	15
1.1. TAXONOMÍA Y BIOLOGÍA DE LOS ELATÉRIDOS	17
1.1.1. Taxonomía y generalidades de la familia Elateridae	17
1.1.2. Los elatéridos de la Península Ibérica.....	18
1.1.3. El género <i>Agriotes</i>	20
1.1.4. El ciclo de desarrollo	22
1.1.5. Modelización de curvas de crecimiento biológico	23
1.2. EL CULTIVO DE LA PATATA	28
1.2.1. Plagas y enfermedades	28
1.2.2. Importancia económica del cultivo de la patata.....	31
1.3. DAÑOS ECONÓMICOS PRODUCIDOS POR ELATÉRIDOS.....	32
1.3.1. Importancia económica.....	32
1.3.2. Daños producidos en tubérculo de patata en la Llanada Alavesa	35
1.4. ESTRATEGIAS DE CONTROL DEL GUSANO DE ALAMBRE	37
1.4.1. Control químico.....	38
1.4.2. Control cultural.....	41
1.4.3. Control biológico	43
1.4.4. Control integrado	44
1.5. DISTRIBUCIÓN DE LARVAS EN EL SUELO	45
1.5.1. Distribución vertical	45
1.5.2. Distribución horizontal	46
1.5.3. Modelos predictivos.....	47
1.5.4. Distribuciones teóricas y medida de agregación.....	47
1.5.5 Características de los métodos de muestreo	52
1.6. DISPERSIÓN DE LOS ADULTOS	55
1.6.1. Factores que afectan a la dispersión.....	55
1.6.2. Características de los métodos de muestreo.....	56
1.7. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS	58
2. MATERIALES Y MÉTODOS	61
2.1. LA FASE ADULTA	63
2.1.1. Determinación taxonómica	63
2.2. EL CICLO DE DESARROLLO	63
2.2.1. Cría en cámara climática	63
2.2.2. Cría en caja al aire libre.....	64
2.3. DISPERSIÓN DE LOS ADULTOS.....	66
2.3.1. Trampas de hierba.....	66
2.3.2. Trampas de feromonas.....	67
2.3.3. Trampas de vuelo.....	68
2.4. DISTRIBUCIÓN DE LAS LARVAS EN EL SUELO	69

2.4.1. Muestreo de suelo	69
2.4.2. Trampas cebo.....	69
2.4.3. Extracción de larvas a partir de las muestras	71
2.4.4. Comparación de cebos.....	71
2.4.5. Diseño del muestreo	72
2.5. DAÑOS EN TUBÉRCULO DE PATATA Y SU CONTROL	72
2.5.1. Condiciones de la zona de estudio.....	72
2.5.2. Ensayos de campo	73
2.5.3. Hongos entomopatógenos.....	79
2.5.4. Nematodos entomopatógenos.....	81
2.6. MÉTODOS ESTADÍSTICOS	82
2.6.1. Ajuste a distribuciones teóricas	82
2.6.2. Modelos lineales y no lineales.....	84
2.6.3. Diseño experimental y programas informáticos	87
3. RESULTADOS	91
3.1. LA FASE ADULTA	93
3.1.1. Especies de <i>Agriotes</i> presentes en la Llanada Alavesa	93
3.1.2. Longitud del cuerpo.....	93
3.1.3. Color de los élitros	94
3.1.4. Relación entre los números de machos y hembras	96
3.1.5. Especificidad de las feromonas.....	97
3.2. EL CICLO DE DESARROLLO.....	98
3.2.1. Oviposición.....	98
3.2.2. Crecimiento de las larvas	99
3.2.3. Longitud de las pupas	109
3.2.4. Duración del ciclo	109
3.3. DISPERSIÓN DE LOS ADULTOS.....	117
3.3.1. Vuelo	117
3.3.2. Factores que influyen en la dispersión.....	117
3.3.3. Dinámicas estacionales de dispersión.....	119
3.4. DISTRIBUCIÓN DE LAS LARVAS EN EL SUELO	121
3.4.1. Eficacia de las diferentes técnicas de muestreo	121
3.4.2. Agregación espacial de las larvas	122
3.4.3. Época de actividad de las larvas	125
3.5. DAÑOS EN TUBÉRCULO DE PATATA Y SU CONTROL.....	126
3.5.1. Período de ataque.....	126
3.5.2. Correlación larvas-daños	127
3.5.3. Control químico en campo.....	133

3.5.4. Control cultural.....	137
3.5.5. Control biológico	138
4. DISCUSIÓN.....	141
4.1. LA FASE ADULTA.....	143
4.1.1. Especies de <i>Agriotes</i> presentes en la Llanada Alavesa	143
4.1.2. Longitud del cuerpo.....	143
4.1.3. Color de los élitros	143
4.1.4. Relación entre los números de machos y hembras	144
4.1.5. Especificidad de las feromonas.....	144
4.2. EL CICLO DE DESARROLLO.....	145
4.2.1. Oviposición.....	145
4.2.2. Crecimiento de las larvas	145
4.2.3. Longitud máxima de las larvas	146
4.2.4. Pupación y emergencia de adultos	147
4.2.5. Duración del ciclo	147
4.3. DISPERSIÓN DE LOS ADULTOS.....	148
4.3.1. Vuelo	148
4.3.2. Factores que influyen en la dispersión.....	148
4.3.3. Dinámicas estacionales de dispersión.....	149
4.4. DISTRIBUCIÓN DE LAS LARVAS EN EL SUELO	150
4.4.1. Eficacia de las diferentes técnicas de muestreo	150
4.4.2. Agregación espacial de las larvas	152
4.5. DAÑOS EN TUBÉRCULO DE PATATA Y SU CONTROL.....	154
4.5.1. Período de ataque.....	154
4.5.2. Correlación larvas-daños	154
4.5.3. Control químico en campo.....	156
4.5.4. Control cultural.....	158
4.5.5. Control biológico	160
4.6. HACIA UN CONTROL INTEGRADO	161
5. CONCLUSIONES	163
6. BIBLIOGRAFÍA	167

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Taxonomía y biología de los elatéridos

1.1.1. Taxonomía y generalidades de la familia Elateridae

La familia Elateridae engloba 398 géneros con 8500 especies (Keaster *et al.*, 1988). Estados Unidos y Canadá cuentan con 73 géneros y 885 especies. Europa central está representada por 50 géneros con 168 especies. En la Península Ibérica hay 55 géneros y 183 especies (Sánchez, 1996).

Platia en 1994 y Domínguez en 1948, describieron la morfología de adultos y larvas de la familia Elateridae. El tamaño máximo de las larvas puede variar desde los 2 mm, *Quasimus minutissimus* (Germar) hasta los 30 mm de *Athous rufus* (Candeze). La mayoría de las especies están comprendidas entre los 10 y 15 mm. Aunque la forma varía según las especies, son generalmente alargadas, estrechas y brillantes, con un color anaranjado característico y con el cuerpo claramente segmentado (figura 1).



Figura 1: Larva del género Agriotes (foto propia).

La cutícula está fuertemente quitinizada y endurecida ensamblando unos anillos en otros, a modo de tubo telescópico, mediante una membrana apergaminada estriada longitudinalmente, lo que hace adoptar a las larvas su aspecto de rigidez, de donde toman el nombre común de gusanos de alambre.

Dentro de esas características generales, la forma varía según los géneros: cilíndrica en unos casos (*Agriotes*) o aplanada en otros (*Selatosomus*, *Lacon*, *Athous*.) Las larvas de cuerpo aplanado tienen el último segmento abdominal escindido en el ápice (Domínguez, 1948).

Los adultos tienen forma alargada y estrecha por detrás. La cabeza se oculta, en la mayor parte de los casos, bajo el pronoto hasta los ojos. Las antenas tienen once artejos y durante el reposo se abaten por debajo, alojándose, en ciertos géneros, en surcos laterales a modo de estuche. El color es con frecuencia pardo o negro, los élitros son casi siempre más claros que el pronoto. Algunas especies tienen los élitros rojos, amarillos o pardos amarillentos y un pronoto negro. En la familia Elateridae los colores metálicos son menos

frecuentes (*Corymbites*) y la hembra, generalmente, es más clara y algo mayor que el macho (Bonnemaison, 1962). Varias especies de gusanos de alambre son caníbales y predadoras (Dobrovsky, 1954; Kring, 1959; Begg, 1957).

Los adultos se caracterizan por tener un aparato de salto, de donde viene el nombre en inglés de “click beetle”, que está formado por una lengüeta, que es una prolongación del protórax, situada entre las patas anteriores y que encaja en una muesca del mesotórax. El insecto, para provocar el salto, se arquea apoyando la cabeza en el ápice de los élitros hasta que se desencaja la lengüeta de la escotadura mesosternal, produciendo un chasquido seco, y por reacción se eleva el insecto a varios centímetros de altura (figura 2).

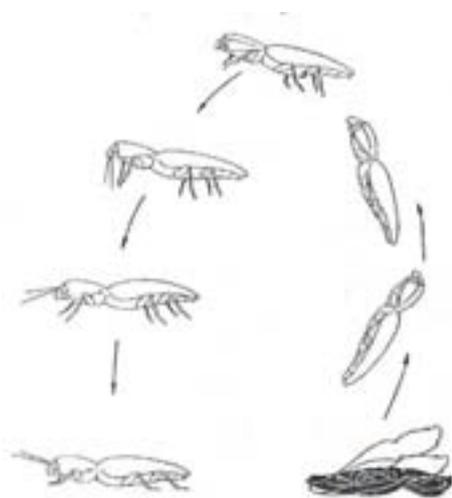


Figura 2: Fases del salto en los elatéricos. (Dibujo de Domínguez, 1948).

1.1.2. Los elatéricos en la Península Ibérica

En 1996 Antonio Sánchez Ruiz elaboró un catálogo en el que se recopila toda la información bibliográfica de la familia Elateridae en la Península Ibérica e Islas Baleares. En él aparecen citadas 17 especies del género *Agriotes*, siendo consideradas siete de ellas como especies plaga.

La familia Elateridae agrupa en la Península Ibérica a siete subfamilias según características específicas de los adultos y de las larvas (Sánchez, 1996).

- Subfam. Agrypninae Candèze, 1857
- Subfam. Cardiophorinae Candèze, 1860
- Subfam. Dendrometrinae Gistel, 1856
- Subfam. Elaterinae Leach, 1815
- Subfam. Hypnoidinae Schwarz, 1906 (1860)
- Subfam. Melanotinae Candèze, 1859 (1856)
- Subfam. Negastriinae Nakane y *Kishii*, 1956

Es la subfamilia Elaterinae, Leach 1815, la que agrupa a la tribu Agriotini, Champion 1896, donde está el Género *Agriotes*, Eschscholtz 1829. El estudio de la familia Elateridae en la Península Ibérica se remonta a 1767, cuando Linnaeus en una adenda a su “Systema Naturae” (12ª ed.) describe la especie *Elater socialis* de Lusitania.

También data de antiguo la primera cita de la familia Elateridae para la Península dada por un naturalista ibérico, Asso del Río, en el año 1784 cita *Elater pectinicornis* (Linnaeus) en Huesca. El primer trabajo relevante en el que aparecen descripciones, distribución y algunos datos de captura para cada especie, fue obra de Illiger (1807). En él se estudian 22 especies de la fauna portuguesa de Elateridae, entre otros grupos. A partir de mediados del siglo XIX hasta principios del XX se describieron muchas especies, subespecies, variedades o aberraciones endémicas peninsulares y baleares. Se pueden citar autores como Chevrolat en los años 40, Candèze y Mulsant en los 50, Perris y Reiche en los 60, Desbrochers en los 70 o Buysson, Reitter y Pic desde los 80 hasta principios del siglo XX. En este siglo aparecen dos autores en la Península, Manuel Paulino de Oliveira y José María de la Fuente. Se han recogido numerosas citas de daños causados a partir del año 1925 hasta la actualidad, apareciendo distribuidas por todo el litoral y centro de la Península.

Esta plaga en su forma larvaria en la Península Ibérica adopta múltiples nombres dependiendo de la zona donde se encuentre: agujilla, alambriillo, alfilerillo, alfinete, barrena, baticabeza, bicha amarilla, cadela, doradilla, esparraguilla, escadals, gusano de alambre, herrete, magranola y oro vivo.

En la Península Ibérica la Subfamilia Elaterinae a su vez se divide en 7 tribus donde se engloban 17 géneros (Sánchez, 1996, <http://iberfauna.mncn.csic.es>);

Subfam. Elaterinae Leach, 1815

Trib. Agriotini Champion, 1896

Gen. *Agriotes* Eschscholtz, 1829

Agriotes acuminatus (Stephens, 1830)

Agriotes andalusiacus (Franz, 1967)

Agriotes brevis (Candèze, 1863)

Agriotes corsicus (Candèze, 1863)

Agriotes curtus (Candèze, 1878)

Agriotes flavobasalis (Heyden, 1889)

Agriotes gallicus (Boisduval y Lacordaire, 1835)

Agriotes lineatus (Linnaeus, 1767)

Agriotes litigiosus (Rossi, 1792)

Agriotes modestus (Kiesenwetter, 1858)

Agriotes obscurus (Linnaeus, 1758)

Agriotes pallidulus (Illiger, 1807)

Agriotes pilosellus (Schönherr, 1817)

Agriotes proximus (Schwarz, 1891)

Agriotes sordidus (Illiger, 1807)

Agriotes sputator (Linnaeus, 1758)

Agriotes ustulatus (Schaller, 1783)

- Gen. *Dalopius* Eschscholtz, 1829
- Gen. *Ectinus* Eschscholtz, 1829
- Trib. Ampedini Gistel, 1856
 - Gen. *Ampedus* Dejean, 1833
 - Gen. *Brachygonus* Buysson, 1912
 - Gen. *Ischnodes* Germar, 1844
- Trib. Elaterini Leach, 1815
 - Gen. *Campylomorphus* Jacquelin du Val, 1860
 - Gen. *Elater* Linnaeus, 1758
 - Gen. *Mulsanteus* Gozis, 1875
- Trib. Megapenthini Gurjeva, 1973
 - Gen. *Megapenthes* Kiesenwetter, 1858
- Trib. Physorhinini Candèze, 1859
 - Gen. *Podeonius* Kiesenwetter, 1858
- Trib. Pomachiliini Candèze, 1859
 - Gen. *Betarmon* Kiesenwetter, 1858
 - Gen. *Idolus* Desbrochers, 1875
 - Gen. *Isidus* Mulsant y Rey, 1875
- Trib. Synaptini Gistel, 1856
 - Gen. *Adrastus* Eschscholtz, 1829
 - Gen. *Peripontius* Gurjeva, 1979
 - Gen. *Synaptus* Eschscholtz, 1829

1.1.3. El género *Agriotes*

En España *A. lineatus* fue citada por Graells a mediados del siglo XIX y desde entonces son numerosas las referencias que se tienen de daños causados por sus larvas (Domínguez, 1948). *Agriotes sordidus* aparece en el catálogo bibliográfico de Antonio Sánchez-Ruiz (1996), como la especie con mayor número de citas del género *Agriotes*, encontrándose individuos a lo largo de toda la Península Ibérica.

Los adultos de ambas especies miden de 7.5 a 10 mm de longitud con un color pardo negruzco. La cabeza se oculta bajo el corselete hasta los ojos. El pronoto es casi tan largo como ancho, de color marrón con puntuaciones fuertes y bien marcadas (figura 3).



Figura 3: Adulto en visión dorsal del género *Agriotes* (foto propia).

En el adulto (tanto machos como hembras) los caracteres morfológicos utilizados para diferenciar las dos especies son; en campo, la coloración de los élitros, que en el caso de *A. lineatus* se caracteriza por tener interestrías pares ligeramente más estrechas y más oscuras que las impares sobre todo hacia el extremo; primera

interestría de cada élitro desembocando casi perpendicularmente en el escudete, sin rodearlo, mientras que *A. sordidus* tiene los élitros de color marrón oscuro. En laboratorio, los machos, se distinguen por la morfología del edeago (figura 4).

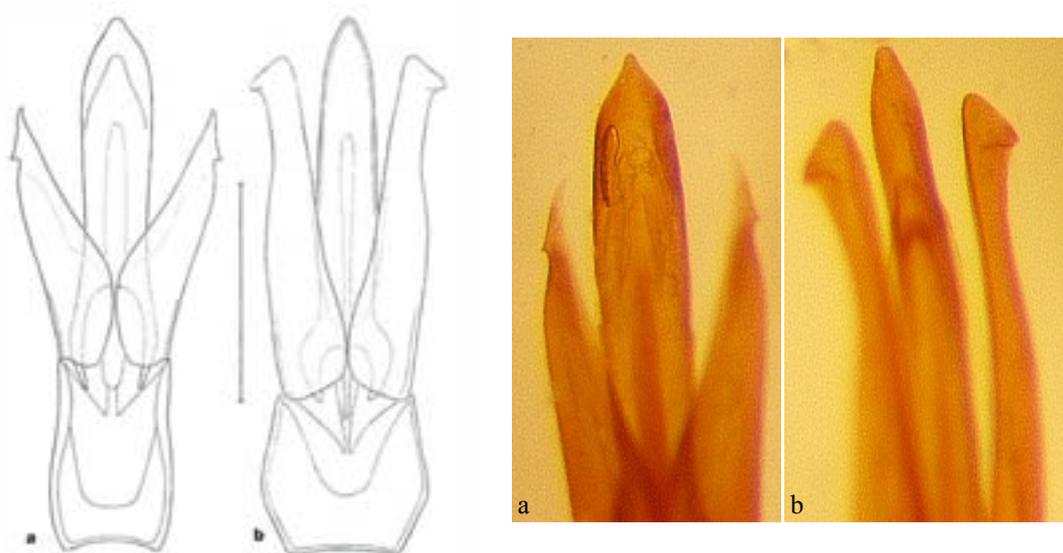


Figura 4: Dibujo de los edeagos en visión dorsal. (Escala 0.5 mm según Platia, 1994)
a- *Agriotes lineatus*; b- *Agriotes sordidus* (fotos propias).

El edeago de *A. lineatus* se caracteriza por tener el lóbulo medial robusto claramente más largo que los parámetros laterales y los parámetros con expansiones dentiformes muy definidas. El edeago de *A. sordidus* tiene el lóbulo medial más estilizado que justo sobrepasa los parámetros laterales caracterizándose estos por expansiones dentiformes sólo en el ápice.

La larva en el género *Agriotes*, al nacer, es blanca y no alcanza los 2 mm de longitud. Después de varias mudas cambia de color y pasa a un naranja brillante pálido, pudiendo llegar a medir 22 mm de longitud por 2.2 mm de ancho. El cuerpo es cilíndrico y la cabeza es aplanada, con mandíbulas cortas y agudas. Tiene tres segmentos torácicos y diez segmentos abdominales, el IX es diferente y sirve para caracterizar el género, el X no es visible por la parte dorsal ya que se inserta en la parte ventral del IX. Su posición y morfología permiten diferenciar algunas especies. Son características del género *Agriotes* el tener el ápice del IX segmento abdominal sin escindir y con dos excavaciones dorsales próximas a su unión con el VIII y que el X ocupa el tercio basal de la superficie ventral del IX (Domínguez, 1948) (figura 5).



Figura 5: Segmentación abdominal en el género *Agriotes* (foto propia).

Domínguez (1948) realizó unas claves con criterio práctico, refiriéndose exclusivamente a los géneros de elatéricos de interés agrícola. Estas claves se basan principalmente en la morfología del segmento abdominal IX como carácter diferenciador. En el caso del género *Agriotes* las características que permiten discriminar las larvas de las diferentes especies son; el ángulo que forma el diente preapical con el borde cortante apical, la terminación del segmento abdominal IX y la morfología de los estigmas. En el caso de utilizar como carácter diferenciador el ángulo que forma el diente preapical con el borde cortante apical, es preciso utilizar larvas cuyas mandíbulas se hallen poco desgastadas (recién realizada la muda).

1.1.4. El ciclo de desarrollo

La pradera es el hábitat natural del género *Agriotes* (Miles, 1942; Anónimo, 1948; Parker, 1996; Simmons *et al.*, 1998) donde la ausencia de perturbación favorece su supervivencia. En consecuencia, muchas veces causan grandes problemas cuando se cultivan parcelas donde antes había pastos (Ferro y Boiteau 1993, Simmons *et al.*, 1998).

Los gusanos de alambre necesitan varios años para completar su ciclo de desarrollo y muchos campos infestados consisten en poblaciones larvarias con distintos estados de desarrollo (Vernon y Päts, 1997) y con varias especies juntas (Jedlicka y Frouz, 2007).

Los adultos al llegar la primavera ascienden a la superficie y salen al exterior. Después de su emergencia, se deslizan sobre la superficie del suelo o se encaraman sobre la vegetación. En este estado no causan daños a los cultivos. El calor y la sequía perjudican a los adultos; por esta causa suelen preferir las praderas y sitios sombríos (Robert *et al.*, 1999).

Cada hembra pone de 75-100 huevos en la capa superficial del suelo. La mayoría de las veces los huevos están unidos en grupos de 10 a 15 a modo de rosario, formando agregados,

preferentemente en los terrenos húmedos y ricos en materia orgánica, con frecuencia en el mismo terreno del cual emergieron los adultos.

Los huevos son blancos nacarados con corion resistente, redondeados, de forma irregular, más largos que anchos; su máximo diámetro es de 0.5 mm. Son muy sensibles al calor y a la sequía; una breve exposición al aire libre basta para que mueran. Las larvas neonatas tienen crecimiento lento y necesitan vegetales para su crecimiento (Furlan, 1998). Para poder vivir requieren terrenos húmedos ya que al tener la cutícula muy fina, son sumamente sensibles a la sequía, muriendo rápidamente cuando no encuentran condiciones favorables para su desarrollo. Más adelante, al quitinizarse la cutícula, ofrecen una gran resistencia (Domínguez, 1948). Al llegar la larva a su mayor desarrollo profundiza en el terreno, se fabrica una pequeña celda terrosa, en la que se aloja y pierde su última muda, convirtiéndose en pupa. La pupa es blanca y muy delicada, al acercarse la época de su transformación se oscurece. Este período dura tres o cuatro semanas, apareciendo después el adulto. Dependiendo de la especie, no sale al exterior inmediatamente, sino que permanece en la celda ninfal durante todo el invierno, para emerger la primavera siguiente (Gratwich, 1989; Furlan *et al.*, 2004).

El periodo de vida larvaria varía con la especie y el clima. Por lo general es de cuatro años, que puede alargarse o acortarse de tres a seis años (Bonnemaison, 1962; Radcliffe, 1982). Evans y Gough (1942) sugirieron que la velocidad de crecimiento de *A. obscurus* estaba relacionado con el tipo de alimentación. Por el contrario Furlan (1998), encontró que en las mismas condiciones de sustrato, la velocidad de crecimiento de *A. ustulatus* dependía únicamente de la temperatura.

1.1.5. Modelización de curvas de crecimiento biológico

El crecimiento de los seres vivos a lo largo del tiempo da lugar a gráficas con forma de “S” (sigmoideas) (figura 6).

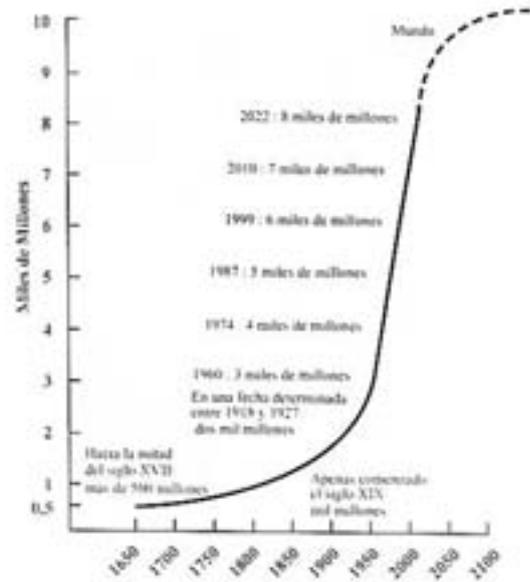


Figura 6: Muestra de crecimiento de la población (1650-1980) (Salk y Salk, 1981).

La función más utilizada para modelizar este crecimiento es la curva logística. Seguiremos a Jowett *et al.*, (1974) para explicar cómo se deduce. Si no hay limitación de nutrientes o condiciones ambientales, el crecimiento de los seres vivos es proporcional a su biomasa (y) en un momento dado:

$$\text{velocidad de crecimiento } \frac{dy}{dt} = ay, \quad (1)$$

donde a es una tasa de crecimiento intrínseca. Integrando esta función, obtenemos la expresión de la biomasa en función del tiempo:

$$ey = b^{-at}, \quad (2)$$

donde b es una constante de integración. Esta expresión nos da un crecimiento exponencial, como en el conocido ejemplo de que una célula de *Escherichia coli* que se replicara cada 20 minutos alcanzaría varias veces la masa de la tierra en 24 horas.

De una manera más realista, existe una capacidad máxima del ecosistema para dar soporte a este crecimiento (capacidad de carga). Si denominamos κ a esta capacidad máxima, podemos hacer la velocidad de crecimiento proporcional también a lo que le falta a la biomasa para alcanzar la capacidad de carga:

$$\text{velocidad de crecimiento } \frac{dy}{dt} = ay(\kappa - y). \quad (3)$$

Cuando la biomasa está muy lejos de la capacidad de carga, o sea, y es muy pequeño, esta expresión se reduce a

$$\text{velocidad de crecimiento } \frac{dy}{dt} = a\kappa y, \quad (4)$$

que es equivalente a la expresión 1; es decir, al principio el crecimiento es exponencial.

Cuando la biomasa está muy cerca de la capacidad de carga, o sea, y es muy grande, esta expresión se reduce a

$$\text{velocidad de crecimiento } \frac{dy}{dt} = a \text{ y } a = 0, \quad (5)$$

es decir, al final el crecimiento cesa.

Integrando la expresión 3, obtenemos

$$y = \frac{\kappa}{1 + e^{a\kappa c - a\kappa t}}, \quad (6)$$

que puede reordenarse de la forma

$$y = \frac{\kappa}{1 + e^{a\kappa(c-t)}}. \quad (7)$$

Esta es la curva logística, que tiene la característica de ser simétrica alrededor de su punto de inflexión. Éste se da a media altura de la capacidad de carga, en el momento $t = c$. En este punto la velocidad de crecimiento es máxima;

$$\frac{dy}{dt} = \frac{a\kappa^2}{4}.$$

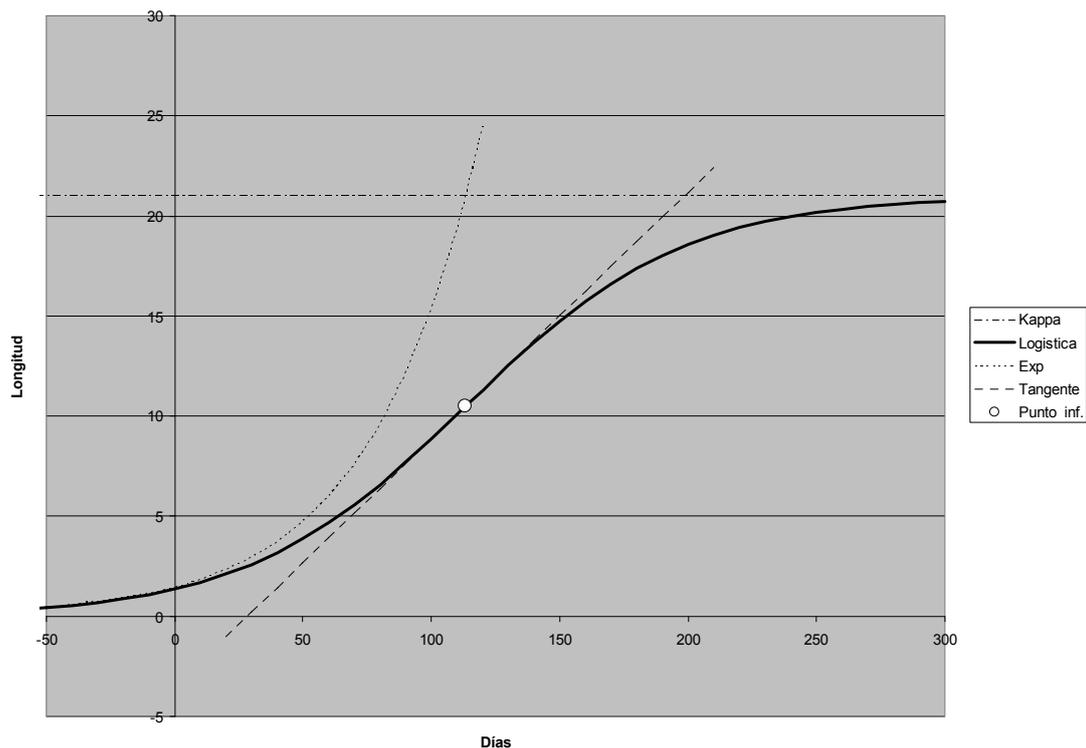


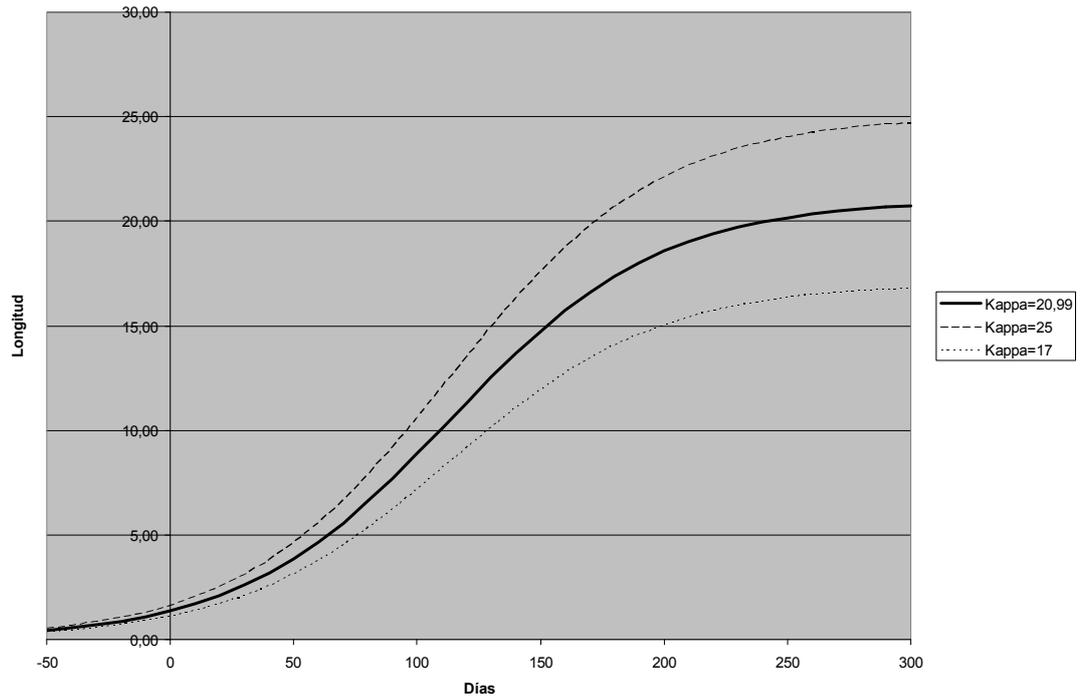
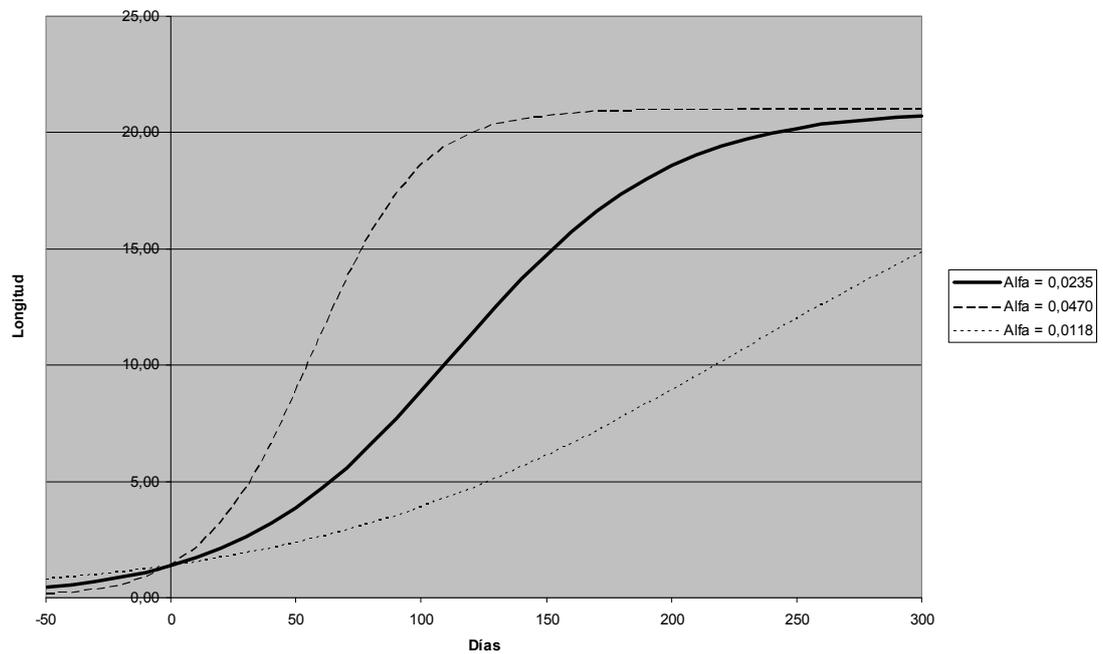
Figura 7: ejemplo de curva logística, mostrando la capacidad de carga (k), la curva exponencial generatriz, el punto de inflexión y la tangente en el mismo (=velocidad máxima de crecimiento).

Los parámetros a , b y c de la expresión 7 pueden reordenarse de una tercera manera:

$$y = \frac{\kappa}{1 + \beta e^{-\alpha x}} \quad (8)$$

El nuevo parámetro $\alpha = a\kappa$ controla la pendiente de la curva, reflejando una mayor o menor velocidad de crecimiento (figura 8b). El parámetro $\beta = e^{a\kappa c}$ no modifica la forma de la curva, pero influye en el su desfase temporal (figura 8c). El punto de inflexión sería

$$c = \ln \frac{\beta}{\alpha} \text{ y la velocidad máxima de crecimiento, } V_{\max} = \frac{\alpha \kappa}{4}.$$

Figura 8 a: efecto del parámetro κ de la curva logística en su forma.Figura 8 b: efecto del parámetro α de la curva logística en su forma.

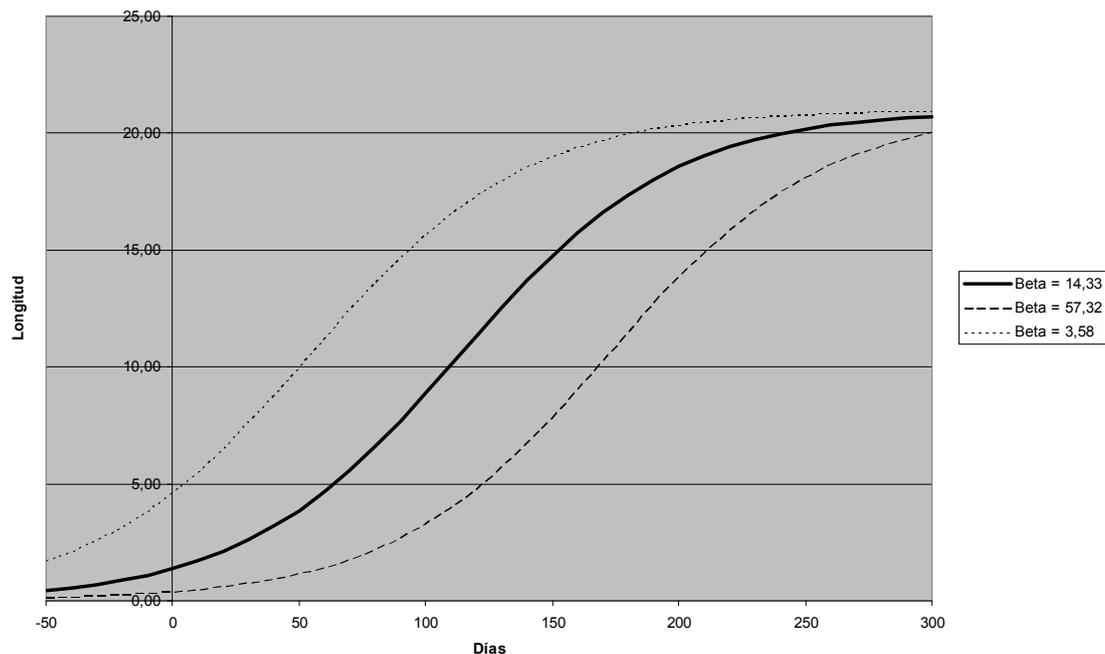


Figura 8 c: efecto del parámetro β de la curva logística en su forma.

Existen otras funciones sigmoideas, como la monomolecular (crecimiento no proporcional a la biomasa presente en un momento dado) o la de Gompertz (no simétrica respecto al punto de inflexión). Estas funciones pueden ser interesantes de cara a una modelización mecánica, en la cual se pretende buscar los procesos subyacentes al crecimiento. Para un trabajo descriptivo, como el presente, nos limitaremos a la curva logística.

1.2. EL CULTIVO DE LA PATATA

1.2.1. Plagas y enfermedades

La patata, perteneciente a la familia de las solanáceas y al género *Solanum*, posee, probablemente, más especies silvestres relacionadas que cualquier otro cultivo. El género *Solanum* contiene alrededor de 2.000 especies, las cuales se extienden por todo el mundo, exceptuando el Norte y el Sur más extremos.

Aparte de los problemas relacionados directamente con la climatología tales como heladas, falta de agua y exceso de calor, la patata es un cultivo muy afectado por plagas y enfermedades.

La Llanada Alavesa se caracteriza por un clima de transición atlántico-mediterráneo (www.euskalmet.net) y las principales enfermedades que afectan al cultivo en estas condiciones se presentan en la tabla 1.

		ORGANISMO RESPONSABLE	ENFERMEDAD
VIRUS	Graves (disminución de la producción hasta un 80%)	PLRV (potato leafroll virus)	Virus del enrollado
		PVY (potato virus Y)	Virus del mosaico rugoso
	Leves (disminución de la producción hasta un 40%)	PVX (potato virus X)	Virus del Mosaico leve
		PVS (potato virus S)	
HONGOS		<i>Alternaria solani</i>	Alternariosis
		<i>Phoma exigua</i> spp.	Podredumbre seca
		<i>Rhizoctonia solani</i>	Rizoctonia
		<i>Fusarium</i> spp.	Roña
		<i>Helminthosporium solani</i>	Sarna plateada
		<i>Verticillium</i> spp.	Verticiliosis
CROMISTAS		<i>Phytophthora infestans</i>	Mildiu
PROTISTAS		<i>Spongospora subterranea</i>	Sarna pulverulenta
BACTERIAS		<i>Erwinia</i> spp.	Pie Negro y Pudrición Blanda
		<i>Streptomyces scabies</i>	Sarna Común
		<i>Pseudomonas solanacearum</i>	Podredumbre parda
NEMATODOS		<i>Globodera rostochiensis</i>	Nematodos del quiste
		<i>Globodera pallida</i>	

Tabla 1. Principales enfermedades que afectan el cultivo de la patata en Álava.

Los insectos son el grupo de depredadores más nocivo para el cultivo de la patata ya que pueden atacar en los diferentes estadios de su vida y de su ciclo biológico (Raman y Radcliffe, 1992).

En Álava las especies más frecuentes que se pueden encontrar son:

- El **escarabajo de la patata** (*Leptinotarsa decemlineata*) (Coleoptera: Chrysomelidae)

Fue introducido en Alemania en 1877 desde Estados Unidos, llegando a la Península Ibérica a partir de los años 40 (Johnson, 1967). Es un insecto oligófago que se nutre exclusivamente de solanáceas.

Su estado adulto tiene forma oval, siendo de color amarillento en unas partes y rojizo en otras con manchas y rayas negras. Los machos se distinguen de las hembras por una depresión triangular en el último segmento abdominal. Los huevos son de color amarillo con forma alargada, siendo su tamaño mayor de un milímetro. Los huevos se agrupan y se fijan por uno de sus extremos al envés de las hojas de la patata. Las larvas desarrolladas miden entre 10 y 15 mm de longitud, siendo su cuerpo de color rojizo con una doble fila de manchas negras en ambos costados del abdomen. Poseen seis patas y dos pequeñas ventosas anales que facilitan su marcha y la adherencia a las hojas y tallos de las plantas.

Los daños son producidos por los escarabajos y por sus larvas, llegando a destruir las hojas, brotes y tallos tiernos, dando lugar a la paralización del desarrollo de los tubérculos. Los ataques producidos no influyen en la calidad de la patata, que sigue siendo apta para el consumo, sino sólo en la cuantía de la cosecha.

- **Polilla de la patata** (*Phthorimaea operculella*) (Lepidoptera: Gelechiidae).

En estado adulto mide de 7-9 mm de longitud. Las larvas realizan galerías en el interior de los tubérculos, afectando de forma negativa a la calidad y a la germinación de los mismos. En las galerías se producen infecciones por hongos y bacterias del suelo, que ocasionan la pudrición de la patata. La actividad de estos insectos tiene una relación directa con la temperatura y la humedad (Fenemore, 1980).

- **El gusano gris** (*Agrotis spp.*) (Lepidoptera: Noctuidae).

El adulto realiza la puesta en primavera sobre las hojas de patata, malas hierbas o en el suelo. Las larvas se alimentan a la noche y durante el día permanecen enterradas en el suelo enroscadas. La larva mide alrededor de 3 cm de longitud y causa daños generalmente al nivel del estrato inferior de las plantas. Los daños ocasionados repercuten en el rendimiento del cultivo.

- Cinco especies de **pulgones** (Hemiptera: Aphididae) se encuentran frecuentemente en el cultivo de la patata en Álava; *Myzus persicae* (Sulzer), *Aphis nasturtii* (Kaltenbach), *Macrosiphum euphorbiae* (Thomas), *Aulacorthum solani* (Kaltenbach) y *Aphis gossypii* (Glover). Además del daño que producen al chupar la savia de las plantas y la presencia de fumagina, causan graves daños como transmisores de virosis.

1.2.2. Importancia económica del cultivo de la patata

La patata (*Solanum tuberosum* L.) es uno de los cultivos alimenticios más importantes a nivel mundial, ocupando el quinto lugar en producción, después de cultivos como la caña de azúcar, maíz, arroz, y trigo.

En general, la superficie cultivada mundial ha disminuido en los últimos años. En 2000, el cultivo de patata ocupaba un total de 20.134.030 ha, mientras que en 2007 fueron 19.327.261 ha. No obstante, el rendimiento, y por consiguiente, la producción a nivel mundial ha aumentado, en parte debido a la mejora en las técnicas de cultivo, siendo Europa la que alcanzó las cifras más elevadas (FAO, 2009).

Respecto a la producción de patata en Europa, la tabla 2 refleja que países como Alemania, Dinamarca, Polonia y Portugal, han disminuido su producción, mientras que Francia, Grecia, Italia y Rumania la han incrementado. El resto la mantienen.

País	Año							
	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007
Alemania	13.694	11.503	10.975	10.231	13.044	11.157	10.030	11.605
Austria	694	694	695	560	693	707	655	613
Bélgica	3.033	2.497	2.700	2.522	3.229	2.653	2.593	2.877
Dinamarca	1.645	1.543	1.600	1.412	1.629	1.600	1361	1.625
España	3.138	2.956	3.062	2.664	2.745	2.591	2.502	2.502
Finlandia	785	732	719	617	619	735	576	701
Francia	6.652	6.259	6.700	6.348	7.254	6.347	6.354	6.271
Grecia	883	936	880	804	836	840	891	830
Irlanda	395	400	400	488	552	500	409	454
Italia	2.053	2.009	2.000	1.610	1.821	1.810	1.782	1.837
Países Bajos	8.126	7.015	7.225	6.468	7.488	6.835	6.500	7.200
Polonia	24.232	19.378	15.523	13.731	13.998	11.009	8.982	11.221
Portugal	1.250	1.200	1.200	1.200	1.250	1.250	577	638
Reino Unido	6.651	6.528	6.650	5.918	6.316	6.300	5.684	5.635
Rumania	3.469	3.997	4.000	3.947	4.230	3.985	4.016	3.498
Suecia	980	925	950	857	526	950	773	790

Tabla 2. Evolución de la producción de patata en Europa (x1000t) (FAO, 2009).

En cuanto a superficie se ha pasado de 3.265.595 ha en el año 2000, a 2.222.633 ha en el año 2007, donde se puede apreciar la disminución de superficie cultivada en tan solo 7 años (FAO, 2009).

En España, la superficie ha disminuido considerablemente pasando de 118.754 ha cultivadas en 2000 (tabla 3) a 89.000 ha en el año 2007. Se observa una disminución de la superficie en 7 años del 25.1%.

Año	Superficie (ha)	Rendimiento (t/ha)	Producción (x 1000t)
2000	118.754	25,4	3.138,0
2001	115.126	26,0	2.974,6
2002	110.146	27,8	3.062,0
2003	101.101	26.4	2.664,9
2004	102.120	28.3	2.745,4
2005	94.998	27.8	2.591,7
2006	86.850	28.8	2.501,8
2007	89.000	28.1	2.502,3

Tabla 3. Serie histórica de superficie, rendimiento y producción de la patata en España (FAO, 2009).

1.3. DAÑOS ECONÓMICOS PRODUCIDOS POR ELATÉRIDOS

1.3.1. Importancia económica.

Al menos 39 especies de 12 géneros han sido citadas como causantes de daños en el cultivo de la patata en el mundo (Jansson y Seal, 1994) aunque el número de especies en cada región es constante y relativamente bajo. Algunas de ellas están ampliamente distribuidas y otras tienen una distribución regional. En general la especie plaga predominante varía de región en región, no hay ninguna especie que sea plaga a escala mundial, lo que nos indica su carácter polífago y oportunista. Estos insectos están descritos como una de las más importantes plagas de suelos agrícolas (Metcalf, 1993; Chabert, 1994).

En Norte América hay alrededor de 73 géneros y 885 especies de elatéridos, de los cuales cerca de la mitad se han encontrado en Canadá (Arnett, 1985). Las especies de interés económico encontradas son diferentes a las europeas ya que pertenecen principalmente a los géneros *Limonius*, *Melanotus*, *Conoderus* y *Ctenicera* (Gerber, 1983). Actualmente también se pueden encontrar *A. lineatus* y *A. obscurus* introducidas a principios del siglo XX desde Europa hasta la costa del Pacífico (Wilkinson *et al.*, 1977).

En Estados Unidos el gusano de alambre se ha convertido en una de las plagas más importantes para los productores de patata (Kuhar y Álvarez, 2007). Una de las posibles razones es que ha aumentado la inclusión de pastos en la rotación para la industria ganadera (Ferro y Boiteau, 1993). De hecho, Toba (1987) estimó que en la zona de Pacífico Norte el 86% de los cultivos de patatas eran tratados con insecticidas de suelo de forma preventiva. Por todo esto, las grandes empresas productoras de maíz, caña de azúcar, boniato, etc. están estudiando los hábitos alimenticios y el desarrollo de las larvas de varias especies (Hall y Cherry, 1986; Hall, 1990; Seal *et al.*, 1992a).

En Europa la importancia del gusano de alambre ha variado en los últimos 50 años. En la Segunda Guerra Mundial aumentó cuando zonas antes no cultivadas pasaron a ser agrícolas para aumentar la producción de alimentos y disminuyó con el uso masivo de insecticidas organoclorados (Anglade y Missonnier, 1974). Hasta los años 70 la utilización de estos insecticidas hizo descender considerablemente el riesgo de ataque de esta plaga sobre la patata por su alta persistencia. Su posterior sustitución por organofosforados y por carbamatos, mucho menos persistentes pero más tóxicos, la extensión de algunos cultivos como el maíz y las modificaciones en los sistemas de rotaciones, parece que volvieron a dar importancia a estos insectos (Parker, 1996). Además, los residuos finales de algunos insecticidas organoclorados utilizados durante décadas para plagas de suelo están desapareciendo (Jansson y Seal, 1994) y se ha demostrado que perduran en el suelo al menos durante 6 años después de la última aplicación (Wheatley *et al.*, 1962). Aunque no se ha establecido una relación causa consecuencia entre ambos factores, Strichland *et al.*, (1962) sugirieron que la disminución del ataque del gusano de alambre entre 1948-1955 podía ser en parte atribuido al aumento del uso de insecticidas persistentes.

Para Fiorillo *et al.*, (2005) los daños causados por las larvas en parcelas con un manejo ecológico, donde los insecticidas persistentes no están permitidos, apuntan que el porcentaje de incidencia de gusano de alambre es nueve veces superior que en parcelas sometidas a un manejo convencional.

En Europa existen especies que causan importantes daños en los cultivos como *Selatosomus pasticus* (Menetries, 1932), *S. aeneus* (Linnaeus, 1758), *Synaptus filiformis* (Fabricius, 1781) así como el género *Melanotus* Eschscholtz entre otros (Balachowsky y Mesnil, 1935; Leseigneur, 1972) pero los más importantes y más citados pertenecen al género *Agriotes* (Binaghi, 1942; Domínguez, 1948; D'Aguilar, 1961; Parker, 1996; Parker y Howard, 2001). En general las distintas especies del género *Agriotes* tienden a ser más comunes en áreas de pastos y en zonas de mayor altitud que en las zonas normalmente utilizadas para cultivos (Erichsen, 1944). También hay géneros como *Ampedus* Dejean, *Ischnodes* Germar, *Stenagostus* Thomson o *Calambus* Thomson que poseen un interés forestal importante ya que sus larvas o bien son xilófagas y están integradas en los procesos de descomposición de la madera, o bien son predadoras de larvas xilófagas de otras familias como Cerambycidae o Buprestidae (Compte y Caminero, 1982; Dajoz, 1990).

Las dos especies de la familia Elateridae citadas en la EPPO como plagas de cuarentena no presentes en Europa (Apéndice 1) son *Melanotus communis* (Gyllenhal) y *Limonius californicus* (Mannerheim).

Los gusanos de alambre son extremadamente polífagos, el tipo de cultivos a los que atacan es muy variado e incluye patata, remolacha o zanahoria, cereales como trigo, cebada, maíz y sorgo, oleaginosas como el girasol y la colza (Jansson y Seal, 1994; Parker y Howard, 2001) árboles frutales y hasta algunas ornamentales (Domínguez, 1948). Según Planos y Carrero (1995) y Evans (1944) las habas, las alubias y los guisantes son poco atacados por el género *Agriotes*, sin embargo Griffiths (1974) en ensayos sobre susceptibilidad de distintas plantas a gusanos de alambre, observó que estos cultivos eran atacados con más frecuencia que el trigo pero al contrario que éste sobrevivían al ataque. Esto se puede deber a que las semillas de las leguminosas contienen más reservas que el trigo y por ello pueden ser tolerantes ante un ataque.

Gratwick (1989) para el Reino Unido determinó que las larvas de gusano de alambre tienen dos periodos de actividad, uno de marzo a mayo y otro de septiembre a octubre. En primavera después de la siembra, el ataque se dirige a las plantas jóvenes. Al alimentarse del endospermo de las semillas en germinación, el resultado son plántulas débiles o semillas abortadas, reduciendo así el rendimiento del cultivo. En verano y principios de otoño, los daños afectan a las raíces de las plantas ya crecidas, principalmente sin son carnosas, o a los tubérculos y bulbos. En este caso el resultado afecta a la calidad del producto.

Los ataques a cereales son reconocidos por el amarillamiento de las extremidades de las hojas y de la hoja central. En la parte enterrada, cerca del grano, se distingue una zona desgarrada o completamente seccionada. También atacan directamente a los granos sembrados (figura 9). Una sola larva puede destruir varias plantas sucesivamente. Este ataque es producido por larvas de todos los estadios (Bonnemaison, 1962). Los cereales de primavera son los que más sufren sus ataques.



Figura 9: Grano de trigo atacado por larvas de gusano de alambre (foto propia).

Tanto en maíz como en remolacha, los daños se reconocen en nascencia por el marchitamiento de la plántula debido a una mordedura de mayor o menor profundidad a la altura de la base del tallo. En el caso de la remolacha se observó que una población de 100 larvas/m² acabó con el 30% de las plantas (Chabert y Blot, 1992). En el cultivo de maíz las larvas causan tres tipos de daño; vaciando la semilla al alimentarse en el germen, mordiendo el

coleoptilo emergente o alimentándose de las raíces adventicias durante el cultivo (Thomas *et al.*, 1982). Tanto para maíz como para remolacha, los tratamientos en semilla con materias activas sistémicas son tan efectivos como los tratamientos al surco ya que los daños se producen al inicio del cultivo (Wilde *et al.*, 2004).

En el cultivo de la patata las larvas, cuando han llegado a cierto grado de madurez, abren galerías en los tubérculos más o menos profundas, de 2 a 4 mm de diámetro como máximo según el estado larvario y cuyas paredes se recubren muy pronto de un tejido tuberoso de cicatrización (figura 10). Además los agujeros que realizan son vía de entrada para organismos patógenos como hongos y bacterias (Ferro y Boiteau, 1993). Sin embargo, a diferencia de la polilla de la patata *Phthorimaea operculella* (Zeller) el agujero suele ser bastante limpio. Estas galerías inhabilitan los tubérculos para su comercialización, ya que las actuales exigencias del mercado dan una importancia relevante a la calidad. Además, el cultivo de la patata es especialmente susceptible al ataque del gusano de alambre. Incluso poblaciones bajas (<100000 larvas/ha) pueden causar daño económico (Parker y Howard, 2001).



Figura 10: Tubérculos donde se aprecian los orificios producidos por las larvas (foto propia).

La línea de trabajo prioritaria para la investigación aplicada sería encontrar un método práctico que permita estimar el riesgo de daños al cultivo, para terminar con la realización de tratamientos sistemáticos a toda la superficie de cultivo. Esto conllevaría la reducción de las superficies tratadas y la aplicación práctica de un programa de control integrado: intervenir sólo cuando sea necesario, seleccionando aquellos métodos y/o productos bioplaguicidas más respetuosos con el medio ambiente y de menor impacto ambiental.

De hecho, la necesidad de predecir las pérdidas debidas a gusano de alambre en el cultivo de la patata ha sido desde antaño reconocida (MacLeod y Rawlins, 1935).

1.3.2. Daños producidos en tubérculo de patata en la Llanada Alavesa por el gusano de alambre.

En la Llanada Alavesa la rotación habitual de los cultivos es remolacha-patata-cereal, siendo los tres cultivos susceptibles al ataque. En términos económicos, la patata es el único cultivo en el que se realizan tratamientos sistemáticos contra esta plaga. La remolacha lleva tratamiento en la semilla, por lo que el efecto de la plaga, cuando lo hay, se ve minimizado y el cereal en general no lleva tratamientos insecticidas.

En Álava, hasta hace unos años el gusano de alambre no tenía una importancia relevante como plaga, pero hay diversos factores que han hecho que así sea. Por una parte, el hecho de que el control de la plaga se ha basado durante los últimos años en la aplicación generalizada de un organoclorado, lindano (γ -HCH) que debido a su bajo coste, persistencia y eficacia, se utilizaba de forma preventiva, realizando tratamientos a toda la superficie de cultivo sin realizar ninguna estimación del riesgo de ataque de la plaga. Por otra parte, los cambios en los hábitos sociales que han determinado que la estructura del consumo de patatas haya variado en los últimos años, con mayor demanda hacia variedades susceptibles de industrialización y con nuevas tendencias en el mercado como la patata lavada.

De hecho en Álava la patata de industria ha experimentado un crecimiento muy importante desde su introducción en el año 1991 y se estima que actualmente entre la tercera y la cuarta parte de la producción total del territorio tiene este destino. Por el contrario, la patata para consumo en fresco ha sufrido una caída drástica de producción total, especialmente en las últimas campañas (tabla 4). Este destino comercial supone una exigencia de calidad apreciable, y es en este punto donde cobra importancia un control adecuado de la plaga, ya que un fuerte ataque de ésta determina un grave quebranto económico al agricultor, puesto que el destino último del cultivo sería alimentación animal.

CAMPAÑA	CONSUMO	PRODUCCIÓN (Tm.)			RENDIMIENTO (Kg/Ha)
		SIEMBRA	INDUSTRIA	TOTAL	
99/00	84.753	10.171	12.500	107.424	32.000
00/01	77.276	8.089	14.000	99.365	33.832
01/02	69.250	9.158	20.000	98.408	33.067
02/03	67.611	10.257	25.000	102.868	35.000
03/04	37.337	8.615	25.000	70.952	28.850
04/05	48.087	8.657	25.000	81.744	36.673
05/06	29.502	7.158	25.000	61.660	31.556
06/07	36.015	7.395	25.000	68.410	36.158
07/08	31.360	7.500	25.000	63.860	34.500

Tabla 4: Evolución de la producción y rendimiento de la patata en Álava (Fuente: Servicio de Estadística y Análisis Sectorial, 2008).

CAMPAÑA	CONSUMO	SIEMBRA	TOTAL
99/00	2.615	742	3.357
00/01	2.295	642	2.937
01/02	2.327	649	2.976
02/03	2.314	632	2.946
03/04	1.877	582	2.459
04/05	1.738	522	2.260
05/06	1.469	485	1.954
06/07	1.381	511	1.892
07/08	1.325	526	1.851

Tabla 5. Evolución de la superficie, en hectáreas, de Álava (Fuente: Servicio de Estadística y Análisis Sectorial, 2008).

La superficie sembrada en Álava durante los últimos 9 años ha disminuido un 49.4% de la superficie de patata de consumo y un 29.2% de la superficie de patata de siembra (tabla 5).

Actualmente, en Álava las semillas suponen aproximadamente entre el 30 y el 35% de los costes totales de cultivo, los fertilizantes y los fitosanitarios entre un 9 y un 10% cada uno de ellos, la mano de obra de la recogida de patatas asciende a un 15 o un 20% del total de gastos y los gastos en carburantes, reparaciones, electricidad, etc. superan el 10% de los gastos. Los costes medios de cultivo de patata de consumo es de 0,135 €/Kg., de patata de siembra 0,185 €/Kg y de patata con destino a industria de 0,125 €/Kg. (Servicio de Estadística y Análisis Sectorial, 2008).

La globalización de los mercados agrarios europeos, unida a la falta de una Organización Común de Mercados (OCM) de la patata que garantice el nivel de ingresos de los productores agrarios, da lugar a oscilaciones muy fuertes de precios, produciéndose en determinadas campañas precios de venta muy inferiores a los costes de producción del cultivo.

Por esto los bajos márgenes de ganancia que deja al agricultor el cultivo de patata en Álava, hacen que la reducción de cualquiera de los insumos al cultivo sea importante.

1.4. ESTRATEGIAS DE CONTROL DE GUSANO DE ALAMBRE.

En el desarrollo de estrategias de control efectivas para el gusano de alambre son necesarios conocimientos sobre la densidad, la distribución espacial y la respuesta de las larvas frente a la humedad y temperatura (Taylor, 1984). Se han realizado muchos estudios con este fin y aunque existen numerosas especies de gusanos de alambre en el mundo, las analogías en la biología de las diferentes especies permiten diseñar estrategias comunes para su control (Jansson y Seal, 1994).

1.4.1. Control químico

El impacto potencial de los gusanos de alambre en los cultivos ha traído consigo que los agricultores utilicen insecticidas para reducir el ataque (Chalfant *et al.*, 1989). Esto es así a pesar de que la eliminación efectiva de los daños con insecticidas de suelo ha sido desde siempre compleja. Esto se debe a, por un lado, que las larvas no siempre están cerca de la superficie y los tratamientos se han de incorporar al terreno y por otro, a que los daños en el cultivo de la patata se producen a final de ciclo (Anónimo, 1948; Toba y Turner, 1979), con lo que los insecticidas deben tener una persistencia alta.

Además no hay tratamientos químicos curativos para controlar la plaga con el cultivo ya implantado, solo hay tratamientos preventivos que deben ser aplicados antes de la siembra o a la semilla (Blot y Brunel, 1995). El problema estriba en que no hay un método de predicción de daños de la plaga por lo que se realizan los tratamientos preventivos sin saber si están o no justificados (Samson y Robertson, 1996).

La lucha química se realiza contra las larvas y puede efectuarse mediante tres sistemas:

- Tratamiento del suelo: los insecticidas se distribuyen sobre el suelo desnudo, labrado por pulverización ó aplicación directa de microrganismos que se incorporan con un pase mecánico.

- Tratamiento localizado o sobre la línea: Consiste en aplicar el insecticida en la línea de plantación o siembra. Presenta ventajas (más barato y restringe el área de acción) e inconvenientes (sólo destruye una fracción de los insectos perjudiciales, lo que obliga a repetir el tratamiento en los cultivos siguientes). Con éste tratamiento, se obtiene una protección satisfactoria pero inferior a la proporcionada en general a todo el terreno.

- Tratamiento de las semillas: Consiste en recubrir las semillas y/o tubérculos con un tratamiento antes de la siembra o plantación, con lo que disminuye la cantidad de materia activa utilizada.

Por otra parte, en Wageningen (Holanda) se ha comenzado otra línea de estudio donde se actúa con piretroides contra los adultos, no contra las larvas (Ester *et al.*, 2004). Esta metodología está sujeta a inconvenientes como la larga fase larvaria de estos insectos y la necesaria constancia de los agricultores para realizar los tratamientos en cultivos no susceptibles de ataque por parte de esta plaga.

Los insecticidas para controlar la plaga han ido variando con los años. Los organoclorados (lindano y aldrin) utilizados en los años 50 eran altamente eficaces aplicados en presiembra o incorporados con el riego (Bevan y Bryden, 1956; Maskell, 1958; Strickland *et al.*, 1962). Hacia los años 70, debido a su larga persistencia fueron sustituidos por

organofosforados (forato, disulfuton, clorpirifos, etoprofos y fonofos) y carbamatos (bendiocarb, carbosulfan, benfuracarb y carbofuran) que reducían significativamente la incidencia de gusano de alambre pero sin igualar la eficacia de los organoclorados (Hancock *et al.*, 1986).

Actualmente hay materias activas como tefluthrin y cyfluthrin (piretroide) (Jutsum *et al.*, 1986), thiamethoxam (nitroguaidina) (Maienfisch *et al.*, 2001), imidacloprid (neocotinoide), fipronil (fenilpirazol) (Furlan y Toffanin, 1998, Pons y Albajes, 2002) que han demostrado tener efecto contra gusano de alambre. Así y todo, el problema persiste ya que el Registro Oficial de Productos Fitosanitarios está en constante renovación y hay pocas materias activas eficaces registradas para el cultivo de la patata.

La Directiva 91/414/CE, relativa a la comercialización de productos fitosanitarios (y sus posteriores modificaciones), transpuesta al ordenamiento interno español por el Real Decreto 2163/94 (BOE 18.11.94) puso las bases para la inclusión en una Lista Única Comunitaria de las sustancias activas destinadas a la formulación de productos fitosanitarios. El objetivo era unificar a nivel de la Unión Europea los criterios para la evaluación de los productos fitosanitarios, con un alto nivel de exigencias toxicológicas y ecotoxicológicas, a fin de minimizar su impacto sobre la salud humana y el medio ambiente. Por ello cada día las exigencias de registro son más elevadas y esto limita las posibilidades de uso de nuevos productos y la continuidad de los antiguos.

En el proceso de revisión de sustancias activas de la lista única europea que comenzó en 1993, de las 973 sustancias (las que se censaron como comercializadas en 1993 en el conjunto de la UE, una vez descontadas 98 que no fueron consideradas fitosanitarias) que se propusieron para revisión se han incluido al final de las fases 1º y 2º, 206 (81 restantes son sustancias nuevas) en el Anexo I. En el Estado Español alrededor de 250 sustancias activas comercializadas se han revocado hasta el momento. Además en la tercera y cuarta fase de la revisión ya se han solicitado 65 retiradas voluntarias. Es previsible que una parte importante de las 300 sustancias pendientes de revisión, no superen los criterios de evaluación de la Unión Europea, por lo que irán desapareciendo del mercado.

MATERIA ACTIVA	CLASE	2009
Aldicarb	Carbamato	Eliminado
Benfuracarb	Carbamato	Eliminado **
Cadusafos	Organofosforado	Eliminado **
Carbofurano	Carbamato	Eliminado **
Carbosulfan	Carbamato	Eliminado **
Clormefos	Organofosforado	Eliminado
Clorpirifos	Organofosforado	Incluido Anexo I
Diazinon	Organofosforado	Eliminado
Disulfoton	Organofosforado	Eliminado
Etoprofos	Organofosforado	Incluido Anexo I
Fonofos	Organofosforado	Eliminado
Forato	Organofosforado	Eliminado
Foxim	Organofosforado	Eliminado
Teflutrin	Piretroide	Retirada voluntaria
Oxamilo	Carbamato	Incluido Anexo I
Lindano	Organoclorado	Eliminado

Tabla 6: Materias activas autorizadas para gusano de alambre en el cultivo de la patata en 1999 y las eliminadas en el año 2009. (**Presentada de nuevo para su inclusión en lista comunitaria)

Además, está a punto de publicarse el Reglamento que sustituirá a la Directiva de comercialización de productos fitosanitarios, cuyo objetivo es reforzar aún más las garantías de un alto grado de protección de la salud humana y del medio ambiente. Las sustancias incluidas en la lista comunitaria tienen un período de 10 años, al finalizar este plazo, deben volverse a renovar, al revisarse por renovación se aplicarán los criterios de corte que establecerá el nuevo Reglamento, por lo que muchas de las sustancias que ahora se han incluido en lista positiva podrán desaparecer. Es por ello necesario adaptar la lucha fitosanitaria a esta nueva situación y poner a punto sistemas alternativos de control.

Esta eliminación de muchos de los productos contra gusano de alambre, está creando problemas por no haber sustitutos eficaces en el mercado. Además la utilización de un menor número de sustancias activas puede incrementar el riesgo de aparición de resistencias. El desarrollo de resistencias a varios insecticidas (Gunning y Forrester, 1984, Guthrie *et al.*, 1963, Brett *et al.*, 1966, Onsager, 1966, Jansson *et al.*, 1988) y la necesidad de materias activas altamente persistentes hacen que el estudio de métodos culturales que minimicen el efecto de

los gusanos de alambre adquiere importancia. Por ello es necesario adaptar la lucha fitosanitaria a esta nueva situación y poner a punto sistemas alternativos de lucha ya que los productores están quedándose sin fitosanitarios para esta plaga y cada vez es más difícil llegar al umbral exigido por el mercado.

Otra alternativa que está actualmente en boga, son los cultivos transgénicos pero por ahora no hay estudios específicos sobre esta plaga. Pons *et al.*, (2005) en trabajos realizados con maíz Bt mostró que este no afectaba a la incidencia *A. lineatus*.

1.4.2. Control cultural

El término “Prácticas culturales” se refiere al amplio grupo de técnicas u opciones de manejo que pueden ser manipuladas por los productores agrícolas para lograr sus objetivos de producción de cultivos. Por otra parte, “control cultural” se define como la alteración deliberada del sistema de producción, bien sea el sistema de producción en sí mismo o prácticas específicas de producción de cultivos, para reducir la población de plagas o evitar el daño de las plagas a los cultivos (Kogan, 1986).

Se han descrito múltiples métodos culturales para minimizar el efecto de esta plaga:

- Realización de una labor en los meses en que se produce la oviposición ya que de este modo quedan al descubierto los huevos y larvas recién nacidas. Mediante esta práctica se logra reducir la población, dada la escasa resistencia que ofrecen al calor y a la sequía. Esto se puede conseguir incluyendo en la rotación cultivos que exijan laboreos frecuentes ya que además de dañar directamente a los huevos y pupas, deja al descubierto a las larvas para que sean depredadas por pájaros (Seal *et al.*, 1992a; Wheeler, 2004).

- Colocación de trampas hechas de manojos de plantas atractivas para los adultos, con el fin de destruirlos posteriormente (Robert *et al.*, 1999).

- La biofumigación es el efecto que produce la descomposición de la materia orgánica en el suelo sobre distintos organismos. Kirkegaard y Sarwar (1998a) la definieron como la eliminación de patógenos y plagas mediante la rotación con brasicáceas o la incorporación de abonos verdes. Este efecto parece estar relacionado con la acumulación de glucosinolatos en los tejidos de estas especies. Cuando se produce la descomposición de estos tejidos vegetales, se verifica una degradación enzimática de los glucosinolatos como consecuencia de la cual se genera una gran variedad de productos entre los cuales se incluyen isotiocianatos, tiocianatos y nitrilos (Kirkegaard y Sarwar 1998b). La siembra de crucíferas como *Brassica nigra* y *Sinapis alba* y su inclusión en el terreno como abono, esta descrita como un acondicionador

del terreno que puede controlar insectos de suelo por su alto contenido de glucosinolatos (Lichtenstein *et al.*, 1964; Soper, 1996; Parker y Howard, 2001). Además, esta técnica está proporcionando resultados prometedores en el control de gusanos de alambre y otras plagas del suelo (McCaffrey, *et al.*, 1995; Elberson *et al.*, 1996; Borek *et al.*, 1997; Noble y Sams, 1999). Furlan *et al.*, (1992) también observaron una reducción significativa en el ataque de larvas de *Agriotes* a semillas de maíz sembradas junto a semillas de *Sinapis alba*.

- Glaz *et al.*, (2003) describe la inundación durante cortos periodos de tiempo como una posible medida para el control de gusano de alambre en caña de azúcar. De hecho esta práctica también se ha estudiado en Canadá (Van Herk y Vernon, 2006) inundando suelos salinos en época de temperaturas altas, obteniéndose resultados prometedores.

- Vernon *et al.*, (2000) sembrando trigo tratado entre líneas de fresa consiguió disminuir el ataque de las larvas de *Agriotes*. Este es un ejemplo de utilización de trigo como cultivo trampa.

- El cultivo libre de malas hierbas también está señalado como un método para minimizar los daños. Seal *et al.*, (1992a) observó que en parcelas con malas hierbas la población de gusanos de alambre era mayor.

- Jansson y Lecrone (1991) y McSorley *et al.*, (1987) advirtieron que retrasando la plantación de sorgo híbrido después del cultivo de patata, utilizado en cobertera del suelo para evitar su compactación e impedir la invasión de malas hierbas, se reducía el ataque de gusano de alambre considerablemente al año siguiente. Según Robertson (1993) el trigo de invierno, también tiene efecto de reducción del ataque de gusano de alambre en el cultivo siguiente.

- La rotación también tiene importancia a la hora de controlar la plaga. En Suiza se han realizado ensayos en los que se puede ver que el riesgo de ataque disminuye al aumentar el tiempo entre pastos y el cultivo de patatas. Al sembrar patatas un año o dos después de levantar un pastizal, el riesgo es mucho mayor que dejando tres o cuatro años entre ambos cultivos (Keiser *et al.*, 2005). La importancia de revisar el historial de daños en la parcela es fundamental. De hecho la inclusión de pastos en la rotación es un claro indicador de presencia potencial de larvas (Seal *et al.*, 1992a).

- Jansson y Lecrone (1991) observaron que cuando el terreno se dejó en barbecho, conservado limpio de malas hierbas mecánicamente, los daños se reducían considerablemente.

- La utilización de variedades poco susceptibles al gusano de alambre es también una práctica eficaz. Jonasson y Olsson (1994) y Jonson *et al.*, (2008) han observado diferencias

significativas en el ataque de *Agriotes* spp. sobre distintas variedades de patata. Las variedades con más bajas concentraciones en glicoalcaloides (TGA) son las más susceptibles. Se sabe que los glicoalcaloides (α -solanina y α -chaconina) contribuyen al sabor de la patata, pero con altas concentraciones pueden llegar a ser tóxicos. De hecho se han observado propiedades pesticidas de estas sustancias contra insectos como *Leptinotarsa decemlineata* (Say) y *Empoasca fabae* (Harris) (Tingey, 1984). El consumo de patatas con altos contenidos en glicoalcaloides está cada vez más controlado por su potencial riesgo para la salud humana (Slanina, 1990). Por esto según Olsson y Jonasson (1995) la selección de variedades con distribución selectiva de los glicoalcaloides en la periferia de los tubérculos, protegería al cultivo del ataque y no tendría riesgo para el consumo humano. En varios países se han evaluado variedades para encontrar variedades de patata resistentes al ataque de gusanos de alambre, para introducirlas en programas de control integrado (Jonasson y Olsson, 1994; Kwon *et al.*, 1999).

1.4.3. Control biológico

Como enemigos naturales se han citado faisanes, cornejas, cuervos, estorninos, avefrías, topos, musarañas y ratones de campo (Gratwick, 1989; Seal *et al.*, 1992a).

Se citan casos de individuos muertos por hongos entomopatógenos como *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) y *Beauveria* sp. sobre larvas (Jansson y Seal, 1994) y por *Entomophthora elateridiphaga* (Turian) sobre adultos (Keller, 1976; Remaudière *et al.*, 1976). Entre los parasitoides se citan los himenópteros *Phoenoserpus pallipes* (Lart.) y *Paracodrus apterogynus* (Haliday) (De Liñan, 1998).

Otros enemigos naturales que aparecen en la literatura son coleópteros de las familias Carabidae y Estafilinidae (Fox y MacLellan, 1956), un parásito *Pristocera armifera* (Say) (Hall, 1982) y la hormiga depredadora *Aenictus pachycerus* (Smith) (Manjunatha *et al.*, 1988).

Han sido desarrollados productos comerciales basados en *Metarhizium anisopliae* en varios países. Bio-Green y Bio-Cane para el control de larvas de pastos y caña de azúcar en Australia, Green Muscle para el control de langosta en África, Ago Biocontrol para plagas de plantas ornamentales en Latino América y BioPath para el control de cucarachas en Estados Unidos. En general hay diferentes cepas de *Metarhizium* específicas para diferentes especies de insectos. En Canadá se ha aislado la cepa Agassiz específica para *Agriotes*. En condiciones de laboratorio tiene una eficacia de 90% en *Agriotes obscurus* y especies de *Limonius* no determinadas (Kabaluk *et al.*, 2001).

En Alemania, Blaser *et al.*, (2004) encontraron que *M. anisopliae* estaba presente en todas las parcelas estudiadas, independientemente del manejo de los cultivos. Además ni la rotación de los cultivos, ni el uso de pesticidas tenían efecto significativo en la densidad de la población. En Rusia, Ivashchenko y Dolgushina (2002) han estudiado el efecto de la biopreparación Metarizin basada en micelio del hongo *M. anisopliae* en la microflora del suelo dando como resultado que no tiene efecto significativo sobre ella. Estas características hacen de este hongo un agente de control biológico con un gran potencial en el manejo de la plaga.

Keller (1994) observó que en un periodo de 11 años, un hongo encontrado sobre adultos, *Zoophthora elateridiphaga* (Turian) era un importante factor de mortalidad en *Agriotes sputator*.

No hay descrito mucho sobre productos que controlen el ataque de gusano de alambre en control biológico. Waliwitiya *et al.*, (2005), evaluaron la toxicidad de tres monoterpenoides naturales, thymol, citronellal y eugenol y aceite de romero en larvas de últimos estadios del género *Agriotes* observando una moderada actividad insecticida.

Por otra parte algunos investigadores han estudiado el efecto de nematodos entomopatógenos pero sus resultados son poco efectivos a la hora de controlar el gusano de alambre (Toba *et al.*, 1983; Eidt y Thurston, 1995). Morris (1985) encontró que *Ctenicera aeripennis destructor* (Brown) no era susceptible a dos nematodos, *Heterorhabditis bacteriophora* (Poinar) y *Steinernema carpocapsae* (Weiser). Laumond *et al.*, (1979) observaron que *Agriotes lineatus* era resistente a los nematodos y Toba *et al.*, (1983) vieron que *Limonius californicus* era susceptible a *S. carpocapsae* aplicado a altas concentraciones. También Schalk *et al.*, (1993) en ensayos con *S. carpocapsae* obtuvieron una reducción de la población de *Conoderus* spp. aplicándolo en combinación con un insecticida (fonofos). Eidt y Thurston (1995) sugieren que los gusanos de alambre no son totalmente resistentes a los nematodos entomopatógenos. De hecho la cepa de *S. carpocapsae* fue aislada originalmente del lepidóptero *Cydia pomonella* (L.) (Weiser, 1955) y posteriormente se ha aislado de *Agriotes lineatus* en Rusia (Poinar y Veremchuk, 1970).

Por el momento hay poca información sobre control biológico en esta plaga cuya distribución, al ser subterránea dificulta su estudio.

1.4.4. Control integrado

Las estrategias de control integrado están basadas en el conocimiento de la biología, etología y distribución de la plaga, en el uso y combinación de distintas prácticas para disminuir la población y en la búsqueda de alternativas de control con énfasis en medidas

culturales y medios mecánicos o físicos que eviten el uso indiscriminado de insecticidas tóxicos (Alcázar, 2000).

En los últimos años se están desarrollando nuevas técnicas no invasivas para la detección de insectos de suelo como rayos X y detección acústica. La utilización de microtomografía de rayos X es capaz de detectar larvas en sus primeros estadios obteniéndose imágenes con alta resolución. La detección acústica basa sus resultados en la identificación de diferentes tipos de sonidos y relacionarlos con actividades larvarias (Johnson *et al.*, 2007).

1.5. DISTRIBUCIÓN DE LAS LARVAS DE ELATÉRIDOS EN EL SUELO.

El conocimiento del patrón de distribución espacial de las plagas permite mayor eficiencia en el diseño de programas de muestreo, la selección de métodos de análisis de datos, la estimación de tamaños poblaciones y el estudio de relaciones predador-presa, huésped-parásito (Sevacherian y Stern, 1972).

En plagas de suelo como las del presente trabajo, el estudio de la distribución de las larvas es complejo ya que no pueden ser identificadas y contabilizadas sin antes ser extraídas del suelo. La extracción de las larvas supone un gran esfuerzo. Por esto con el fin de minimizar el tiempo empleado es necesario sacar la máxima información de las muestras recogidas.

1.5.1. Distribución vertical de las larvas en el suelo

Desde los años 20 se sabe que las larvas se mueven verticalmente en el suelo en respuesta a cambios en la temperatura o humedad. Las altas temperaturas y la baja humedad en la superficie provocan un descenso de las larvas a zonas más profundas (McColloch y Hayes, 1923).

Estudios realizados en Florida sobre la incidencia de las larvas en relación a la humedad del suelo, revelaban que la actividad de las larvas difiere a distinto grado de humedad, aumentando el ataque del gusano de alambre al disminuir la humedad (Jansson y Seal, 1994).

Furlan (1998) también observó que la distribución vertical en larvas de *Agriotes* dependía de la temperatura del suelo durante primavera, otoño e invierno (se han encontrado larvas en los últimos estadios a 60 cm. de profundidad) pero sobre todo de la humedad del suelo en verano. En climas cálidos y terrenos húmedos no se verifica el descenso de las larvas durante el invierno, continuando por lo tanto el perjuicio a los cultivos hasta la primavera, sin interrupción.

El movimiento de las larvas también se ve afectado por la actividad alimentaria de las mismas. Cuando la larva está en periodo de alimentación y hay alimento disponible, las larvas suben a la superficie. Stone y Foley (1955) observaron un importante aumento en el movimiento ascendente de las larvas de *Limonius californicus* cuando había alimento presente. Sin embargo Doane *et al.*, (1975) observaron que solo cuando las larvas de *Ctenicera destructor* (Brown) estaban en una fase alimenticia respondían a la germinación del alimento.

La mayoría de los gusanos de alambre han sido capturados a una profundidad de 21 a 31 cm, siendo los primeros estadios los que se han encontrado a profundidades menores de 20 cm. Las larvas de *Melanotus communis* (Gyllenhal) durante la época de crecimiento migran a la parte superior (1-20 cm) hacia la zona de alimentación, donde están los tubérculos (Seal *et al.*, 1992b, Jansson y Seal, 1994). Recientemente en ensayos realizados sobre el género *Agriotes*, se confirma que las larvas profundizan en el terreno, cuando en la superficie del suelo (0-15 cm) aumenta la temperatura y disminuye la humedad (Vernon *et al.*, 2000).

1.5.2 Distribución horizontal

En 1932, Langenbuch señaló la tendencia de las larvas a agregarse en suelos húmedos. También Campbell, en 1937 observó que las larvas de *Limonius californicus* migraban rápidamente de suelos secos hacia suelos más húmedos, ya que en suelos secos morían rápidamente de desecación. Así mismo suelos saturados pueden provocar el cese de la actividad llegando en algunos casos a causar la muerte. Lees, en 1943 observó en estudios de laboratorio la migración de las larvas de *Agriotes* de suelos secos a húmedos y el aumento la actividad a altas temperaturas, mientras que las bajas inducían dormancia. Jansson y Seal, (1994) realizaron estudios para determinar la distribución horizontal de las larvas. En ellos observaron que en las muestras recogidas en los 10 cm alrededor de las plantas de patata, se encontraban más larvas que en la zona entre 10 y 20 cm. No encontrándose larvas entre las plantas. El movimiento lateral de larvas en 5 semanas podía llegar hasta los 120 cm.

Salt y Hollick en 1946, encontraron que en el género *Agriotes* la distribución era agregada en tres escalas espaciales: campo, parcela y metro. Advirtieron que en la escala más baja el grado de agregación disminuía al aumentar la edad de las larvas. En las escalas más amplias encontraron que las densidades más altas se hallaban en las mismas áreas en el curso de más de un año, relacionado con la textura del suelo de la finca. Doane (1977) sugiere que todas las especies ponen sus huevos de forma agregada, y que en general la agregación disminuye con el crecimiento de las larvas.

1.5.3 Modelos predictivos

Parker y Seeney (1997) analizaron diferentes características de una parcela para predecir el nivel de infestación por gusanos de alambre. Encontraron que solo dos eran significativas; el tiempo de permanencia de una finca con pradera y la densidad de tierra. En 62 parcelas encontraron que en prados con hierba de menos de 10 años, la presencia de larvas de *Agriotes* era nula. El 64% de los prados de 10-50 años estaban infestados y en prados de pasto permanente, el 80% se observaron infestados. Respecto a las características físicas del suelo y su estado alimentario, el único aspecto que mostraba diferencias significativas entre los prados infestados y los no infestados, era la densidad de tierra (g/cm^3). Los sitios infestados tenían una tierra de menor densidad, en la cual los invertebrados se mueven más fácilmente y tiene menor probabilidad de saturarse de agua; dos factores que favorecen la presencia de larvas del género *Agriotes*.

Blackshaw y Vernon (2008) sugieren que el desarrollo de modelos de predicción de distribución en amplios entornos naturales que incluyan zonas agrícolas pueden ser útiles a la hora de tomar decisiones para localizar la implantación de cultivos vulnerables.

También Blackshaw y Vernon (2006) estudiaron el movimiento de los adultos de *A. lineatus* y *A. obscurus* en entornos mixtos, determinando que el movimiento aproximado de los adultos es de 5 m a la semana y que ambas especies se comportan de forma similar con las mismas condiciones ambientales.

1.5.4. Distribuciones teóricas y medida de agregación

1.5.4.1.- Ajuste a distribuciones teóricas. Conteos.

La distribución espacial de los individuos de una especie proporciona información sobre su biología. Es de esperar que especies o fases de baja movilidad aparezcan agrupadas alrededor de los puntos de colonización inicial; mientras que especies o fases más móviles se distribuirían de una manera aleatoria. Tomando el ejemplo de los pulgones (Homoptera: Aphididae), en su fase alada, más móvil, se distribuyen aleatoriamente, mientras que en su fase áptera, menos móvil, se presentan agrupados en hojas o plantas concretas (figura 2 de Taylor, 1984). En el sentido opuesto, pueden darse situaciones de repulsión, en las que los individuos compiten por los recursos y tienden a distribuirse uniformemente en el espacio.

La distribución teórica que describe una distribución aleatoria, como, por ejemplo, granos de arroz lanzados sobre un tablero de ajedrez, es la distribución de Poisson:

$$f(k; \lambda) = \frac{e^{-\lambda} \lambda^k}{k!}$$

e es la base del logaritmo natural ($e = 2.71828\dots$), λ , el número medio de granos por cuadrado, es el único parámetro de esta distribución. La serie de Poisson da la probabilidad de encontrar $k = 0, 1, 2, 3$ etc. individuos por unidad de muestreo, para un valor determinado de λ . Por analogía con los cuadrados del tablero de ajedrez, las unidades de muestreo se suelen denominar “quadrats”. Una peculiaridad de la distribución de Poisson es que su media y su varianza son iguales y equivalentes al parámetro λ :

$$\mu = \sigma^2 = \lambda$$

Pero muchas veces en la naturaleza se encuentran casos en que los individuos de una especie no se distribuyen al azar en el espacio, sino que tienden a agregarse unos con otros.

Para modelizar una distribución no uniforme, es necesario introducir un parámetro adicional. Nos hallamos entonces frente a la distribución binomial negativa. Ésta tiene varias formas equivalentes; una de las más utilizadas en ecología es la siguiente:

$$p(k; \mu, \theta) = \frac{\Gamma(x + \theta)}{x! \Gamma(\theta)} \left(\frac{\theta}{\mu + \theta} \right)^\theta \left(\frac{\mu}{\mu + \theta} \right)^x$$

Cuando el parámetro θ tiende a infinito, la expresión anterior converge con la distribución de Poisson. Otra notación bastante común es sustituir θ por su inverso, $\kappa = 1/\theta$. La varianza de la distribución binomial negativa equivale a $\sigma^2 = \mu + \kappa\mu^2$; es decir, siempre mayor que la media.

Por ejemplo, veamos en la figura 11 tres muestras de 100 quadrats, todas ellas con una media de 1 individuo por quadrat, tomadas de una distribución uniforme, de una de Poisson y de una binomial negativa ($\kappa=0.5$, agregación). Los términos agregación y dispersión debe utilizarse con cuidado, ya que en los histogramas correspondientes, la agregación espacial de la binomial negativa se traduce en una sobredispersión de las barras del histograma, con aumento de los valores de los extremos (figura 12).

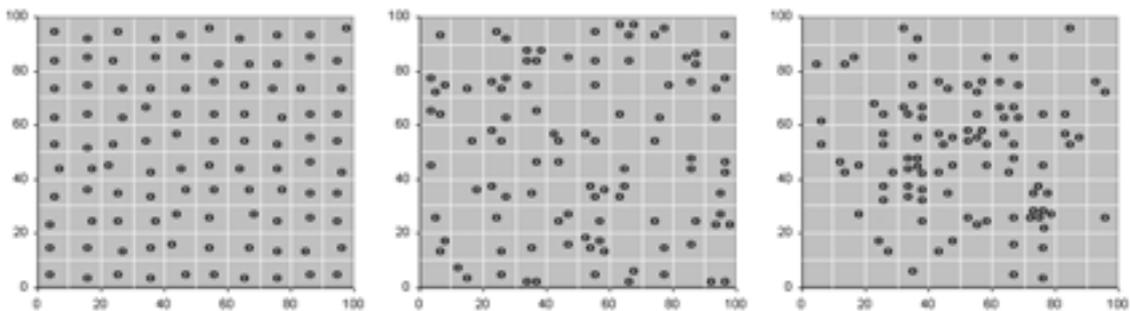


Figura 11: Muestras aleatorias de 100 quadrats tomadas de una distribución uniforme, de una distribución de Poisson y de una binomial negativa con $\kappa = 0.5$ (agregación).

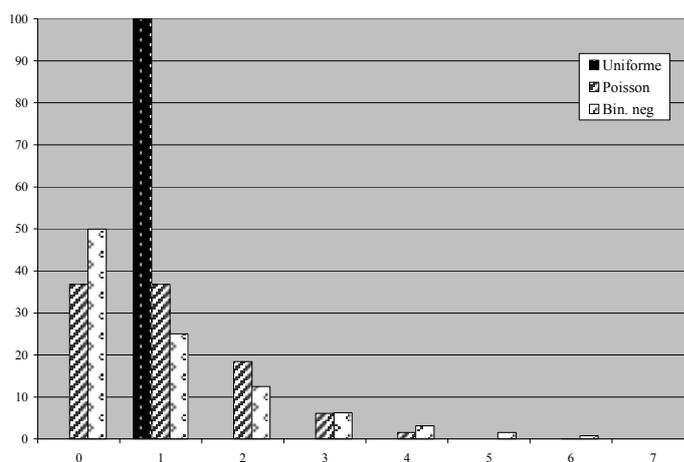


Figura 12: Histogramas de los tres tipos de distribución; uniforme, Poisson y binomial negativa.

En el caso de los elatéricos, la distribución espacial de las larvas en el suelo nos puede dar claves sobre su movilidad, ya que esperamos que en la eclosión de los huevos se encuentren agregadas en los puntos de puesta, y luego se vayan diseminando en busca de alimento.

1.5.4.2.- Ley de Taylor.

En 1961 L. R. Taylor formuló una relación empírica entre la varianza y la media de muestras reales de individuos:

$$S^2 = a m^b$$

De la cual se deduce la regresión:

$$\text{Log}_{10} S^2 = \text{log}_{10} a + b \text{log}_{10} m$$

En especies distribuidas al azar, el parámetro b (la pendiente de la recta de regresión) sería igual a 1, mientras que un parámetro $b > 1$ indicaría agregación (figura 13).

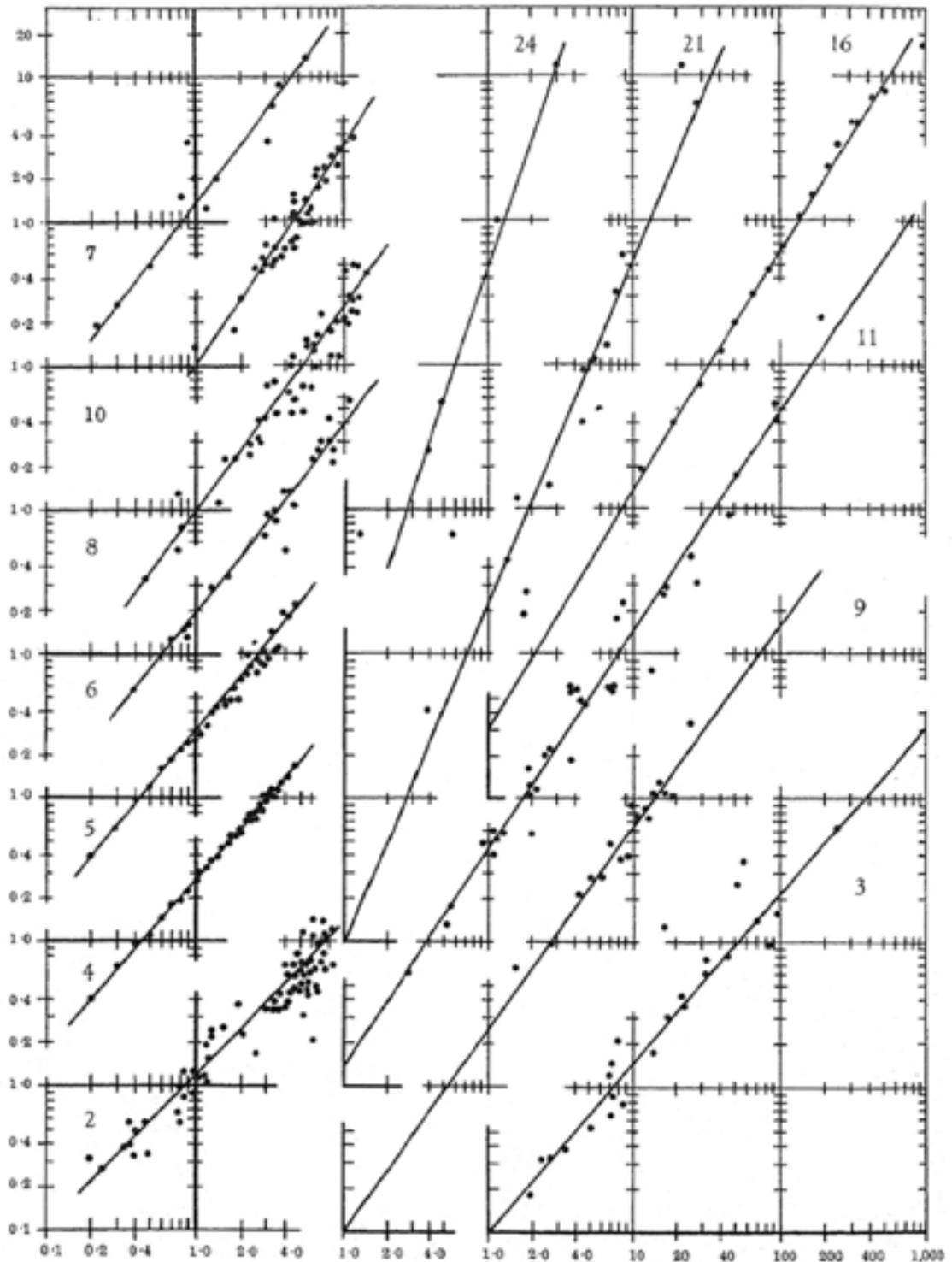


Figura 13: Ejemplos originales de Taylor (1961) que ilustran su ley empírica. La varianza y media en escala logarítmica de diferentes seres vivos. Las figuras 4 y 5 son ejemplos del género *Agriotes* con índice de agregación $b=1.19$ y $b=1.26$ respectivamente.

Esto estaría en relación con el hecho de que la varianza de la distribución de Poisson es equivalente a su media, mientras que la de la binomial negativa es una función cuadrática de la

misma. Aunque éstas explicaciones teóricas “a posteriori”, como que un parámetro $b=1$ implicaba una distribución de Poisson, han sido duramente criticadas (Hurlbert, 1990), esta ley conserva su valor descriptivo. Su autor defiende que es más constante que otros índices de agregación en rango amplio de densidades de población (Taylor, 1984). Por otro lado, proporciona transformadas adecuadas para la modelización lineal (ver 2.6.2).

1.5.4.3.- Otras medidas de aleatoriedad de distribución espacial.

Aunque los ajustes a distribuciones teóricas nos dan una idea de la aleatoriedad de la distribución de los individuos de una especie, en realidad no contienen información espacial; es decir, aunque describan que el número de individuos en ciertos “quadrats” es superior a lo aleatoriamente esperado (agregación), no nos indica qué sucede en el “quadrat” contiguo, o dos o tres más allá. Aunque vayan más allá del campo del presente trabajo, mencionaremos algunas pruebas estadísticas.

- Test de “runs” o prueba de rachas de Wald-Wolfowitz (Sokal y Rohlf, 1995).

El contraste de rachas permite verificar la hipótesis nula de que la muestra es aleatoria, es decir, si las sucesivas observaciones son independientes. Este contraste se basa en el número de rachas que presenta una muestra. Una racha se define como una secuencia de valores muestrales con una característica común precedida y seguida por valores que no presentan esa característica. Así, se considera una racha la secuencia de k valores consecutivos superiores o iguales a la media muestral (o a la mediana o a la moda, o a cualquier otro valor de corte) siempre que estén precedidos y seguidos por valores inferiores a la media muestral (o a la mediana o a la moda, o a cualquier otro valor de corte).

El número total de rachas en una muestra proporciona un indicio de si hay o no aleatoriedad en la muestra. Un número reducido de rachas (el caso extremo es 2) es indicio de que las observaciones no se han extraído de forma aleatoria, los elementos de la primera racha proceden de una población con una determinada característica (valores mayores o menores al punto de corte) mientras que los de la segunda proceden de otra población. De forma idéntica un número excesivo de rachas puede ser también indicio de no aleatoriedad de la muestra.

- Geoestadística

La Geoestadística se define como la aplicación de la Teoría de Funciones Aleatorias al reconocimiento y estimación de fenómenos naturales (Journel y Huijbregts, 1978), o simplemente, el estudio de las variables numéricas distribuidas en el espacio (Chauvet, 1994), siendo una herramienta útil en el estudio de estas variables (Zhang *et al.*, 1992). Su punto de partida es asumir una intuición topo-probabilista (Matheron, 1970). Los fenómenos distribuidos en el espacio, la mineralización en un yacimiento mineral por ejemplo, presenta

un carácter mixto, un comportamiento caótico o aleatorio a escala local, pero a la vez estructural a gran escala.

Se puede entonces sugerir la idea de interpretar este fenómeno en términos de Función Aleatoria (FA), es decir, a cada punto x del espacio se le asocia una Variable Aleatoria (VA) $Z(x)$, para dos puntos diferentes x e y , se tendrán dos VAs $Z(x)$ y $Z(y)$ diferentes pero no independientes, y es precisamente su grado de correlación el encargado de reflejar la continuidad del fenómeno en estudio, de modo que el éxito de esta técnica es la determinación de la función de correlación espacial de los datos (Zhang *et al.*, 1992). Su estimador, El Kriging, tiene como objetivo encontrar la mejor estimación posible a partir de la información disponible, y en efecto, el valor estimado obtenido $Z^*(x)$ de un valor real y desconocido $Z(x)$, consiste en una combinación lineal de pesos asociados a cada localización donde fue muestreado un valor $Z(x_i)$ ($i = 1, \dots, n$) del fenómeno estudiado, observando dos condiciones fundamentales: 1.- que el estimador sea insesgado. $E[Z^* - Z] = 0$, y 2.- que la varianza $\text{Var}[Z^* - Z]$ sea mínima, consiguiéndose de este modo minimizar la varianza de error de estimación.

Utiliza en la estimación las características de variabilidad y correlación espacial del fenómeno estudiado, por lo que su uso implica un análisis previo de la información con el objetivo de definir o extraer de esta información inicial un modelo que represente su continuidad espacial. Una vez logrado, estamos en condiciones de obtener el mejor valor posible en cada localización o bloque a estimar a partir de los datos medidos.

1.5.5. Características de los métodos de muestreo

En Estados Unidos, Lefko (1998b) desarrolló un modelo para estimar la susceptibilidad de una zona al ataque de gusano de alambre mediante variables como la humedad del suelo, la textura y datos meteorológicos del año anterior. El mapa generado por este modelo aunque puede ser utilizado como una guía para analizar una parcela concreta, no es fiable para identificar áreas donde sean o no necesarios métodos de control de la plaga.

1.5.5.1. Muestreo de tierra

En un principio la estimación de la población de gusano de alambre se basó en el muestreo de tierra. El Ministerio Británico de Agricultura (Anónimo, 1948) diseñó un método de muestreo que incluía prospecciones intensivas de tierra: 20 muestras de 10 cm de diámetro por 15 de alto (1 larva implicaba 62.500 larvas por hectárea), contabilizando las larvas mediante el método de extracción de invertebrados por flotación (Salt y Hollick, 1944; Cockbill, *et al.*, 1945; Jansson *et al.*, 1989). Sin embargo esta técnica está sujeta a un alto nivel

de error sobre todo con baja densidad de población, ya que en una parcela con un resultado de cero larvas pueden existir daños significativos en el cultivo de patata (Yates y Finney, 1942; French y White, 1965). Además para llevar a cabo esta técnica es necesario un alto consumo de tiempo y esfuerzo. Por esto se han realizado investigaciones tanto en Norte América como en Europa para encontrar un sistema más eficaz para evaluar las poblaciones de gusano de alambre (Cherry y Alvarez, 1995; Parker, 1996).

1.5.5.2. Trampas cebo

En 1927, Miles y Petherbridge encontraron que el trigo en germinación era una fuente de atracción para los gusanos de alambre y que después de dos o tres semanas se producía una alta agregación alrededor de las raíces del trigo. La capacidad de las larvas de gusano de alambre para localizar semillas en germinación fue también citada en otros trabajos (Toba y Turner, 1983; Bynum y Archer 1987; Jansson *et al.*, 1989). Doane *et al.*, (1975) realizó un estudio sobre el comportamiento alimenticio en cuatro géneros de elatéridos (*Agriotes*, *Ctenicera*, *Limonius* y *Hypolithus*) sugiriendo que el movimiento de los gusanos de alambre hacia nueve tipos de semillas era debido, al menos en parte, a la producción de CO₂ en el momento de la germinación. Su trabajo mostró que los gusanos de alambre pueden detectar gradientes de CO₂ a una distancia superior a 20 cm en ensayos de laboratorio. Más tarde, Vernon *et al.*, (2000) observaron que en condiciones de campo las larvas pueden ser atraídas por un gradiente de CO₂ a distancias mayores de 50 cm.

Mediante microscopía electrónica, Doane y Klinger (1978) situaron en los palpos maxilares y en menor medida en los palpos labiales de las larvas, los lugares donde se produce la percepción de CO₂. Los receptores sensoriales de CO₂ se encuentran entre el grupo de receptores situados en el extremo de cada palpo.

Gracias a la capacidad de atracción de las semillas en germinación se realizó uno de los primeros ensayos sobre el diseño de trampas para capturar gusanos de alambre. La trampa estaba basada la utilización de una mezcla de 30 ml de maíz y trigo colocada a 10 cm de la superficie del suelo y cubierta de tierra (Fairchild y Ortman, 1976). Este diseño fue modificado por Ward y Keaster (1977), colocando encima de la trampa tierra en forma de cúpula, cubierto con un plástico negro de 46x46 cm. Todo esto con el fin de aumentar la T^a de alrededor del cebo haciendo posible una recogida de muestras temprana en primavera, y también evitar la evaporación del agua de alrededor del cebo.

Este modelo fue estudiado por el Departamento de Entomología de la Universidad de Missouri-Colombia (Kirfman *et al.*, 1986). Debido a la necesidad de detectar e identificar las larvas con mayor rapidez y precisión, en verano de 1980 se estudió un diseño de la trampa

modificada. Constaba de un bote o contenedor de plástico de 650 ml, que contenía como cebo una mezcla con una relación 1:1 de maíz y trigo, sostenido en un sustrato de vermiculita humedecida (figura 14).

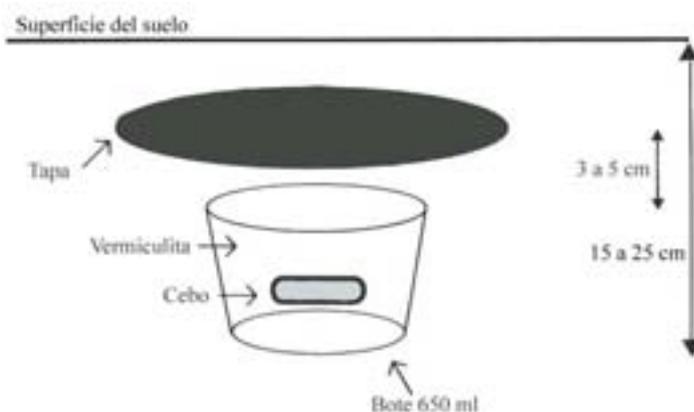


Figura 14: Vista lateral de la trampa cebo enterrada (Kirfman *et al.*, 1986).

El bote se entierra de forma que el cebo queda a 10 cm de la superficie; se recubre con tierra unos 1.5 cm y se coloca una tapadera de 1.9 litros destinada a retener el gas carbónico emitido por los granos en germinación. Según Ward y Keaster (1977) es importante amontonar la tierra bien debajo del plástico, ya que una depresión de la tierra a nivel de la superficie puede acumular el agua de lluvia y encharcarse. Este método de muestreo fue considerado por Kirfman, como el mejor diseño para capturar gusanos de alambre. A su vez el uso de un contenedor o bote reduce y regula el volumen de tierra examinado en cada muestra. La utilización de vermiculita como sustrato, se debe a que por su capacidad para retener la humedad alrededor del cebo, favorece la germinación.

En Francia, Chabert y Blot (1992), siguieron estudiando los ensayos realizados por Kirfman. Gracias a la facilidad de utilización de la trampa-cebo para capturar larvas de gusanos de alambre, se han realizado estudios para relacionar las capturas con los daños observados.

Ensayos en el Reino Unido, Estados Unidos y Francia llegaron a la conclusión de que las trampas con cebo capturan mayor número de larvas que las muestras de tierra sin cebo (Chabert y Blot, 1992; Parker, 1994; Simmons *et al.*, 1998). De hecho el ACTA (Association de Coordination Technique Agricole) junto con el INRA (Institut National de la Recherche Agronomique), decidió sustituir el método utilizado habitualmente, de recoger muestras de tierra por sondeo seguido de un lavado sobre una serie de tamices, por el uso de trampas-cebo.

Según Chabert y Blot (1992) la técnica de sondeos permite una evaluación por unidad de superficie del número de larvas en la parcela explorada. Su comparación con las trampas, muestra que las capturas medias observadas en las trampas corresponden al número de larvas presentes en 1 dm². Si hay una media de 5 larvas/trampa, se puede considerar que las capturas reflejan la actividad de 50 larvas/m², en la medida en que las trampas son colocadas en condiciones óptimas. Para un mismo número de sondeos y de trampas, estas últimas permiten una ganancia de dos tercios de tiempo de trabajo. Para las 30 muestras de tierra, se necesitaron 12 h de trabajo, mientras que para analizar 30 trampas, solamente 4 h. Cuando las poblaciones son elevadas, las 2 técnicas tienen precisiones parecidas, pero en el caso de haber bajas poblaciones, sólo las trampas mantienen una alta precisión.

Una de las limitaciones de utilizar las trampas-cebo es que no pueden ser usadas para estimar la densidad de la población por unidad de área. De todas formas el área exacta muestreada por un cebo nunca puede ser considerada como constante; ya que el área de muestra real de una trampa puede estar influenciada por diversos factores. En Estados Unidos (Ward y Keaster, 1977; Toba y Turner, 1983) y en Francia (Chabert y Blot, 1992) observaron que la Tª y la humedad eran limitantes en la captura de larvas. En el Reino Unido, estudios realizados por Parker (1994) señalan a la Tª como un limitante en la captura de larvas en invierno, pero no en primavera. Además de esto, observó que revisando la tierra alrededor de las trampas se podía doblar la cantidad de capturas.

Otra de las limitaciones de usar trampas con cebo de cereal es el enredo de raíces germinadas que dificulta la visibilidad de las larvas. Esto indica la necesidad de modificar la trampa, colocando una fina malla, en forma de bolsa, que envuelva las semillas, por la cual la larva no pueda penetrar (Parker, 1994).

La utilización de trampas cebo a pesar de sus inconvenientes, ha mostrado ser tan efectiva o más que el muestreo de tierra a la hora de detectar gusanos de alambre (Chabert y Blot, 1992; Parker, 1994; Lefko *et al.*, 1998b; Simmons *et al.*, 1998).

1.6. DISPERSIÓN DE ADULTOS

1.6.1. Factores que afectan a la dispersión

Los estudios sobre la dispersión de los insectos plaga se han enfocado principalmente en la migración a grandes distancias y para diseños de control integrado donde es importante también conocer la ecología espaciotemporal en el ecosistema agrícola a distancias menores.

Los factores que afectan a la dispersión son muchos: la disponibilidad de recursos, tales como el alimento o los lugares de puesta, la competencia con otras especies por los recursos (competencia interespecífica) y los efectos favorables o adversos del clima (lluvia, temperatura y humedad).

En la familia Elateridae, según Jedlicka y Frouz (2007) uno de los factores más importantes es la frecuencia de cultivo y el tiempo transcurrido desde que se cultivó por última vez. También han encontrado que en praderas la densidad larvaria está inversamente correlacionada con la acumulación de materia orgánica en la superficie. Han observado una disminución en la población cuando en una pradera cesa la siega, por lo que aumenta la capa superficial alterando la estructura superficial del suelo y la comunidad de plantas y predadores.

Blackshaw y Vernon (2006) observaron que los adultos de *A. lineatus* y *A. obscurus* en zonas no arables mostraban una estructura espacial similar durante varios años y que en zonas agrícolas respondían de manera similar. Esto sugiere que pueden ser desarrollados modelos para predecir su distribución a la hora de desarrollar programas de control de la plaga.

1.6.2. Características de los métodos de muestreo

En la década de los 80 comenzaron a identificarse feromonas de gusanos de alambre. En Norte América, Brown y Keaster (1986) estudiaron la dispersión de *Melanotus depressus* (Melsheimer) y de *M. verberans* (LeConte) utilizando trampas de caída y trampas pegajosas. En Europa se han desarrollado estudios sobre la captura de adultos y se han identificado feromonas específicas para las especies más importantes del género *Agriotes* (Yatsynin y Lebedeva, 1984; Borg-Karlson *et al.*, 1988). También se ha evaluado la eficacia de las trampas Yatlor para la captura de adultos con feromonas (Furlan *et al.*, 2000; Toth *et al.*, 2002).

Con esto se abre otra alternativa para la estimación de la densidad de gusano de alambre ya que los adultos de la familia Elateridae no son migratorios y su dispersión es local. Por ello, es importante encontrar la relación entre la población de adultos en una zona y la infestación de larvas en el suelo. De hecho, en Siberia, se encontró correlación entre capturas en trampas de feromona y densidad de larvas en suelo en trigo de primavera (Krivokhizin, 1991).

Actualmente se han sintetizado feromonas para las principales especies europeas del género *Agriotes* (tabla 7). Han sido desarrolladas en el Instituto de Protección Vegetal de Budapest mediante la extracción de las feromonas de los extractos de glándulas de hembras. La caracterización se llevó a cabo mediante análisis de cromatografía de gases y espectrofotometría de masas con la posterior síntesis de los componentes identificados. Por

último se optimizaron en campo, adaptando las dosis, el dispensador y el ratio de los componentes de las feromonas sintéticas formuladas (Toth *et al.*, 2003).

ESPECIE	FEROMONA
<i>Agriotes brevis</i>	geranyl butanoato y (E,E)-farnesyl butanoato
<i>A. rufipalpis</i>	geranyl hexanoato
<i>A. sordidus</i>	geranyl hexanoato
<i>A. lineatus</i>	geranyl octanoato y geranyl butanoato
<i>A. litigiosus</i>	geranyl isovalerato
<i>A. obscurus</i>	geranyl hexanoato y geranyl octanoato
<i>A. sputator</i>	geranyl butanoato
<i>A. ustulatus</i>	(E,E)-farnesyl acetato

Tabla 7: Componentes de cada feromona

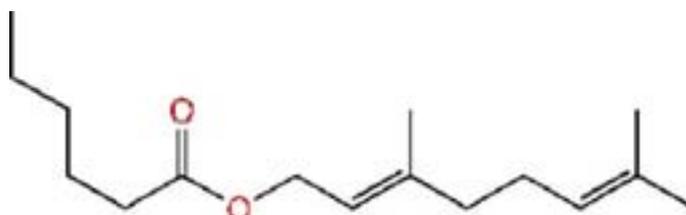


Figura 15: Feromona de *Agriotes sordidus*, geranyl hexanoato.

1.7. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

A la hora de afrontar este trabajo y poder contribuir a la búsqueda de posibles soluciones frente al gusano de alambre, era necesario tener una visión general de todos los factores que podían contribuir, si no a la solución definitiva del problema, sí por lo menos a abordarlo correctamente.

En la Llanada Alavesa los cultivos que forman parte de las rotaciones son patata, remolacha y cereal, siendo los tres cultivos susceptibles al ataque. La patata es el único cultivo en el que se realizan tratamientos sistemáticos contra esta plaga. Además, el gasto fitosanitario más importante en este cultivo es actualmente el gusano de alambre, con un costo por hectárea de 220€, siguiéndole los tratamientos contra mildiu con 160€, aunque este gasto varía según los años dependiendo de la climatología.

Este control se ha basado durante años en la aplicación generalizada de un insecticida organoclorado, el lindano, que debido a su bajo coste, persistencia y eficacia, se utilizaba de forma preventiva, realizándose tratamientos a toda la superficie del cultivo sin realizar ninguna estimación del riesgo de ataque de la plaga.

Desde 2002 está prohibida la producción, uso y comercialización de todos los productos de protección de plantas que contengan este insecticida. Es más, la aplicación de la Directiva 91/414 por parte de la Unión Europea, en el transcurso del trabajo experimental de esta tesis, ha supuesto que muchas sustancias activas comercializadas en su inicio no hayan superando las evaluaciones correspondientes.

La tendencia de los últimos años es la aplicación de programas de control integrado. Estos programas requieren mucha información, conocimiento exhaustivo de la plaga a tratar, estimaciones de riesgo de ataque y métodos agronómicos para reducir los daños de forma sostenible para así hacer frente a las demandas industriales, económicas y sociales que afectan al sector.

Por otro lado, el gusano de alambre ha cobrado una importancia relevante como plaga por diversos factores. Los cambios en los hábitos sociales han determinado que la estructura del consumo de patatas haya variado en los últimos años, con mayor demanda hacia variedades susceptibles de industrialización y con nuevas tendencias en el mercado como la patata lavada, donde los requerimientos de calidad no permiten superar el 2-3% de daño.

No se puede olvidar que la patata es un cultivo que hoy en día deja bajos márgenes de ganancia al agricultor alavés, por lo que la reducción de cualquiera de los insumos al cultivo es fundamental para su mantenimiento.

La solución pasa pues, por el control integrado. Con esta tesis se ha querido realizar un estudio en profundidad de la causa del problema: la biología y la distribución del gusano de alambre para contribuir a la determinación de un método de estimación de riesgo, lo cual permitiría poner fin a la realización de tratamientos sistemáticos a toda la superficie de cultivo. Esto se ha complementado con la búsqueda de estrategias alternativas de control como las trampas-cebo, cultivos trampa, un hongo entomopatógeno, utilización de métodos culturales como el barbecho o el manejo del riego y con la búsqueda de materias activas que controlen esta plaga.

Los objetivos que se han planteado en el presente trabajo son los siguientes:

1- Determinación de especies de elatéridos presentes en la Llanada Alavesa en el cultivo de la patata. Morfología y preferencias de oviposición.

2- Estudio de la especie más abundante en la Llanada Alavesa, *Agriotes sordidus*.

2a- Ciclo de desarrollo y duración.

2b- Dispersión de adultos. Valoración de la utilización de trampas con feromonas sexuales para captura de adultos.

2c- Estudio de la distribución espacial en el suelo de las larvas y de su grado de agregación. Desarrollo de un método práctico de evaluación de riesgo de daños en el cultivo mediante la utilización de cebos-trampa, frente a la realización de tratamientos sistemáticos en todas las parcelas.

3 - Interés y eficacia práctica de productos químicos, biológicos y técnicas culturales de control, en la protección del cultivo de patata.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1. LA FASE ADULTA

2.1.1 Determinación taxonómica

En la determinación de las especies se utilizó la morfología de edeago del macho.

Para su estudio, se extrajeron los edeaos con los escleritos asociados. Para ello los machos se colocaron en frío durante 20-30 minutos en pocillos de vidrio con KOH al 10% para destruir los tejidos blandos. Con pinzas muy finas se separaron los segmentos terminales con la ayuda de una lupa binocular (Leica MZ95). Una vez aislada la terminalia se dejó en la sosa unos minutos más para que se aclarase del todo. Posteriormente se sacaron las piezas de la sosa y se colocaron en agua destilada. Por último, se extrajeron las genitalias y se conservaron en viales con alcohol al 75% junto con los ejemplares machos correspondientes. También se realizaron preparaciones microscópicas con solución de Hoyer-Berlese para poder estudiarlas al microscopio de contraste (Leica DM 4500B). Las distintas partes de la genitalia se contrastaron con literatura científica (Platia, 1994).

2.2 EL CICLO DE DESARROLLO

2.2.1. Cría en cámara climática

El ciclo completo de esta especie se desarrolló en una cámara Heraeus Vötsch (VTPH-500) de condiciones controladas (figura 16). La temperatura fue de 25°C y el fotoperíodo de 16:8 (Furlan, comunicación personal).



Figura 16: Cámara con condiciones controladas de temperatura y fotoperíodo.

2.2.1.1. Oviposición

La obtención de huevos tuvo lugar a partir de adultos recogidos en campo mediante captura en trampas de hierba (ver 2.3.1). Estos se colocaron en cajas de 15x15 cm, a razón de cuatro machos por hembra. Se identificaron en el microscopio estereoscópico (lupa binocular) por las diferencias de los caracteres sexuales. Para su alimentación se les suministró hierba fresca cada 3-4 días. Una parte del recipiente se habilitó con arena húmeda para la oviposición. La arena se revisó diariamente durante 60 días registrándose el número de huevos. La distribución del número de huevos por hembra se intentó ajustar a una distribución normal.

2.2.1.2. Desarrollo larvario

De los huevos recogidos se transfirieron diez a cada uno de los viales destinados a estudiar el ciclo vital. En total se tomaron datos de 65 viales. Los viales fueron de un tamaño de 4 cm de diámetro y 12 cm de alto (figura 17). Se rellenaron de turba hasta la mitad de su altura. Para la alimentación de las larvas, en cada vial se sembraron 4-5 semillas de *Lolium perenne* (Linnaeus) que fueron renovadas cada 20-25 días. Se taparon con gasa y se colocaron en cajas cerradas para mantener la humedad. El agua utilizada para mantener húmeda la turba fue agua destilada.

Dos meses después de la eclosión, las larvas se colocaron en viales individuales para evitar el canibalismo, que es la principal causa de mortalidad en condiciones de laboratorio (Spilman, 1978).

La periodicidad de las mediciones biométricas de las larvas fue de 5-7 días. Para ello se utilizó un micrómetro digital.



Figura 17: Viales para el seguimiento del ciclo vital en condiciones controladas. Detalle de un vial con semillas para la alimentación de las larvas.

Los resultados de longitud de larvas frente al tiempo se modelizaron como una curva logística utilizando la regresión no lineal (ver 2.6.2.4 y 2.6.2.5).

2.2.2. Cajas de cría al aire libre

Las distintas fases del ciclo de vida de *Agriotes sordidus* en condiciones normales fueron observadas también al aire libre en cajas de cría (figura 18).

Estas cajas constan de dos partes; una aérea y otra subterránea. La parte subterránea es un recipiente de 1 m³ de plástico abierto por el fondo para permitir el drenaje. La parte aérea es un recipiente de 1 m³ cubierto por una malla de 2 mm de luz, para permitir que entre el viento y el agua de lluvia. Las cajas se rellenaron con tierra arenosa recogida en campo, que se dejó secar durante dos meses para evitar la presencia de larvas y se comprobó colocando trampas cebo antes de comenzar el estudio. El experimento se llevó a cabo en la Granja Modelo de Arkaute (Llanada Alavesa).

Con objeto de evaluar las preferencias de cultivo en la oviposición las cajas fueron subdivididas en dos áreas: en una se sembró pradera y en la otra maíz.

De esta manera se obtiene un diseño factorial de dos bloques por dos cultivos (ver 2.6.3.1).

Machos y hembras fueron recogidos a comienzo de primavera de 2002 mediante dos métodos; trampas de hierba (2.3.1) y trampas de feromona (2.3.2).



Figura 18: Cajas cría para el estudio del ciclo vital de *Agriotes sordidus*, situadas en la localidad de Arkaute.

Mediante estos dos métodos se fueron introduciendo adultos desde abril hasta junio de 2002 en las cajas cría cada 5-7 días, acorde con las capturas en las trampas hasta un total de 400 individuos por cada caja, 40% hembras y 60% machos. En mayo se pobló una de las cajas y en junio la segunda caja.

La estimación del ritmo de crecimiento en condiciones no controladas en cada una de las cajas de cría se obtuvo mediante dos métodos; la sonda de suelo (ver 2.4.1) y las trampas cebo (ver 2.4.2.).

Mediante la sonda de suelo, se recogieron dos cilindros de tierra, a 30 cm y 60 cm, una vez al mes durante los meses en los que la tierra no superaba los 9°C de temperatura.

La longitud de las larvas recogidas en el recipiente fue medida con la ayuda de un calibre digital. Las larvas se midieron con cuidado de no dañarlas y en el menor tiempo posible de forma que se devolvían en buen estado a la caja de cría de donde habían sido obtenidas junto con la tierra recogida.

Por otra parte, a partir de mayo del 2003 se colocaron, una vez al mes, dos trampas cebo por cada caja. Estas eran recogidas a los 15 días. La primera revisión se realizó manualmente. Para asegurar que las larvas más pequeñas eran identificadas se colocó todo el material de la trampa en embudos Tüllgren-Berlese (ver 2.4.3). Se registraron las medidas de longitud de las larvas y se devolvieron a las cajas.

Los datos de longitud de las larvas en relación al tiempo se intentaron ajustar a una curva logística.

Para determinar el final del desarrollo larvario, en la primavera de 2004, se realizó el muestreo de pupas mediante catas de 10 x 10 cm. de superficie por 10 cm de profundidad. Se recogieron 6 muestras por caja, 3 en cada cultivo.

A partir del segundo año (2003), se colocaron desde principios de primavera hasta finales de otoño trampas con feromona con el fin de capturar los adultos. Estas trampas se revisaron semanalmente.

2.3. DISPERSIÓN DE LOS ADULTOS

2.3.1. Trampas de hierba

Estaban compuestas por una lámina de plástico de 40 x 40 cm, colocada sobre el suelo, y cebadas por debajo con hierba fresca *Festuca* sp., trébol (*Trifolium* sp.), *Dactylis glomerata* y ray-grass (*Lolium perenne*) (figura 19).

Se colocaron 160 trampas en dos localidades, Arkaute y Gauna en el año 2002 y 2003. Las trampas estaban separadas entre ellas 10 metros en grupos de 5 y distribuidas al azar en dos fincas, ambas con una alta población de gusano de alambre y libres de hierba.

De esta forma los adultos se agregan debajo del plástico en la hierba y son recogidos fácilmente. Estas trampas se revisaron dos veces por semana cambiando la hierba semanalmente. Se registró el número de machos, el número de hembras (2.1.1) y el color de los élitros de cada individuo. También se utilizaron estos adultos para poblar las cajas de cría (ver 2.2.2).



Figura 19: Trampa de hierba para la captura de adultos de *Agriotes*.

2.3.2. Trampas de feromonas

Las curvas de actividad de adultos de *Agriotes* se establecieron mediante la utilización de trampas Yatlor con feromona específica para cada especie (Tóth *et al.*, 2002). En estas trampas se capturan principalmente machos. Fueron revisadas dos veces por semana, registrándose el número de machos, el número de hembras y el color de los élitros de cada individuo.



Figura 20: Trampa Yatlor cebada con feromona.

Estas trampas fueron cedidas por el Dr. Lorenzo Furlan de la Universidad de Padua. Consisten en un tronco de cono clavado en el suelo por cuyas paredes estriadas ascienden los adultos pasando por unas rejillas que impiden la entrada de otros insectos de mayor tamaño. Al caer en el interior del cono atraídos por la feromona quedan confinados. En la parte superior se coloca la feromona específica con el fin de atraer a los machos de la especie que se desea capturar (figura 20).

Las trampas se colocaron en zonas de agricultura intensiva, Arkaute y Gauna situados en la Llanada Alavesa y en Valdegobía en la zona oeste de la Provincia. El estudio se mantuvo durante los años 2002, 2003 y 2004. En estas fincas de Arkaute y Gauna se realizaron ensayos de control y distribución de larvas.

Las trampas se colocaron en fincas de cultivo de patata cercanas a pastos, con antecedentes de daños por gusano de alambre.

La separación entre las trampas fue de 30 m. Las feromonas se reemplazaron cada 30-40 días.

Para el análisis de los datos, las fechas se tomaron por semanas ya que el análisis de muestras anuales es simplificado si el número de semana contiene las mismas fechas en años sucesivos. Esto puede obtenerse por exclusión del calendario de las fechas de 29 de febrero y 31 de diciembre.

Los datos estacionales de actividad se intentaron ajustar a una mezcla de distribuciones normales.

2.3.3. Trampas de vuelo

Para verificar si los adultos de *Agriotes sordidus* vuelan, se colocaron dos trampas pegajosas amarillas (figura 21) durante los años 2003 y 2004. Según Furlan (1996) las bandas de colores amarillo y blanco son las más eficaces para la atracción de adultos de *Agriotes*. Las bandas se colocaron a distintas alturas: 20, 70 y 120 cm, en dos praderas en la localidad de Arkaute, con alta población de gusano de alambre. Las bandas pegajosas eran de 3 m de longitud por 30 cm de anchura. Para favorecer la presencia de adultos de *A. sordidus* se colocó una cápsula de feromona en la parte superior de la trampa.

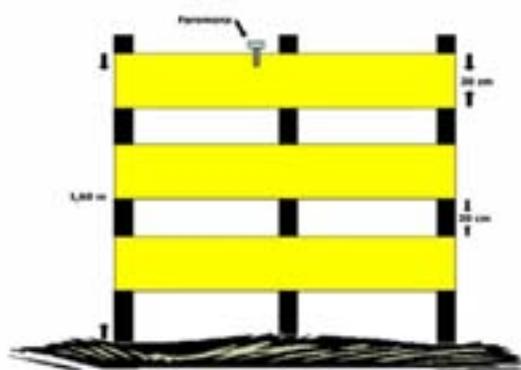


Figura 21: Trampa de bandas para la evaluación del vuelo de los adultos de *A. sordidus*.

Se tomaron datos diarios a la mañana y al anochecer durante los meses de mayo a julio para ver el periodo de tiempo en el que se producía el vuelo.

2.4. DISTRIBUCIÓN DE LAS LARVAS EN EL SUELO

La población de larvas se estimó mediante dos métodos:

2.4.1. Muestreo de suelo

Se tomaron muestras de tierra con un extractor manual cilíndrico de 12 cm de diámetro y 30 o 60 de profundidad dependiendo de la estación (figura 22).



Figura 22: Aparato para extracción de tierra.

Las muestras se analizaron mediante dos métodos. Por un lado mediante embudos Tüllgren-Berlese, descrito en el apartado 2.4.3 y por otro mediante lavado de tierra.

Para el lavado de tierra se utilizaron varios tamices y agua a presión (figura 23). En primer lugar las muestras se embebían en agua durante dos horas. Posteriormente se pasaban por tamices con distinta luz, siendo el de menor tamaño 4 mm. Finalmente las larvas eran separadas por flotación, dejándolas reposar unos 10 minutos con una solución salina saturada de sulfato de magnesio.



Figura 23: Sistema de cribas para la extracción de larvas.

2.4.2. Trampas-cebo

Las trampas cebo fueron realizadas de acuerdo con la descripción dada por Chambert y Blot (1992) que es una versión modificada de la trampa descrita por Kirfman *et al.*, (1986).

Esta consiste en un recipiente de plástico con forma de tintero de 11 cm de diámetro provisto de agujeros en su parte basal y relleno con trigo y maíz (figura 24).



Figura 24: Trampas cebo de trigo y maíz descritas por Chambert y Blot (1992).

En la bibliografía se encontraron diferentes atrayentes; cebos de patata (Apablaza *et al.*, 1977; Toba y Turner, 1983), maíz, colza y melón (Seal *et al.*, 1992b), maíz mezclado con trigo (Ward y Keaster, 1977; Kirfman *et al.*, 1986), semillas de girasol y harina de avena (Doane, 1981) y zanahoria (Parker, 1994).

Para determinar cual era el atrayente más apropiado para cebar las trampas de larvas se realizó un primer ensayo con diferentes cebos. Todos los recipientes llevaron un mismo sustrato como base. Se utilizó vermiculita por ser más porosa que el suelo y retener mejor la humedad alrededor de los cebos durante un largo periodo de tiempo. Además, ésta se disgrega rápidamente, lo que facilita la detección de las larvas. Como único inconveniente, cabe resaltar que debido a su color dorado, los gusanos de alambre pueden pasar desapercibidos resultando más difícil cuantificar las capturas visualmente. Estas trampas tienen la ventaja de que son fáciles de fabricar y son baratas.

Una vez preparado, el recipiente se coloca a una profundidad de 15 cm, dejando 3-4 cm de tierra por encima. Se cubre con una tapadera destinada a retener el gas carbónico (CO₂) emitido por los granos en germinación. El punto de enterramiento de la trampa se señaló con una estaca de plástico amarilla. El tiempo óptimo de permanencia de las trampas enterradas para atraer al máximo número de larvas es, según estudios realizados por Cherry y Alvarez (1995) de 15-20 días. De este modo las trampas fueron retiradas quincenalmente, la tierra de alrededor no se tuvo en cuenta porque no es posible recoger una cantidad uniforme de tierra en todos los cebos. Una vez en el laboratorio se procedió a la extracción de las larvas mediante el embudo Tüllgren-Berlese.

La utilización de trampas cebo asegura un número suficiente de larvas para analizar los datos estadísticamente. En el presente estudio se asume que todas las trampas cebo tienen el mismo grado de atracción en todos los campos.

2.4.3. Extracción de larvas a partir de las muestras

Para la revisión tanto de los cebos como de muestras de tierra, se utilizaron embudos Tüllgren-Berlese (Brydon y Fuller, 1966) de 30 cm de diámetro con una malla de 0.5 cm de luz en la parte final y un bote para recoger las larvas con tierra húmeda para mantenerlas vivas (figura 25). Este método está basado en la creación de un gradiente humedad en la muestra, aprovechando el comportamiento de huida de la desecación de estos insectos que terminan cayendo sobre un recipiente a medida que la muestra se va secando. Los embudos cargados con las muestras de tierra se dejaron durante 30 días en un lugar protegido para que se secaran de forma natural.



Figura 25: Embudos Tüllgren-Berlese para extracción de insectos de suelo mediante gradiente de humedad natural.

2.4.4. Comparación de cebos

Las variantes ensayadas fueron: patata, trozos de zanahoria, maíz solo, mezcla de maíz y trigo, una trampa rellena solo con vermiculita y una muestra de tierra de 12 cm de diámetro por 30 cm de profundidad.

El ensayo se llevo a cabo en 2001 en la Granja Modelo de Arkaute. Para la ubicación del ensayo se eligió una parcela donde el año anterior el cultivo de patata había sufrido un ataque importante de gusano de alambre.

El diseño fue de 8 bloques completos al azar. Durante el tiempo que se mantuvieron las trampas, las malas hierbas se retiraron a mano para dirigir la atracción de las larvas a las trampas cebo eliminando así fuentes alternativas de alimento ya que la abundancia de alternativas alimenticias alrededor de las trampas reducen significativamente la captura de larvas (Doane, 1981).

Las trampas cebo fueron colocadas cuando la temperatura del suelo fue mayor de 9°C, ya que es un factor limitante en la atracción de las larvas (Toba y Turner, 1983).

Se mantuvieron 15 días enterradas. A continuación se llevaron al laboratorio donde el primer conteo de las larvas fue manual. Las muestras posteriormente se colocaron en embudos Tüllgren-Berlese donde se mantuvieron 30 días.

2.4.5. Diseño del muestreo

La distribución horizontal de las larvas se valoró mediante captura de larvas en trampas cebo y muestreo de suelo durante los años 2002 y 2003.

Para el diseño de los ensayos se establecieron mallas de 25 puntos, con un marco de 10 x 9 m. Igualmente, para el estudio de la distribución de las larvas, se aprovecharon los trampeos previos de los ensayos de control (ver 2.5.2) donde había parcelas sin ningún tratamiento.

Se colocaron las trampas cebo 15-30 días antes de la siembra de patata y al mismo tiempo se realizaron catas a 50 cm. Las parcelas se mantuvieron libres de hierba para eliminar fuentes alternativas de alimento.

Se registró el número de larvas capturadas en trampas en cada parcela elemental.

Se estudió la bondad de ajuste de la distribución de larvas por trampa a la distribución de Poisson para contrastar la hipótesis de distribución aleatoria (ver 2.6.1). Como hipótesis alternativa se utilizó la distribución binomial negativa (ver 1.5.4).

2.5. DAÑOS EN TUBÉRCULO DE PATATA Y SU CONTROL

2.5.1. Condiciones de la zona de estudio

Este estudio se ha llevado a cabo en la provincia de Álava, situada entre los paralelos 42° 33' y 43° 13' de latitud norte y entre los meridianos 2° 14' y 3° 18' de longitud este, respecto a Greenwich. Su extensión es de unos 3.047 km².

Limita al Norte con los territorios históricos de Vizcaya y Guipúzcoa, al este con la Comunidad Foral de Navarra, al Sur con la Comunidad Autónoma de La Rioja y al Oeste con la provincia de Burgos, en la Comunidad Autónoma de Castilla León.

La cota máxima sobre el nivel del mar corresponde al monte Gorbea, con 1.475 m de altura y la mínima al río Cadagua con 55 m sobre el nivel del mar.

Geológicamente, forma parte de la amplia Cuenca Cantábrica con predominancia de materiales mesozoicos que con los movimientos alpinos formaron un sistema de pliegues que constituye el esqueleto estructural del País Vasco siguiendo dirección E-O.

Desde un punto de vista edáfico, la provincia de Álava se divide en varias unidades geomorfológicas siendo la zona objeto de estudio la Llanada Alavesa. Los materiales predominantes son blandos, margocalizas y margas, formando pequeñas colinas y elevaciones se encuentran materiales algo más resistentes como calizas y areniscas.

En lo referente al clima, Álava se puede considerar un espacio de transición. Se encuentra entre un clima templado-oceánico que se caracteriza por abundantes lluvias y temperaturas suaves en la zona septentrional y un clima mediterráneo-continental, que da lugar a una oscilación térmica elevada y a un menor número de lluvias.

2.5.2. Ensayos de campo

Para la elección de los tratamientos y técnicas a ensayar se tuvieron en cuenta tanto trabajos previos sobre gusanos de alambre realizados por técnicos de cooperativas de patata e información que nos facilitaron los agricultores, como información recogida a través de casas comerciales. Por ello se descartaron materias activas de uso autorizado para patata e ineficaces en la práctica contra el gusano de alambre y se incluyeron materias activas que en ese momento se encontraban en fase de registro.

El diseño de los ensayos se ha basado en las directrices para la evaluación de la eficacia de insecticidas en control de gusanos de alambre de la EPPO: PP 1/46(3).

Los ensayos han sido llevados a cabo en fincas situadas en la provincia de Álava durante los años 2000-2004 (Fig 25).



Figura 26: Mapa de la provincia de Álava con las dos localidades donde se realizaron los ensayos; Arkaute y Gauna

- Gauna: Nos encontramos en la Llanada Alavesa (550 m de altitud) con un cambisol eutrítico de textura arcillo-limosa y pH 7,85. La capacidad de campo, expresada en % en volumen de tierra seca es 40 y el del PMP (Punto de Marchitez Permanente) es 22.

- Arkaute: Situado en la Llanada Alavesa (520 m de altitud). El suelo es una rendzina mólica de textura franca y pH 6,6. El contenido de agua a capacidad de campo es 35 y el PMP es 15.

En los ensayos se ha utilizado la variedad de patata Monalisa, por su reconocida susceptibilidad al ataque del gusano de alambre.

Para la elección de las parcelas de ensayo se realizaron muestreos tanto de suelo como de trampas cebo en los meses previos a la siembra de patata y cuando las temperaturas de suelo superaban los 9°C. También se tuvo en cuenta el historial de daños de las fincas y de los cultivos precedentes. Normalmente se ha usado un diseño de bloques al azar, con parcela unitaria de 24 m²: cuatro caballones de 25 plantas (marco de siembra: 75 x 32).

2.5.2.1 Determinación del grado de ataque en tubérculo

Para determinar el ataque de la plaga, durante la cosecha de cada parcela de los diferentes ensayos se recogieron 100 tubérculos de los dos surcos centrales para evitar contaminaciones. Se tuvieron en cuenta las patatas con calibre comercial (>40 mm). Estos fueron lavados con agua a presión, se valoró el ataque visualmente y se anotaron los daños dividiéndolos en clases según el número de agujeros en cada tubérculo en una escala de 0 a 5 (figura 27). Se consideró daño cualquier orificio originado por el gusano de alambre sin tener en cuenta su profundidad.



Figura 27: Proceso para la evaluación manual de los daños debidos a gusano de alambre en 100 tubérculos de los dos surcos centrales de cada parcela individual.

Para calcular el grado de ataque se ha empleado la fórmula de Townsend-Heuberger (Townsend y Heuberger, 1943).

$$Ga = \frac{\sum nv}{Vm \times N} \times 100$$

Ga = del grado de ataque

n = nº tubérculos de cada categoría de ataque

v = valores numéricos categoría de ataque

N = nº total tubérculos

Vm = valor máximo de la categoría

La escala utilizada ha sido:	Valor	nº mordeduras/tubérculo
	0	0
	1	1
	2	2
	3	3
	4	4
	5	5 o más

De esta manera, la fórmula nos da el porcentaje de agujeros encontrados sobre el máximo teórico de agujeros posibles. Esperamos que se distribuya binomialmente (ver 2.6.1).

2.5.2.2. Productos químicos

Los insecticidas orgánicos sintéticos que se han evaluado pertenecen a las siguientes categorías:

- Carbamatos: actúan inhibiendo la enzima colinesterasa, provocando la acumulación de acetilcolina e inhibiendo la transmisión nerviosa causando finalmente parálisis. (Ecobichon, 1997). Carbosulfan y carbofurano.
- Organofosforados: su modo de actuación es similar al de los carbamatos. (Jamal, 1997). Etoprofos y forato.
- Nitroguanidinas: sintetizados como imitación a la nicotina, causan un bloqueo irreversible de los receptores nicotinérgicos postsinápticos de la acetilcolina (Pflüger, 1993; Courbon, 1992). Imidacloprid y tiametoxam.
- Fiproniles o fenilpirazoles: bloquea los canales de cloro de las neuronas regulados por el ácido gamma-aminobutírico, inhibiendo su acción detoxificante (Colliot *et al.*, 1992). Fipronil.

2.5.2.3. Técnicas de control

Se evaluaron tres técnicas; cultivo trampa, riego hasta final de ciclo y barbecho libre de malas hierbas.

2.5.2.3.1 Riego

El mantenimiento de la humedad del suelo hasta la cosecha es una práctica utilizada por el 25 % de los agricultores consultados al inicio del estudio.

La técnica de control por riego consistió en alargar hasta el final del cultivo los riegos semanales para mantener la humedad del suelo y valorar su eficacia para el control de daños al tubérculo. Para ello se realizaron en 2002 en el ensayo de Gauna dos riegos suplementarios de 30 litros cada uno. El diseño fue de bloques completos al azar con 4 repeticiones.

2.5.2.3.2 Cultivo trampa

Como cultivo trampa se sembraron en línea semillas de trigo tratadas con diferentes insecticidas, a una dosis de 75 kg de trigo tratado/ha (figura 28). La elección de trigo como cultivo trampa está basada en trabajos previos sobre la elección de hospedadores del género *Agriotes* (Miles y Petherbridge, 1927).



Figura 28: Caballones con cebos de trigo tratado sembrado en línea.

Para la evaluación del momento óptimo para la siembra de los cebos de trigo se ensayaron dos momentos de aplicación, en el momento de la siembra de patata y 15 días antes.

Como el género *Agriotes* es polífago, las malas hierbas han de ser eliminadas para limitar el rango de alternativas alimenticias a las semillas de trigo tratadas (McSorley *et al.*, 1987). Por ello las malas hierbas se eliminaron a mano en todos los bloques semanalmente durante los primeros 30 días.

Las materias activas que fueron utilizadas en el tratamiento de las semillas fueron fipronil, imidacloprid y tiametoxam.

2.5.2.3.3. Barbecho

Se evaluó la eficacia del barbecho limpio de malas hierbas durante dos años para determinar si esta era una técnica a tener en cuenta en el control de larvas de gusanos de alambre.

Para ello se tomaron 28 muestras de tierra, en la primavera de 2002 y cuando la temperatura del suelo superó los 9°C se colocó a un metro de cada muestra una trampa cebo. Los puntos se señalaron para repetir el muestreo el año siguiente.

El ensayo se ubicó en una pradera recién roturada con una alta población de adultos de gusano de alambre.

En la primavera de 2003, se valoró la población de larvas mediante los mismos métodos que el año anterior para determinar si la población había disminuido.

La tabla 8 es un resumen de todos los tratamientos y técnicas de control ensayados.

NOMBRE COMERCIAL MATERIA ACTIVA-%	TÉCNICA DE APLICACIÓN	DOSIS
Regente Fipronil-80	Pulverizar el surco al colocar los tubérculos	125 g/ha
Marshal Carbosulfan-5	Aplicación en línea durante la siembra	12.5 kg/ha
Curaterr Carbofurano-5	Aplicación en línea durante la siembra	15 kg /ha
Cruiser Tiametoxam-35	Pulverización de tubérculos.	214 cc/Qm
Mocap Etoprofos-10	Aplicación en línea durante la siembra	30 kg/ha
Geomet 5G Forato-5	Aplicación en línea durante la siembra	30 kg/ha
Bio 175 G Aceite de Neem	Aplicación en línea durante la siembra	25 Kg/ha
Cruiser cebo Tiametoxam-35	Aplicación de semillas de trigo tratadas antes de la siembra	2 cc /kg trigo 75 kg trigo/ha
Regente cebo Fipronil-80	Aplicación de semillas de trigo tratadas antes de la siembra	0.7 g/kg trigo 75 kg trigo/ha
Regente cebo Fipronil -bait 0.5	Aplicación en línea durante la siembra	10 kg/ha
Riego	Riego hasta final de ciclo	Dos riegos suplementarios de 30 litros cada uno.
Escocet cebo Imidacloprid-35	Aplicación de semillas de trigo tratadas antes de la siembra	2 cc /kg trigo 75 kg trigo/ha

Tabla 8: Productos y técnicas de control utilizados durante los años 2000 a 2004. Indicando las técnicas de aplicación y las dosis.

Todos los tratamientos fueron aplicados en siembra e inmediatamente incorporados al terreno mediante el acaballado. Cada año se ensayaron diferentes combinaciones de tratamientos siempre en diseño de 4 bloques al azar con cuatro repeticiones.

2.5.2.4. Productos ecológicos

En el año 2004, se comprobó la eficacia de cebos de trigo tratado con productos autorizados en el cultivo ecológico

El ensayo se ubicó en una finca de la Llanada Alavesa en la localidad de Ascarza, registrada como parcela de cultivo ecológico.

El ensayo tenía un diseño de 10 bloques incompletos, con dos tratamientos por bloque y cuatro repeticiones por tratamiento, siendo las parcelas elementales de 4 caballones x 7 metros (figura 29).

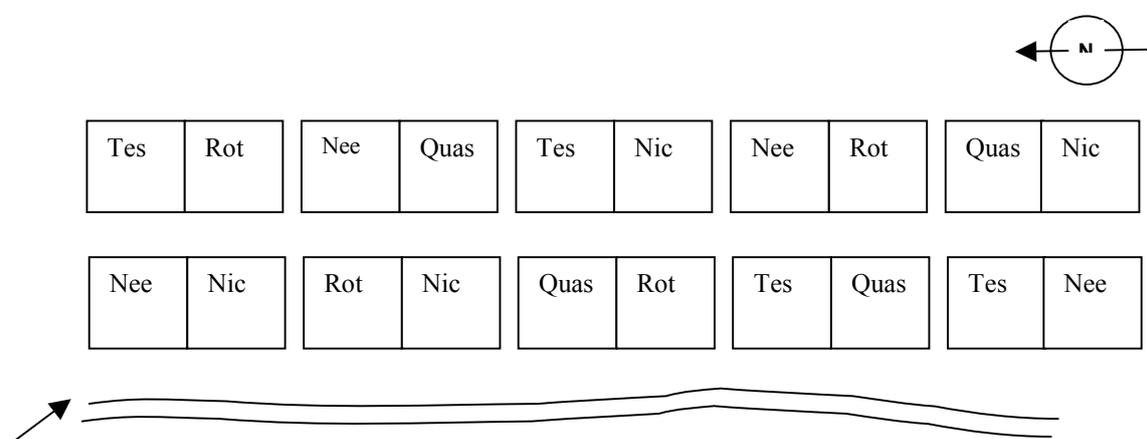


Figura 29: Esquema del ensayo en la parcela ecológica. Variables: testigo (tes), Aceite de Neem (Nee), *Quassia amara* (Quas) y rotenona (Rot), nicotina (Nic)

Se sembraron los cebos 15 días antes de la siembra de patata, para favorecer el ataque del gusano de alambre. La dosis de tratamiento en semilla fue de 200 cc de producto / 100 kg de semilla y la dosis de siembra fue de 75 kg/ha.

Se utilizaron cuatro materias activas:

- Nicotina

Es un potente insecticida natural obtenido del tabaco (*Nicotiana tabacum* L.), útil contra pulgón, trips y otros insectos de cutícula blanda. Actúa por contacto e ingestión. Bloquea la sinapsis al unirse al receptor colinérgico de acetilcolina.

- Extracto de *Quassia amara*

Extraído de la corteza del árbol del mismo nombre. Actúa por contacto e ingestión y tiene actividad sistémica en la planta.

- Rotenona

Insecticida natural extraído de especies de leguminosas tropicales: *Derris* sp, *Lonchocarpus* sp. y *Tephrosia* sp. Actúa por contacto e ingestión siendo poco persistente en el medio. Su modo de acción es el bloqueo de los canales de sodio.

- Aceite de Neem

Aceite natural extraído de las semillas del árbol del Neem (*Azadirachta indica*). La azadiractina posee efecto repelente, es un regulador del crecimiento (IGR) y reduce la fecundidad de huevos y adultos. Actúa por contacto e ingestión.

2.5.2.5. Periodo de ataque de la larva

Según la bibliografía consultada (Toba y Turner, 1979; Seal y Chalfant., 1994), el mayor daño causado por gusano de alambre se produce a final de ciclo del cultivo. Por ello, para la determinación de la distribución temporal del ataque de las larvas se realizó un ensayo donde se valoró el daño en la última fase del cultivo.

El ensayo se llevó a cabo el año 2000, en una finca situada en Arkaute, con antecedentes de daños debidos a gusano de alambre. El diseño fue de 4 bloques completos al azar.

La toma de muestras se realizó en la última fase del cultivo con catas semanales (12/9-20/9- 27/9- 5/10) hasta la recolección (19/10).

En este ensayo el grado de ataque no se midió por la fórmula de de Townsend-Heuberger, sino que se tomaron datos del nº de tubérculos con algún agujero, en una muestra de 4 pies por parcela durante el cultivo y 100 tubérculos por cada parcela en recolección.

2.5.2.6. Predicción de los daños finales al cultivo y capturas en trampas cebo

En los diversos ensayos anteriores (2.5.2.2., 2.5.2.3., 2.5.2.4) se evaluó, en el momento de la recolección, el grado de ataque en las parcelas donde previamente se había realizado el muestreo para conocer la distribución de larvas de gusano de alambre.

Los daños finales en el cultivo se intentaron explicar mediante análisis de covarianza (2.6.2), siendo la captura en trampas-cebo la variable continua.

2.5.3. Hongos entomopatógenos: *Metarhizium anisopliae*

Se realizaron ensayos con un hongo entomopatógeno, *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin, para evaluar su posible utilización como control biológico del gusano de alambre.

Las cepas del hongo proceden de aislados de elatéridos canadienses y fueron cedidas por el Dr. Tod Kabaluk (Agrifood-Canadá).

Los ensayos, uno en laboratorio y posteriormente otro en campo, se realizaron para valorar su eficacia como control biológico del gusano de alambre, ya que la cepa utilizada ha sido encontrada en elatéridos canadienses y desconocíamos su comportamiento en el género *Agriotes*.

Para la preparación del micelio del hongo para la inoculación de trigo se siguió el método descrito por Jenkins *et al.*, (1998).

Las colonias de reserva fueron mantenidas a 4 °C. Las dos semanas anteriores al comienzo del bioensayo, se repicaron en medio específico para *Metharrizium* a 24 °C durante una semana (tabla 9).

1 %	Glucosa
1 %	Peptona
1.5 %	Oxgall
3.5 %	Agar
10 µg/ml	Dodina (<i>N</i> -dodecylguanidina monoacetato)
250 µg/ml	Cicloheximida (actidiona)
500 µg/ml	Cloranfenicol

Tabla 9: Medio específico para *Metarhizium* (Liu *et al.*, 1993)

Las placas de Petri con los cultivos fueron revisados cada dos días con el objeto de detectar la esporulación de las colonias. Cuando éstas esporulaban, se vertían en cada placa 10 ml de Tween y se agitaba en un incubador orbital durante dos horas para conseguir el mayor número de esporas.

La solución de esporas obtenida fue ajustada a una concentración de 1×10^7 y se introdujo en un Erlenmeyer estéril con medio líquido para *Metarhizium* en condiciones de esterilidad. Se tuvo en agitación orbital y en oscuridad a 125 rpm. durante una semana.

Posteriormente se inoculó el hongo en un sustrato portador, granos de trigo en condiciones de esterilidad.

Se inocularon los granos de trigo con el micelio suspendido en agua destilada (50:50) a una concentración de 150 ml por kilo de trigo.

Para la preparación del trigo este fue previamente lavado después se coció sin dejar hervir con 300 ml de agua y 20 ml de aceite de girasol por kg de trigo durante 5 minutos. Una vez que el cultivo masivo de *Metharrizium* estuvo preparado, este se mezcló con las semillas de trigo. Finalmente se dejó incubando en a 25°C durante 10-14 días.

2.5.3.1. Laboratorio

El ensayo de laboratorio se realizó en condiciones controladas a 25°C de temperatura y 90 % humedad relativa.

Durante los meses de Abril-Junio de 2005 se procedió a la captura de larvas de *A. sordidus* (ver 2.4). Las trampas se colocaron en Álava y en La Rioja. En Álava se realizó en zonas previamente afectadas por la plaga, mientras que en La Rioja, Juan Manuel Rodríguez (CIDA) capturó las larvas en una zona de pradera natural que había sido levantada recientemente.

Se utilizaron 108 larvas. Se colocaron en viales PYREX autoclavados de medidas 4x12 cm que se rellenaron de turba estéril hasta la mitad de su altura. Para la alimentación de las larvas, en cada vial se sembraron 3-4 semillas del trigo inoculado con micelio del hongo en los viales con tratamiento y sin inocular en el resto. Todos los tubos se colocaron en cajas transparentes cerradas. El agua utilizada para mantener húmeda la turba fue agua destilada. Se utilizaron 54 viales con trigo tratado con el hongo y 54 con trigo sin hongo como testigo.

La periodicidad de la toma de datos fue de 5 días. El criterio de evaluación en el experimento fue la mortalidad por micosis y esporulación de los hongos en el tegumento de los cadáveres.

El número de larvas muertas frente al tiempo se modelizó como un curva logística (ver 1.1.5).

2.5.3.2. Campo

Al año siguiente se realizó un ensayo de campo. Para ello se utilizó un diseño de tres bloques al azar. Las variables ensayadas fueron; trigo autoclavado inoculado con *M. anisopliae*, trigo sin autoclavar inoculado, trigo tratado con imidacloprid y, como testigo, cebos de trigo.

Las parcelas fueron de 25 m² siguiendo las normas de la EPPO: PP 1/46(3)

El trigo se sembró 15 días antes de la siembra y se mantuvo el terreno libre de malas hierbas para eliminar fuentes alternativas de alimento y así potenciar el efecto de atracción de los cebos de trigo.

Las variables medidas fueron; la germinación del trigo y los daños en tubérculo según la metodología explicada en el apartado 2.5.2.1.

2.5.4. Nematodos entomopatógenos

En marzo de 2003, se llevó a cabo un muestreo en dos localidades, Arkaute y Gauna. En Arkaute se muestreó una pradera de larga duración con una alta población larvaria y en Gauna en dos fincas también con una alta población.

Se tomaron muestras de 600 g. En la pradera se cogieron 45 muestras en el interior de la parcela y 20 en los márgenes y en Gauna, 24 en el interior de dos parcelas y 40 en los márgenes.

Todas las muestras se enviaron a la Dra. Carmen Gutiérrez Martín, del laboratorio de Consejo Superior de Investigaciones Científicas donde los nematodos son aislados mediante el método de trampa con *Galleria* (Bedding y Akhurst, 1975) y se mantienen en el laboratorio con el método de Woodring y Kaya (1988). La identificación de las especies se realiza con la metodología basada en el análisis morfométrico de Hominick *et al.*, (1997) y Adams y Nguyen (2002).

2.6. MÉTODOS ESTADÍSTICOS.

2.6.1. Ajuste a distribuciones teóricas

Se realizó el Test de Cociente de verosimilitud, G-Test (Sokal y Rohlf, 1995) para comprobar la concordancia entre las frecuencias esperadas (E) y observadas (O):

$$G = 2 \sum O_i \ln \frac{O_i}{E_i}$$

Como las frecuencias por clase son bajas en muchos casos (menos de cinco larvas), se aplica la corrección de Williams:

$$q = 1 + \frac{(a^2 - 1)}{6nv}$$

Siendo:

a : el número de clases

v : grados de libertad ($a-2$)

$$G_{corr} = G / q$$

De cualquier modo, Wood (2002) ha demostrado que tanto la prueba de la G como el estadístico X^2 de Pearson no son satisfactorios para medias menores de 1 tanto para Poisson como para la binomial negativa. Propone agrupar las observaciones hasta obtener una media de los grupos superior a 1.

Por otro lado se aplicó la ley de Taylor (Taylor, 1984). Se basa en la relación empírica entre la varianza y la media de estimaciones de abundancia, descrita mediante la ecuación potencial;

$$S^2 = a m^b$$

Donde S^2 y m representan la varianza y la media y a y b son parámetros a estimar estadísticamente.

Tomando logaritmos se obtiene la ecuación lineal: $\text{Log } S^2 = \text{Log } a + b \log m$, que nos permite cuantificar el grado de agregación mediante la pendiente del modelo: $b < 1$, $b = 1$ y $b > 1$ que indican patrones uniforme, aleatorio y agregado, respectivamente.

2.6.1. 1. Ajuste a la distribución normal.

La distribución normal refleja de modo apropiado los datos de muchas variables continuas medidas en el mundo real. Incluso en el caso de datos que, intrínsecamente, responden mejor a otras distribuciones, las aproxima de manera aceptable, como la de Poisson, cuando λ es alto (mayor de 20) o la binomial, cuando el valor de p no es extremo ($0,1 < p < 0,9$) y el valor de n es suficientemente alto. Para ver si una serie de datos, obtenida de una población homogénea, se desvía de una distribución normal, se ha utilizado la prueba de la W de Shapiro y Wilk (SAS, 1999). Una vez comprobado que los datos no se desvían significativamente de la distribución normal, se indican los resultados de la media muestral (\bar{X}) y del error típico (s). Estos sirven, respectivamente, como estimadores de la media (μ) y desviación típica (σ) poblacionales y permiten construir intervalos de confianza en los que se encuentren un porcentaje determinado de datos. Por ejemplo, el 95% de la población se encontraría entre $\bar{x} - 1,96s$ y $\bar{x} + 1,96s$.

Si un juego de valores reales se desvía significativamente de la distribución normal, se puede recurrir al ajuste a otra distribución teórica o a una transformación que normalice los datos (ver 2.6.2.2).

2.6.1.2. Ajuste a distribuciones discretas teóricas.

Ya se ha mencionado en la introducción (1.5.4) que el ajuste a distribuciones teóricas proporciona información sobre la biología de una especie. Según el diseño experimental, hay dos vías para probar qué distribución teórica se ajusta mejor a un juego de datos determinado.

Cuando se dispone de una muestra relativamente grande, de más de treinta o sesenta datos, obtenida de una población homogénea, se estiman los parámetros poblacionales a partir de los muestrales. Con estos parámetros se calculan las diferentes distribuciones teóricas y se busca cuál ofrece mejor ajuste mediante alguna prueba de la familia de la χ^2 -cuadrado. En este trabajo utilizaremos el test G (Sokal y Rohlf, 1995).

Cuando el experimento tiene cierta estructura, por ejemplo, en un ensayo de control con diseño de bloques al azar, no podemos probar el ajuste de los datos brutos directamente, ya que determinados tratamientos han podido modificar, y eso es lo que se busca, los parámetros poblacionales. En este caso, se puede estudiar la distribución de los residuos después de aplicar el modelo lineales generalizados con diferentes distribuciones (ver 2.6.2). Se prueba si una distribución ajusta mejor que otra por cociente logarítmico de verosimilitudes (Sokal y Rohft, 1995).

2.6.1.3. Ajuste de curvas de actividad a distribuciones teóricas.

Un pico de actividad de un insecto en el tiempo puede modelizarse como una campana de Gauss, es decir una distribución normal. Esta distribución no tiene estructura lineal en sí misma, por lo que, al igual que en el apartado 2.6.2., tenemos dos opciones de ajuste de datos: utilizar una transformada más un modelo lineal o utilizar un modelo no lineal.

La transformada logarítmica de los datos (captura de insectos, en nuestro caso) hace que la campana de Gauss se convierta en una parábola convexa (Jowett *et al.*, 1974). Ésta se modeliza con un polinomio de segundo grado, que es un modelo lineal (figura 30).

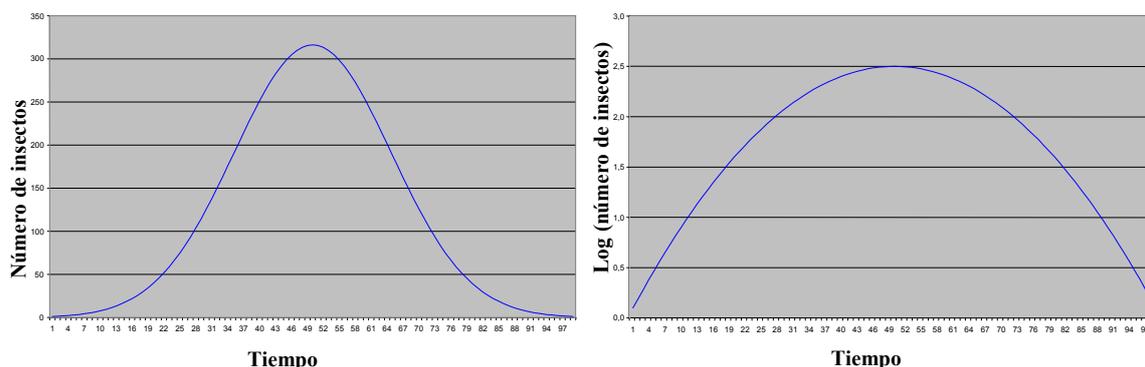


Figura 30: Campana de Gauss (distribución normal) y su transformada logarítmica.

Cuando sólo hay un pico de actividad bien dibujado, el ajuste no lineal se realiza a partir de la media y desviación típica muestrales y se contrasta con las pruebas habituales de normalidad (pruebas de Shapiro-Wilk o de Kolmogorov-Smirnoff, véase Sokal y Rohlf, 1995). Cuando se presentan dos picos de actividad, como en nuestros resultados, en la aproximación lineal hay que dividir los datos en dos series y ajustar dos parábolas o introducir más términos en el polinomio (se puede modelizar una curva bimodal con un polinomio de cuarto grado). La opción no lineal es el algoritmo de expectación-maximización (Dempster *et al.*, 1977). Como en el caso del ajuste de la curva logística (véase 2.6.2.4. y 2.6.2.5), la bondad del ajuste de los valores aproximados iniciales dados por el experimentador.

2.6.2. Modelos lineales y no lineales

2.6.2.1. Modelos lineales. Estructura.

En un modelo lineal, cada dato medido y_{ijk} , de una variable continua y , se puede descomponer en una suma de términos del tipo

$$y_{ijk} = \mu + a_i + b_j + c_k + \varepsilon ;$$

donde μ es la media muestral y ε es un término aleatorio de una distribución normal de media cero y varianza igual al error experimental. Los demás términos del modelo pueden tener diferentes estructuras: pueden tener un valor fijo para cada nivel de un factor, sin relación alguna con los otros niveles del mismo factor (factores fijos), o pueden considerarse términos aleatorios de una distribución normal de media cero y varianza característica (factores aleatorios). Por ejemplo, en un ensayo de campo de diferentes métodos de control en un diseño de bloques completos aleatorizados, el efecto de cada tratamiento se considera fijo (sería repetible para un producto determinado si se reprodujera el ensayo en otras circunstancias). En cambio, el efecto del bloque se considera aleatorio, ya que no se podría reproducir en otro año u otro campo. Cuando el modelo contiene sólo este tipo de términos (junto con la media muestral y el término de error), hablamos de un análisis de varianza. En otros casos, el valor de un término no viene dado de modo determinista o aleatorio, sino que es, a su vez, una función lineal de otra u otras variables continuas x_1, x_2, \dots . Si sólo existen este tipo de términos, hablaremos de una regresión lineal, donde y es la variable dependiente y x_1, x_2, \dots son las variables independientes. Por último, si se combinan factores fijos y covariables en un mismo modelo, habaremos de análisis de covarianza.

2.6.2.2. Modelos lineales. Restricciones teóricas. Transformadas.

Los modelos lineales son una poderosa herramienta de análisis estadístico, alrededor de la cual se han diseñado diferentes tipos de pruebas, como comparaciones de medias, planificadas (contrastes) o no. Pero, para poder aplicarlos se han de cumplir ciertos requisitos, como son la independencia y normalidad de los errores y la isoscedasticidad (independencia del error respecto de la media; Sokal y Rohlf, 1995). La independencia de los errores se suele procurar mediante la aleatorización del diseño experimental. La normalidad de los errores se puede comprobar aplicando la prueba de normalidad de la W de Shapiro y Wilk (SAS, 1999) a los residuos (término ε del modelo lineal). Para la isoscedasticidad, se ha aplicado una prueba estadística “ad hoc”, que consiste en una regresión lineal de los valores absolutos de los residuos sobre los valores predichos por el modelo, para cada dato. Para pasar la prueba, la regresión no debe resultar significativa (recta de regresión horizontal).

Normalmente, los problemas de falta de normalidad y de isoscedasticidad se presentan y se solucionan de manera conjunta. Se dan, típicamente, cuando el rango de la variable cubre más de un orden de magnitud. También se dan cuando estos modelos, basados en la

distribución normal, se aplican a datos que, intrínsecamente, responden a otras distribuciones, como conteos (distribución de Poisson,) y proporciones (distribución binomial) (ver 1.5.4.1). En este último caso, un recurso obvio es recurrir al modelo lineal generalizado apropiado (ver 2.6.2.3); pero su modelización es más compleja y no se dispone de la riqueza de pruebas estadísticas asociadas de los modelos lineales, como comparaciones de medias no planificadas. Otra posibilidad es transformar los datos de origen para que cumplan los requisitos de normalidad e isoscedasticidad. Como indicación general, para los conteos se utiliza la transformada raíz cuadrada del dato + 0,5 y para proporciones, el arcoseno de su raíz cuadrada, en radianes. Existe, además, la serie empírica de transformadas de Box y Cox (Sokal y Rohlf, 1995), que son

y, raíz cuadrada de y, log(y), 1/raíz cuadrada de y, 1/y...

Esta serie tiene la propiedad de reducir progresivamente la dependencia del error respecto de la media. La transformada apropiada se busca por tanteo, y también por tanteo se busca un parámetro fijo, del tipo $t_y = \log(y + 0,1)$; hasta encontrar el mejor compromiso entre normalidad e isoscedasticidad.

2.6.2.3. Modelos lineales generalizados.

La generalización a que hace referencia la denominación de estos modelos consiste en permitir distribuciones de errores diferentes de la normal, unida al uso de una “función de enlace” (SAS, 1999). Ésta última tiene un efecto equivalente al uso de transformadas en los modelos lineales. Por ejemplo, para modelizar unos conteos que se presuponen aleatoriamente distribuidos en el espacio, se utiliza el logaritmo como función de enlace y la distribución de Poisson para el término de error (tabla 10):

Modelo	Función de enlace	Distribución de errores
Lineal sin generalizar	Identidad	Normal
Conteos con distribución aleatoria	Logaritmo	Poisson
Conteos con distribución agregada	Logaritmo	Binomial negativa
Proporciones con distribución aleatoria	Logit	Binomial

Tabla 10: Funciones de enlace y distribuciones de error para modelos lineales generalizados.

En el presente trabajo se han utilizado estos modelos para contrastar la hipótesis de que la distribución de larvas de alfilerillo en el suelo es agregada.

2.6.2.4. Transformada logit para linealización de la curva logística.

La curva logística, presentada en 1.1.3, no es lineal:

$$y = \frac{\kappa}{1 + \beta e^{-\alpha t}}, \quad (7)$$

Una manera de ajustar una curva logística a unos datos dados consiste en linearizarlos. Para ello, reordenamos la expresión (7) de la siguiente manera:

$$1 + \beta e^{-\alpha t} = \frac{\kappa}{y},$$

$$\frac{\kappa}{y-1} = \beta e^{-\alpha t}$$

y tomamos logaritmos naturales de la expresión resultante, lo que constituye la llamada transformada logit:

$$\ln \frac{\kappa}{y-1} = \ln \frac{\kappa - y}{y} = \ln \beta - \alpha t \quad (8)$$

Esta expresión es una línea recta. Para ajustarla necesitaremos fijar la capacidad de carga κ , por prueba y error, y encontraremos los parámetros α y $\ln \beta$ por regresión lineal.

Un inconveniente de este método es que no admite la natural dispersión de datos alrededor de la capacidad carga, ya que cualquier dato mayor que κ cae fuera del campo de existencia de la función. Obliga, pues a que κ sea mayor que cualquier dato, lo que lleva a sobreestimarla. Una ventaja de este método es que admite incorporar fácilmente efectos fijos en un análisis de covarianza. De esta manera, tendríamos diferentes $\ln \beta_i$ para cada uno de los niveles del factor fijo (tratamientos), reflejando situaciones como la de la figura 8c. También nos permitiría comprobar si α varía o no entre tratamientos, como en la figura 8b. Sin embargo, no sería posible contrastar la hipótesis de diferentes κ , ya que están fijadas en la transformada.

2.6.2.5. Regresión no lineal

Existen métodos específicos para calcular los parámetros de una regresión no lineal (SAS, 1999) sin necesidad de transformar la variable dependiente. A diferencia del método de ajuste por mínimos cuadrados que utiliza la regresión lineal, estos métodos no garantizan que se encuentre la solución óptima al problema. Funcionan por iteración a partir de unos parámetros aproximados iniciales propuestos por el experimentador. En este trabajo hemos seguido el método de Sit (1992): hacer una primera regresión lineal con transformada logit (2.6.2.4) y utilizar los parámetros obtenidos como aproximaciones iniciales de la regresión no lineal. También hemos seguido a esta autora para incorporar los efectos fijos al modelo.

2.6.3.- Diseño experimental y programas informáticos.

2.6.3.1.- Diseño experimental.

La mayor parte de los experimentos de este trabajo tiene diseño factorial (2.6.2.1). Los ensayos de control en campo tienen, generalmente, un diseño de bloques completos al azar, donde el bloque se toma como factor aleatorio y el tratamiento como factor fijo. Por las sospechas de distribución agregada en el suelo, en algún caso se ha recurrido al diseño de bloques incompletos equilibrados, para minimizar el área de cada bloque. Cuando se han combinado los resultados de varias campañas de ensayos, se ha tomado el factor Año como fijo.

Siempre que la técnica experimental lo permitía, se ha recurrido a este diseño en bloques, intentando aislar las fuentes de variación no controladas. Por ejemplo, en la cría en cajas al aire libre, se han empleado éstas como bloques, distribuyendo los cultivos dentro de ellas. En cambio, en la cría en cámara climática, y debido al problema del canibalismo, se ha utilizado una larva por vial, en un diseño completamente aleatorizado y no factorial; de manera que se estudiaron los datos como una única población.

2.6.3.2.- Comparaciones de medias.

Salvo el caso especial de tener únicamente dos niveles de un factor, o de utilizar contrastes diseñados *a priori*, el número total de comparaciones de unas medias con otras es siempre superior a los grados de libertad disponibles. Esto ha generado un buen número de pruebas estadísticas, que tratan de compensar el aumento de error β que se produce al intentar disminuir el α . Los más populares son la mínima diferencia significativa de Fisher (least significant difference, LSD), también llamada prueba de la t (t-test), que sólo tiene en cuenta el error α , y la prueba de rango múltiple de Duncan, que va aumentando la LSD según el número de medias consecutivas que se estén comparando (Duncan, 1955). En este trabajo se ha optado por la prueba de Waller-Duncan (Waller y Duncan 1969, citado en Steel y Torrie, 1960), que utiliza la teoría bayesiana para compensar los dos errores.

2.6.3.3.- Programas informáticos.

Los datos brutos se ha ido recogiendo en tablas Excel© (Microsoft Corporation). Para los diferentes análisis estadísticos se ha utilizado un paquete SAS, versión 8 (SAS Inc., 1999).

2.7. RELACIÓN EXPERIMENTOS /OBJETIVOS

Con el fin de obtener la máxima información en el mínimo de ciclos de cultivo, varios de los experimentos que se llevaron a cabo contribuyen a la consecución de más de uno de los objetivos planteados. A modo de guía se plasma esta relación en la tabla 11.

EXPERIMENTOS	OBJETIVOS						CAMPAÑA	
	1.- Fase adulta	2a.- Ciclo	2b.- Dispersión	2c.- Distribución	3.- Control	LOCALIDAD	AÑO	
Cajas cría	X	X				Arkaute	2002-2005	
Cría en laboratorio	X	X				Arkaute	2003-2004	
Trampas de hierba	X					Gauna	2002-2003	
Trampas feromona	X		X			Gauna, Arkaute y Valdegobía	2002-2004	
Trampas pegajosas			X			Arkaute	2003-2004	
Trampas cebo		X		X	X	Gauna y Arkaute	2002-2003	
Productos					X	Gauna y Arkaute	2000-2004	
Productos ecológicos					X	Arkaia	2004	
<i>M. anisopliae</i>					X	Gauna y Arkaute	2005-2006	
Nematodos					X	Gauna y Arkaute	2003	
Barbecho					X	Arkaute	2002-2003	
Riego						Gauna	2002	
Periodo de ataque						Arkaute	2000	
Tipos de cebo						Arkaute	2001	

Tabla 11: Relación de experimentos y objetivos indicando la localidad y los años en los que se realizaron.

3. RESULTADOS

3.1. LA FASE ADULTA

3.1.1. Especies de *Agriotes* presentes en la Llanada Alavesa

Se puede determinar que de las siete especies muestreadas mediante trampas de feromona; *Agriotes brevis*, *A. rufipalpis*, *A. sordidus*, *A. lineatus*, *A. litigiosus*, *A. obscurus*, *A. ustulatus* y *A. sputator* solo se han encontrado en Álava durante las tres campañas que ha durado el estudio dos especies. La especie predominante es *A. sordidus* siendo *A. lineatus* una especie minoritaria constituyendo 10.3% del total de adultos del género *Agriotes* encontrados. Esto se confirma por su ausencia en las trampas de hierba.

3.1.2. Longitud del cuerpo

Los caracteres morfológicos de los adultos de *A. sordidus* capturados tanto en trampas de atracción sexual como en trampas de hierba durante los años 2002, 2003 y 2004 son similares en todos los casos salvo en la longitud. Advirtiéndose en adultos capturados en trampas de feromona y en trampas de hierba, dimorfismo sexual en la longitud (figura 31);

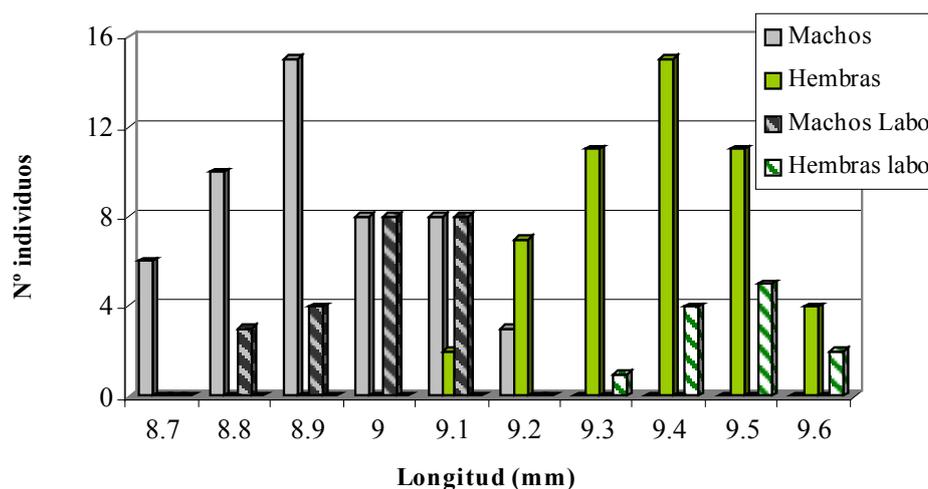


Figura 31: Polimorfismo en la longitud entre hembras y machos de *Agriotes sordidus* capturados en campo y criados en laboratorio.

En condiciones de laboratorio también se observó dimorfismo sexual en la longitud, siendo las hembras de mayor tamaño que los machos (tabla 13).

En la figura 31 parece también que los adultos criados en laboratorio son más grandes. Para contrastar esta hipótesis se realizó un análisis de varianza para un modelo bifactorial Sexo x Ambiente. Previamente se eliminaron dos machos de laboratorio de 8.0 mm, de los botes n^{os} 61 y 62, que se encontraban 8 desviaciones típicas por debajo de la media. Los resultados se presentan en la tabla 12. La diferencia entre los dos ambientes es significativa aunque no tanto como entre sexos.

Fuente de variación	<i>Grados de libertad</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Cuadrados medios</i>	F	P
Ambiente	1	0.1555	0.1555	9.87	0.0021**
Sexo	1	5.5123	5.5123	349.71	<0.0001***
Ambiente* Sexo	1	0.0038	0.0038	0.24	0.6217n.s.
Error	135	2.1280	0.1576		

Tabla 12: Resultados del análisis de varianza de los datos de tamaño de adultos dependiendo del sexo y de cría en diferentes ambientes. (n.s.=no significativo considerando $P<0.05$).

Los residuos del modelo no se desvían significativamente de la distribución normal ($W=0.9821$, $p=0.0655$), con lo que podemos calcular intervalos de confianza. El error experimental tiene muchos grados de libertad, por lo que su raíz cuadrada es una buena estimación de la desviación típica. La tabla 13 muestra estos intervalos para el 95% y 99% de confianza. De acuerdo con la figura 31, aunque las medias son significativamente diferentes entre sí, debido a la dispersión de datos los extremos de las medidas de machos y hembras se solapan.

	<i>x</i>	<i>dt</i>	<i>Max</i>	<i>Min</i>	<i>Intervalos de confianza</i>	
					95%	99%
♀ trampa	9.37	0.12	9.6	9.1	9.13 - 9.62	9.05 - 9.70
♂ trampa	8.92	0.14	9.2	8.7	8.68 - 9.17	8.60 - 9.25
♀ laboratorio	9.46	0.1	9.6	9.3	9.22 - 9.71	9.14 - 9.79
♂ laboratorio	8.91	0.29	9.1	8	8.74 - 9.23	8.66 - 9.31

Tabla 13: Longitud (mm) de adultos criados en laboratorio y capturados en trampas de hierba y trampas de feromona durante los años 2002, 2003 y 2004 en Arkaute y Gauna.

3.1.3. Color de los élitros

Se observó polimorfismo en la coloración de los élitros, distinguiéndose dos tipos, individuos con élitros negros y con élitros marrón-rojizo (figura 32).



Figura 32: Polimorfismo en la coloración de los élitros de *A. sordidus*.

Para el análisis de los datos de polimorfismo en el color, (% de individuos rojos) se realizó la prueba de Shapiro-Wilk que reveló la falta de normalidad en la distribución de los errores, siendo necesaria la realización de la siguiente transformación matemática (ver 2.6.2.2):

$$\text{Transf. (Adultos rojos)} = \text{Log}_{10} \frac{N^{\circ} \text{claros}}{N^{\circ} \text{total}}$$

Para determinar la influencia en el polimorfismo de los factores trampa, localidad y año, se realizó un análisis de varianza trifactorial. Para ello se aplicó el siguiente modelo lineal (ver 2.6.2.1):

$$\log(\text{Proporción adultos rojos})_{ijh} = \mu + \text{localidad}_i + \text{año}_j + \text{trampa}_h + \varepsilon_{ijh}$$

Como se ve en la tabla 14 en el análisis de varianza no se detectaron diferencias significativas para los factores año, trampa o localidad. El grado medio de polimorfismo para el color rojo de los élitros fue 2.22 %.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F	P
Trampa	1	0.0021	0.0021	1.14	0.36 n.s
Localidad	2	0.0258	0.0129	7.09	0.07 n.s
Año	2	0.0068	0.0034	1.85	0.29 n.s
Error	3	0.0054	0.0018		

Tabla 14: Resultados del análisis de varianza del polimorfismo en la coloración de los élitros. (n.s.=no significativo considerando $P < 0.05$).

En los resultados del análisis se observa que la significación del efecto localidad ($P=0.07$) se acerca al límite de significación $P < 0.05$, por lo que se realizó la prueba de medias.

En la tabla 15, se recogen las medias del efecto localidad apreciándose diferencias significativas entre las localidades situadas en la Llanada Alavesa y la localidad situada el valle de Valdegobía.

Localidad	2002		2003		2004		%
	Total	Color	Total	Color	Total	Color	
Arkaute	1651	36	991	22	795	22	2.34 a
Gauna	1167	32	295	6	-	-	2.61 a
Valdegobía	-	-	138	2	-	-	1.55 b

Tabla 15: Para una mejor comprensión, se añaden los datos de proporciones destransformadas de adultos de *A. sordidus* con polimorfismo en el color de los élitros en tres localidades alavesas. Las medias seguidas por la misma letra no son significativamente diferentes entre sí. (Prueba de Waller- Duncan, $K=100$).

En condiciones de laboratorio los adultos evolucionados desde huevo no presentaron polimorfismo en la coloración de los élitros siendo el 100% de color oscuro.

3.1.4. Relación entre los números de hembras y machos

Previamente al análisis de los datos de la relación entre hembras y machos capturados en trampas de hierba, se estudió la distribución de los errores mediante la prueba de Shapiro-Wilk (SAS, 1999). Al no ajustarse los datos a una distribución normal fue necesario aplicar la siguiente transformación matemática:

$$\text{Transf} (\sigma/\varphi) = \text{Log}_{10} \frac{\text{N}^{\circ} \sigma}{\text{N}^{\circ} \varphi}$$

Se realizó un análisis de varianza bifactorial para determinar la influencia de los efectos Localidad y Año. Para ello se aplicó el siguiente modelo lineal:

$$\text{Transf} (\sigma/\varphi)_{ij} = \mu + \text{localidad}_i + \text{año}_j + \varepsilon_{ij}$$

En la tabla 16, se observa que en el análisis de varianza no se detectan diferencias significativas ($P > 0.05$) en el efecto Localidad. El efecto Año resulta levemente significativo ($0.5 > P > 0.1$).

<i>Fuente de variación</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Cuadrados medios</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
Localidad	1	0.00036	0.00036	93.95	0.065 n.s.
Año	1	0.0065	0.0065	1712.32	0.015 *
Error	1	0.0000038	0.0000038		

Tabla 16: Resultados del análisis de varianza del logaritmo de la relación entre hembras y machos (n.s.= no significativo considerando $P < 0.05$).

En la tabla 17 se observa que en el año 2003 la relación entre hembras y machos fue aproximadamente 1:1, en cambio en 2002 el porcentaje de hembras supera al de machos capturándose tanto en Arkaute como en Gauna alrededor de un 20% más hembras.

<i>Año</i>	<i>Gauna</i>	<i>Arkaute</i>	<i>Relación</i>
2002	0.81	0.85	0.83
2003	0.97	1.02	1.00
	0.89	0.93	0.91

Tabla 17: Relación destransformada entre ♂ y ♀ de *A. sordidus* capturados en trampas de hierba. Datos tomados en dos localidades Arkaute y Gauna durante los años 2002 y 2003.

En condiciones de laboratorio, a 25°C, la proporción entre hembras y machos fue 0.5, para un número total de individuos de 42. Hay casi el doble de machos que de hembras (67 % de machos sobre el total) desviándose significativamente de una proporción 1:1 para una $P=0.05$ (intervalo de confianza binomial 53-80%).

3.1.5. Especificidad de las feromonas

El resultado de las capturas en trampas de feromona específica para cada especie se muestra en la tabla 18.

Feromona	<i>A.sordidus</i>	<i>A.lineatus</i>	<i>A.obscurus</i>	<i>A.brevis</i>	<i>A.ustulatus</i>	<i>A.litigiosus</i>	<i>A.sputator</i>
Especie capturada	<i>A.sordidus</i>	<i>A.lineatus</i>	<i>A.sordidus</i>	<i>A.sordidus</i>	<i>A.sordidus</i>	<i>A.sordidus</i>	<i>A.sordidus</i>
2002	1281	202	707	7	2	3	6
2003	668	64	457	9	2	3	6
2004	795	138	-	-	-	-	-
Total	2744	404	1164	16	4	6	12

Tabla 18: Número total de individuos de *A. sordidus* y *A. lineatus* capturados durante los 3 años, según la feromona de la trampa utilizada.

En las trampas para *A. sordidus* y *A. lineatus* se capturan solamente individuos de la especie a la cual va dirigida la feromona. En la trampa de *A. obscurus* se han capturado exclusivamente *A. sordidus*, correspondiendo al 42.4% de los individuos de esta especie recogidos. Las capturas en el resto de las trampas son esporádicas y todos individuos son también de la especie *A. sordidus*.

La feromona de *A. sordidus* aumenta la captura en un 99.76 % respecto a las otras trampas, excepto la de *A. obscurus*, en relación con la cual aumenta un 57.6 %. Se ve por tanto una alta especificidad de la feromona de *A. sordidus* con respecto al resto. La feromona de *A. obscurus* también tiene cierta atracción sobre *A. sordidus*, pero al no haber presencia de *A. obscurus* no sabemos si se da el caso complementario. La feromona de *A. lineatus* es muy específica ya que solo ha atraído individuos de esa especie. Complementariamente, ningún *A. lineatus* ha caído en las demás trampas.

Ambas especies están citadas en el norte de la Península Ibérica.

3.2. CICLO DE DESARROLLO

3.2.1 Oviposición

Bajo condiciones controladas se observó, que previo a la cópula, el macho reconoce a la hembra mediante movimientos táctiles de las antenas. A los pocos minutos del encuentro el macho trepa al dorso para introducir su aparato copulador en el orificio genital femenino, a continuación se coloca en posición contrapuesta (figura 33) y permanecen en esta posición desde unos segundos a varios minutos. En esta posición pueden desplazarse sin que la cópula se interrumpa.



Figura 33: Posición de cópula.

En laboratorio (figura 34), se obtuvieron datos de oviposición de 15 hembras capturadas en campo.

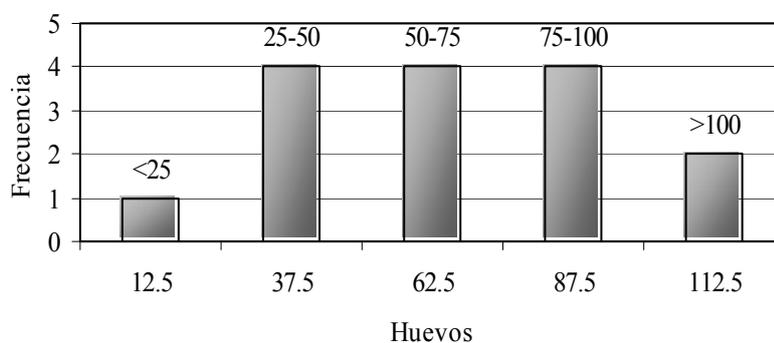


Figura 34: Histograma de frecuencias en el tamaño de la puesta de 15 hembras.

La media de huevos puestos por cada hembra fue 60 (DE=28, min=10, max=120). La distribución del número de huevos por hembra no se desvía de la normal ($P>0.05$, prueba de Shapiro-Wilk), con lo que el intervalo de confianza del 95% sería 5.1-115 huevos/hembra.

Los primeros huevos se obtuvieron a principios de mayo de 2003 y se continuaron observando las puestas a lo largo de todo el mes, registrándose los últimos huevos a principios de junio.

Las puestas estaban distribuidas en grupos de 5 a 20 huevos cada una, separadas unas de otras 1-2 cm (figura 35). La profundidad a la que se encontraron fue de 0.5 a 3 cm. El color de los huevos es blanco brillante con forma ovalada irregular y tienen un tamaño aproximado de 0.5 mm de diámetro.



Figura 35: Huevos recién puestos en grupo de 12.

Los huevos fueron mantenidos a 25°C y desde la puesta hasta la eclosión pasaron una media de 12.5 días (DT=1.7, max=16, min= 10).

3.2.2 Crecimiento de las larvas

3.2.2.1. Crecimiento en laboratorio

En laboratorio se estudió el desarrollo de 64 larvas, llevándose un registro del tiempo de los distintos estadios. El experimento tuvo una duración total de 475 días.

Al cabo de aproximadamente 60 días las larvas que quedaban juntas en viales se separaron para que quedara una única larva por vial ya que se observó competencia entre ellas. En 32 de los 64 viales quedaban dos larvas, lo que da una media de 1,5 larvas/vial. Si la supervivencia de las larvas fuera aleatoria, y de acuerdo con la distribución de Poisson, para un promedio de una larva y media por vial esperaríamos la distribución de la tabla 19.

Nº de larvas/vial	0	1	2	3	4	5 ó más
Distribución real	0	32 viales	32 viales	0	0	0
Distribución teórica	14,3	21,4	16,1	8,0	3,0	1,2

Tabla 19: Distribución del número de larvas por vial y su ajuste a la distribución aleatoria correspondiente (Poisson).

Aunque con sólo dos clases en la distribución de frecuencias no es posible aplicar una prueba de bondad de ajuste, parece evidente que las larvas se alejan de una distribución aleatoria y se acercan a una uniforme.

Se ha podido observar que cuando el huevo eclosiona sale una larva de menos de 2 mm y muy poco pigmentada en la que no se reconocen a lupa (x100) las dos excavaciones del IX segmento características de este género. Tras varias mudas, cuando alcanza una longitud de 4-5 mm, adquiere color naranja, se endurece la cutícula y se ven a simple vista los ocelos del IX segmento.

Cuando la larva está en periodo de muda se hincha y las fuerzas resultantes rompen la cutícula a lo largo de dos líneas de debilidad predeterminadas, líneas de ruptura ecdisial dorsales, que se aprecian claramente por su color blanquecino (figura 36).



Figura 36: Línea de ruptura ecdisial dorsal.

Mientras se produce la apólisis, separación de la cutícula vieja, se puede observar a la larva realizando movimientos bruscos. La larva recién mudada que es blanda y está poco pigmentada, se mantiene quieta durante unas horas en las que la cutícula adquiere la dureza y el color naranja característicos.

Se observó que hacia el final del último estadio, cuando la larva tiene una medida de entre 19 a 22 mm, cesa de alimentarse y comienza a moverse continuamente en el mismo lugar, construyendo una cámara pupal con el suelo que le sirve de albergue, hasta completar su metamorfosis. En la cámara poco a poco reduce la actividad y aparecen de nuevo las líneas de ruptura ecdisial dorsales muy marcadas.

Se ajustó una curva logística a los datos de desarrollo de las larvas. El modelo se ajustó preliminarmente mediante la transformada logit y luego, por regresión no lineal (2.6.2), que resultó muy significativa. La función ajustada es la siguiente:

$$\text{Longitud de las larvas} = \frac{20,99}{1 + 14,33e^{(-0,0235 \times \text{días})}}$$

Esta curva se muestra en la figura 37.

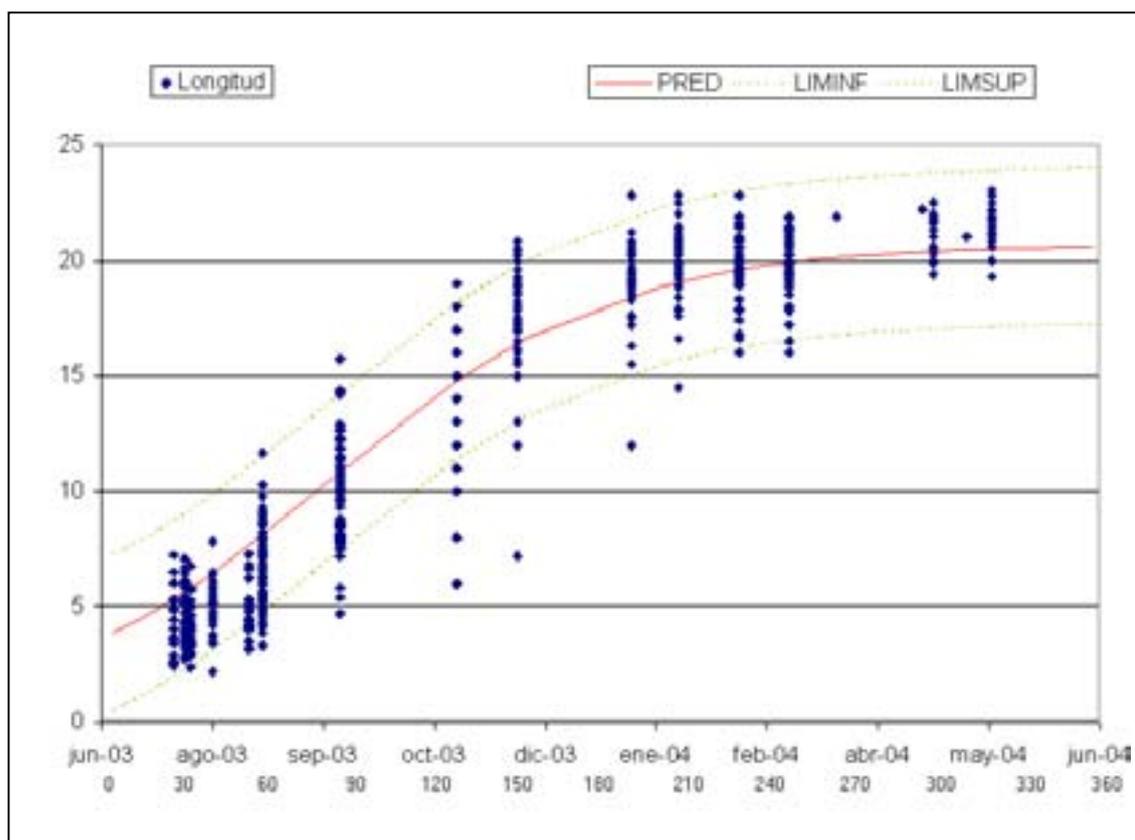


Figura 37: Evolución en la longitud (mm) de las larvas en viales individuales frente a la fecha en días y meses en condiciones controladas, a 25°C y 90 % de humedad.

Se obtuvieron resultados de 55 de las 64 repeticiones del experimento. 55 individuos puparon de los cuales 42 llegaron a la fase adulta. De estos, 28 resultaron machos y 14 hembras.

3.2.2.2. Variabilidad entre individuos.

Se ajustaron curvas de crecimiento para cada bote por separado. Se utilizó regresión no lineal (2.6.2), utilizando como parámetros de partida los obtenidos para el conjunto de los botes en el párrafo anterior. En seis de los casos el algoritmo no convergió o no hubo significación estadística (Nº. 37, 46, 48, 49, 50 y 55). Mayormente se trataba de botes en los que la larva murió antes de 150 días. La tabla 20 muestra los parámetros de las curvas ajustadas.

<i>Bote</i>	<i>K</i>	<i>BETA</i>	<i>ALPHA</i>	<i>c</i>	<i>1/c</i>	<i>V max</i>	<i>CPI</i>
39	17,3686	31,6669	0,038229	90,383	-0,011064	0,16600	-2,27
32	19,6639	11,9163	0,032037	77,346	-0,012929	0,15749	-2,07
5	20,8109	62,3373	0,038094	108,484	-0,009218	0,19819	-1,34
56	19,4598	31,1237	0,033219	103,494	-0,009662	0,16161	-1,21
26	18,8674	28,2850	0,032198	103,806	-0,009633	0,15187	-1,20
41	19,2182	22,8159	0,030746	101,718	-0,009831	0,14772	-1,10
34	20,1010	25,2675	0,031752	101,710	-0,009832	0,15956	-1,06
53	20,1133	31,8233	0,032832	105,391	-0,009488	0,16509	-1,05
11	20,7321	11,6718	0,026610	92,341	-0,010829	0,13792	-0,82
33	19,9815	11,8749	0,026143	94,648	-0,010565	0,13060	-0,82
9	21,0783	9,9658	0,025653	89,626	-0,011157	0,13518	-0,78
31	20,9537	18,8711	0,029355	100,072	-0,009993	0,15377	-0,78
13	22,4693	19,2365	0,030507	96,921	-0,010318	0,17137	-0,77
45	20,5192	8,4506	0,023854	89,470	-0,011177	0,12237	-0,72
19	19,8535	9,4872	0,023643	95,162	-0,010508	0,11735	-0,61
12	21,8150	12,4857	0,026474	95,362	-0,010486	0,14438	-0,54
38	21,0077	19,8808	0,028238	105,877	-0,009445	0,14830	-0,51
16	21,1855	17,3979	0,027620	103,414	-0,009670	0,14629	-0,50
51	21,6107	24,7413	0,029465	108,893	-0,009183	0,15919	-0,45
64	19,2414	11,8613	0,023681	104,443	-0,009575	0,11391	-0,44
8	21,3631	22,2929	0,028613	108,492	-0,009217	0,15282	-0,42
17	21,4465	12,2900	0,025483	98,451	-0,010157	0,13663	-0,41
23	18,6353	20,3124	0,025787	116,772	-0,008564	0,12014	-0,41
14	21,3963	14,3355	0,026018	102,343	-0,009771	0,13917	-0,35
2	21,0325	30,3645	0,029012	117,651	-0,008500	0,15255	-0,29
47	21,7176	20,1281	0,027625	108,673	-0,009202	0,14999	-0,28
54	21,3949	23,8942	0,028082	113,011	-0,008849	0,15021	-0,26
3	21,6410	14,2036	0,025013	106,083	-0,009427	0,13533	-0,12
30	21,8021	23,8541	0,027615	114,863	-0,008706	0,15052	-0,11
52	20,3329	27,8976	0,026882	123,822	-0,008076	0,13665	-0,08
20	21,5675	13,8996	0,024690	106,595	-0,009381	0,13313	-0,08
7	20,5013	8,8086	0,021278	102,253	-0,009780	0,10906	-0,08
57	20,2493	18,9459	0,024752	118,840	-0,008415	0,12530	-0,02
63	20,4266	20,9707	0,025277	120,391	-0,008306	0,12908	-0,00
28	20,3856	18,7831	0,024358	120,411	-0,008305	0,12414	0,07
61	20,7959	25,8749	0,025998	125,137	-0,007991	0,13516	0,09
29	20,7467	20,0138	0,024767	120,984	-0,008266	0,12846	0,11
4	19,8646	13,2856	0,021935	117,927	-0,008480	0,10893	0,14
36	21,5847	15,7568	0,024171	114,076	-0,008766	0,13043	0,15

43	22,7957	25,1283	0,026830	120,163	-0,008322	0,15290	0,23
15	21,9142	11,8471	0,022106	111,829	-0,008942	0,12111	0,34
59	20,0978	26,8861	0,023822	138,175	-0,007237	0,11969	0,39
60	21,5609	18,3148	0,022877	127,103	-0,007868	0,12331	0,53
1	21,5707	9,4997	0,019288	116,721	-0,008567	0,10401	0,65
44	22,7035	15,0121	0,022395	120,959	-0,008267	0,12711	0,65
22	22,2798	20,5499	0,023162	130,508	-0,007662	0,12901	0,69
24	22,2617	19,0793	0,022442	131,386	-0,007611	0,12490	0,77
25	22,3067	12,8549	0,020254	126,083	-0,007931	0,11295	0,89
21	22,5341	17,7552	0,021744	132,300	-0,007559	0,12249	0,90
35	23,6054	14,5508	0,020536	130,387	-0,007669	0,12119	1,17
27	22,4975	13,2089	0,018816	137,166	-0,007290	0,10583	1,25
42	23,4154	15,2532	0,019846	137,295	-0,007284	0,11618	1,32
18	22,3372	9,9324	0,016906	135,796	-0,007364	0,09441	1,38
62	21,7971	9,9958	0,016316	141,101	-0,007087	0,08891	1,41
40	23,1164	10,2248	0,017108	135,890	-0,007359	0,09887	1,51
10	24,5277	14,0709	0,017841	148,204	-0,006747	0,10940	1,90
58	23,2802	21,6885	0,014750	208,595	-0,004794	0,08585	2,54
6	25,2609	13,9392	0,014087	187,037	-0,005347	0,08896	2,86

Tabla 20: Parámetros de las curvas logísticas ajustadas a cada uno de los botes. Tabla-resumen de la distribución de estos parámetros.

Kappa y alpha se distribuyen normalmente; no así el parámetro beta. Incluso eliminando el resultado extremo $\beta=62,34$ (bote nº 5), la distribución de este parámetro es uniforme. Se incluyen también los parámetros derivados c (abscisa del punto de inflexión) y V_{\max} (velocidad máxima de crecimiento; 1.1.5). El parámetro c , que como el β da una idea del desfase temporal de la curva, no presenta una distribución normal, sino fuertemente sesgada hacia la derecha. Esto pudo remediarse con una transformada inversa (tabla 21).

<i>Parámetro</i>	<i>Media</i>	<i>Desviación típica</i>	<i>Mínimo</i>	<i>Máximo</i>	<i>Desviación de la normalidad (Shapiro-Wilk)</i>
k	21,26	1,43	17,37	25,26	ns
alpha	0,02515	0,00513	0,01409	0,03823	ns
beta	18,74	8,69	8,45	31,82 (62,34)	***
c	116,2	21,87	77,34	208,60	***
1/c	-0,00886	0,001434	-0,0129	-0,0048	ns
V_{\max}	0,1324	0,0225	0,0858	0,1982	ns

Tabla 21: Distribuciones de los parámetros de la curva logística para los diferentes individuos.

Los parámetros no son independientes entre sí. $1/c$ presenta correlación positiva con kappa y negativa con V_{\max} (tabla 22). Recordemos que los parámetros de la función logística están interrelacionados, siendo tanto c como V_{\max} funciones de κ .

	$1/c$	V_{max}
Kappa	0,62***	-0,41**
$1/c$		-0,61***

Tabla 22: Correlaciones entre los parámetros de la curva logística para los diferentes individuos.

Eso nos da pie para condensar la información de los tres parámetros en menos variables mediante análisis de componentes principales. Después de normalizar los datos para cada variable, el primer componente principal explica el 70% de la variabilidad. Está directamente relacionado con los parámetros kappa y $1/c$ e inversamente con la V_{max} . Siendo una variable obtenida a partir de otras normalizadas, su media es 0 y su desviación típica 1. Es la variable que hemos utilizado para ordenar la tabla 20. Para dar una idea de la variabilidad entre individuos, la figura 38 muestra los dos valores extremos del primer componente principal: el nº 39, con kappa y c bajas (17,4 mm y 90 días) y V_{max} alta (0,17 mm/día), y el nº 6, con kappa y c altas (25,3 mm y 187 días) y V_{max} baja (0,089 mm/día).

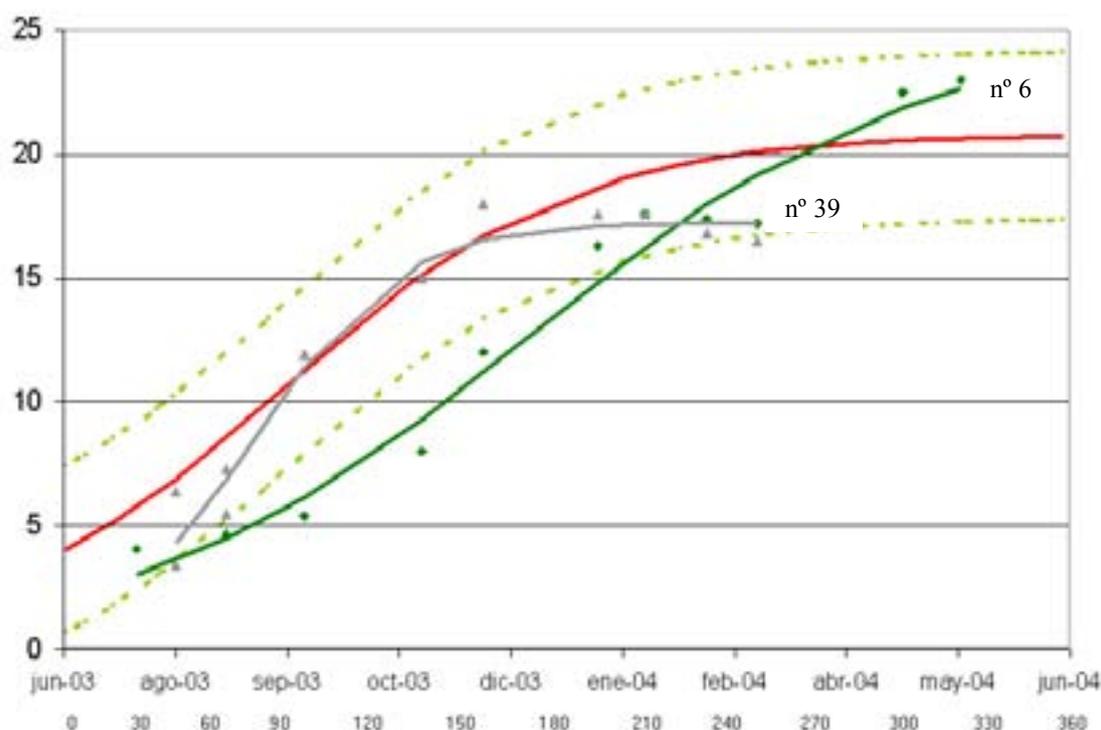


Figura 38: Datos brutos y curva ajustada del vial 39 y curva ajustada del vial 6; superpuestas a la curva ajustada del conjunto de los viales y su intervalo de confianza del 95%.

3.2.2.3.- Crecimiento de las larvas en cajas de cría al aire libre.

En una primera aproximación, se ajustó el crecimiento de las larvas a una curva logística mediante la transformada logit (2.6.2). En el diseño de este experimento, además de la variable continua Tiempo, se incorporaron los factores Caja y Cultivo. El análisis de covarianza correspondiente se presenta en la tabla 23.

<i>Fuente de variación</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Cuadrados medios</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
Días	1	252.6230246	252.6230246	1290.00	<0.0001***
Caja	1	1.0891475	1.0891475	5.56	0.0194 *
Cultivo	1	0.0001533	0.0001533	0.00	0.9777 n.s.
Días * Caja	1	4.7818482	4.7818482	24.42	<0.0001***
Días * Cultivo	1	0.0011766	0.0011766	0.01	0.9383 n.s.
Caja *Cultivo	1	0.0122975	0.0122975	0.06	0.8024 n.s.
Error	182	35.6414471	0.1958321		

Tabla 23: Análisis de covarianza de la transformada logit de la longitud de las larvas criadas en cajas al aire libre.

La regresión de la Longitud de las Larvas sobre la variable Tiempo es altamente significativa, pero también lo es su interacción con el factor Caja; lo que indica que las larvas crecieron más rápidamente en una caja que en la otra. Esto nos obliga a estudiar el crecimiento en cada caja por separado. Por el contrario, el factor Cultivo no resultó significativo; por lo que rechazamos la hipótesis de que la hierba sustenta un crecimiento más rápido que el maíz.

A continuación, se ajustaron curvas logísticas por regresión no lineal a cada caja por separado. Estas curvas todavía no presentaban un buen ajuste a los datos, ya que el crecimiento resultó más rápido en verano, mientras se estancaba en los meses de invierno. Se presentan en la figura 39, y sus parámetros en la tabla 24.

Para compensar este efecto, se utilizó como variable independiente la temperatura diaria media acumulada, en lugar del tiempo. Se utilizaron umbrales de 5, 10 y 15°C, obteniéndose el mejor ajuste con la intermedia. Las curvas ajustadas se presentan en la figura 39, después de volver a la escala en tiempo.

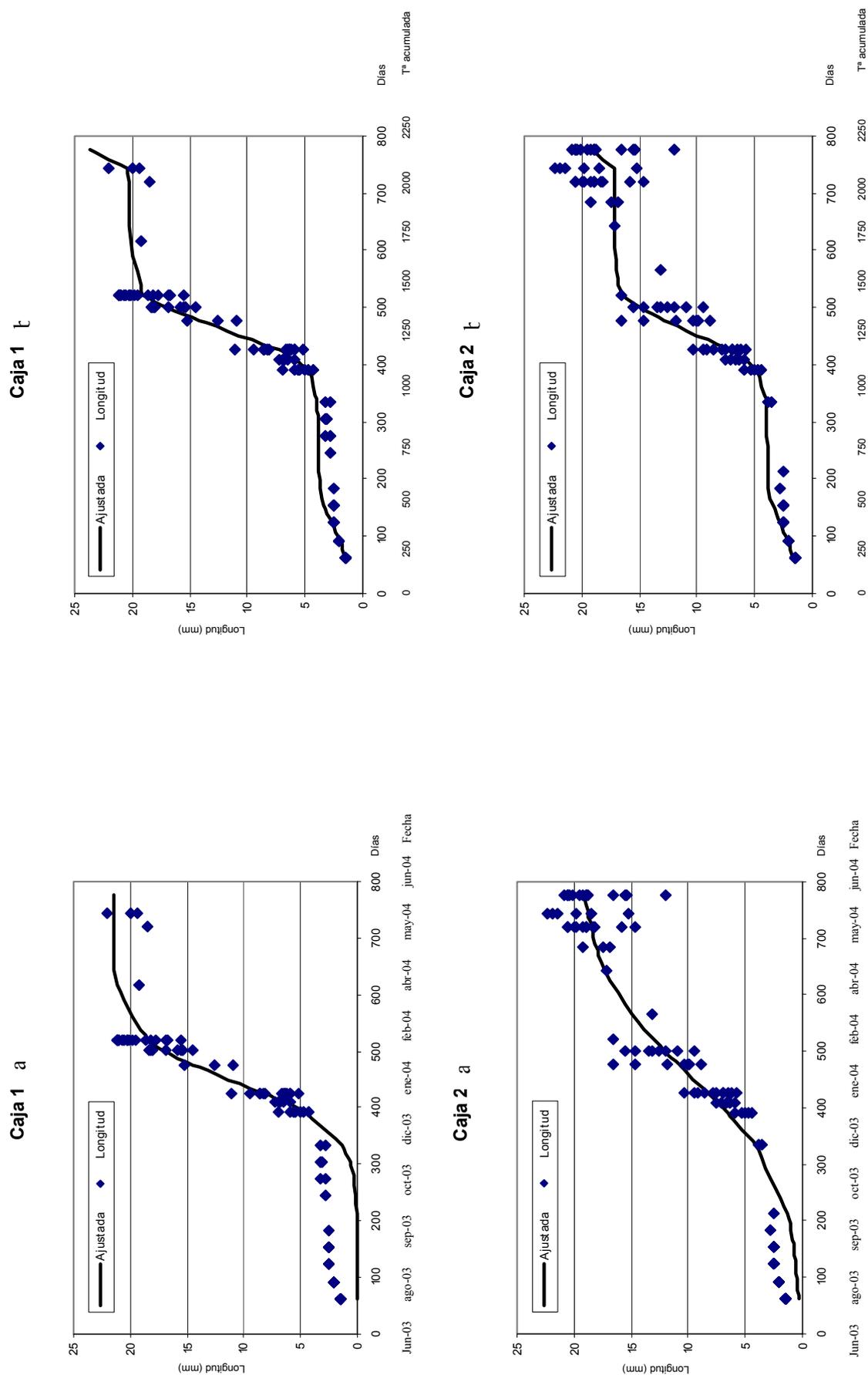


Figura 39: Regresiones no lineales de la longitud de las larvas criadas en cajas al aire libre ajustadas a una curva logística en función de los días (Caja 1a y 2a) y de las temperaturas acumuladas (Caja 1b y 2b).

Se observa que la curva ajustada a los días responde a los parones invernales de crecimiento y ajusta mucho mejor en el primer año. También puede observarse en la figura 39 la diferencia entre las dos cajas: en la caja 1, a partir de 500 días, hay mucha actividad de larvas, con longitudes en la zona de 15 a 20 mm, mientras que en la caja 2 la actividad disminuye rápidamente, predominando las longitudes de 10 a 15 mm. De esta manera, la caja 1 pasa el invierno con una longitud media ajustada en la zona de 20 mm, mientras que la caja 2 lo pasa con unos 17 mm. En primavera del tercer año, en la caja 1 apenas hay actividad, y toda ella de larvas largas (alrededor de 20 mm), mientras que en la caja 2 hay mucha actividad y de un amplio rango de longitudes (desde menos de 15 hasta más de 20 mm). Este desarrollo más rápido de la Caja n° 1 se puede explicar, simplemente, porque la n° 2 se pobló más tarde, una vez introducidos 400 individuos en la n° 1.

En la figura 40 aparece la longitud media de las larvas en la primavera del año 2003 y 2004, donde se aprecia el rápido crecimiento larvario en un año.

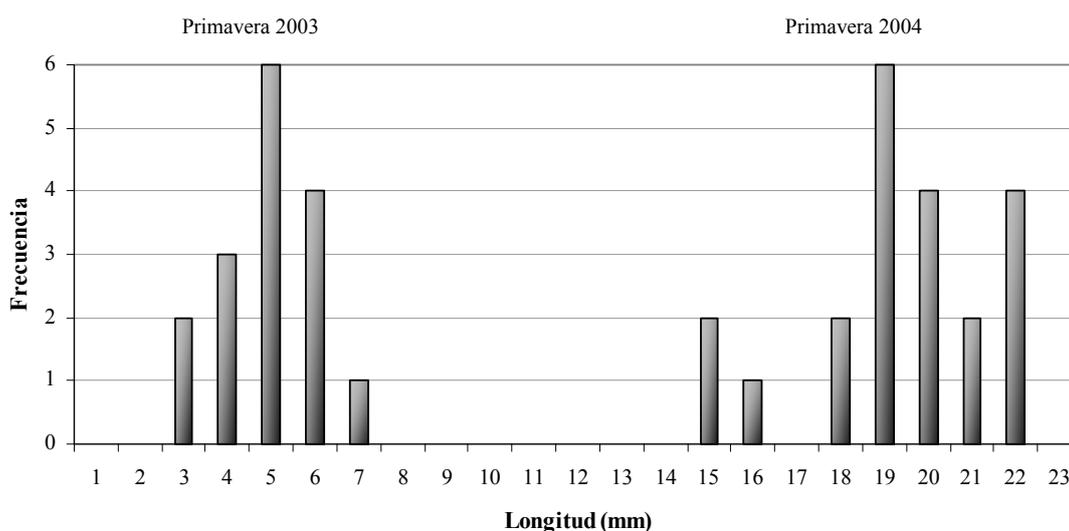


Figura 40: Frecuencias de las longitudes de las larvas en la primavera del segundo y tercer año.

3.2.2.4.- Comparación de los parámetros de crecimiento de las larvas entre laboratorio y aire libre.

Disponemos ya de las curvas logísticas ajustadas a las dos cajas de cría, tanto en función de los Días, como de las Temperaturas Acumuladas. Para el crecimiento en laboratorio disponemos de la curva ajustada en función de los Días. Sólo falta ajustar los resultados del laboratorio en función de las Temperaturas Acumuladas. La comparación se presenta en la tabla 24.

		En función de los Días transcurridos desde la oviposición	En función de la Temperatura media diaria acumulada sobre 10 °C
Laboratorio	κ	20,99	20,99
	β	14,33	14,33
	α	0,0235	0,00157
Caja de cría	κ 1	21,48	(38.85)
	κ 2	19,63	(27.08)
	β 1	(>1.000)	36,90
	β 2	(137.5)	24,18
	α 1	0,0244	0,00175
	α 2	0,0108	0,00177

Tabla 24: Parámetros de las curvas logísticas de crecimiento de las larvas ajustadas para el laboratorio y para las cajas de cría, en función de los Días y de las Temperaturas Acumuladas. Entre paréntesis, valores que salen fuera del rango de las larvas individuales en laboratorio.

Al haberse llevado a cabo el experimento de laboratorio a temperatura constante (25°C), la Temperatura Acumulada es directamente proporcional a los Días transcurridos, con lo que sólo se observa un cambio en el parámetro α , que refleja el crecimiento exponencial inicial.

Los resultados de las cajas de cría en función de los Días son algo difíciles de interpretar (recordemos que su ajuste no es muy bueno; figura 38, parte izquierda), obteniéndose valores del parámetro β fuera del rango de variación para larvas individuales en laboratorio. Los parámetros κ y α se sitúan en la parte baja de dicho rango. Esto es lógico para la tasa inicial teórica de crecimiento exponencial α , ya que las temperaturas caen por las noches y en invierno en las cajas de cría. No es tan lógico para la longitud máxima κ , que debería poder alcanzarse dado suficiente tiempo.

El recurso a las temperaturas acumuladas tampoco clarifica completamente la situación en las cajas de cría. En este caso es el parámetro κ al que el algoritmo asigna valores biológicamente absurdos, por encima de 27 mm. En cambio, el parámetro α , que determina la velocidad de crecimiento, se iguala entre las dos cajas al tener en cuenta las temperaturas acumuladas, es decir, que las larvas tendrían idéntico potencial de crecimiento. En cuanto al parámetro β , de desfase temporal (figura 8c), se da la paradoja de que es mayor en la Caja 1, a pesar de que se ve a simple vista que en ella las larvas crecen más rápido que en la Caja 2. Esto es un artefacto debido al altísimo valor ajustado por el algoritmo a κ , que hace que la curva ajustada se alargue artificialmente y no alcance el punto de inflexión hasta muy tarde.

3.2.3- Longitud de las pupas

Las longitudes de las pupas presentan una distribución bimodal (Fig 41), que se aparta significativamente de la normal (W de Shapiro-Wilk=0.82, $P=0.0052$) Hay 12 individuos en el intervalo 11.60-11.72 mm, uno intermedio de 11.80 mm y tres en el intervalo 11.90-12.00 mm. Ni siquiera con transformadas raíz cuadrada o logarítmica es posible normalizar los datos del intervalo 11.60-11.80, por lo que no podemos dar intervalos de confianza basados en la distribución normal. Lo que se puede observar es que las pupas de mayor longitud corresponden a hembras y las de menor a machos. Esta relación también se ha podido apreciar en el tamaño de los adultos hembras y machos.

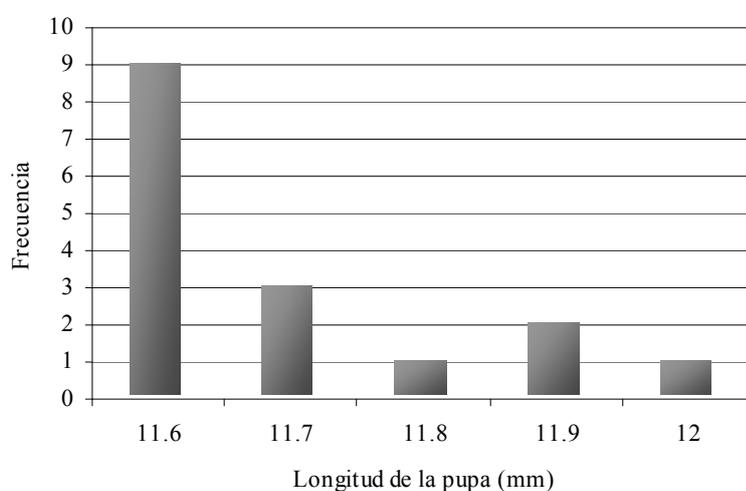


Fig 41: Distribución de las longitudes de las pupas criadas en laboratorio.

3.2.4.- Duración del ciclo.

En condiciones controladas a 25°C, como se aprecia en la tabla 25, la media de duración del ciclo de vida de huevo hasta la formación del adulto en la cámara pupal fue de 361 días ($DT=61.23$, $min=241$, $max=470$).

	<i>n</i>	<i>X</i>	<i>dt</i>	<i>Intervalo 95%</i>
Huevo	910	12.5	1.7	(12.4-12.6)
Larva	42	335.4	60.3	(316.6-354.2)
Pupa	40	14.5	1.94	(13.9-15.1)
Total	42	361	61.23	(341.9-380.1)

Tabla 25: Resumen de los días en los que se completó cada estadio.

En condiciones de laboratorio, el huevo representa un 3.5 % el ciclo, la larva 93.5%, la pupa un 3%.

El estado larvario presenta la mayor duración constituyendo el estadio más largo. En cuanto a la duración del estado de huevo y pupa no se registraron grandes diferencias, siendo este independiente del número de estados larvarios.

En las cajas de cría al aire libre, al obtener las larvas por muestreo, no es posible controlar cuál es la última medida de longitud de cada una de ellas. Sólo podemos afirmar que las últimas larvas se capturan el 13 de mayo de 2004 en la Caja 1 y el 15 de junio en la Caja 2; a pesar de efectuarse muestreos el 20 de julio y el 19 de agosto. Al tratarse de fechas veraniegas, las larvas están muy activas (en 2003, en julio y agosto se capturaban entre 10-26 larvas por fecha), pudiéndose decir que no es un problema de muestreo y que todas ellas han pupado. Esto supone 743-776 días desde la oviposición ó 2120-2314 grados-día por encima de 10°C.

La pupa obtenida en laboratorio, tiene un tamaño medio de 11.7 mm (DT=0.13, max=12, min=11.6) y es más o menos quiescente, blanda y de color blanquecino lechoso que posteriormente adquiere una coloración blanco-amarillento (figura 42).



Figura 42: Pupa de una semana.

Al final de este estadio se pueden distinguir los ojos. Cuando pasa a estado adulto, inicialmente se mantiene inactivo dentro de la cámara pupal y presenta una apariencia poco pigmentada y quitinizada (figura 43). Al cabo de 3-4 días cambia hasta pasar a una coloración oscura (melanización). Al final de esta fase los élitros se presentan esclerotizados como se observan en los adultos activos.



Figura 43: Adulto poco pigmentado recién cambiado de estadio.

El insecto permanece en la cámara pupal pasando el invierno en este estadio. Las primeras pupas se observaron hacia mediados de enero de 2004. La media de duración de este estadio a 25°C, es de 14.5 días (DT=1.94, max=18, min=9).

En las cajas de cría al aire libre se encontró una pupa en una trampa-cebo el 13 de mayo de 2004. Como es de esperar que sólo raramente las larvas vayan a pupar ahí, a partir de esa fecha, se realizaron catas periódicas en la tierra. La tabla 26 presenta los resultados.

	<i>Caja 1</i>		<i>Caja 2</i>	
	<i>Hierba</i>	<i>Maíz</i>	<i>Hierba</i>	<i>Maíz</i>
13/05/2004	0	0	1	0
15/06/2004	3	1	2	1
20/07/2004	3	0	1	1
19/08/2004	2	3	1	1

Tabla 26: Pupas encontradas en las cajas de cría al aire libre.

Desgraciadamente, al haberse suspendido las catas de tierra desde mayo de 2003, por el daño que producían en las larvas, no podemos dar una fecha de inicio de pupación.

	<i>Nº</i>	<i>%</i>
Machos	28	44
Hembras	14	22
Adultos amorfos	3	5
Pupas amorfas	12	19
No pupados	7	11
Total	64	100

Tabla 27: Nº de individuos evolucionados en cámara en condiciones controladas (25°C y 90% HR)

La emergencia de los adultos en laboratorio fue escalonada a lo largo de 2005, como se observa en la figura 42.

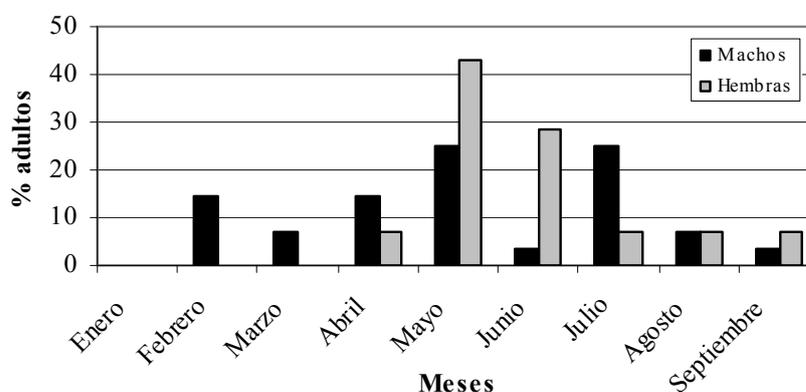


Figura 44: Diagrama de aparición de hembras y machos por meses en porcentaje, a 25°C y en viales independientes, en condiciones controladas.

En la figura 44 se observa un retraso en el comienzo de la aparición de las hembras respecto al de los machos de dos meses.

En las jaulas de cría al aire libre se colocaron trampas de feromonas para detectar la emergencia de adultos desde mayo hasta setiembre de 2004 sin obtenerse ninguna captura. A partir de mayo de 2005 se capturó un gran número de adultos, excesivo para lo esperado. Se encontró que, a estas alturas del experimento, la malla estaba dañada, permitiendo la entrada de adultos del exterior. De esta manera, no podemos distinguir qué cantidad de ellos eran de origen interno y sólo podemos afirmar que los adultos no emergieron el año 2004, además se colocaron trampas cebo en primavera de 2005 y se recogieron 10 catas por caja, 5 por cultivo, por si había alguna larva y no se encontró ninguna, por lo que dedujimos que el ciclo concluyó en 2005.

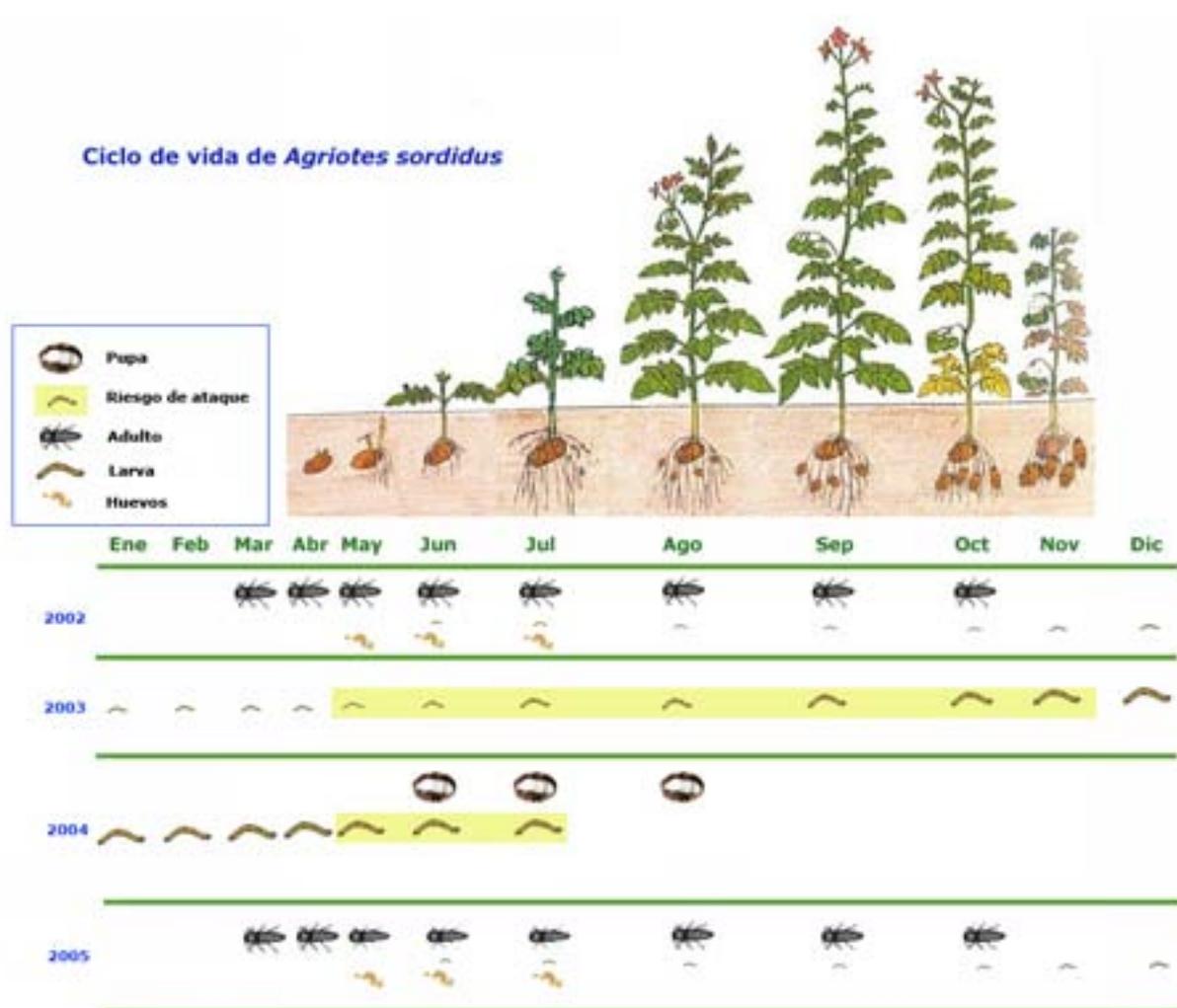


Figura 45: Ciclo de vida de *Agriotes sordidus* en jaulas al aire libre criadas en Arkaute en relación al ciclo de cultivo de la patata.

3.2.3.1. Variabilidad entre individuos

El seguimiento individualizado de las larvas en los viales permite estudiar la variabilidad entre individuos. Para explorar esta variabilidad, en primer lugar buscamos correlaciones entre las diferentes variables medidas (tabla 28). La correlación más fuerte se da entre la duración total del ciclo hasta la aparición del adulto y la duración del periodo larvario. La correlación entre la duración total y la de la fase de pupa es menor. Esto es lógico, ya que el período larvario abarca la mayor parte del ciclo. También es fuerte la correlación entre la duración de la fase larvaria y la última longitud medida de la larva.

	<i>Última longitud de la larva</i>	<i>Días de pupa a adulto</i>	<i>Días hasta adulto</i>	<i>Longitud del adulto</i>
Último día de larva	0,78***	0,49**	0,92***	0,14 ns
Última longitud de la larva		0,16ns	0,46**	0,28 ns
Días de pupa a adulto			0,53**	-0,15 ns
Días hasta adulto				0,07 ns

Tabla 28: Correlaciones entre las diferentes variables del ciclo de vida para 64 larvas criadas en laboratorio.

Observando la distribución de las últimas longitudes de las larvas, vemos que tanto las que dan origen a machos como las que dan origen a hembras se distribuyen normalmente. No así las que no llegan a la fase adulta (W de Shapiro-Wilk=0,8309***; figura 46). Si eliminamos las larvas que medían menos de 15 mm en su última medida, el grupo de larvas que no evolucionaron hasta adulto queda en el umbral de la normalidad (W de Shapiro-Wilk=0,8979, $p=0,0446$). Ninguna de estas cuatro larvas (números 37, 46, 50 y 55) llegaron a pupar siquiera.

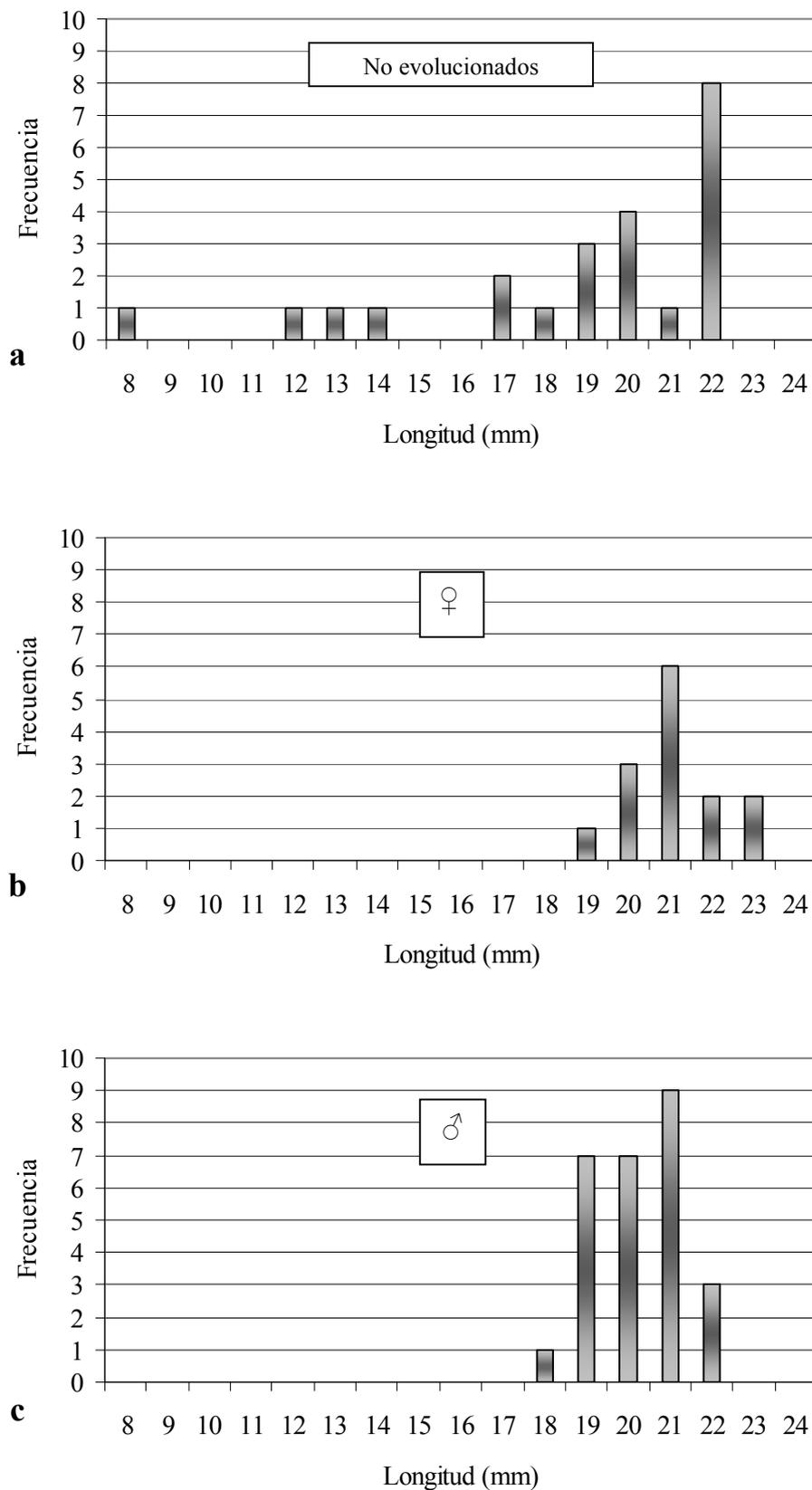


Figura 46: Distribución de las últimas longitudes en las larvas evolucionadas a machos (c), a hembras (b) y en las no evolucionadas(a).

Mediante análisis de varianza podemos contrastar si la longitud máxima de las larvas (exceptuado el pequeño grupo menor de 15 mm) es dependiente del sexo. Añadiremos a este modelo un factor más: la pupación temprana o tardía, según se define en el siguiente párrafo. El análisis no encuentra diferencias entre sexos, pero sí entre los dos grupos de pupación (tabla 29). Las larvas de pupación temprana tienen una longitud última media de 19,81 mm y las de pupación tardía de 21,41 mm. Con esta última media y la raíz cuadrada del error experimental podemos calcular los intervalos de confianza para esta medida directa de la longitud máxima de las larvas: 19,30-23,52 mm al 5% y 18,64-24,19 al 1%.

Fuente de variación	<i>Grados de libertad</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Cuadrados medios</i>	F	P
Sexo	2	4.598	2.299	1.98	0.1481 n.s
Grupo adulto	1	33.641	33.641	28.96	<0.0001***
Sexo *Grupo adulto	2	4.726	2.363	2.03	0.140 n.s.
Error	54	62.730	1.162		

Tabla 29: Análisis de varianza de la última longitud de larva medida (excepto las menores de 15 mm).

La distribución del último día en que se encuentra la fase de larva presenta una extraña distribución bimodal, con una primera oleada de larvas que pupan hasta los 280 días, un parón alrededor de los 300 y otra oleada después de 322 días (figura 47). De esta manera, podemos hablar de unas larvas de pupación temprana (antes de 300 días) y otras de pupación tardía (después de 300 días). Tanto el conjunto de los datos como los grupos temprano y tardío se alejan mucho de la distribución normal.

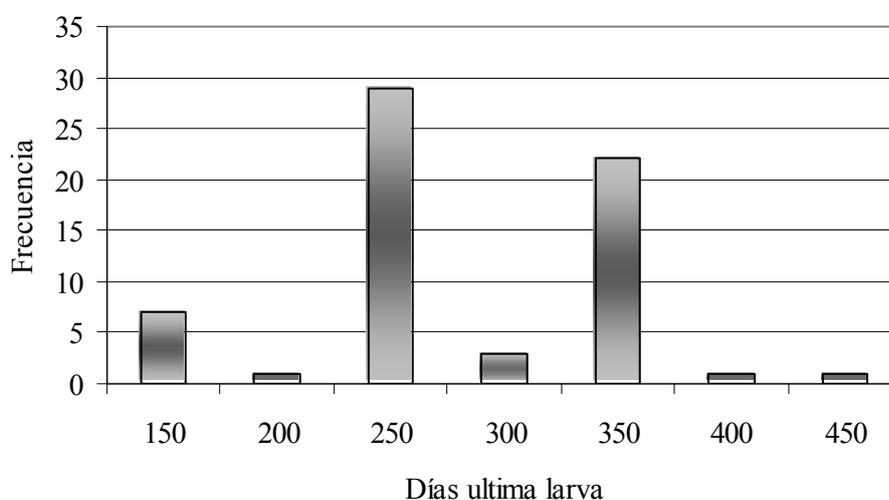


Figura 47: Distribución de frecuencias del último día de la fase larvaria.

Debido a esta falta de normalidad, no podemos aplicar un análisis de varianza al último día de larva como hemos hecho para la última medida, pero si observamos la distribución de los datos de longitud frente a fecha, vemos que trazan una curva de pendiente decreciente. La podemos modelizar como una exponencial negativa, que sería, de alguna manera el extremo final de la curva logística que hemos ajustado al desarrollo larvario (y que tiene en cuenta todas las medidas de longitud, y no la última). La curva ajustada (figura 48) es:

$$\text{Última longitud medida} = 22,14 \times (1 - e^{(0,3273 - 0,00994 \times \text{Último día de larva})})$$

Este modelo es más elaborado que el anterior, que sólo distinguía un grupo de pupación temprana y otro de pupación tardía y trata el último día de larva como una variable continua. Recuperamos, además, los cuatro individuos que no alcanzaron los 15 mm de longitud. Podemos decir que, si no se desencadena el proceso de pupación, las larvas van creciendo cada vez más lentamente hasta una longitud máxima alrededor de 22,14 mm. El modelo ajustado tiene un error experimental de 1,6954, con lo que podemos calcular unos intervalos de confianza para esta longitud máxima de 19,59-24,69 mm (al 5%) y de 18,80-25,48 mm (al 1%). Hay también un umbral mínimo de longitud, de unos 17 mm, por debajo del cual ninguna larva llega a término.

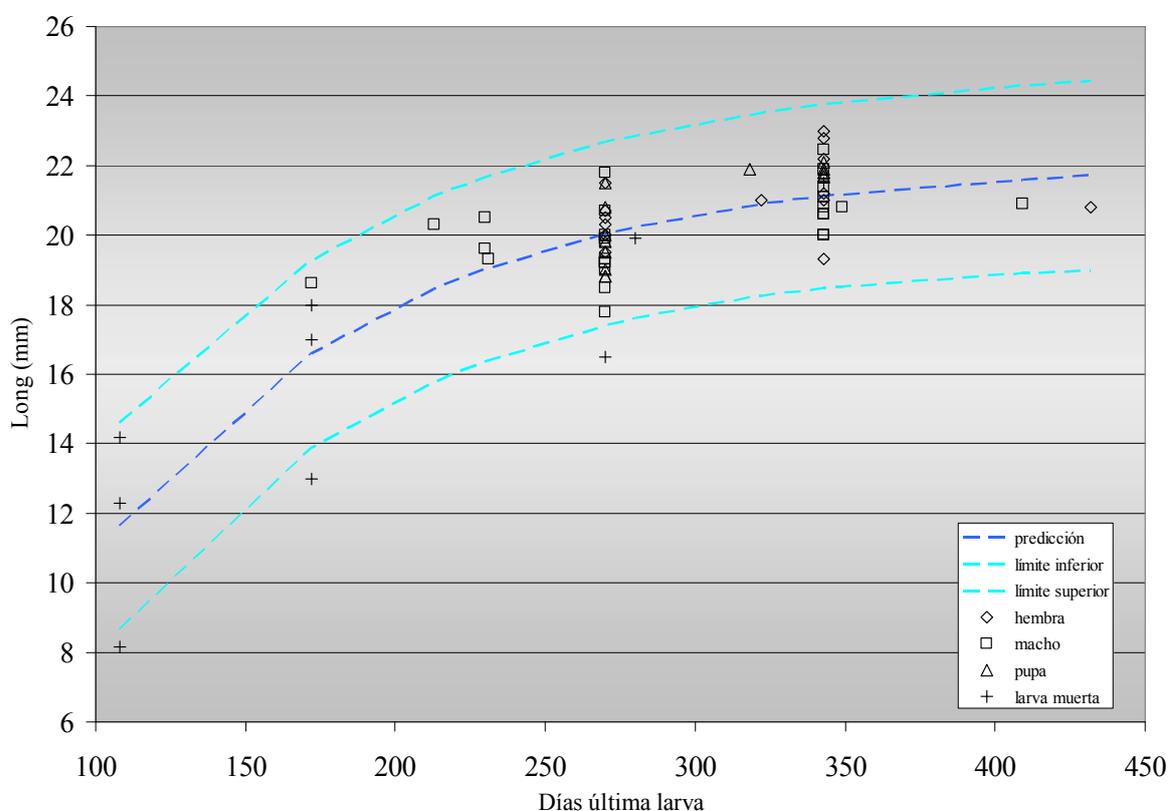


Figura 48: Última medida de longitud de cada larva, en función del día en que fue tomada. Aparecen con distinto símbolo las larvas desarrolladas hasta hembra, las desarrolladas hasta macho, las que llegaron a la fase de pupa pero no pasaron a adulto y las larvas que murieron antes de completar el ciclo.

3.3. DISPERSIÓN DE LOS ADULTOS

3.3.1. Vuelo

El ensayo con trampas pegajosas con feromona a distintas alturas se mantuvo desde abril hasta agosto de 2004, en dos praderas con una alta población de *Agriotes* (ver 2.3.3). En ninguna de las trampas se capturaron individuos de *A. sordidus*. Los adultos, a pesar de tener alas, no se ha podido constatar que vuelen.

3.3.2. Factores que influyen en la dispersión

El fenómeno de atracción de *A. sordidus* por la feromona de *A. obscurus* nos brindó la replicación necesaria para estudiar los factores que influyen en el número de individuos capturados. De esta manera, los datos se analizaron como un diseño factorial Año x Feromona x Semana, mediante un modelo lineal que incluye las interacciones entre los tres factores. La prueba de Shapiro-Wilk reveló la falta de normalidad en la distribución de los errores, siendo necesaria la realización de la siguiente transformación matemática:

$$\text{Transformada} = \sqrt{(\text{Capturas} + 5)}.$$

<i>Fuente de variación</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Cuadrados medios</i>	<i>F</i>
Año	1	44.2249	44.2249	153.86 ***
Feromona	1	27.6822	27.6822	96.31 ***
Semana	31	619.5776	19.9864	69.53 ***
Año x Semana	31	191.6034	6.1807	21.50 ***
Año x Feromona	1	5.1737	5.1737	18.00 ***
Semana x Feromona	31	35.2462	1.1369	3.96 ***
Error	31	8.9106	0.2874	

Tabla 30: Análisis de varianza de las capturas transformadas de *A. sordidus*, en 2002 y 2003 en trampas cebadas con feromonas de la misma especie y de *A. obscurus*. (n.s.= no significativo, ***=muy significativo $P < 0.0001$).

Analizando los resultados de la tabla 30 se observa que los tres factores implicados en el modelo son significativos, siendo la semana el más importante. El comportamiento de las capturas fue distinto en los tres años en los que mantuvo el ensayo. A lo largo de cada año las capturas por semanas también son diferentes y existe diferente atracción por cada feromona, si bien estas interacciones son menos intensas que los factores principales.

Las diferencias en las dinámicas de vuelo entre los tres años se pueden observar en las gráficas del siguiente apartado. En el año 2004 no se utilizó feromona de *A. obscurus*.

<i>Feromona</i>	2002	2003	2004
<i>A. sordidus</i>	30.4	14.1	17.9
<i>A. obscurus</i>	16.3	9.76	-

Tabla 31: Capturas semanales medias destransformadas de *A. sordidus*, según el año y la feromona.

Como se aprecia en la tabla 31, en el año 2002 se recogieron en las trampas de feromona 51% más adultos de *A. sordidus* que en el año 2003. Como era de esperar, cayeron menos en la trampa cebada con feromona de *A. obscurus*.

También se aprecia la interacción Año x Feromona: la diferencia de captura en trampa con feromona de *A. sordidus* respecto a la de *A. obscurus* disminuyó de 2002 a 2003.

3.3.3. Dinámicas estacionales de dispersión

Como se ha explicado arriba (3.1.5) sólo se capturaron las especies *A. sordidus* y *A. lineatus*. La época de aparición de los adultos de las dos especies se produce en primavera, con ligeras variaciones dependiendo del año.

En la figura 49, se observa que en el mes de marzo en los tres años la presencia de adultos libres o activos es nula, debido a que la población se encuentra en estado de hibernación, adulto inactivo que permanece dentro de la cámara pupal. En los tres años se observó que el primer pico de aparición de adultos de *A. sordidus* en trampas de feromona se produce después de un periodo de lluvias. En 2002 y 2003 en la segunda quincena de marzo, se recogen los primeros adultos activos de *A. sordidus* en las trampas, mientras que en 2004 la aparición de adultos se retrasó, capturándose los primeros individuos durante la primera semana de mayo.

En el caso de *A. lineatus*, en el año 2002 (figura 50), se recogen los primeros individuos en la segunda quincena de marzo, en 2003 a finales de abril y en 2004 a mediados de mayo.

Un aspecto común a todas las campañas estudiadas es el retraso de la aparición de *A. lineatus* respecto a la aparición de *A. sordidus*. Otro aspecto destacable en las tres campañas estudiadas es la aparición de dos picos de captura, siendo las gráficas bimodales, variando la distancia entre los picos de máxima captura de 5 a 10 semanas dependiendo del año.

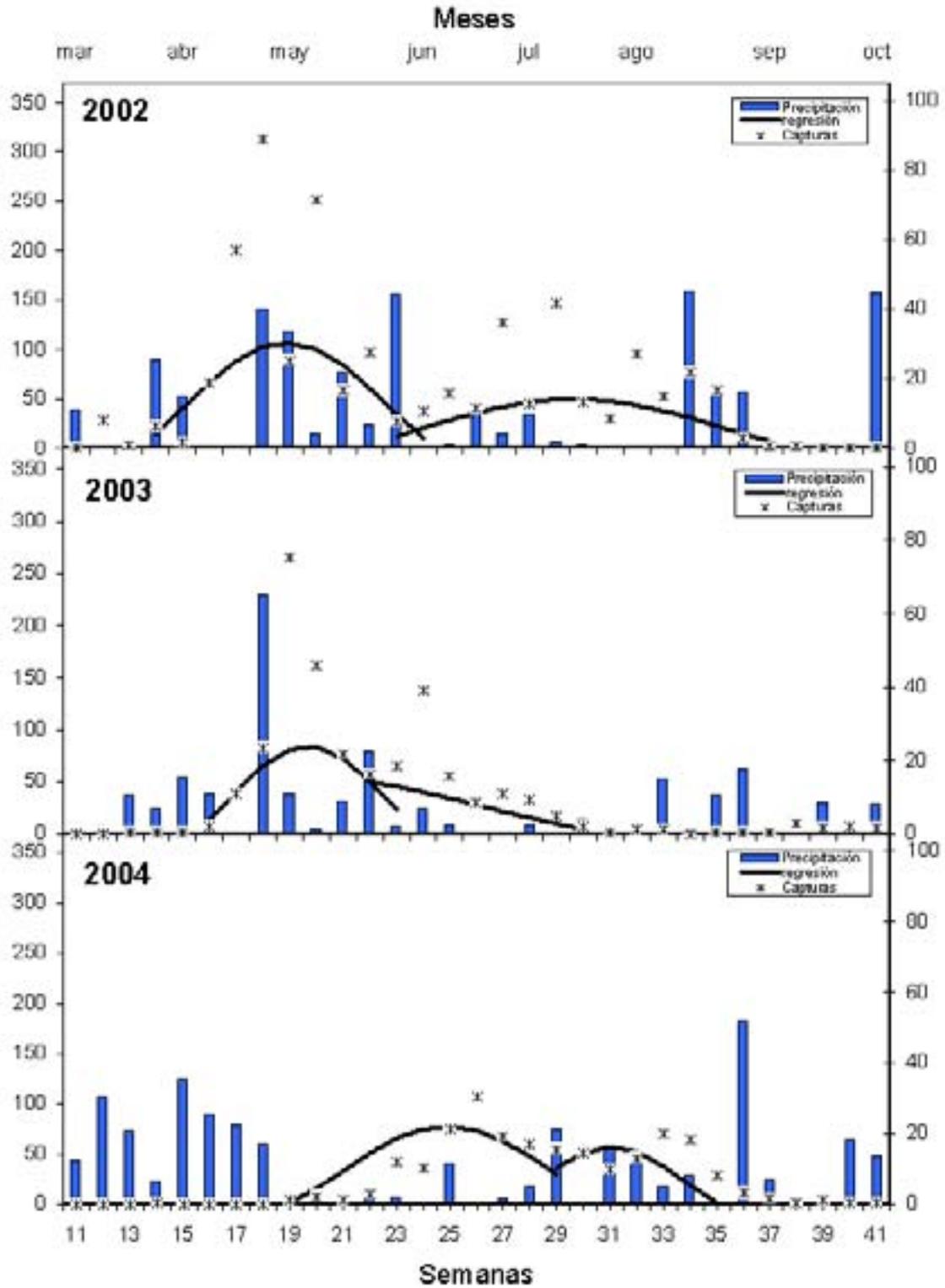


Figura 49: Evolución de capturas en trampas de feromona de *A. sordidus* en los años 2002, 2003 y 2004 junto con las precipitaciones acumuladas en semanas en la localidad de Arkaute. (Datos de precipitación recogidos de la estación metereológica de Arkaute).

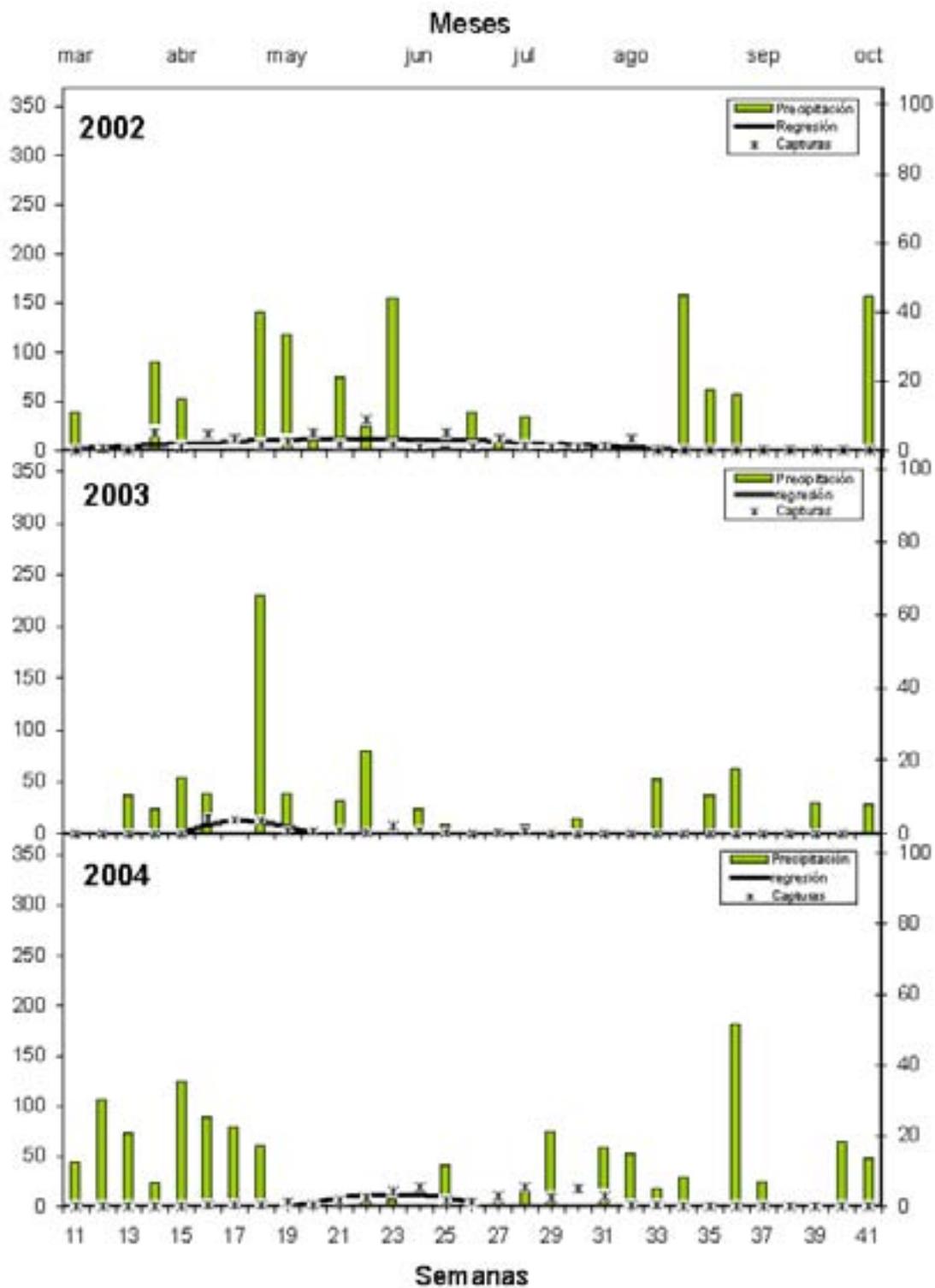


Figura 50: Evolución de capturas en trampas de feromona de *A. lineatus* en los años 2002, 2003 y 2004 junto con las precipitaciones acumuladas en semanas en la localidad de Arkaute. (Datos de precipitación recogidos de la estación meteorológica de Arkaute).

3.4. DISTRIBUCIÓN DE LAS LARVAS EN EL SUELO

3.4.1. Eficacia de las diferentes técnicas de muestreo

Este ensayo de cuadro latino incompleto, se llevó a cabo en Arkaute en el año 2001. La parcela experimental estaba dividida en 48 parcelas unitarias (2.5.2), 8 a lo ancho (bloques) y 6 a lo largo (columnas). La prueba de Shapiro-Wilk reveló la falta de normalidad en la distribución de los errores, siendo necesaria la realización de la transformación logarítmica. Se realizó un análisis general de varianza para determinar la influencia de los distintos cebos en las capturas. Para ello se aplicó el siguiente modelo:

$$\text{Log}_{10}(\text{capturas}_{ijh+0.5}) = \mu + \text{columna}_i + \text{fila}_j + \text{trampa}_h + \varepsilon_{ijh}$$

De los resultados del análisis de varianza (tabla 32) se desprende la existencia de diferencias significativas entre trampas, mientras que no se aprecian gradientes espaciales en ninguna de las dos dimensiones, filas o columnas.

<i>Fuente de variación</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Cuadrados medios</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
Columna	7	0.1702	0.0243	0.66	0.7 ns
Fila	5	0.1717	0.0343	0.94	0.47 ns
Trampa	5	1.2946	0.2589	7.07	0.0003 **
Error	25	0.9162	0.0366		

Tabla 32: Análisis de varianza del logaritmo del número de larvas capturadas según el tipo de trampa. (n.s.= no significativo, ***=muy significativo $P < 0.0001$).

Las capturas medias por trampa se presentan en la tabla 33. Se observa que el número de larvas capturado en las trampas de cereal con maíz fue significativamente el más elevado siendo la captura muy inferior en la muestra de tierra y nula en la trampa sin cebo. Por lo tanto, los cebos tienden a capturar más larvas que las muestras de tierra. Las trampas cebadas con zanahoria generaron dudas en algunas repeticiones, ya que se pudrieron, por lo que no se tomaron en consideración.

<i>Cebo</i>	<i>Media</i>
trigo maíz	1.18 a
maíz	0.42 b
patata	0.28 b c
suelo	0.18 b c d
testigo -vermiculita	0.00 c d

Tabla 33: Medias de capturas en las diferentes trampas. Las medias seguidas por la misma letra no son significativamente diferentes entre sí (Prueba de Waller-Duncan, $K=100$).

Al añadir la tierra recogida de alrededor de las trampas, el número de larvas capturadas aumentaba, pero no se tuvo en cuenta porque no fue posible recoger una cantidad uniforme de tierra para todos los cebos.

3.4.2 Agregación espacial de las larvas

3.4.2.1. Ajuste campo a campo

Se realizó un ajuste de Poisson a los campos por separado (2.6.1.2). De los 7 campos muestreados solo se pudieron ajustar 4 ya que en tres solo salían dos clases y no quedaban grados de libertad suficientes para el ajuste.

Los resultados se presentan en la siguiente tabla,

	G	G_{corr}
Ayala	5.3312	4.94 n.s.
Gauna 1	0.1240	0.112 n.s.
Gauna 2	4.4390	4.314 n.s.
Bloque A	0.0798	0.077 n.s.

Tabla 34: Resultados del ajuste por campos a la distribución de Poisson (G = Cociente de verosimilitud, G_{corr} = G Aplicada la corrección de Williams, n.s.= no significativo $P < 0.05$)

Con estos resultados podemos decir que las larvas están distribuidas al azar, no desviándose significativamente de una distribución de Poisson.

3.4.2.2. Ajuste todos los campos en conjunto

Una vez estudiado el ajuste campo a campo, es posible estudiar el ajuste en el conjunto de los campos mediante modelos lineales generalizados (2.6.1.2). Se han ajustado los datos a las dos distribuciones, Poisson y binomial negativa y se ha comparado la bondad de estos dos ajustes mediante la razón de sus verosimilitudes:

$$-2(\text{logaritmo máxima verosimilitud}_{\text{Poisson}} - \text{logaritmo máxima verosimilitud}_{\text{binomial negativa}})$$

De esta manera incorporamos al análisis estadístico aquellos campos que, por escaso número de larvas, no pudieron ser ajustados uno por uno. En nuestro caso nos sale un valor de 6.72 y comparándolo con los valores de la tabla $X^2_{(1-2\alpha,1)}$ tiene un valor de probabilidad, que está entre $\alpha = 0.01$ y $\alpha = 0.05$, por lo que la distribución de las larvas en campo se desvía levemente de una distribución de Poisson. El parámetro κ de la distribución binomial negativa tiene un valor de 0.32. Su intervalo de confianza del 95% es 0.12-0.88, por lo que es significativamente diferente de 0. Recordemos que $\kappa=0$ es equivalente a $\theta=\infty$ y, por tanto de una distribución de Poisson (1.5.4.1.). La captura media por trampa se da en la tabla 35. Si, siguiendo a Wood (2002), eliminamos los campos con capturas medias inferiores a 1, el factor κ toma el valor de

0.51. Su intervalo de confianza del 95% es 0.048-0.968, por lo que es significativamente diferente de 0. Los histogramas reales y ajustados de las distribuciones de Poisson y binomial negativa aparecen en la figura 51.

<i>Año</i>	<i>Campo</i>	<i>Captura</i>		<i>Observaciones</i>
2003	Bloque A	2.06	a	Distribución y correlación
2002	Gauna 2	2.54	a	Distribución y correlación
2002	Lateral	1.00	ab	Distribución y correlación
2002	Gauna 1	1.00	ab	Productos
2002	Ayala	0.345	bc	Distribución y correlación
2002	Mantas	0.0797	c	Distribución y correlación
2003	Bloque B	0.725	c	Distribución y correlación

Tabla 35: Captura media de larvas por trampa cebo en diferentes ensayos de campo. Las medias seguidas por la misma letra no son significativamente diferentes entre sí.

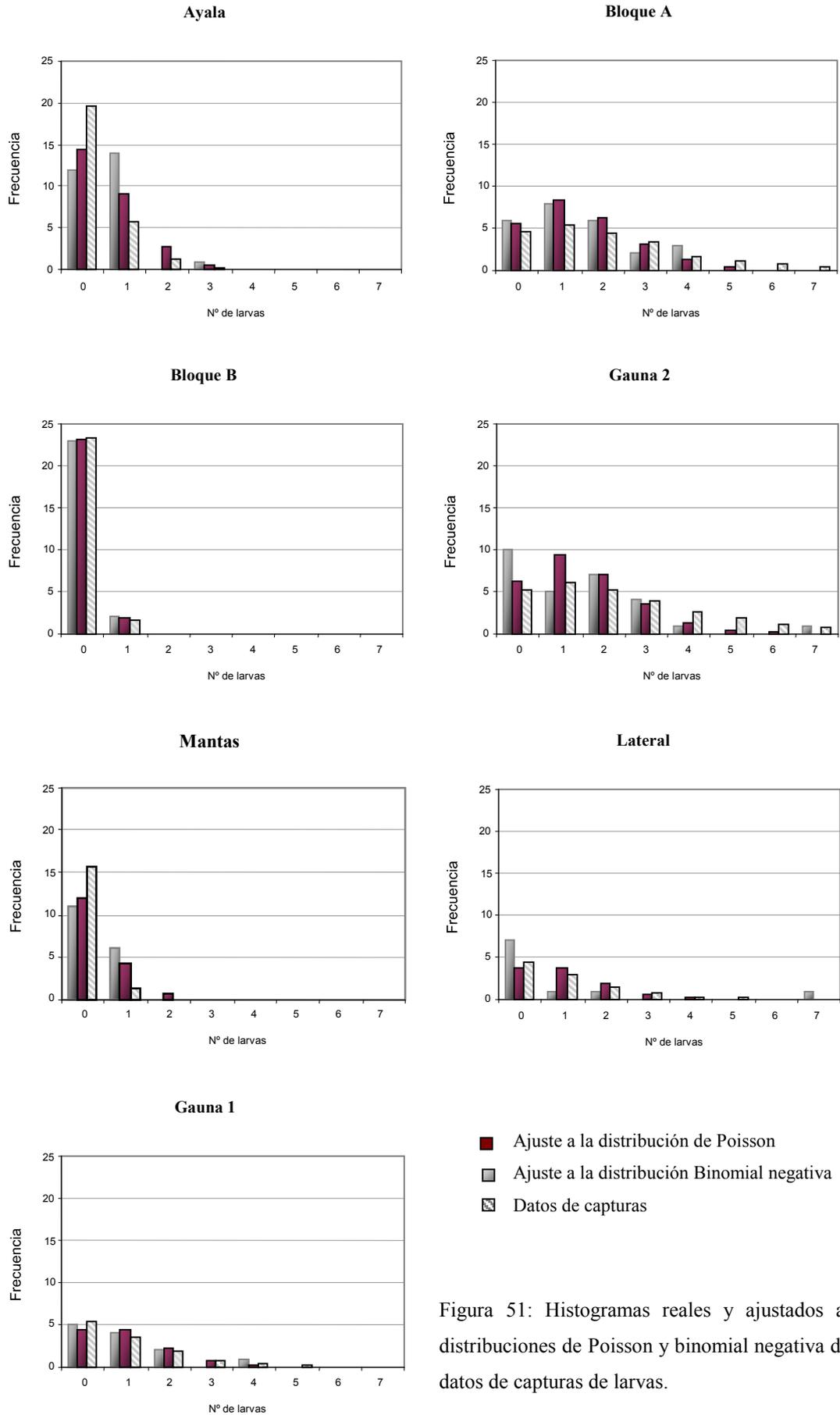


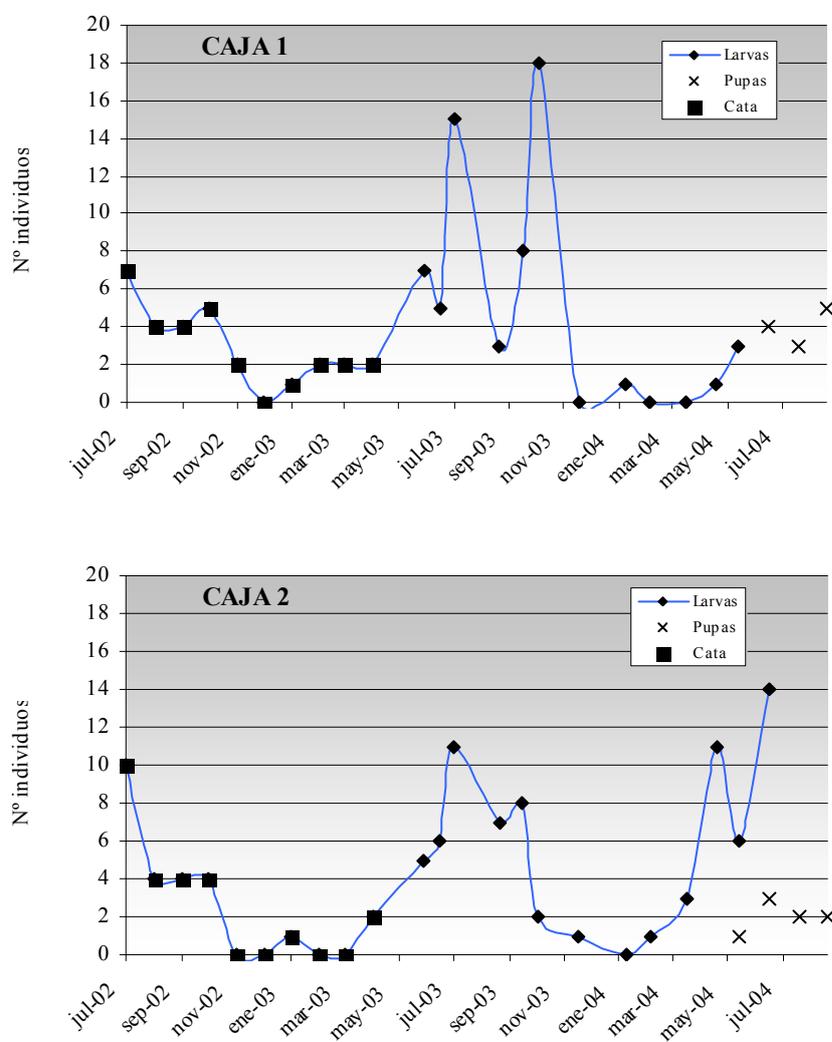
Figura 51: Histogramas reales y ajustados a las distribuciones de Poisson y binomial negativa de los datos de capturas de larvas.

3.4.2.3 Ajuste a la ley de Taylor

Aplicando la ley de Taylor a los siete campos muestreados nos da un valor de agregación $b=1.6325$. Aunque este valor está más cerca de 2 (agregación) que de 1 (distribución al azar), su intervalo de confianza del 95% (0.88, 2.39) engloba el 1, de manera que no se puede decir que se aparte significativamente del azar. En conjunto, se aprecia una tendencia a la agregación espacial, pero sin que llegue a ser significativa.

3.4.3. Época de actividad de las larvas.

Los muestreos periódicos de larvas que se efectuaron en las cajas de cría a la aire libre dan una idea de sus períodos de actividad. La figura 52 muestra el número total de larvas capturadas en las dos cajas a lo largo del experimento.



Los resultados del verano de 2002 no son comparables con los de 2003 y 2004, ya que el primer año se realizaron catas de tierra, mientras que el segundo y el tercero se colocaron trampas cebo.

Se ven claras diferencias entre las dos cajas. Mientras que en la caja 1 la actividad larvaria cesa en mayo de 2004 en la caja 2, poblada un mes más tarde, no termina hasta junio. En 2003 se capturaron de 10 a 26 larvas por fecha del 28 de mayo al 3 de octubre, bajando bruscamente a 1 larva el 17 de noviembre. El 15 de marzo de 2004 la captura es baja, 3 larvas; pero del 19 de abril al 15 de junio sube a 9-14. En julio y agosto no hay capturas, entendemos que por haber pupado todas. Con estos datos, podemos fijar una ventana de actividad de las larvas de abril a octubre.

3.5. DAÑOS EN TUBÉRCULO DE LA PATATA Y SU CONTROL

3.5.1. Período de ataque

Con el objetivo de ver el momento en el que los ataques de las larvas son más frecuentes, en una parcela en Arkaute en 2000, se realizó un ensayo de bloques completos al azar, donde se recogieron catas semanales de tubérculos en la última fase del cultivo. Los resultados obtenidos se reflejan en la figura 53. Se ajustaron los datos a una regresión lineal.

$$\% \text{ tubérculos dañados} = f(\text{Días desde la siembra})$$

Los intentos de ajustar los datos a una función de segundo grado o a una exponencial no mejoraron el ajuste.

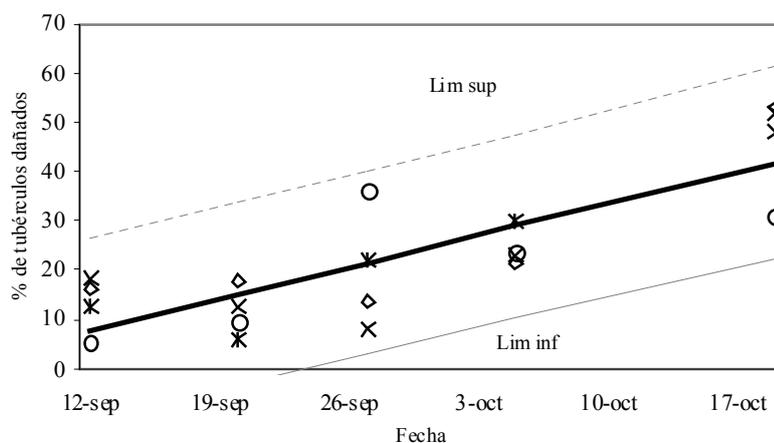


Figura 53: Catas semanales de cinco pies por parcela desde el comienzo de la maduración del tubérculo hasta la cosecha.

La recta de regresión ($R^2=0.66$) viene dada por la ecuación;

$$\% \text{ tubérculos dañados} = 0.9230 \times \text{Días desde la siembra} - 115.98$$

Se observa que conforme va pasando el tiempo el porcentaje de tubérculos dañados es mayor. Los ataques se inician al comienzo de la tuberización y prosiguen hasta la total maduración de las plantas.

A mediados de septiembre el porcentaje de tubérculos dañados empieza alrededor del 12 % y en la recolección (19 octubre) alcanza el 46 %.

3.5.2 Correlación larvas/daños

Los ensayos con trampas cebo se han realizado en Arkaute y Gauna durante los años 2002 y 2003. El tamaño de parcela unitaria era 25 m², para que no interfiriesen unos cebos con otros.

El daño causado por gusano de alambre en los siete campos de ensayo con trampas cebo fue muy heterogéneo, yendo desde un grado de ataque medio de 4.3 hasta el 88. La correlación obtenida entre el grado de ataque y las capturas de todos los campos en conjunto no ha sido significativa ($r=0.47$).

Como se ve en la tabla 36 por campos en sólo cuatro ha dado una correlación significativa entre capturas en trampas cebo y daños en cosecha. La sustitución de las variables Daños y Larvas por sus transformadas $\sqrt{\text{Daños}}$ y $\text{Log}_{10}(\text{Larvas} + 1)$ no mejoró los coeficientes de correlación.

Localidad	Nº de parcelas	Coefficiente de correlación (r)
Lateral	12	0.86 **
Gauna 1	12	0.59 *
Mantas	18	0.56 *
Ayala	27	0.41 *
Gauna 2	28	0.32 ns
Bloque A	25	0.001 ns
Bloque B	25	-0.16 ns

Tabla 36: Resultados de los análisis de correlación de daños en tubérculo con larvas capturadas en los campos por separado.

A continuación se realizó un análisis de covarianza (2.6.2.1) para separar la influencia de la localidad y de la regresión del daño sobre las capturas. Fue necesaria la transformada $\sqrt{\text{Daños}}$ para normalizar los errores.

Del análisis de covarianza se desprende la existencia de diferencias muy significativas ($p < 0,001$) entre localidades. La variabilidad explicada por el número de larvas es también

significativa; pero en mucha menor medida ($0.5 > P > 0.1$). La combinación de un fuerte efecto del factor larvas con la ausencia de interacción nos permite afirmar que la relación daño = F(larvas) está definida por rectas de igual pendiente pero diferente intersección con la ordenada para cada campo.

<i>Fuente de variación</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Cuadrados medios</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
Larvas	1	5.827	5.827	4.80	0.0303*
Localidad	6	223.533	37.255	30.68	<0.0001***
Larvas * Localidad	6	13.921	2.320	1.91	0.0837 n,s.
Error	130	157.856	1.214		

Tabla 37: Análisis de covarianza de los datos de capturas y daños finales en tubérculo. (n.s.= no significativo, *=poco significativo, ***=muy significativo $P < 0.0001$).

Dado que la interacción Localidad x Larvas no resulta significativa, refinamos el modelo prescindiendo de este efecto. El resultado se plasma en la tabla 38: el error experimental aumenta ligeramente de 1,21 a 1,26, pero la significación del modelo aumenta (el estadístico F sube de 26,61 a 45, 93 para el conjunto del modelo).

<i>Fuente de variación</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Cuadrados medios</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
Larvas	1	24.58	24.58	19.46	<0.0001***
Localidad	6	297.53	49.59	39.26	<0.0001***
Error	136	171.78	1.26		

Tabla 38: Análisis de covarianza de los datos de capturas y daños finales en tubérculo, sin la interacción Localidad x Larvas. (n.s.= no significativo, *=poco significativo, ***=muy significativo $P < 0.0001$).

La figura 54 es la expresión gráfica de este análisis de covarianza. En la escala transformada raíz (Daños) resultan líneas paralelas, pero a diferente altura según el campo. Es decir, la respuesta al aumento de larvas capturadas en primavera es la misma en todos los campos, pero partiendo de umbrales muy diferentes.

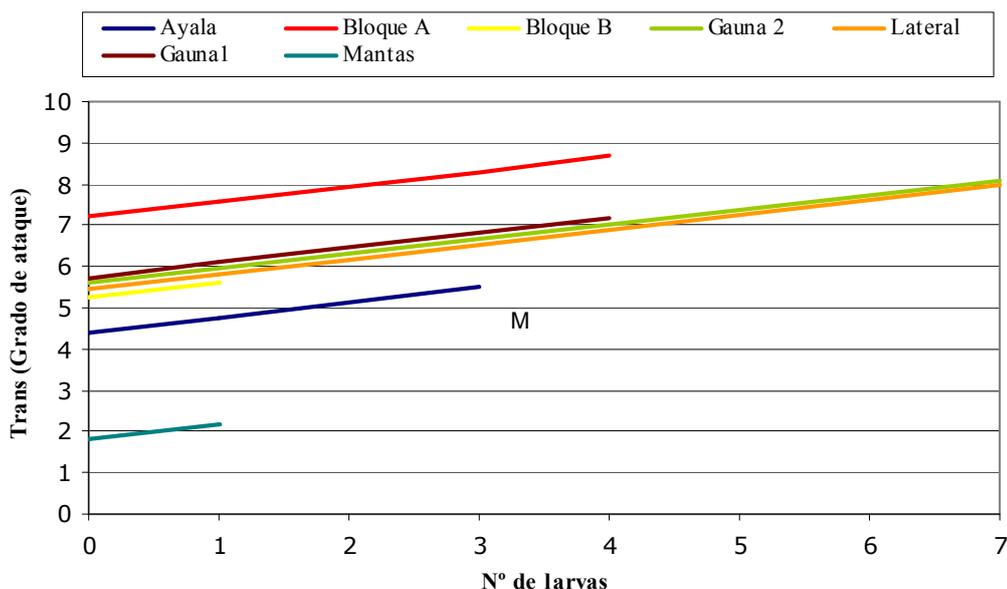


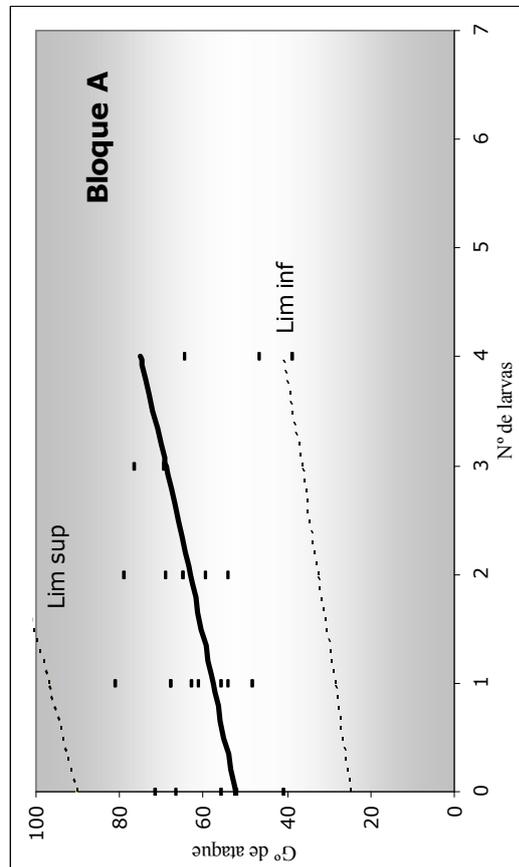
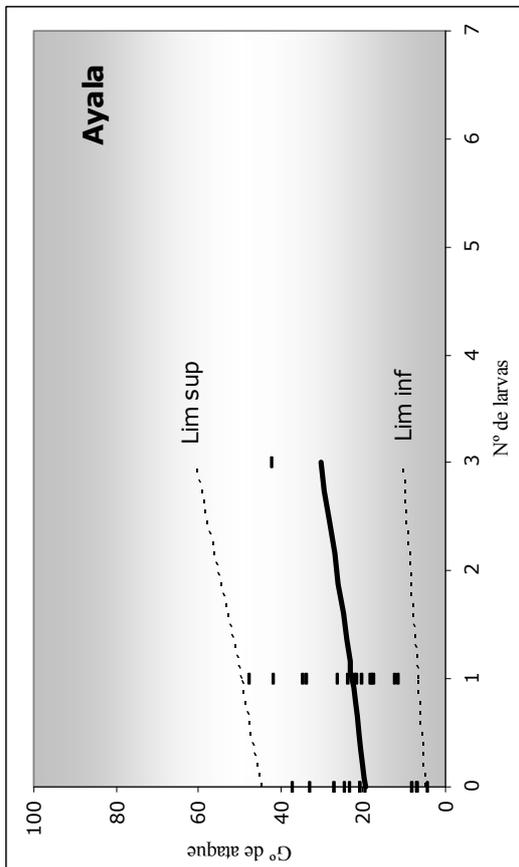
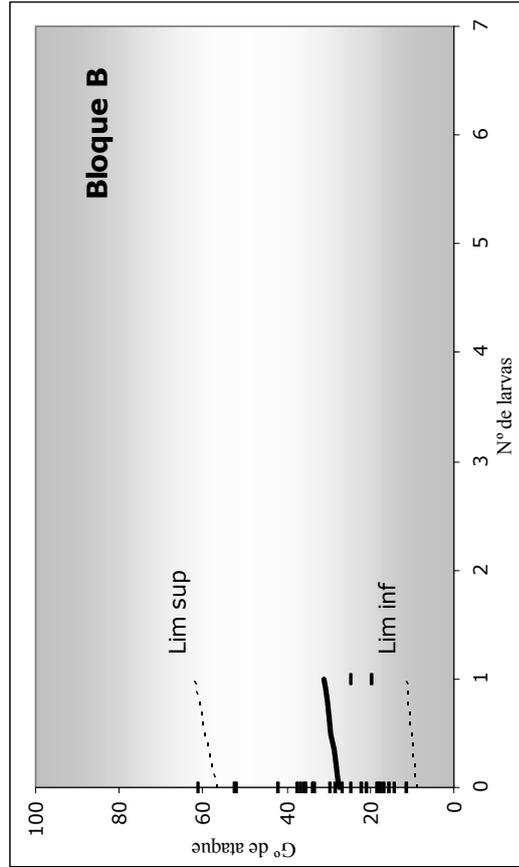
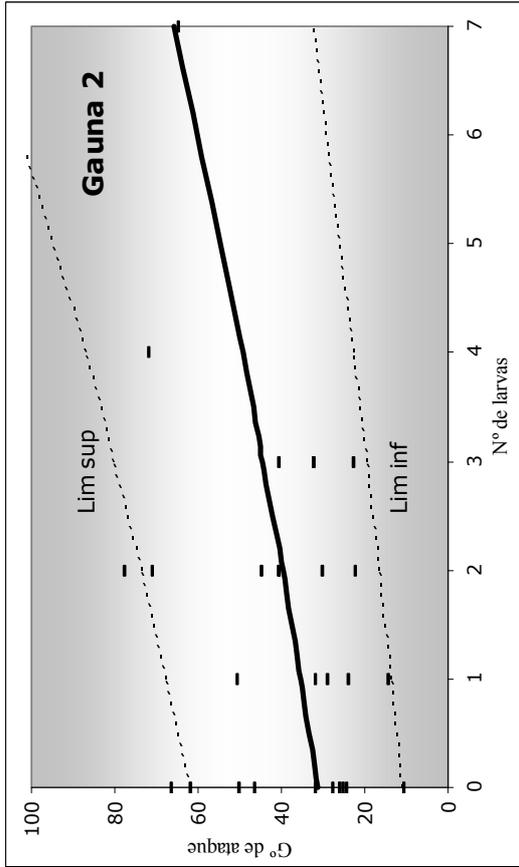
Figura 54: Rectas de regresión de la raíz cuadrada de los daños en tubérculo frente al número de larvas capturadas en trampas cebo en primavera para los diferentes campos

Destransformando las diferentes rectas de regresión a la escala natural de daños, se obtiene un juego de ecuaciones de segundo grado que explican el ataque campo por campo (tabla 39).

<i>Campo</i>	Regresión lineal de la transformada	Destransformada parabólica
Ayala	$Trdaños = 4,3999 + 0,3604 \text{ Larvas}$	$Daños = 19,3594 + 3,1713 \text{ Larvas} + 0,1299 \text{ Larvas}^2$
Bloque A	$Trdaños = 7.2210 + 0,3604 \text{ Larvas}$	$Daños = 52.1432 + 5.2046 \text{ Larvas} + 0,1299 \text{ Larvas}^2$
Bloque B	$Trdaños = 5.2353 + 0,3604 \text{ Larvas}$	$Daños = 27.4079 + 3.7733 \text{ Larvas} + 0,1299 \text{ Larvas}^2$
Gauna 2	$Trdaños = 5.5813 + 0,3604 \text{ Larvas}$	$Daños = 31.1508 + 4.0227 \text{ Larvas} + 0,1299 \text{ Larvas}^2$
Lateral	$Trdaños = 5.4622 + 0,3604 \text{ Larvas}$	$Daños = 29.8354 + 3.9369 \text{ Larvas} + 0,1299 \text{ Larvas}^2$
Gauna 1	$Trdaños = 5.7315 + 0,3604 \text{ Larvas}$	$Daños = 32.8498 + 4.1310 \text{ Larvas} + 0,1299 \text{ Larvas}^2$
Mantas	$Trdaños = 1.8167 + 0,3604 \text{ Larvas}$	$Daños = 3.3005 + 1.3094 \text{ Larvas} + 0,1299 \text{ Larvas}^2$

Tabla 39: Rectas de regresión de la transformada raíz cuadrada de daños frente a nº de larvas y las correspondientes destransformadas de segundo grado.

Las gráficas de la figura 54, muestran estas relaciones de daños en función de la captura de larvas. Destaca, por arriba el Bloque A, que con 0 larvas capturadas muestra ya una media de daños superior a 50 en la escala de Townsend-Heuberger. Por debajo destaca el campo Mantas, con un ataque de sólo 3,3 para 0 larvas capturadas. Cuatro de los siete campos, Bloque B, Gauna2, Lateral y Gauna1 se sitúan en valores muy similares y pueden ser los más representativos de la situación en los campos más infestados de la Llanada Alavesa. El grado de ataque va desde alrededor de 30, para 0 larvas capturadas, hasta alrededor de 60, para 7 larvas.



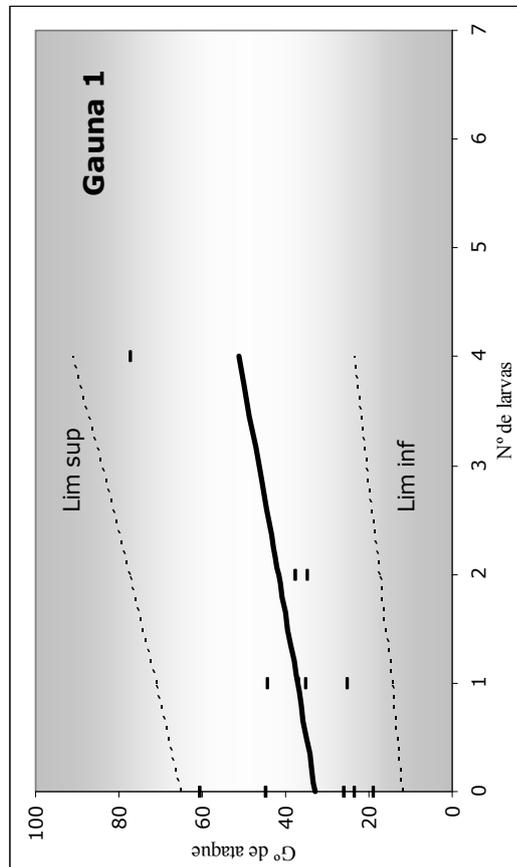
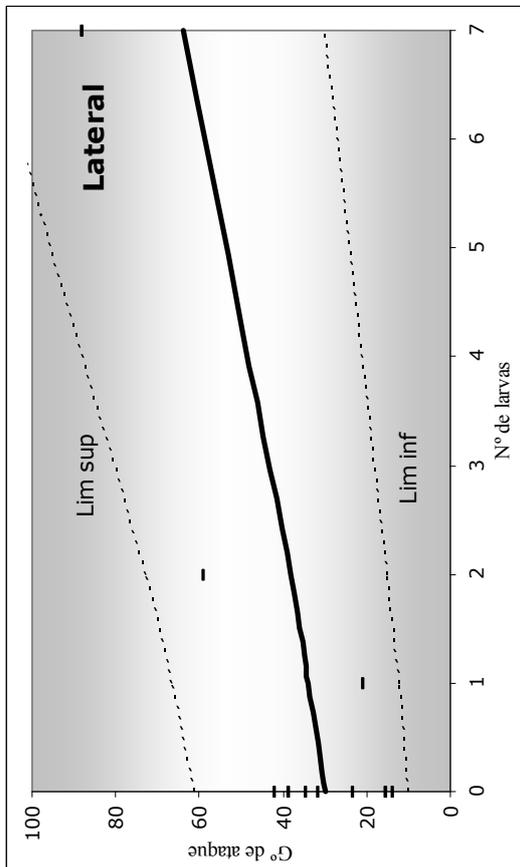
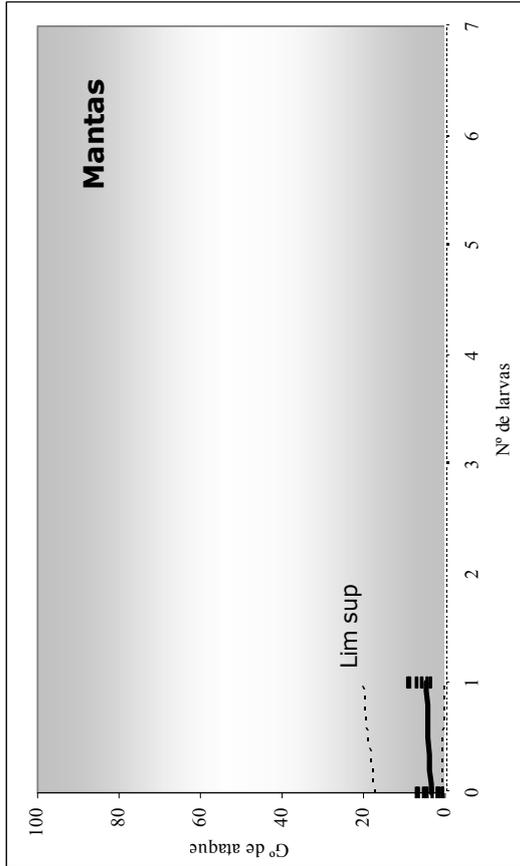


Figura 55: Rectas de regresión del grado de ataque en tubérculo frente al número de larvas capturadas en trampas cebo en primavera para los diferentes campos por separado.

En cualquier caso, en este momento, el valor predictivo del método parece escaso, ya que capturas de cero larvas se traducen en un abanico de daño de 0 a 66.

3.5.3 Control químico en campo

3.5.3.1 Productos convencionales

Incluimos en este apartado los resultados de los cebos insecticidas, un método a caballo entre el control químico y el cultural.

Los datos de gusano de alambre de los ensayos realizados en los años comprendidos entre 2000 y 2004, se han tratado estadísticamente de forma conjunta. Cada año se utilizó un diseño de 4 bloques al azar (2.5.2, 2.6.3). Así, a los factores Tratamiento y Bloque se les añade el factor Año en un modelo trifactorial:

$$\text{Trans Daño}_{ijh} = \mu + \text{Año}_i + \text{Bloque}_j + (\text{Año})_i + \text{Tratamiento}_h + \text{Año}_i \times \text{Tratamiento}_h + \varepsilon$$

El grado de ataque fue calculado según la fórmula de Townsend-Heuberger (2.5.2.1). La prueba de Shapiro-Wilk reveló la falta de normalidad en la distribución de los errores, siendo necesaria la realización de la siguiente transformación matemática:

$$\text{Trans (Daño)} = \text{Log}_{10} (\text{Daño} + 1)$$

En este modelo el Año se considera factor fijo. El factor Bloque se considera encajado dentro del factor Año, ya que cada año se llevó a cabo el ensayo en una finca diferente. El resultado se presenta en la tabla 40.

Este efecto Bloque (Año) no resulta significativo lo que indica que el tamaño del bloque se escogió de forma adecuada y que el trampeo previo localizó zonas de infestación homogénea para los ensayos.

<i>Fuente de variación</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Cuadrados medios</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
Año	4	4,2038	1,0510	16,40	<0.0001***
Bloque (Año)	15	1,0812	0.0721	1.12	0.349 ns
Tratamiento	17	19.0363	1.1198	17.47	<0.0001***
Año*Tratamiento	10	07843	0.0784	0.2892	0.289 ns
Error	79	5,0640	0,0641		

Tabla 40: Análisis de varianza del grado de ataque por tratamiento. (n.s.= no significativo, ***=muy significativo $P < 0.001$).

Del análisis de varianza ($R^2=0.82$) se desprende la existencia de diferencias muy significativas ($p<0,001$) entre tratamientos y años.

El hecho de que la interacción Año x Tratamiento no sea significativa nos da vía libre a la comparación de las medias de los tratamientos tomados en el conjunto de todos los ensayos. Desgraciadamente, al no repetirse todos los tratamientos todos los años (diseño factorial incompleto), el modelo estadístico no es capaz de calcular dichas medias. Para calcularlas se recurre a un modelo factorial más simple, en el que se prescinde de los efectos no significativos, Bloque (Año) y Año x Tratamiento.

En las tablas 41 y 42 se muestran las medias de daño obtenidas de los ensayos realizados entre los años 2000-2004. En la primera se muestran en escala transformada, de manera que puedan aplicarse las mínimas diferencias significativas (MDS). En la segunda se dan los valores destransformados, con el fin de tener un valor numérico en la escala de Townsend-Herberger.

	2000	2001	2002	2003	2004	
Cebo Tiametoxam			1.53 AB			1.47 Q
Neem			1.53 AB			1.47 Q
Testigo	1.66 A	1.11CDE	1.62 A	1.63 A	0.96 DEF	1.40 QR
Riego			1.41 ABC			1.35 QR
Forato		0.9 EF				1.13 RS
Carbofurano		0.89 EFG				1.11 RST
Carbosulfan		0.79 EFGHI	0.96 DEF	1.26 BCD		0.97 STU
Cebo imidacloprid					0.64 GHIJK	1.01 STU
Cebo imidacloprid15					0.56 GHIJK	0.92 STU
Tiametoxam		0.44 JKL	0.89 EFG	1.27 BCD		0.83 TUV
Tiametoxam 400				1.08 CDE		0.81 UV
Etoprofos		0.32 LK		0.85 EFGH		0.56 V W
Fipronil	0.72 FGHIJ	0.45 JKL	0.52 HIJK	0.54 HIJK		0.47 WX
Cebo fipronil			0.42 JKL	0.73 FGHIJ	0.16 L	0.45 WX
Bait			0.34 JKL			0.34 WXY
Fipronil 150	0.51IJK					0.24 XY
Cebo fipronil TT				0.44JKL		0.17 XY
Fipronil 100	0.42 LK					0.12 Y
	1.08 M	0.6 O	0.88 N	1.09 M	0.46 P	

Tabla 41: Medias sin destransformar para poder indicar la MDS. (MDS entre años = 0,14, MDS entre tratamientos = 0,29, MDS entre combinaciones Tratamiento x Año = 0,33)

	2000	2001	2002	2003	2004	
Cebo Tiametoxam			33.1 AB			28.7 Q
Neem			32.9 AB			28.6 Q
Testigo	45 A	11.8 CDE	40.8 A	41.6 A	8 DEF	23.9 QR
Riego			24.6 ABC			21.4 QR
Forato		7 EF				12.4 RS
Carbofurano		6.8 EFG				12 RST
Carbosulfan		5.1 EFGHI	8 DEF	17.2 BCD		8.3 STU
Cebo imidacloprid					3.4 GHIJK	9.1 STU
Cebo imidacloprid15					2.6 GHIJK	7.3 STU
Tiametoxam		1.8 JKL	6.7 EFG	17.6BCD		5.8 TUV
Tiametoxam 400				11 CDE		5.5 UV
Etoprofos		1.1 LK		6 EFGH		2.6 V W
Fipronil	4.2 FGHIJ	1.8 JKL	2.3 HIJK	2.4 HIJK		1.9 WX
Cebo fipronil			1.6 JKL	4.3 FGHIJ	0.4 L	1.8 WX
Bait			1.2 JKL			1.2 WXY
Fipronil 150	2.2 IJK					0.8 XY
Cebo fipronil TT				1.8 JKL		0.5 XY
Fipronil 100	1.4 LK					0.3 Y
	11.1M	3 O	6.6 N	11.3 M	1.9 P	

Tabla 42: Medias destransformadas del daño según la fórmula de Townsend-Herberger. Las medias seguidas por la misma letra no son significativamente diferentes entre si (Prueba de Waller-Duncan, K=100).

De la comparación de medias se desprende que pese a que el grado de ataque ha variado en los cinco años de ensayo, el comportamiento de los tratamientos ha sido congruente (interacción Año x Producto no significativa); el orden de los tratamientos cada año coincide con el general. Las materias activas que consiguen controlar el ataque de gusano de alambre de forma más efectiva son etoprofos y fipronil. El carbofurano, forato y aceite de neem no son significativamente diferentes al testigo. El resto de materias activas a pesar de reducir el grado de ataque de forma significativa no son resultados aptos para el mercado, ya que este admite hasta un 2-3% de tubérculos dañados.

La materia activa que se ha revelado como la más eficaz y de comportamiento más uniforme todos los años, ha sido el fipronil. Este producto ha sido aplicado de varias formas y en todas ha controlado el ataque significativamente.

También se aprecia una alta eficacia como técnica de control el empleo de cebos tratados con insecticida que como se puede observar en la tabla 42 con el uso de fipronil y escocet, el control es importante y se consigue minimizar el uso de insecticida.

3.5.3.2. Productos ecológicos

El ensayo de cebos tratados exclusivamente con materias activas de cultivo ecológico se realizó en Askarza en 2003, con un diseño de bloques incompletos equilibrados (2.6.3, 2.5.2). La nascencia del trigo fue buena en todos los tratamientos, menos en el tratado con rotenona, en el que se vio disminuida en un 25% (efecto fitotóxico). Para el control de malas hierbas se realizaron tres pases de acaballadora y uno de cultivador después de la siembra. El cardo (*Cirsium arvense*) y el cenizo (*Chenopodium spp.*) se escaparon a este método de control.

En el grado de ataque, el análisis de varianza (tabla 43) detecta heterogeneidad entre bloques ($P < 0,05$). Esto significa que la plaga está distribuida muy desigualmente en la parcela. Las diferencias entre tratamientos no son significativas en su conjunto ($P > 0,05$), pero la prueba de medias declara significativamente inferior al testigo el ataque en el tratamiento con *Quassia*.

<i>Factor</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Cuadrados medios</i>	F	P
Tratamiento	4	158.75	39.69	3.96	0.065 n.s.
Bloque	9	670.24	74.47	7.43	0.012 n.s.
Error	6	60.10	10.02		

Tabla 43: Análisis de varianza del grado de ataque de los distintos tratamientos (n.s.= no significativo $P < 0.0001$).

<i>Tratamientos</i>	<i>Grado de ataque</i>	
Neem	18.9	a
Testigo	14.5	ab
Nicotina	12.5	bc
Rotenona	10.9	bc
<i>Quassia amara</i>	7.4	c

Tabla 44: Grado de ataque (Townsend-Heuberger) de los distintos tratamientos. Dos medias marcadas con la misma letra no son significativamente diferentes entre sí.

En los controles se han encontrado gran cantidad de depredadores de pulgón, como larvas de *Chrysoperla carnea* (Stephens) (crisopa) y de *Coccinella septempunctata* (Linnaeus) (mariquita).

3.5.4. Control cultural

3.5.4.1. Riego

Intercalado en los ensayos de control químico, el año 2002 se aplicó el riego a final del cultivo como un tratamiento más. Cabe resaltar que reduce el ataque en un 38.7 % respecto del testigo (tabla 45).

<i>Variante</i>	<i>Grado de ataque</i>	<i>Clases</i>	
Testigo	48.5	A	
Bio 175 G: Aceite de neem	37.6	A	B
Riego (hasta final de ciclo)	29.7		B
Cebo thiamethoxam	28.9		B
Marshal 5G: carbosulfan	8.8		C
Cebo fipronil	5.6		C
Thiamethoxam	5.4		C
Fipronil -bait 0.5	1.9		C
Regente: Fipronil 80	1.3		C

Tabla 45: Resultados del ensayo de productos del año 2002. Las medias del grado de ataque (Townsend-Heuberger) seguidas por la misma letra no son significativamente diferentes entre si (Prueba de Waller- Duncan, K=100).

3.5.4.2. Barbecho

En marzo de 2002, se llevó a cabo un muestreo en 28 puntos en una finca con una alta población de gusano de alambre. Esa campaña se dejó en barbecho y se muestreó en los mismos puntos de nuevo en marzo de 2003 (2.4.1, 2.4.2, 2.5.2). Los resultados obtenidos en el ensayo de barbecho se presentan en la tabla 46.

<i>Año</i>	<i>Suelo</i>	<i>Trampa-cebo</i>	<i>Total</i>
2002	13	30	43
2003	0	3	3
Total	13	33	46

Tabla 46: Datos de capturas de larvas en 28 puntos, utilizando dos métodos de captura; trampas-cebo y muestreo de suelo.

Con un nivel de significación de 0.01 en la prueba exacta de Fisher, se puede afirmar que existe diferencia en las capturas entre los dos años de muestreo.

3.5.5. Control biológico

3.5.5.1. *Metarhizium anisopliae* laboratorio

Se realizaron tres repeticiones de 20 larvas cada una inoculada con *M. anisopliae*, más otras tres sin tratamiento (2.5.3). Las larvas de *A. sordidus* que estuvieron en contacto con esporas de *M. anisopliae*, mostraron una alta sensibilidad al hongo. Como se puede apreciar en la figura 56, la mortalidad en las larvas tratadas fue del 100%, mientras que en los testigos no superó el 15% en los dos meses y medio que duró el ensayo. El valor alcanzado por micosis en las larvas con tratamiento fue 96.3 %, siendo nula en los testigos. Los datos se han tratado mediante la modelización logit. En la gráfica resultante se ve una curva sigmoidea. Se aprecia que a los 35 días del inicio del ensayo las larvas con semillas tratadas alcanzaron el 50% de mortalidad debido a micosis. Extrapolando los resultados a los bloques testigo, el 50% de mortalidad se alcanzaría al cabo de 118 días.

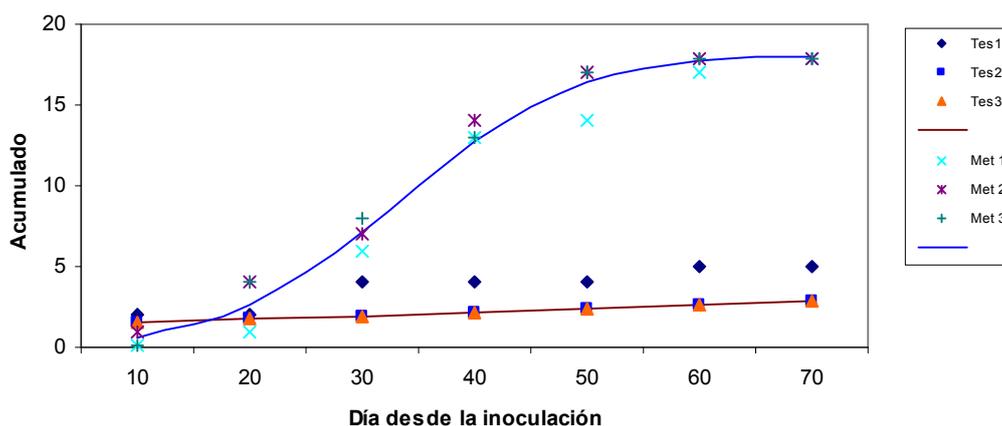


Figura 56: Datos de mortalidad de larvas alimentadas con semillas de trigo tratado con *M. anisopliae* y larvas alimentadas con trigo sin tratamiento.

3.5.5.2. *Metarhizium anisopliae* en campo

El ensayo se realizó en Gauna en el año 2006 con semillas de trigo como cultivo trampa. Las variables fueron; trigo tratado con imidacloprid, trigo autoclavado tratado con *M. anisopliae*, trigo sin autoclavar tratado con *M. anisopliae* y un testigo. El diseño fue de bloques completos al azar con 4 repeticiones (2.5.2).

La prueba de Shapiro-Wilk reveló la falta de normalidad en la distribución de los errores, siendo necesaria la realización de la transformación matemática:

$$\text{Trans (Daño)} = \text{Log}_{10} (\text{Daño} + 1)$$

Del análisis de varianza (tabla 47) se desprende que no existe diferencia significativa entre los diferentes tratamientos

<i>Fuente de variación</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Cuadrados medios</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
Bloque	2	0.3511	0.1756	3.68	0.091 ns
Tratamiento	3	0.0976	0.0325	0.68	0.595 ns
Error	6	0.2863	0.0477		

Tabla 47: Análisis de varianza de grado de ataque por tratamiento. (n.s.= no significativo, $P < 0.001$)

La nascencia del trigo fue muy baja por lo que el efecto de atracción de los cebos se vio anulado. Esta puede ser una de las posibles razones por las que no hay diferencias significativas entre los distintos tratamientos.

3.5.5.3. Nematodos entomopatógenos

En ninguna de las 130 muestras de tierra analizadas de tres parcelas diferentes se encontraron nematodos entomopatógenos, por lo que los ensayos de infectividad no se realizaron.

4. DISCUSIÓN

4.1. LA FASE ADULTA

4.1.1. Especies de *Agriotes* presentes en la Llanada

Los resultados obtenidos en cuanto a la especie predominante son similares a los encontrados por Antonio Sánchez (1996) en el Catálogo de las especies de la familia Elateridae de la Península Ibérica, donde la especie del género *Agriotes* más citada es *A. sordidus*. Esta especie ha sido citada en el centro y sur de Europa; Austria, Bélgica, Rumania, Hungría, Inglaterra, Alemania, Italia, Portugal, España, Grecia, Sicilia, Córcega y Suiza. También ha sido citada en el Norte de África, Turquía, Israel, Jordania, Egipto, Arabia, Irán e Irak (www.faunaeur.org).

Se ha encontrado aunque en menor medida (10.3% del total) *Agriotes lineatus*, especie con una amplia distribución europea y también citada en el norte de la Península.

Las especies predominantes varían según la zona. En el Reino Unido las más citadas como plaga son *A. obscurus*, *A. lineatus* y *A. sputator*. En Francia es *A. lineatus*. En Europa Central y del Este las especies más citadas son *A. litigiosus*, *A. acumitatus*, *A. pilosellus*, *A. rufipalpis*, *A. obscurus*, *A. ustulatus*, *A. brevis*, *A. sputator* y *A. lineatus*, mientras que en el suroeste de Europa son *A. sordidus*, *A. ustulatus* y *A. lineatus*. En Estados Unidos y Canadá se encuentran *A. obscurus* y *A. lineatus* introducidas a principios del siglo XX desde Europa hasta la costa del Pacífico (Wilkinson *et al.*, 1977). En líneas generales, puede decirse que las dos especies encontradas en este trabajo son las predominantes en Europa Occidental. Dentro de esto, *A. lineatus* es más septentrional y *A. sordidus* es más meridional.

4.1.2. Longitud del cuerpo

Los resultados obtenidos sobre la morfología de los adultos (tabla 13) coinciden con estudios realizados en Italia por Furlan (2004) (hembras 9.6 mm, machos 9 mm), indicando que hay un cierto dimorfismo sexual. Aunque las medidas se solapan parcialmente, en promedio las hembras son más largas que los machos. Lo mismo sucede en relación con los especímenes capturados en la naturaleza y los criados en cautividad; siendo éstos últimos mayores. La explicación más plausible es que en cautividad la cantidad de alimento disponible no es un factor limitante.

4.1.3. Color de los élitros

Honêk y Furlan (1995) estudiaron el polimorfismo en la coloración de los élitros en la especie *Agriotes ustulatus* entre poblaciones de la República Checa y poblaciones del norte de

Italia. En su estudio esta especie presenta un polimorfismo aproximadamente del 8% en el color de sus élitros, siendo ligeramente mayor en poblaciones italianas.

En nuestro trabajo se ha encontrado un claro polimorfismo en el color en condiciones de campo, encontrándose en el caso de *Agriotes sordidus* dos tipos de individuos, adultos con escutelo y cabeza oscuros y élitros claros y adultos completamente oscuros. El polimorfismo que se ha encontrado en Álava ha sido del 2.2% (tabla 15). En condiciones de laboratorio aunque el 100 % de los adultos fueron oscuros, el número de individuos criados fue 42 y el 2.2% es 0.9, por lo que no es relevante. Este polimorfismo en el color contrasta con los estudios previos realizados por Furlan (2004) ya que este recolectó tanto en campo como en laboratorio sólo especímenes oscuros.

La variación geográfica y temporal en el polimorfismo del color es habitual. Existen argumentos a favor de la selección climática que incluyen variación en la proporción de formas melánicas a lo largo de gradientes climáticos (Thompson 1998, Capy *et al.*, 1988) y el efecto de la temperatura en la expresión del melanismo genéticamente determinado (David *et al.*, 1990).

4.1.4. Relación entre los números de machos y hembras

En el año 2002 se capturan en trampas de hierba un 20 % más hembras que machos. La relación entre hembras y machos en el año 2003 fue 1:1 (tabla 17). Esta diferencia entre ambos años puede atribuirse a la influencia de la cercanía en 2002, en ambas localidades, de trampas de feromona. Estas interferían en la captura de individuos machos en las trampas de hierba por lo que las capturas fueron menores. Furlan (2004) observó que la proporción entre hembras y machos era la misma en el norte y sur de Italia, 51% hembras y 49% machos.

En los individuos criados en laboratorio se aprecia una desviación significativa de la proporción 1:1 observada en campo para una $P= 0.05$ (67% machos, 33% hembras). Desconocemos las razones de este fenómeno.

4.1.5. Especificidad de las feromonas

En las trampas de feromona para captura de machos se ha observado una alta especificidad en las capturas de *A. lineatus*, (tabla 18) ya que, tal y como afirma Toth (2003), esta feromona está compuesta por geranyl octanoato (95%) y geranyl butanoato (5%) componentes no presentes en la feromona de *A. sordidus*. El geranyl octanoato presente en la feromona de *A. obscurus* ha sido incapaz de atraer a *A. lineatus* en ausencia de butanoato.

Las altas capturas de *A. sordidus* registradas en las trampas cebadas con feromona de *A. obscurus* son debidas a que las feromonas de ambas especies tienen geranyl hexanoato entre sus

componentes. *A. sordidus* como componente único y *A. obscurus* en un 50% junto con geranyl octanoato (Vernon y Tóth, 2007).

4.2. EL CICLO DE DESARROLLO

4.2.1. Oviposición

Las hembras depositan sus huevos a principios de mayo y se continúan observando puestas a lo largo de todo el mes, registrándose los últimos huevos a principios de junio. Estas fechas coinciden con las registradas en el norte de Italia por Furlan (2004), que estudio exhaustivamente el ciclo de vida de *Agriotes sordidus* y en Francia (D'Aguilar, 1961).

Spillman (1978) y Lefko (1998a), sugieren que las hembras prefieren zonas de pastos para poner los huevos. Por el contrario en nuestro estudio en cajas cría, no se encontraron diferencias significativas en la oviposición entre pastos y cultivo de maíz (tabla 23). En un estudio realizado en Noruega, Ester *et al.*, (2004) afirman que han encontrado especies del género *Agriotes* ovipositando en diversos cultivos así como en praderas pero no han encontrado huevos en el cultivo de la patata.

Los datos de oviposición en laboratorio fueron muy variables siendo la media 60 huevos por hembra. En contraste con esto, otros investigadores han obtenido frecuencias de oviposición más altas. Furlan (2004), de media obtiene 150 huevos por hembra. Las desviaciones típicas de los estudios realizados por Furlan y los nuestros son similares; 28 y 30.1 pero las puestas máximas son muy diferentes ya que éste registró puestas de hasta 201 huevos mientras que en nuestro estudio la máxima puesta alcanzó los 120 huevos. A pesar de esta diferencia, hay un cierto solapamiento de los rangos: 5.1-115 y 97-203 (al 95%). Spillman (1978) también contabilizó puestas de hasta 200 huevos.

Al igual que estos autores, se pudo observar que los huevos se colocaban en agrupaciones de 5 a más de 20 unidades cada una.

Por otra parte, el desarrollo embrionario en condiciones controladas, a 25°C, se llevó a cabo en una media de 12.5 días, (DT=1.7), mientras que Furlan (2004) encontró que el desarrollo embrionario se completaba en 13.4 días (DT=1.22). En este caso, los intervalos se solapan ampliamente.

4.2.2. Crecimiento de las larvas

Durante la cría en laboratorio se advirtió que al colocar 10 larvas en un mismo vial en el transcurso de dos meses solo quedaban una o dos y no se encontraron larvas muertas. Teniendo en cuenta que Spillman (1978) y Jansson y Seal (1994) observaron comportamientos caníbales entre las larvas, esto podría explicar una reducción tan rápida de individuos.

Según Evans (1944) la tasa de crecimiento de las larvas está muy influenciada por la alimentación. Algunas plantas como trigo y zanahorias permitirían un rápido crecimiento, otras como pastos y tréboles, un crecimiento lento mientras que tanto la mostaza como la patata permiten que las larvas mantengan su peso. Nuestros resultados muestran lo contrario ya que el crecimiento es similar cuando fueron criadas en una pradera y en un cultivo (tabla 23). Esto coincide con los resultados de Furlan (1998, 2004). Este afirma que la tasa de desarrollo de las larvas es independiente del tipo de alimentación.

Evans (1944) y Furlan (2004), observaron que las larvas en sus primeros estadios crecían rápidamente y mudaban con frecuencia, pero las larvas de estadios más avanzados crecían lentamente o se mantenían en su tamaño y mudaban pocas veces. Esto coincide con la gráfica de crecimiento (figura 37), donde podemos observar que la tasa de crecimiento va disminuyendo desde 3.7 mm/mes en los primeros meses de crecimiento hasta llegar a menos de 1 mm/mes, con una longitud de 18 mm. Posteriormente, esta tasa de crecimiento se reduce paulatinamente hasta llegar a 0 mm/mes según nos acercamos a la longitud máxima de 21 mm. Desgraciadamente, no hemos encontrado en la bibliografía datos cuantitativos con los que contrastar nuestros resultados.

Evans y Gough (1942) y Furlan (2004) observaron un incremento en peso previo a la muda debido a la absorción de agua presente en el suelo ya que se ha visto que las larvas aumentan el peso en la fase de inanición que precede a una muda. El aumento de volumen se pudo constatar visualmente en los individuos criados en laboratorio (figura 36).

4.2.3. Longitud máxima de las larvas

En laboratorio se ha observado que el umbral mínimo para que una larva complete el ciclo es de 17 mm. La media de la última medida antes de la pupación es de 20.2 mm.

Al aire libre, los valores son similares. Cabe resaltar que se aprecia diferencia entre la media de la última medida de las larvas de pupación temprana (19.81) y las de pupación tardía (21.44) aunque los intervalos de confianza se solapan. Curiosamente, el mayor tamaño de los adultos criados en laboratorio no tiene su contrapartida en el tamaño de las larvas.

En la bibliografía se habla en términos generales de longitudes de las larvas de 20 mm. En nuestro estudio el valor máximo alcanzado por una larva en cajas cría al aire libre ha sido de 22.4 mm y en laboratorio 23 mm.

4.2.4. Pupación y emergencia de los adultos

En condiciones de laboratorio, a 25°C, Furlan (2004) determinó que la transformación de pupa a adulto parcialmente pigmentado duraba 16 días (DT=1.0). En nuestro estudio se obtuvo una duración media de 14.5 días (DT= 1.94) (tabla 25). De nuevo, los rangos se solapan.

En cajas de cría al aire libre se encontraron pupas desde mediados de junio hasta mediados de agosto del tercer año del experimento (tabla 26). Este dato coincide con lo observado por Furlan (2004). No obstante, dos elementos apuntan a la posibilidad de que las larvas más adelantadas de la Caja 1 puparán ya en otoño del 2º año. Uno es la poca actividad larvaria que se detectó en primavera del tercer año, en comparación con la más atrasada Caja 2 (figura 52). El otro es que muchas larvas de esta Caja 1 superaron en otoño de 2003 el umbral crítico de pupación de 17 mm que hemos determinado en laboratorio. Desgraciadamente, no se efectuaron catas en busca de pupas hasta verano de 2004.

4.2.5. Duración del ciclo

La duración del desarrollo larvario varía entre distintas especies y diferentes localidades. En Inglaterra, según Miles (1942), en Estados Unidos (Spillman, 1978) y en Francia (D'Aguilar, 1961) las larvas pasan una media de 4 o 5 años en la tierra antes de pupar. En Italia (Furlan, 2004) observó que un ciclo completo podía durar entre dos y tres años. En nuestro estudio al aire libre, el ciclo de desarrollo se completa en tres años, pudiendo causar daños al cultivo de la patata tan solo durante el segundo año de desarrollo. En cultivos en los que el ataque aparece en nascencia, como la remolacha o el maíz, el daño de una misma generación puede producirse en dos primaveras consecutivas.

Estudios realizados en el norte, y sur de Italia por Furlan (2004) muestran que las diferencias en las condiciones climáticas pueden reducir un año el ciclo de desarrollo de *A. sordidus*. En el sur (Molise, región mediterránea) la mayoría de las larvas se transformaban en adultos el segundo año, mientras que en el norte (Véneto, región continental) las larvas completaban el ciclo de vida en aproximadamente 36 meses. En nuestro caso, (Arkaute, región atlántica) con individuos criados al aire libre desde el estadio de huevo hasta la formación de la pupa se tardaron 24 meses, observándose un claro retraso en el desarrollo larvario en individuos nacidos con un mes de diferencia. Parece evidente que la temperatura es el factor limitante.

Los resultados obtenidos sobre maduración de las larvas criadas al aire libre coinciden estacionalmente con Gratwick (1989) y Furlan (2004) ya que alcanzan la madurez en julio con dos años cumplidos y es entonces cuando hacen una celdilla en el suelo y pupan.

Según Spillman (1978) las larvas de *Agriotes* criadas en laboratorio a una temperatura óptima (no especificada), completan su ciclo de desarrollo en un año. Esto coincide con nuestro estudio donde se completó el ciclo a 25°C en una media de 361 días.

En Álava la aparición de los primeros adultos se produce a principio de primavera con las primeras lluvias (figuras 49 y 50). Estas observaciones coinciden con lo señalado por Neiwiller (1998) sobre la influencia que tiene la humedad del suelo en la emergencia de los adultos, ya que al humedecerse el suelo se facilita la rotura de la cámara pupal y la salida a la superficie de los adultos. Entre los factores determinantes para la emergencia de los adultos del suelo, además del desarrollo y las precipitaciones también juega un papel importante el estímulo que ejerce el laboreo ya que al romper las cámaras pupales emergen los adultos antes de la primavera (Furlan, 2004).

Se observa en las gráficas de vuelo una emergencia bimodal de los adultos por lo que las puestas se realizan en dos diferentes fechas. Este fenómeno se corrobora en los resultados de las cajas cría donde al poblarse en fechas diferentes se aprecia un claro retraso en el desarrollo de las larvas nacidas con un mes de diferencia. Además el hecho de que las larvas puedan pupar al final del segundo año puede estar relacionado, además de con la fecha de puesta (como se demuestra por la diferencia entre las dos cajas cría) por un carácter genético que genera dos oleadas de pupación, como parece verse en el experimento de laboratorio (figura 47).

4.3. DISPERSIÓN DE LOS ADULTOS

4.3.1. Vuelo

A pesar de que algunos autores, Ferro y Boiteau (1993) afirman que los adultos de la familia Elateridae vuelan y Ester y Klaas van Rozen (2005) que el género *Agriotes* puede volar ocasionalmente, Spillman (1978) apunta que los adultos del género *Agriotes*, no vuelan. Parker y Howard (2001), en la especie *A. obscurus*, tampoco han encontrado evidencia de vuelo. En nuestro estudio, en la especie *Agriotes sordidus*, no se ha constatado el vuelo de los adultos. Esto parece indicar que se dispersan andando, lo que limitaría su radio de acción, por lo que la población en una zona aparentemente sería estable.

4.3.2 Factores que influyen en la dispersión

Los datos tomados durante los tres años en los que se realizaron muestreos de adultos, solo evidencian presencia de *A. sordidus* y *A. lineatus* en Álava.

Según Ester *et al.*, (2004), al anochecer y bajo condiciones meteorológicas de calor y baja humedad relativa los adultos son muy activos. Durante el día y cuando las temperaturas son bajas y el ambiente húmedo se esconden bajo las piedras. Este comportamiento también lo hemos podido observar ya que las capturas en trampas de hierba eran casi nulas en los días fríos y lluviosos.

Uno de los problemas a la hora de interpretar las capturas en trampas de feromonas es el desconocimiento de factores como, el rango de atracción de la trampa, la distancia que recorre el adulto o la densidad real que determinan (Yamamura *et al.*, 2003). Blackshaw y Vernon (2006) estudiando el movimiento de los adultos de *A. lineatus* y *A. obscurus* observaron que el movimiento aproximado de los adultos es de 5 m a la semana y que ambas especies se comportan de forma similar con las mismas condiciones ambientales. Esto abre un campo de trabajo para establecer una correlación de capturas de adultos en trampas de feromona con la densidad de larvaria en suelo.

Según Furlan (2004), las hembras aparecen en campo una o dos semanas más tarde que los machos. Esto se pudo observar en laboratorio ya que se produjo un retraso en la aparición de hembras de dos meses respecto a la aparición de los machos (figura 44). Con estos datos se puede pensar en métodos de captura masiva de machos para evitar la puesta de huevos en una zona determinada. Estudios recientes (Hicks y Blackshaw, 2008) con *A. lineatus*, *A. obscurus* y *A. sputator* revelan diferencias entre el área efectiva de atracción de las trampas de feromona de las tres especies por lo que son necesarios estudios para cada especie a la hora de establecer programas de control de este tipo.

4.3.3. Dinámicas estacionales de dispersión

Las gráficas en los dos primeros años de estudio tienen dos picos, uno a principio de primavera y otro en verano. En el tercer año se desplazan y ambos picos se producen en verano.

Furlan (2004), observó que las primeras capturas de machos en trampas de feromona se producían a finales de marzo, al igual que lo registrado en nuestro estudio. Posteriormente, también de manera similar a sus resultados en Italia, se produce un pico máximo de capturas en el mes de mayo. Los resultados de los años 2002 y 2003 coinciden con este resultado mientras que en 2004 el máximo de capturas registrado se retrasa hasta principios de junio. Aparece un segundo pico hacia finales de junio en 2002, a principios de junio en 2003 y a principios de agosto en 2004.

En resultados obtenidos en Grecia con *A litigiousus* y *A rufipalpis* (Katabatsas, 2002) se observa que también se produce la salida de adultos de las cámaras pupales a finales de marzo y al igual que lo registrado con *A. sordidus* las gráficas son bimodales.

Toth *et al.*, (2002) observó diferencias en la época de aparición de los adultos de la misma especie dependiendo de la región en que se realizaran los muestreos.

4.4. DISTRIBUCIÓN DE LAS LARVAS EN EL SUELO

4.4.1. Eficacia de las diferentes técnicas de muestreo

Con nuestros resultados podemos afirmar que las trampas cebo de trigo y maíz son los que más larvas atraen (tabla 33). Tal y como sostienen Seal *et al.*, (1992b) y Simmons *et al.*, (1998) que realizaron ensayos con diferentes cebos como atrayentes de larvas, encontramos que los cebos de maíz y trigo eran los más eficaces. Incluso después de dos o tres semanas, donde los otros cebos disminuían su grado de atracción, los de maíz y trigo seguían siendo efectivos. Estos resultados también coinciden con otros ensayos realizados en laboratorio por Ward y Keaster (1977) y Horton y Landolt (2002), donde los géneros *Agriotes*, *Limonius* y *Aeolus* eran atraídos por cebos de cereales.

Los resultados de la patata fueron similares a las capturas recogidas en las muestras de tierra. Los cebos de zanahoria a pesar de que en nuestro ensayo el 25% de las trampas se pudrieron, resultan muy efectivos a la hora de procesar ya que al igual que las patatas, las larvas se contabilizan fácilmente. Parker (1994) también encontró que las trampas cebadas con zanahoria a pesar de su rápido procesamiento no son tan efectivas en el número de capturas como las trampas cebadas con cereales. Las capturas de trampas sin cebos fueron nulas.

Tal y como hemos observado en nuestro estudio y sostienen varios autores (Chabert y Blot, 1992, Lefko *et al.*, 1998b, Simmons *et al.*, 1998) se puede afirmar que en general el muestreo con trampas es más eficaz que el tradicional muestreo de suelo. Además se ha de tener en cuenta el tiempo de procesamiento de las muestras, siendo significativamente inferior el de las trampas cebo (Parker, 1996).

El período de exposición de las trampas fue de dos semanas ya que se observó que era el tiempo que necesitan la mayoría de las semillas de trigo para germinar y es suficiente para que comiencen a germinar las semillas de maíz. Seal *et al.*, (1992b) advirtieron que las trampas colocadas durante una semana capturaban significativamente más larvas que manteniéndolas durante dos o tres. En nuestro estudio aunque no se han realizado ensayos expresamente para valorar el tiempo de exposición, a priori se han capturado más larvas con dos semanas de

exposición. Cherry y Alvarez (1995) señalan que a partir de 21 días de exposición el número de capturas decrece. Según hemos observado esto puede ser debido a que a partir de cierto tiempo las semillas comienzan a descomponerse y consecuentemente disminuye su poder atractivo como cebo.

Se pudo observar que tal y como afirma Parker (1994), la mayor limitación en la manipulación de la trampa en el campo es la dificultad que supone encontrar las larvas de menor tamaño. A pesar de que las raíces de maíz no son problema, la acumulación de raicillas de trigo enredadas y el color de la vermiculita dificultaban el conteo de larvas. En nuestro caso para asegurarnos una extracción completa las dejábamos secar en los embudos Tüllgren-Berlese. Sin embargo, según el Ministerio Británico de Agricultura (Anónimo, 1948) las pequeñas larvas (< 5mm) que pueden pasar desapercibidas no contribuyen significativamente a los daños finales al cultivo. Nuestros resultados muestran lo contrario, ya que las larvas que en marzo miden menos de 5 mm en agosto pueden alcanzar una longitud de 15 mm pudiendo llegar a medir 21 mm en octubre. En estas fechas el cultivo de patata no se ha cosechado por lo que estas larvas que hace 5 meses no eran potencialmente dañinas se convierten ahora en plaga.

Como hemos comentado anteriormente, la utilización de trampas cebo tiene la ventaja del alto número de capturas de larvas con respecto a los sondeos de tierra (Parker, 1994) pero la discusión en el uso de diferentes cebos dificulta la normalización de los muestreos. Además, trabajos en laboratorio llevados a cabo por Doane *et al.*, (1975) sugieren que las larvas se mueven alrededor de 20 cm para alcanzar una fuente de dióxido de carbono. Esta área de atracción de la trampa no es constante debido a diversos factores. La existencia de alimentos alternativos y la textura del suelo puede reducir el poder atractivo del cebo (Parker, 1996) aumentando la dificultad de movimiento de las larvas hacia la fuente de alimento. Existen otras limitaciones potenciales en el uso de estas trampas. Trabajos realizados en Francia (Chabert y Blot, 1992) y en USA (Toba y Turner, 1983) apuntan la humedad y la temperatura del suelo como limitantes en la eficacia de la capacidad de atracción de las trampas. De esta manera, los resultados serían válidos para comparar diferentes zonas del mismo campo, pero habría que ser prudentes en la comparación de valores absolutos de campos diferentes. Teniendo en cuenta que en nuestro trabajo se realizaron ensayos bajo diferentes condiciones meteorológicas y diferentes parcelas, esto podría explicar en parte las diferencias en la captura de larvas e, indirectamente, en la relación larvas-daños.

El trabajo llevado a cabo por Chabert y Blot (1992) muestra diferencias en las capturas de larvas de *Agriotes* a lo largo del año en la misma parcela. Esto implica que para la utilización de trampas cebo hay que tener en cuenta entre otros factores la variación a lo largo del año de la temperatura del suelo y la disponibilidad de fuentes alternativas de alimento. En resumen, es

necesaria una uniformidad en el método de muestreo y un estudio de los factores que afectan a la captura de larvas para así poder normalizar el método y poder hacer estudios comparativos. En nuestro trabajo las trampas fueron colocadas en todos los casos, después del invierno cuando la temperatura del suelo alcanza los 9° C y en ausencia de hierbas adventicias.

En nuestro estudio se han encontrado esporádicamente larvas de *Athous* sp. en muestreos aunque no se ha podido observar daños relacionados. Estudios en el oeste de Francia (Blot *et al.*, 1999) indican que larvas de *Athous* spp. están presentes en 19% de las rotaciones de maíz y trigo. Aunque en el Reino Unido también se han encontrado larvas de este género en parcelas de cultivo, no se han hallado evidencias de que causen daños (Parker, 1994). En un estudio realizado en La Rioja (Rodríguez, 2001) no se encontró correlación entre capturas de estas larvas y daños en el tubérculo.

4.4.2. Agregación espacial de las larvas

Las masas de huevos de muchos insectos están distribuidas al azar y las larvas de primeros estadios están agrupadas; sin embargo la dispersión de las larvas puede cambiar a una distribución al azar o agruparse en estadios más avanzados dependiendo de su dispersión en grandes distancias en función de la disponibilidad de alimento y de condiciones más favorables (Chiang y Hodson, 1959). Estos cambios en la distribución espacial, con la edad de las larvas de gusanos de alambre, han sido observados por Salt y Hollick (1946). Estos dividen la distribución espacial de las larvas en tres escalas donde se va de una distribución agregada a una distribución al azar según avanza la edad de las larvas. También Doane (1977) afirma que el grado de agregación está negativamente correlacionado con la edad de la cohorte.

Así mismo Seal *et al.*, (1992) observaron que la distribución comenzaba siendo agregada a principio de la estación pasando poco a poco a ser al azar. Además sostienen que dos factores muy importantes a la hora de desarrollar un modelo de distribución espacial de las larvas de gusanos de alambre son, las especies y el estadio de las larvas.

En estudios realizados por Furlan (1998) sobre la especie *A. ustulatus*, las larvas de los primeros estadios presentan una distribución agregada, debido al carácter marcadamente localizado en la oviposición donde las hembras ponen grandes cantidades de huevos en agregados. Esta distribución agregada pasa a ser al azar al alcanzar los últimos estadios, debido al desplazamiento para encontrar condiciones más favorables. *Agriotes brevis* y *A. sordidus* muestran una distribución al azar en casi todos sus estadios debido a un desarrollo más rápido de las larvas en sus primeros estadios. En las larvas de últimos estadios no se encuentran diferencias significativas entre la distribución de las tres especies. Vernon (2005) observó en la especie *A. obscurus* una distribución larvaria al azar recogiendo larvas de 5 a 20 mm.

Por comparación con otras especies de insectos, se ha determinado que la distribución espacial de los pulgones (Hemiptera: Aphididae) en el cultivo del algodón, es de tipo agregada, con alta probabilidad de ajustarse a la distribución Binomial Negativa cuando la infestación es alta. Mientras que cuando la infestación es baja, se presenta una distribución de tipo aleatoria, con ajuste a la distribución de Poisson (Robert, 1988). Esto es consistente con focos iniciales aleatorios producidos por individuos alados, que crecen formando colonias de ápteros.

En el caso de gusano de alambre, si consideramos factores intrínsecos, hay que tener en cuenta que la distribución puede ser consecuencia de factores como las interacciones sociales (canibalismo) y del modo reproductivo (oviposición localizada). Si además consideramos factores extrínsecos, puede depender del patrón de disposición de los recursos, de otros organismos cohabitando en su mismo entorno edáfico o de la textura del suelo. De hecho Salt y Hollick (1946), observaron que la presencia de *A. sputator* en praderas era directamente proporcional a la cantidad de materia orgánica, a la presencia de *Lolium* sp. y a la cantidad de larvas de estafilínidos.

La distribución larvaria de los gusanos de alambre no está clara como confirman los resultados obtenidos por Onsager y Day (1975) que no pudieron concluir si la distribución de *Conoderus* spp. se ajustaba a una distribución espacial de Poisson o binomial negativa. También Cherry y Stansly (2008), en estudios recientes sobre distribución larvaria de gusano de alambre con distintos tipos de suelo han encontrado por igual distribuciones al azar y agregadas, no encontrándose en ningún caso distribuciones uniformes.

En nuestro estudio la distribución espacial de las larvas en el suelo no se ajusta estrictamente ni a una distribución al azar ni a una agregada. Los datos indican que se desvía levemente de una distribución de Poisson y los intervalos de confianza en la distribución binomial negativa permiten pensar en una distribución agregada.

Taylor (1961) determinó que para el género *Agriotes* el índice de agregación oscilaba entre 1.19 y 1.26 lo cual indica una distribución levemente al azar. Este autor dice expresamente que las larvas de elatéridos se presentan menos agregadas que las larvas de tipúlidos. Aplicando la ley de Taylor a nuestros resultados nos da un índice de agregación de 1.6 con un intervalo de confianza que engloba el 1. Por ello no podemos afirmar que no se apartaría significativamente de la distribución aleatoria.

Esto se podría explicar teniendo en cuenta el tipo de datos recogidos. Las larvas capturadas en trampas en primavera, constituyeron una mezcla de longitudes. Aunque la gran mayoría tenía una longitud entre 15 y 22 mm, también se capturaron larvas de entre 5 y 7 mm.

Esto es consistente con los resultados en jaulas de cría al aire libre (figura 45); las pequeñas tendrían menos de un año y las mayores cerca de dos. Esta mezcla de longitudes podría englobar dos tipos de distribuciones ya que según los autores mencionados en este apartado, Furlan y Burgio, 1999; Seal *et al.*, 1992; Doane 1977; Salt y Hollick, 1946, la distribución espacial de las larvas en el suelo sería de tipo agregado con alta probabilidad de ajustarse a la distribución Binomial Negativa cuando las larvas están en sus primeros estadios de desarrollo. Mientras que cuando son estadios más avanzados, que es cuando se convierten en perjudiciales para los cultivos, se acercaría a una distribución de tipo aleatoria, con ajuste a la distribución de Poisson.

4.5. DAÑOS EN TUBÉRCULO DE PATATA Y SU CONTROL

4.5.1. Período de ataque

Seal y Chalfant, (1994) observaron que la mayoría de las larvas encontradas en campos cultivados de patata se encontraron en las 2-4 semanas antes de la recolección y que el ataque de las larvas aumentaba según avanza la estación. También Toba y Turner (1979) y Kuhar y Alvarez (2007) encontraron que la mayoría de los daños se producían al final del cultivo. Estos mismos resultados se han obtenido en nuestro trabajo, en el que en las últimas 4 semanas de cultivo el ataque aumentó un 34% (3.5.1). Los movimientos verticales de las larvas en el suelo explican este fenómeno. Fisher *et al.*, (1975) observó el movimiento estacional larvario en el que las larvas en primavera ascienden a la superficie para alimentarse pero profundizan en verano para evitar las altas temperaturas y baja humedad y vuelven a ascender al disminuir las temperaturas.

Si cotejamos esto con el ciclo de vida en cajas al aire libre (figura 45), vemos que son las larvas de 2º año las que producen el daño en tubérculo de patata en otoño. En otros cultivos de siembra primaveral, en los que los daños se producen en nascencia, como la remolacha o el maíz, las larvas de tercer año pueden estar también implicadas.

Por ello cuando se detecta en una parcela ya sembrada una población larvaria alta, es conveniente adelantar la cosecha para evitar el periodo de ataque más fuerte, ya que este va aumentando desde finales de verano a principios de otoño.

4.5.2. Correlación larvas-daños

Los resultados de correlación de larvas capturadas en primavera, con daños finales al cultivo son muy variables. De los 7 campos de ensayo donde se han correlacionado los datos, solo en 4 se alcanza la significación estadística.

Samson y Calder, (2003) trataron de relacionar captura de larvas en trampas y daños al cultivo en caña de azúcar y no lograron datos concluyentes: en 1995, en la localidad de Bundaberg (Australia) encontraron correlación positiva entre daños al cultivo y capturas de larvas en trampas cebo antes del cultivo. Sin embargo no se correlacionaron los daños con las capturas en 1996, ni en 1995 ni en 1996 en Mackay a 525 km. de Bundaberg. Aquí se registraron daños en una parcela donde no se había capturado ninguna larva en trampas cebo. Este estudio concluyó que para el desarrollo de un sistema eficaz de monitoreo de larvas es necesaria una inversión muy alta en investigación, que puede no estar justificada en cultivos como el caso de la caña de azúcar en Australia.

Así mismo Parker (1994, 1996), dedujo que no se puede observar una clara relación entre las capturas de las trampas y un subsiguiente daño en patata. Los cebos sólo pueden ser usados como indicadores de la presencia de infestación. Existen muchos factores que influyen en el nivel de daño del gusano de alambre, como son la edad de la población (las larvas de mayor edad son los que más daños producen), su actividad en el suelo (los gusanos de alambre pueden cesar su alimentación durante largos periodos; Furlan, 2004), la temperatura y humedad del suelo (Evans, 1944), el momento de recolección (Anónimo, 1948), la especie de cultivo, su variedad, etc. De hecho Parker (1996), en un ensayo realizado en una pradera antigua con una población inicial alta, encontró que las capturas de los cebos no eran elevadas. Esto podría ser debido a que el prado era un pasto viejo, con una estructura densa, lo que hace que el movimiento a través de ella sea más difícil, o a la elevada disponibilidad de fuentes de alimentación alternativas a los cebos.

Munson *et al.*, (1986) consideran que utilizando trampas cebo de maíz y trigo el umbral económico de daño es una larva por trampa cebo. Para un programa de control integrado, Simmons *et al.*, (1998) establecen una densidad de 10 trampas por hectárea, colocadas en primavera y mantenidas durante una semana. En nuestros ensayos, con una larva por trampa-cebo, el grado de ataque puede ir de 4.7 al 57.5 según campos.

Nuestros datos se han basado en parcelas con conocida infestación previa por lo que en todos los casos se han registrado ataques. Con nuestros resultados (3.5.2) podemos decir que este método, sirve para determinar la presencia o ausencia de gusano de alambre pero no para predecir el grado de ataque de un modo general para la Llanada Alavesa. Queda por ver si la diferente relación daños/larvas encontrada para cada campo es característica de éste, o bien es puramente aleatoria. Si fuera característica de un campo dado, cabría la posibilidad de establecer curvas daños/larvas para cada uno de ellos.

A la vista del ciclo de vida que se deduce de los experimentos en cajas al aire libre (figura 45) hay que hacer una reconsideración fundamental del muestreo de larvas como método predictivo del daño en tubérculo de patata. Puesto que las larvas que producen el daño son las de 2º año, con longitudes de 15-20 mm, el muestreo previo a la plantación debe centrarse en éstas, que en primavera miden de 3 a 7 mm, desechando las larvas grandes de 15 mm o más (de tercer año) que puparán en el transcurso del verano. Todos los estudios sobre correlación de trampas-daños utilizan larvas de todos los estadios para las predicciones de daños al cultivo por lo que dependiendo del ciclo de vida de cada localidad habría que determinar el estadio larvario a tener en cuenta en las capturas. En nuestro caso la variabilidad de los resultados pueden deberse a que las larvas contabilizadas en las capturas iban desde longitudes de 3 mm hasta 21mm.

4.5.3. Control químico en campo

Con la prohibición del uso del lindano (Decisión de la Comisión de 20 de diciembre de 2000 relativa a la no inclusión del lindano en el anexo I de la Directiva 91/414/CEE del Consejo y a la retirada de las autorizaciones de los productos fitosanitarios que contengan esta sustancia activa en la Unión Europea) los agricultores han perdido el recurso más utilizado y efectivo para controlar el daño de gusano de alambre. En este trabajo se han realizado ensayos para identificar insecticidas que controlen de manera aceptable la plaga. Las dificultades para controlarla no han de ser subestimadas. Por una parte las larvas de gusano de alambre no están siempre en la superficie del suelo, por ello los insecticidas, para que sean efectivos, han de ser enterrados (Thomas *et al.*, 1982) y por otra, el daño en el cultivo de la patata se produce a final de ciclo (Toba y Turner, 1979) siendo por ello necesaria la utilización de insecticidas persistentes, cada vez más difíciles de autorizar. Además de todas estas dificultades para el control químico de esta plaga, hay que tener en cuenta que muchos ensayos para evaluación de materias activas efectivas tienen resultados no significativos (Munyanza, 2001; Sewell, 2004) por las dificultades de muestreo para encontrar zonas con alta población larvaria.

Nuestros resultados (3.5.3.1) sugieren que organofosforados como etoprofos controlan bien la plaga, mientras que los carbamatos utilizados, como carbofurano y carbosulfan, aunque reducen la población, no llegan a controlar la plaga por debajo del umbral exigido por el mercado. Estos resultados coinciden con los estudios realizados en otros países donde, en general, los carbamatos son menos eficaces que los organofosforados (Parker y Howard, 2001). Hancock *et al.*, (1986) afirman que, aunque algunos productos, incluidos organofosforados y carbamatos, reducen significativamente el ataque, en general no llegan al control alcanzado por los organoclorados.

Por otra parte, los resultados obtenidos con un fenilpirazol, fipronil, han sido muy interesantes ya que el control que ejerce está por encima del nivel exigido por el mercado. Esta materia activa ha presentado una elevada eficacia en diversos ensayos (Shamiyeh *et al.*, 1999; Furlan y Toffanin, 1998). Además la forma de utilización, en línea, permite usar dosis muy bajas. Este producto ha sido muy discutido en Francia por su toxicidad sobre abejas. En el momento de iniciar esta tesis estaba en proceso de registro y actualmente ha sido reclasificado y solo va a tener registro para tratamiento a semilla.

Entre los productos ensayados se encuentra una nitroguanidina, thiamethoxam, que ha presentado unos resultados variables durante los 3 años de ensayo, por lo que no son concluyentes. Este producto se ha utilizado contra gusano de alambre para control en remolacha y maíz obteniendo muy buenos resultados (Maienfisch *et al.*, 2001). Esto puede deberse al momento en que se produce el ataque ya que en estos cultivos donde el ataque se produce en nascencia la persistencia no ha de ser alta mientras que en patata la materia activa ha de ser más persistente.

El año 2002 se ensayó un producto ecológico, aceite de neem, siendo el control nulo. Este producto fue evaluado también en Italia, en 1996, por Furlan y Toffani dando similar resultado. Esto contrasta con ensayos realizados por Védie *et al.*, (2002) que dieron como resultado una reducción en el ataque por gusanos de alambre (*A. sordidus*), siendo más evidente la toxicidad en huevos y en larvas de primeros estadios.

Cuando el nivel de población larvaria no se considera elevado hay que desestimar los tratamientos preventivos ya que son innecesarios y deben ser prohibidos por los graves problemas de contaminación que traen consigo (Klienschmidt y Prill, 2001); sin embargo, hemos dejado claro en el apartado anterior lo difíciles que son las predicciones.

Por otra parte, estudios llevados a cabo en Holanda por Ester y Klaas van Rozen (2005) enfocan el control de la plaga sobre un estadio diferente al larvario. Localizan y cuantifican mediante trampas de feromona los adultos y realizan fumigaciones con piretrinas (deltametrina o lambda cialotrina) cuando las capturas son elevadas. Evidentemente, su efecto se observaría en una disminución de la población larvaria en campañas subsiguientes. Para esto es también importante el conocimiento del ciclo de vida: de acuerdo con nuestros resultados, el primer pico de actividad de adultos se dio en abril-mayo en 2002 y 2003 (en mayo-junio en 2004). Los adultos llevados al laboratorio en 2003 ovipositaron entre principios de mayo y principios de junio, lo que nos da la ventana temporal en la que los insecticidas podrían matar los insectos antes de que se reproduzcan. Por otro lado, hemos visto que *Agriotes sordidus* no vuela en nuestras condiciones, por lo que los piretroides deberían alcanzar los elatéridos adultos en la

superficie del suelo. Esto puede ser difícil en un cultivo de patata, que cierra el manto con mucha rapidez.

4.5.4 Control cultural

4.5.4.1. Cultivo trampa

En nuestro trabajo se han utilizado tres insecticidas convencionales y cuatro ecológicos con trigo tratado como cebo: imidacloprid, tiametoxam y fipronil y, en ecológico, *Quassia amara*, neem, rotenona y nicotina. Esta manera de aplicar el insecticida está a medio camino entre el control químico y el cultural

Los resultados con tiametoxam no son satisfactorios, ya que no se produce ninguna reducción del daño. Por el contrario los cebos tratados con fipronil tienen una eficacia muy alta equiparable al mejor organofosforado, resultados que coinciden con los obtenidos por Chaton *et al.*, (2007). Con imidacloprid los resultados son similares a los de Rose y Oades (2001), se reduce el ataque pero no se alcanza el umbral permitido por el mercado. Esto se puede deber según Furlan, (1998) a la recuperación de las larvas tras el tratamiento. Este investigador observó en ensayos de eficacia de imidacloprid y fipronil en ambiente controlado con semillas de maíz, que a pesar de que los tratamientos con imidacloprid eran efectivos, las larvas se recuperaban tras el ensayo, mientras que con fipronil la efectividad era similar pero las larvas morían.

En los productos ecológicos se observa una disminución en el grado de ataque en las parcelas en las que se aplicó trigo tratado con nicotina y rotenona (no significativas) y, sobre todo, con *Quassia amara*. Esta última reduce el ataque hasta un 7.4% (la mitad que el testigo) y teniendo en cuenta el límite tolerable para la comercialización en agricultura convencional es 2-3 %, es un resultado esperanzador. A la luz de estos resultados resultaría interesante la realización de un estudio más detallado donde se puedan ajustar las dosis tanto de cebos como la dosis para el tratamiento a las semillas de trigo de los diferentes productos.

Vernon *et al.*, (2000) estudiaron el efecto de un cultivo trampa en la reducción del ataque de gusano de alambre al cultivo de la fresa, en Canadá. En su trabajo observó la agregación de larvas en líneas de trigo sin tratar, como cultivo trampa, intercaladas con las líneas de fresa. También afirmó que cualquier variedad de trigo, avena, cebada o centeno son significativamente igual de eficaces a la hora de utilizarlos como cebo para atraer a las larvas de *A. obscurus*.

El cultivo trampa aunque es muy efectivo tiene varios inconvenientes. La temperatura es un factor limitante ya que las larvas no se mueven activamente hacia una fuente de alimento con

temperaturas inferiores a 9°C y por otro lado, Vernon *et al.*, (2000) observaron que en invierno las larvas profundizan en el suelo, con lo que disminuye la capacidad atractiva de los cebos siendo en primavera cuando la mayoría de las larvas están cerca de la superficie (en los 10 primeros cm) por lo que los cultivos trampa son más efectivos en estas fechas. De la misma manera Keiser *et al.*, (2005) afirmaron que cuando el trigo tratado se sembraba en noviembre el control disminuía significativamente. Esto obliga a realizar esta práctica cultural lo más inmediatamente anterior posible a la plantación de la patata.

Recientemente Van Herk y Vernon (2008), en estudios con semillas tratadas con tefluthrin han observado que la recuperación de las larvas era proporcional a la temperatura y al peso de la larva por lo que al menos con este insecticida la efectividad de este método se vería limitada.

Keiser *et al.*, (2005) realizaron ensayos con patatas sembradas después de trigo de invierno tratado con insecticida, advirtiendo una clara reducción en el grado de ataque. Sin embargo observó que este efecto de reducción del grado de ataque, era muy dependiente de la posición en la rotación. Si el trigo tratado se siembra después de pradera, el efecto no es suficiente para reducir el grado de ataque en el cultivo de la patata. Esto se puede explicar porque las larvas se alimenten de la materia orgánica enterrada que queda después de levantar una pradera y no se vean atraídas por el trigo tratado ya que existe una fuente alternativa de alimento. Según esto, para que sean efectivos en el momento de su colocación, la parcela ha de estar limpia para asegurarnos de que las larvas no tienen otras fuentes de alimento y van a ser exclusivamente atraídas por el trigo tratado.

Por otro lado, el método de cebos tratados requiere algunas adaptaciones en las labores de preparación del terreno, para evitar dar más pases de los necesarios con el tractor. A la hora de acaballonar se realizaría la siembra de los cebos. Para ello, sería conveniente acoplar al acaballonador una sembradora con una rejilla que entierre el trigo para favorecer su germinación.

4.5.4.2. Riego

En nuestro estudio el aumento de la dosis de riego a final de ciclo para mantener el terreno húmedo hasta la cosecha, sí redujo el ataque con respecto al testigo, pero no lo suficiente como para aplicarlo como única técnica de control, sino como apoyo (3.5.4.1).

Estudios realizados en Florida sobre la incidencia de las larvas en relación a la humedad del suelo, revelan que la actividad de las larvas difiere a distinto grado de humedad, aumentando el ataque del gusano de alambre al disminuir la humedad (Jansson y Seal, 1994). Estos autores

también observaron que en terrenos muy húmedos (40-45 %) la capacidad locomotora de las larvas disminuía notablemente. Considerando que las larvas pueden moverse lateralmente 120 cm en 5 semanas, con suelos muy húmedos solo alcanzan 30 cm.

También Lees (1943), observó que la actividad alimenticia aumentaba significativamente cuando bajaba la humedad del terreno. Según sus estudios, esto se debe a que cuando las larvas están expuestas a niveles muy altos de humedad, por una parte disminuyen su actividad locomotora y por otra se observa un efecto inhibitorio de la actividad muscular.

4.5.4.3. Barbecho

Al igual que los resultados obtenidos por Jansson y Lecrone (1991), el barbecho libre de malas hierbas conservado mecánicamente ha resultado un método eficaz en el control del gusano de alambre, obteniéndose en nuestro estudio una reducción muy significativa de la población larvaria después de un año (3.5.3.2.).

Otros investigadores han encontrado igualmente que la población tiende a ser mayor en parcelas con abundancia de malas hierbas y cultivar después de barbecho reduce significativamente el ataque (Seal *et al.*, 1992 a).

Furlan (2004) afirma que las larvas aumentan su resistencia a la inanición conforme alcanzan estadios más avanzados. En condiciones de laboratorio, en el primer estadio necesitan alimentarse de material vegetal vivo antes de 40 días, pero en estadios avanzados llegan a resistir hasta 12 meses a 20°C. De acuerdo con esto con un barbecho libre de malas hierbas se pueden controlar las larvas de primeros estadios, reduciendo la población para próximos años.

Vernon (2005) sugiere la posibilidad de la utilización de cebos trampa en las parcelas en barbecho para reducir el ataque en cultivos susceptibles posteriores.

El barbecho limpio por medios mecánicos provoca la interrupción del ciclo de vida. Esto añadido a la eliminación de fuentes de alimento, en un insecto con capacidad de dispersión limitada en su fase larvaria, es uno de los métodos más baratos y eficaces contra esta plaga.

4.5.5. Control biológico

Metarhizium anisopliae

A pesar de no haber estudios en profundidad sobre el control de gusano de alambre mediante *Metarhizium anisopliae* (Parker y Howard, 2001), en los últimos años cada vez hay más citas sobre observaciones de larvas inoculadas con el hongo y estudios sobre sus efectos.

Nuestro estudio puede considerarse preliminar, ya que se realizó con una sola dosis de hongo. En laboratorio con trigo inoculado con micelio, la mortalidad de las larvas fue relativamente lenta, 70 días. Teniendo en cuenta que el cultivo de la patata permanece en el terreno de 70 a 120 días y que el mayor ataque se produce en el último mes (4.5.1), las variedades de tuberización temprana podrían tener problemas. Esto coincide con los resultados obtenidos por Jossi *et al.*, (2008) ya que no han encontrado una cepa capaz de reducir la población en un corto espacio de tiempo. Estos resultados podrían estar afectados por el hecho de haber utilizado larvas colectadas en campo y no larvas criadas en el laboratorio, pues se conoce que la edad, la dieta y el estado fisiológico de algunos coleópteros pueden determinar su susceptibilidad a la contaminación por hongos (Ferron, 1975).

A pesar de los buenos resultados obtenidos en el control de larvas en laboratorio los resultados obtenidos en campo con cebos de trigo inoculados con el hongo no fueron significativos. Esto se puede deber a las bajas temperaturas del suelo cuando se realizó el ensayo, ya que la siembra del trigo inoculado se realizó en mayo, cuando las temperaturas del suelo no sobrepasan los 10-15°C. Según Glare *et al.*, (1994) el hongo disminuye su poder de infección a temperaturas por debajo de los 15 °C. Además Kabaluk y Ericsson (2007), apuntan que factores como la temperatura, el tiempo de exposición al hongo y las alternativas alimenticias afectan a los ratios de mortalidad de las larvas.

Recientemente, Ericsson *et al.*, (2007) han demostrado que la utilización en laboratorio de *M. anisopliae* combinado con Spinosad, tiene un efecto sinérgico en el control larvario. Esto puede abrir una línea de estudio para la reducción en la dosis de insecticidas al utilizarlos en combinación con *M. anisopliae*. Kabaluk *et al.*, (2007), utilizando otro método, sin emplear cebos sino aplicado directamente conidias y mezclándolas con el suelo han obtenido una alta mortalidad larvaria.

4.6. HACIA UN CONTROL INTEGRADO

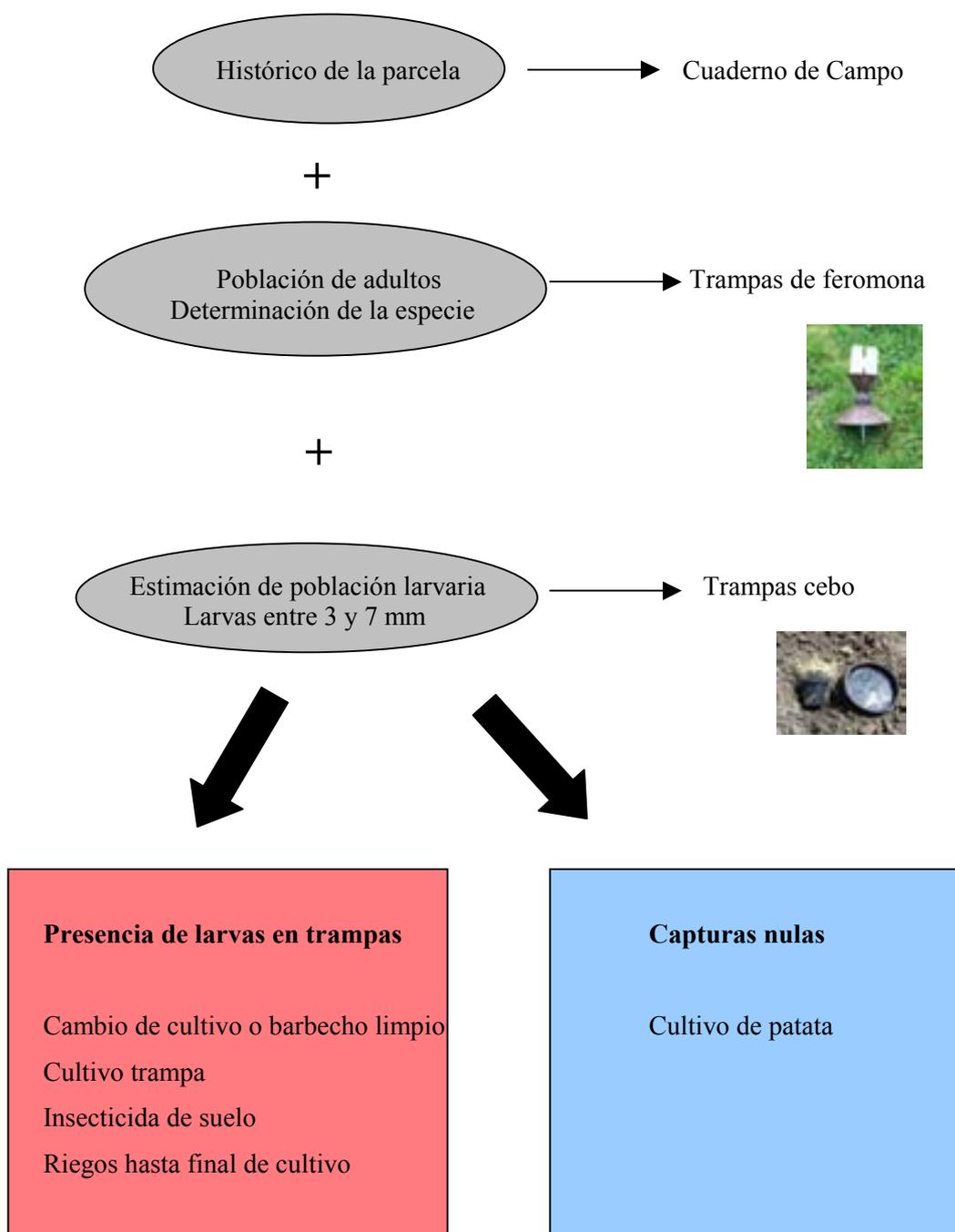
Las actuales tendencias hacia un mayor cuidado tanto hacia el medio ambiente como hacia el agricultor y al consumidor, unido al hecho de que el control de esta plaga se hace cada vez más difícil por la falta de materias activas eficaces, hacen que el avance en nuevas estrategias de control sea de gran importancia.

Hay muchos métodos para la reducción o prevención de los daños causados por esta plaga aunque cada uno de estos métodos por sí solo no es efectivo.

La utilización de trampas cebo para la captura de larvas y de feromona para la captura de adultos en la detección de la plaga, la recopilación de información sobre el daño a cultivos precedentes, la utilización de cultivos trampa, los barbechos y el riego al final del cultivo son algunos de ellos. Actualmente se están estudiando otras formas alternativas como la utilización de hongos entomopatógenos o la fumigación de adultos.

Para obtener un control eficaz además de conocer la biología de las especies de cada zona, hay que integrar los diferentes métodos de la manera adecuada en cada caso.

Proponemos este esquema:



5. CONCLUSIONES

De los resultados presentados y discutidos se desprenden las siguientes conclusiones:

1. Las especies del género *Agriotes* presentes en la Llanada Alavesa en el cultivo de la patata son *Agriotes sordidus* y *Agriotes lineatus*, constituyendo esta última el 10.3% del total de adultos del género *Agriotes* encontrados.
2. En promedio, morfológicamente las hembras de *A. sordidus* son mayores que los machos. También existe un 2.2 % de individuos de élitros rojos.
3. La duración del ciclo de desarrollo de *Agriotes sordidus* es de tres años. Solo durante el segundo año del ciclo de desarrollo constituye una plaga para el cultivo de patata. Para cultivos donde el ataque se produce en nascencia, como remolacha, cereal y maíz, las larvas pueden producir daños durante el segundo y tercer año de desarrollo.
4. La utilización de trampas de feromona para la detección y la determinación de la abundancia de especies plaga presentes en la Llanada, resulta un sistema eficaz y de fácil utilización, complementario al muestreo de larvas.
5. No se ha constatado vuelo en adultos de *A. sordidus*. La actividad de los adultos en la superficie del suelo presenta un ciclo bimodal.
6. La distribución horizontal de larvas, con longitudes comprendidas entre 5 y 22 mm, es levemente agregada. Toma un valor de $k= 0.51$ en la distribución binomial negativa.
7. La trampa cebo de maíz y trigo, es un sistema más eficiente que el muestreo de suelo para la cuantificación de larvas antes de la implantación del cultivo.
8. El método de trampas cebo sirve para determinar la presencia o ausencia de gusano de alambre pero no para predecir el grado de ataque en patata. Es necesario modificar el método adaptándolo al ciclo de vida de la especie plaga. Para *Agriotes sordidus* con un ciclo de vida de 24 meses se han de descartar larvas mayores de 5 mm que van a pupar antes de producir daños.
9. Actualmente hay muy pocos productos registrados eficaces contra gusano de alambre. Etoprofos es el único por el momento que controla la plaga.

10. Los métodos culturales como el barbecho limpio de malas hierbas y el riego hasta final del cultivo son sistemas a tener en cuenta a la hora de realizar un manejo integrado de la plaga.
11. El sistema de cultivo trampa con cebos de trigo tratado con fipronil consigue controlar la plaga en el umbral exigido por el mercado y reduciendo la materia activa utilizada en un 58%.
12. La utilización de *Metarhizium anisopliae* en laboratorio ha obtenido resultados prometedores en la mortalidad de larvas, obteniéndose un 96.3% de larvas muertas por micosis.

6. BIBLIOGRAFÍA

- Adams, B.J., Nguyen, K.B., 2002. Taxonomy and systematics. En: *Entomopathogenic nematology*. Ed. Randy Guagler. pp 1-33. CABI Publishing. Wallingford, U.K.
- Alcázar, J., 2000. Componentes de manejo del Gorgojo de los Andes en Perú. Curso Internacional de MIP en papa. CIP. Módulo II.
- Anónimo, 1948. Wireworms and Food Production. A Wireworm Survey of England and Wales (1939-42). Maff Bulletin N°. 128. Ministry of Agriculture, Fisheries and Food, HMSO, London.
- Anglade, P., Missonnier, J., 1974. Biologie de la scutigérelle (*Scutigera immaculata* Newport) et des taupins (*Agriotes* sp.). En Anónimo, 1974: 44-45.
- Apablaza, J.U., Keaster, A.J., Ward R.H., 1977. Orientation of corn-infesting species of wireworms towards baits in the laboratory. *Environmental Entomology*, 6: 715-718.
- Arnett, R.H., 1985. *American insects: A Handbook of the insectis of America north of Mexico*. Van Nostrand Reinhold. New York. 850pp.
- Asso del Río, I., 1784. *Introductio in Oryctographian, et Zoologiam Aragoniae: Accedit Enumeratio stirpium in eadem Regione noviter detectarum*. Amsterdam. 192 pp., láms I-VII.
- Balachowsky, A., Mesnil, L., 1935. *Les insectes nuisibles aux plantes cultivées. Leurs moeurs, leur destruction*. Vol.1. Busson. Paris. 1137 pp.
- Bedding, R.A., R.J Akhurst., 1975. A simple technique for the detection of insect parasitic rhabditid nemadodes in soil. *Nematologica*, 21: 109-110.
- Begg, J.A., 1957. Observations on the life history of the eastern field wireworm, *Limonius ahonus* (Say), under laboratory conditions. *Annual Report of the Entomological Society of Ontario*, 87: 7-11
- Bevan, W.J., Bryden, J.W., 1956. The control of wireworms in potatoes by aldrin. *Plant Pathology*, 5: 9-11.
- Binaghi, G., 1942. Importanza agraria dell' *Agriotes litigiosus* Rosi. *Estratto dalle memorie della società entomologica Italiana*, XXI: 165-186.
- Blackshaw, R.P., Vernon, R.S., 2006. Spatiotemporal stability of two beetle populations in non-farmed habitats in an agricultural landscape. *Journal of Applied Ecology*, 43: 680-689.
- Blackshaw, R.P., Vernon, R.S., 2008. Spatial relationships between two *Agriotes* click-beetle species and wireworms in agricultural fields. *Agricultural and Forest Entomology* 10: 1-11.
- Blaser, M., Keiser, A., Keller, S., 2004. Entomopathogenic soil fungus in Swiss potato fields. *Agrarforschung*, 11(3): 92-97.
- Blot, Y., Brunel, E., 1995. Consequences de trois types de traitements chimiques, en plein, en localise et en traitement de semences, sur les taux de reduction des populations larvaires de taupins (*Agriotes* sp.) en culture de maïs. *Mededelingen van de Faculteit Landbouwwetenschappen Rijksuniversiteit Gent* 60: 945-951.

- Blot, Y., Brunel, E., Courbon, R., 1999. Enquete sue l'infestation de parcelles de ble at de maýs par les larves des taupins des genres *Agriotes* et *Athous* dans l'ouest de la France (Coleopteres: Elaterides). *Annales de la Societe Entomologique de France*, 35: 453-457.
- Bonnemaison, L., 1962. Familille des Elateridae, En: *Les Ennemis Animaux des Plantes Cultivées et des Forêts*, SEP, Paris 33-43.
- Borek, V., Elberson, L.R., McCaffrey, J.P., Morra, M.J., 1997. Toxicity of rapeseed meal and methyl isothiocyanate to larvae of the black vine weevil (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of Economic Entomology*, 90: 109-112.
- Borg-Karlson, A.K., Agren, L., Dobson, H., Bergström, G., 1988. Identification and electroantennographic activity of sex-specific geranyl esters in an abdominal gland of female *Agriotes obscurus* (L.) and *A. lineatus* (L.) (Coleoptera: Elateridae). *Experientia*, 44: 531-534.
- Brett, C.H., Jones, G.D., Mount, D.A., Rudder, J.D., 1966. Wireworms in sweet potatoes; resistance to cyclodiene insecticides and control with a midsummer application of insecticide over foliage. *Journal of Economic Entomology*, 59: 99-102.
- Brown, E.A., Keaster, A.J., 1986. Activity and dispersal of adult *Melanotus depressus* (Melsheimer) and *Melanotus verberans* (LeConte) (Coleoptera: Elateridae) in Missouri cornfield. *Journal of the Kansas Entomological Society*, 59: 127-132.
- Brydon, H. W., Fuller, G., 1966. A portable apparatus for separating fly larvae from poultry droppings. *Journal of Economic Entomology*, 59: 448-452.
- Bynum, F.D., Archer, T.I., 1987 Wireworm (Coleoptera: Elateridae) sampling for semiarid cropping systems. *Journal of Economic Entomology*, 80: 164-168.
- Campbell, R.E., 1937. Temperature and moisture preferences of wireworms. *Ecology*, 18: 478-489.
- Capy, P., David, J.R., Robertson, A., 1988. Thoracic trident pigmentation in natural populations of *Drosophila simulans*: a comparison with *D.melanogaster*. *Heredity*, 61: 263-268.
- Chabert, A., 1994. Importance relative des ravageurs souterrains en grandes cultures. Résultats de l'enquête d'un groupe de travail. *Phytoma*, 461: 20-24.
- Chabert, A., Blot, Y., 1992. Estimation des populations larvaires de taupins par un piège attractif. *Phytoma. La défense des végétaux*, 438: 26-28.
- Chalfant, R.B., Hall, M., Seal, D.R., 1989. Insecticidal control of soil insects of sweetpotatoes in the Georgia Coastal Plain. *Applied Agricultural Research*, 2: 152-157.
- Chaton, P.F. Lempérière, M., Tissut, P.R., 2007. Biological traits and feeding capacity of *Agriotes* larvae (Coleoptera : Elateridae) : A trial of seed coating to control larval populations with the insecticide fipronil. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 90: 97-105.
- Chauvet, P., 1994. *Aide-Memoire de Géostatistique Minière*, École des mines de Paris, France 210 p.
- Cherry, R.H., Alvarez, J., 1995. Effect of time of bait exposure on number of Wireworms (Coleoptera: Elateridae) found at baits. *Florida Entomologist*, 78: 549-553.

- Cherry, R.H., Stansly P., 2008. Abundance and spatial distribution of wireworms (Coleoptera: Elateridae) in Florida sugarcane fields on muck versus sandy soils. *Florida Entomologist*, 91: 383-387.
- Chiang, H.C., Hodson, A.C., 1959. Distribución of the first generation egg masses of the European corn borer in corn fields. *Journal of Economic Entomology*, 52: 295-299.
- Cockbill, G.F., Henderson, V.E., Ross, D.M., Stapley, J.H., 1945. Wireworm populations in relation to crop production. I. A large scale flotation method for extracting wireworms from soil samples and results from a survey of 600 fields. *Annals of Applied Biology*, 32: 148-163.
- Colliot, F., Kukorowski, K.A., Hawkins, D.W., Roberts, D.A., 1992. Fipronil, a new soil and foliar broad spectrum insecticide. *Brighton Crop Prot. Conf. Pest and Dis*, 29-34.
- Compte, A., Caminero, M., 1982. Las comunidades de coleópteros xilófagos de las encinas de los alrededores de Madrid. *Graellsia*. 38: 201-217.
- Courbon, R. 1992. Potentialités de L'Imidacloprid. *Phytoma France*, 441: 25-27.
- D'Aguilar, J., 1961. *Recherches sur L'Éthologie des imagos d'Agriotes (Col. Elateridae)*. Memoria de Tesis doctoral. Facultad de Ciencias de la Universidad de París.
- Dajoz, R., 1990. Coléoptères et Diptères du Pin à crochets dans les Pyrénées-Orientale. Etude biogéographique et écologique. *L'Entomologiste*, 46(6): 253.
- David, J.R., Capy Gauthier, J.P., 1990. Abdominal pigmentation ad growth temperature in *Drosophila melanogaster*: similarities and differences in the norms of reaction of successive segments. *Journal of Evolutionary Biology*, 3: 429-445.
- De Liñán Vicente, C., 1998. *Entomología Agroforestal: Insectos y ácaros que dañan montes, cultivos y jardines*. Ed. Agrotécnicas, S.L. Madrid, pp 1020-1025.
- Dempster, A.P., Laird, N.M., Rubin, D.B., 1977. Maximum likelihood from incomplete data via the em algorithm. *Journal of the Royal Statistical Society: Series B*, 39(1):1-8
- Doane, J.F., 1977. Spatial pattern and density of *Ctenicera destructor* and *Hypolithus bicolor* (Coleoptera: Elateridae) in soil in spring wheat. *Canadian Entomologist*, 109: 807- 822.
- Doane, J.F., 1981. Evaluation of a larval trap and baits for monitoring the seasonal activity of wireworms in Saskatchewan. *Environmental Entomology*, 10(3): 335-342.
- Doane, J.F., Klingler J., 1978. Location of CO₂-receptive sensilla on larvae of the wireworms *Agriotes lineatus-obscurus* and *Limonius californicus*. *Annals of the Entomological Society of America*, 71(3): 357-363.
- Doane, J.F., Lee, Y.W., Klingler J., Westcott N.D., 1975. The orientation response of *Ctenicera destructor* and other wireworms (Coleoptera: Elateridae) to germinating grain and to carbon dioxide. *Canadian Entomologist*, 107: 1233-1252.
- Dobrovsky, T.M., 1954. Laboratory observations on *Conoderus vagus* Candeze. *Florida Entomologist*, 7: 123-131.

- Domínguez García Tejero, F., 1948. Los gusanos de alambre, Elatéridos de interés Agrícola. *Boletín de Patología Vegetal y Entomología Agrícola* 16: 119-156.
- Duncan, D.W., 1955. Multiple range and multiple *F* tests. *Biometrika*. 11: 1-42.
- Ecobichon DJ. 1997. *Anticholinesterase insecticides*. Slipes IG, McQueen CA, Gandolfi AJ, eds. *Comprehensive Toxicology*. Oxford: Elsevier Science, 447-456.
- Eidt, D.C., Thurston G.S., 1995. Physical deterrents to infection by entomopathogenic nematodes in wireworms (Coleoptera: Elateridae) and other soil insects. *Canadian Entomology*, 127(3): 423-429.
- Elberson, L.R., Borek, V., McCaffrey, J.P., Morra, M.J., 1996. Toxicity of rapeseed meal-amended soil to wireworms *Limonius californicus* (Coleoptera: Elateridae). *Journal of Agricultural Entomology*, 13: 323-330.
- Erichsen, J.R., 1944. The Elaterid population of midth and west Wales. *Proceedings of the Zoological Society*, 114: 350-359.
- Ericsson, J.D., Kabaluk, J.T., Goettel M.S., Myers J.H., 2007. Spinosad interacts synergistically with the insect pathogen *Metarhizium anisopliae* against the exotic wireworms *Agriotes lineatus* y *Agriotes obscurus* (Coleoptera: Elateridae). *Journal of Economic Entomology*, 100: 31-38.
- Eschscholtz, J.F., 1829. Eintheilung der Elateriden in Gattungen. *Thon, Entomologisches Archiv*, 2: 31-35.
- Ester, A., van Rozen, K., 2005. Monitoring and control of *Agriotes lineatus* and *A. obscurus* in arable crops in the Netherlands. *IOBC/wprs Bulletin* vol 28(2): 81-85.
- Ester, A., van Rozen, K., Griepink, F., 2004. Tackling wireworms in a new way. *International Pest Control*, 80-81.
- Evans, A.C., 1944. Observations on the biology on the physiology of wireworms of the genus *Agriotes* Esch. *Annals of Applied Biology*, 31: 235-250.
- Evans, A.C., Gough, H.C., 1942. Observations on some factors influencing growth in wireworms of the genus *Agriotes* Esch. *Annals of Applied Biology*, 29: 168-175.
- F.A.O., 2009. Anuario F.A.O. de producción. Disponible en Internet: <http://www.fao.org>
- Fauna Europaea Web Service (2004) Fauna Europaea version 1.1, Disponible en Internet: <http://www.faunaeur.org>
- Fairchild, M.L., Ortman, E. E., 1976. Bionomics and management of soil arthropods pests. Environmental Protection Agency E2. A. Grant No. R802547. *Third Annual Report*, 241-255.
- Fenemore, P.H., 1980. Susceptibility of potato cultivars to potato tuber moth, *Phthorimaea operculella* Zell (Lepidoptera: Gelechiidae). *Agricultural Research*, 23: 539-546.
- Ferro, D., Boiteau, G., 1993. *Management of insect pests*. Capítulo 12: 103-115. En: Rowe, R. C. ed., *Potato health management*. Plant Health Management Series. The American Phytopathological Society, Minnesota. 178 p.

- Ferron, P., 1975. Virulence of Entomopathogenic fungi (Fung imperfecti) for the adults of *Acanthoscelides obtectus* (Coleoptera: Bruchidae). *Journal of Invertebrate Pathology*, 25: 379-388.
- Fiorillo, A., Roupshael, Y., Cardarelli, M., Saccardo, F., Colla, G., Cirica, B., 2005. Yield and disease tolerance of potato cultivars grown under conventional and organic cultural management practices. *Acta Horticulturae*, 684: 79-83.
- Fisher, J.R., Keaster, A.J., Fairchild, M. L., 1975. Seasonal vertical movement of wireworm larvae in Missouri: influence of soil temperature on the genera *Melanotus* Escholtz and *Conoderus* Escholtz. *Annals of the Entomological Society of America*, 68: 1071-1073.
- Fox, C.J.S., MacLellan, C.R., 1956. Some Carabidae and Staphylinidae shown to feed on a wireworm, *Agriotes sputator* (L.), by the predipitin test. *Canadian Entomologist*, 88: 228-231.
- French, N., White, I.H., 1965. Observations on wireworm populations causing damage to ware potatoes. *Plant Pathology*, 14: 41-43.
- Furlan, L., 1996. The biology of *Agriotes ustulatus* Schaller (Col., Elateridae). I. Adults and oviposition. *Journal of Applied Biology*, 120: 269-274.
- Furlan, L., 1998. The biology of *Agriotes ustulatus* Schaller (Col., Elateridae). II. Larval development, pupation, whole cycle description and practical implications. *Journal Applied Entomology*, 122: 71-78.
- Furlan, L. 2004. The biology of *Agriotes sordidus* Illiger (Col., Elateridae). *Journal of Applied Entomology*, 128: 696-706.
- Furlan, L., Burgio, G., 1999. Distribuzione spaziale e campionamento di *Agriotes ustulatus* Schaller, *A. brevis* Candèze, *A. sordidus* Illiger (Coleoptera: Elateridae) in Nord Italia. *Boll. Ist. Ent.*, 53:29-38.
- Furlan, L., Curto, G., Ferrari, R., Boriani, L., Bourlot, G., Turchi, A., 2000. Le specie di Elateridini dannose alle colture agrarie nella Pianura Padana. *Informatore Fitopatologico*, 5: 53-59.
- Furlan, L., Garofalo, N., Toth, M., 2004. Comparative biology of *Agriotes sordidus* Illiger in Northern and Central-Southern Itali. *Informatore Fitopatologico*, 54: 32-37.
- Furlan, L., Talon, G., Toffanin, F., 1992. Valutazione, in condizioni controllate, dell'azione insetticida di diversi geodesinfestanti sulle larve di elateridi (*Agriotes* spp.). *Atti Giornate Fitopatologiche*, 1: 247-256.
- Furlan, L., Toffanin, F., 1994. Valutazione dell'efficacia di differenti strategie di lotta contro le larve di sue specie di elateridi (*Agriotes ustulatus* Schaller, *Agriotes brevis* Candèze). *Atti Giornate Fitopatologiche*, 2: 195-202.
- Furlan, L., Toffanin, F., 1998. Efficacia di nuovi concianti del seme (imidacloprid e fipronil) su larve di elateridini in ambiente controllato. *Atti Giornate Fitopatologiche*, 195-200.
- Glare, T.R., Townsend, R.J., Young, S.D., 1994. Temperature limitations on field effectiveness of *Metarhizium anisopliae* against *Costelytra zealandica* (White) (Coleoptera: Scarabaeidae) in Canterbury. *Pasture Pests and Beneficials*, 266-270.

- Glaz, B., Cherry, R., 2003. Wireworm (Coleoptera: Elateridae) effects on sugarcane emergence after short-duration flood applied at planting. *Journal of Entomological Science*, 38(3): 449-456.
- Gerber, H.S., 1983. *Mayor insect and allied pests of vegetables in British Columbia*. Ministry of Agriculture and Food. BC A22 C P8:83-7.
- Gratwick, M., 1989. *Potato Pests*. Ministry of Agriculture, Fisheries and Food Reference Book 187.HMSO, London, 104 pp.
- Griffiths, D.C., 1974. Susceptibility of plants to attack by wireworms (*Agriotes spp.*) *Annals of Applied Biology*, 78: 7-13.
- Gunning, R.V., Forrester, N.W., 1984. Cyclodiene lindane resistance in *Agrypnus variabilis* (Candeze) (Coleoptera: Elateridae) in northern New South Wales. *Australian Journal of Entomology*, 23: 247-248.
- Guthrie, F.E., Rabb, R.L., Mount, D.A., 1963. Distribution and control of Cyclodiene resistant wireworms attacking tobacco in North Carolina. *Journal of Economic Entomology*, 56: 7-10.
- Hall, D.G., 1982. A parasite, *Pristocera armifera* (Say), of the wireworm *Melanotus communis* (Gyll.) in south Florida. *Florida Entomologist*, 65: 574.
- Hall, D.G., 1990. Stand and yield losses in sugarcane caused by the wireworm *Melanotus communis* (Coleoptera: Elateridae) infesting plant cane in Florida. *Florida Entomologist*, 73 (2): 298-302.
- Hall, D.G., Cherry, R.H., 1986. Flight activity of *Melanotus communis* (Coleoptera: Elateridae) in Florida Sugar cane fields. *Journal of Economic Entomology*, 79: 626-628.
- Hancock, M., Green, D., Lane, A., Mathias, P.L., Port, C.M., Tones, S.J., 1986. Evaluation of insecticides to replace aldrin for the control of wireworms on potatoes. Tests of Agrochemicals and Cultivars 7. *Annals of Applied Biology*, 108: 28-29.
- Hicks, H., Blackshaw, R.P., 2008. Differential responses of three *Agriotes* click beetle species to pheromone traps. *Agricultural and Forest Entomology*, 10: 443-448.
- Hominick, W.M., Briscoe, B.R., del Pino, F.G., Heng, J., Hunt, D.J., Kozodoy, E., Macrek, Z., Nguyen, K.B., Reid, A.P., Spiridonov, S., Stock, P., Sturhan, D., Waturu, C., Yoshida, M., 1997. Biosystematics of entomopathogenic nematodes: current status, protocols and definitions. *Journal of Helminthology*, 71: 271-298.
- Honêk, A., Furlan, L., 1995. Colour polymorphism in *Agriotes ustulatus* (Coleoptera: Elateridae): Absence of geographic and temporal variation. *European Journal of Entomology*, 92: 437-442.
- Horton D.R., Landolt P.J., 2002. Orientation response of pacific coast wireworm (Coleoptera: Elateridae) to food baits in laboratory and effectiveness of baits in field. *Canadian Entomologist*, 134: 357-367.
- Hurlbert, S.H., 1990. Spatial distribution of the montane unicorn. *Oikos*, 58: 257-271.
- Illiger, K., 1807. Portugiesische Kafer. *Magazin für Insektenkunde*, 6: 1-80.

- Ivashchenko, I.I., Dolgushina, N.I., 2002. Effect of Metarizin on soil microflora. *Agrokhimiya*, 11: 50-55.
- Jamal G. 1997. Neurological syndromes of organophosphorus compounds. *Adverse Drug React Toxicol Rev*, 16:133-170.
- Jansson, R.K., Lecrone, S.H., 1991. Effects of summer cover crop management on wireworm (Coleoptera: Elateridae). Abundance and damage to potato. *Annals of the Entomological Society of America*, 84: (2)581-586.
- Jansson, R.K., Lecrone, S.H., Cherry, R.H., 1988. Comparative toxicities of fonofos and phorate to different populations of *Melanotus communis* (Gyllenhall) in southern Florida. *Canadian Entomologist*, 120: 397-400.
- Jansson, R.K., Lecrone, S.H., Seal, D.R., 1989. Food baits for pre-plant sampling of wireworms (Coleoptera: Elateridae) in potato fields in southern Florida. *Proceedings of the Florida State Horticultural Society*, 102: 367-370.
- Jansson, R.K., Seal, D.R., 1994. *Biology and management of wireworm on potato*. En: Hole Wyoming, Jackson (Ed.), *Proceeding of the International Conference on Advances in Potato Pest Biology and Management*, 31-53.
- Jedlicka P., Frouz J., 2007. Population dynamics of wireworms (Coleoptera, Elateridae) in arable land after abandonment. *Biologia Bratislava*, 62: 103-111.
- Jenkins, N. E., Haviefo, G., Cherry, A. C., Lomer, C.J., 1998. Development of mass production technology for aerial conidia for use as mycopesticides. *Biocontrol News and Information*, 19 (1): 21-31.
- Johnson, C.G., 1967. International dispersal of insects and insect-borne viruses. *Plant Pathology*, 73(1): 21-43.
- Johnson, S.N., Anderson, E.A., Dawson, G., Griffiths, D.W., 2008. Varietal susceptibility of potatoes to wireworm herbivory. *Agricultural and Forest Entomology* 10: 167-174.
- Johnson, S.N., Crawford, J.W., Gregory, P.J. Grinev, D.V., Mankin, J.G., Mansters, G.J., Murray P.J., Wall D.H., Zhang X., 2007. Non invasive techniques for investigating and modelling root-feeding insects in managed and natural systems. *Agricultural and Forest Entomology*, 9: 39-46.
- Jonasson, T., Olsson, K., 1994. The influence of glycolakaloids, chlorogenic acid and sugars on the susceptibility of potato tubers to wireworm. *Potato Research*, 37: 205-216.
- Jossi, W., Schwiezer, C., Keller, S., 2008. Click-beetle species and biological control of wireworms. *Agrarforschung*, 15: 76-81.
- Journel, A.G., Huijbregts, C. J., 1978. *Mining Geostatistics*, Academic Press, New York, 600 p.
- Jowett, D., Browning, J.A., Haning B.C., 1974. Non-linear disease progress curves, En: J. Kranz ed. *Epidemics of Plant Diseases: Mathematical Analysis and Modeling*, pp 115-136. J. Springer-Verlag, Berlin.
- Jutsum, A.R., Gordon, R.F.S., Ruscoe, C.N.E., 1986. The uthrin a novel pyrethroid soil insecticide. Proceedings of the 1986 British Crop Protection Conference. *Pests and Diseases*, 1: 97-106.

- Kabaluk, J.T., Ericsson J.D., 2007. Environmental and behavioral constraints on the infection of wireworms by *Metarhizium anisopliae*. *Environmental Entomology*, 36: 1415-1420.
- Kabaluk, J.T., Goettel, M., Vernon B., Noronha, C., 2001. Evaluation of *Metarhizium anisopliae* as a Biological Control for Wireworms. Pacific Agri-Food Research Centre. Agassiz, BC.
- Kabaluk, J.T., Vernon R.S., Goettel, M., 2007. Mortality and infection of wireworm, *Agriotes obscurus* (Coleoptera: Elateridae), with inundative field applications of *Metarhizium anisopliae*. *Phytoprotection*, 88: 51-56.
- Katabatsas, K, Tsitsipis, J A, Zarpas, K, Furlan, L, Tóth, M., 2002. Seasonal fluctuation of adult and larvae *Agriotes* spp. (Coleoptera: Elateridae) in Central Greece. En: Furlan L (ed.) Proc. XXI IWGO Conf. VIII Diabrotica Subgroup Meeting, Oct. 27 - Nov. 3. Legnaro: Padua University Press, 269-275.
- Keaster, A.J., Jackson M.A., Ward S.S., Knause G.F., 1988. A worldwide bibliography of Elateridae. Missouri Agric. Exp. Sta., University of Missouri Columbia. 294.
- Keiser, A., Schneider, J.H.M., Häberli, M., Schnyder, E., Berchier, P., 2005. Influence of farming system, specific cultivation methods and site parameters on potato quality in Switzerland. *EAPR*.
- Keller, S., 1976. An epizootic of the fungus *Entomophthora elateridiphaga* in a population of the click beetle, *Agriotes sputator*. *Schweizer Landwirtsch Forschung*, 15: 489-495.
- Keller, S., 1994. The fungus *Zoophthora elateridiphaga* as an important mortality factor of the click beetle *Agriotes sputator*. *Journal of invertebrate pathology*, 63: 90-91.
- Kirfman, G. W., Keaster, A.J., Story, R.N., 1986. An improved wireworm (Coleoptera: Elateridae) sampling technique for Midwest cornfields. *Journal of the Kansas Entomological Society*, 59: (1)37-41.
- Kirkegaard, J.A., Sarwar, M., 1998a. Biofumigation potential of brassicas: Variation in glucosinolate profiles of diverse field-grown brassicas. *Plant and soil*, 201: 71.
- Kirkegaard, J. A., Sarwar, M. 1998b. Biofumigation potential of brassicas. In vitro. Toxicity of isothiocyanates to soil borne fungal pathogens. *Plant and soil*, 201: 103.
- Kleinschmidt, A., Prill, G., 2001. Evaluation of soil insecticides in first year corn. *Special Circular, Ohio Agricultural Research Development Center*, 179: 103-104.
- Kogan, M., 1986. *Ecological Theory and Integrated Pest Management Practice*. Wiley-Interscience New York. 362 pp.
- Kuhar, T.P., Alvarez, J.M., 2007. Timing of injury and efficacy of soil-applied insecticides against wireworms on potato in Virginia. *Crop Protection*, 27: 792-798.
- Kring, J. B., 1959. Predation and survival of *Limonous agonus* Say (Coleoptera: Elateridae). *Annals of the Entomological Society of America*, 52: 534-537.
- Krivokhizin, V.I., 1991. Determining numbers of larvae of *Agriotes sputator* from data on adult catches in pheromone traps. *Nauchno-Tekhnicheskii Byulleten, Raskhi, Sibirskoe Otdelenie*, 2: 38-40.

- Kwon, M., Hahm, Y.I., Ahn, Y.J., 1999. Evaluation of various potato cultivars for resistance to wireworms (Coleoptera: Elateridae). *American Journal of Potato Research*, 76:317-319.
- Langenbuch, R., 1932. Beiträge zur Kenntnis der Biologie von *A. lineatus* L. and *A. obscurus* L. *Zeitschrift für angewandte Entomologie*, 19: 278-300.
- Laumond, C., Mauléon, H., Kermarrec, A., 1979. Données nouvelles sur le spectre d'hôtes et le parasitisme du nématode entomophage *Neoplectana carpocapsae*. *Entomophaga*, 24: 13-27.
- Lees, A.D., 1943. On the behaviour of wireworms of the genus *Agriotes* esch (Coleoptera, Elateridae) I. Reaction to humidity. *Journal of Experimental Biology*, 20: 43-53.
- Lefko, S.A., Pedigo, L.P., Rice, M.E., Batchelor, W.D., 1998a. Wireworms (Coleoptera: Elateridae) incidence and diversity in Iowa Conservation Reserve Environments. *Environmental Entomology*, 27: 312-317.
- Lefko, S.A., Pedigo, L.P., Batchelor, W.D., Rice, M.E., 1998b. Spatial modelling of preferred wireworm (Coleoptera: Elateridae) habitat. *Environmental Entomology*, 27(2): 184-190.
- Leseigneur, L., 1972. Coléoptères Élatéides de la faune de France continentale et de Corse. *Supplément au Bulletin mensuel de la Société Linnéenne de Lyon*, 41: 1-381.
- Lichtenstein, E.P. Morgan, D.G., Mueller, C.H., 1964. Naturally occurring insecticides in cruciferous crops. *Journal of Agriculture, Food and Chemistry*, 12: 156-161.
- Liu, Z. Y., Milner, R.J. McRae, C.F., Lutton, G.G., 1993. The use of dodine in selective media for insolation of *Metarhizium* spp. from soil. *Journal of Invertebrate Pathology*, 62: 248-251.
- MacLeod, G.F., Rawlins, W.A., 1935. A comparative study of wireworms in relation to potato tuber injury. *Journal of Economic Entomology*, 28: 192-195.
- Maienfisch, P., Angst, M., Brandl, F., Fischer, W., Hofer, D., Kayser, H., Kobel, W., Rindlisbacher, A., Senn, R., Steinemann, A., Widmer, H., 2001. Chemistry and biology of thiamethoxam: a second generation neonicotinoid. *Pest Management Science*, 57: 906-913.
- Manjunatha, M., Bhat, N.S., Raju, G.T.T., Viraktamath, C.A., 1988. A new predatory ant *Aenictus pachycerus* Smith (Hymenoptera: Formicidae) on wireworm *Agriotes* sp. (Coleoptera: Elateridae). *Current Science*, 57(13): 744.
- Maskell, F.E., 1958. Aldrin and gamma-BHC for the control of wireworm damage to potatoes. *Plant Pathology*, 7: 98-100.
- Matheron, G., 1970. *La Théorie des Variables Regionalisées et ses Applications*. Les Cahiers du Centre de Morphologie Mathématique de Fontainebleau, Fascicule 5, Ecole de Mines de Paris, 212 p.
- McCaffrey, J.P., Williams, III L., Borek, V., Brown, P.D., Morra, M.J., 1995. Toxicity of ionic thiocyanate-amended soil to the wireworm *Limonius californicus* (Coleoptera: Elateridae). *Journal of Economic Entomology*, 88: 793-797.

- McColloch, J.W., Hayes, W.P., 1923. Soil temperature and its influence on white grub activities. *Ecology*, 4: 29-36.
- McSorley, R., Parrado, J.L., Tyson, R.V., Waddill, V.H., Lamberts, M.L., Reynolds, J.S., 1987. Effects of sorghum cropping practices on winter potato production. *Nematropica*, 17: 45-60.
- Metcalf R.L., Metcalf, R.A., 1993. *Destructive and Useful Insects: their Habits and Control* (5th ed). McGraw-Hill, New York. 852 pp.
- Miles, H.W., 1942. Wireworms and Agriculture. *Journal of the Royal Agricultural Society of England*, 102: 1-13.
- Miles, H.W., Petherbridge, F.R., 1927. Investigations on the control of wireworms. *Annals of Applied Biology*, 14: 359-87.
- Morris, O.N., 1985. Susceptibility of 31 species of agricultural insect pest to the entomopathogenic nematodes *Steinernema feltiae* and *Heterorabditis bacteriophora*. *Canadian Entomology*, 117: 401-407.
- Munson, G., Keaster A.J., Grundler J.A., 1986. Control of wireworms and other corn soil insects. *MU Guide 4154*. Ext. Div., University of Missouri, Columbia.
- Munyaneza, J., Radcliffe, E.B., Ragsdale, D.W., Nasruddin, A., 2001. Control of wireworms on potatoes, 2000. *Arthropod Management*. Tests 26, E59.
- Noble, R.R.P., Sams, C.E., 1999. Biofumigation as an alternative to methylbromide for control of white grub larvae. En: *Annual International Conference on methylbromide alternatives and emission reductions*. 1-4 San Diego California: 92-95.
- Olsson, K., Jonasson, T., 1994. The influence of glycoalcaloids, chlorogenic acid and sugars on the susceptibility of potato tubers to wireworm. *Potato Research*, 37: 205-216.
- Olsson, K., Jonasson, T., 1995. Genotypic differences in susceptibility to wireworm attack in potato: mechanisms and implications for plant breeding. *Plant Breeding*, 114: 66-69.
- Onsager, J.A., Day A. 1975. Distribución of wireworms (*Conoderus spp.*) in soil samples. *J. Journal of the Georgia Entomological Society*, 10: 9-13.
- Onsager, J.A., Maitlen, J.C., 1966. Susceptibility of wireworms to aldrin in eastern Washington. *Journal of Economic Entomology*, 59: 1120-1123.
- Parker, W. E., 1990. Evaluation of insecticides for the control of wireworms (*Agriotes spp*) on potato. *Annals of Applied Biology*, 116: 28-30.
- Parker, W. E., 1994. Evaluation of the use of food baits for detecting wireworms (*Agriotes spp.*, Coleoptera: Elateridae) in fields intended for arable crop production. *Crop Protection*, 13: 271-276.
- Parker, W. E., 1996. The development of baiting techniques to detect wireworms (*Agriotes spp.*, Coleoptera: Elateridae) in the field, and the relationship between bait-trap catches and wireworm damage to potato. *Crop Protection*, 15: (6)521-527

- Parker, W.E., Howard, J.J., 2001. The biology and management of wireworms (*Agriotes* spp.) on potato with particular reference to U.K. *Agricultural and Forest Entomology*, 3: 85-98.
- Parker, W. E., Seeney, M.F., 1997. An investigation into the use of multiple site characteristics to predict the presence and infestation level of wireworms (*Agriotes* spp., Coleoptera: Elateridae) in individual grass fields. *Annals of Applied Biology*, 130: 409-425.
- Petherbridge, F. R., 1938. Wireworms and sugarbeet. *Journal of the Ministry of Agriculture*, London 45:23-7 SAS Institute Inc. 1989 SAS/STAT User's Guide, Version 6. 4th ed. Cary: SAS Institute Inc.
- Pflüger, W. 1993. Ecotoxicological profile of imidacloprid. *Pflanzenchutz Nachrichten Bayer*, 44:137-144.
- Planos, S., Carrero, J.M., 1995. *Plagas y enfermedad de los cereales, gusanos de alambre*. Ed. Plagas del campo: 309-311.
- Platia, G., 1994. Coleoptera, Elateridae. En: *Fauna d'Italia*. Vol. 33. Calderini Bologna Ed. Bologna. XIV, 429 pp.
- Poinar, F.O., Veremchuk, G.V., 1970. A new strain of nematodes pathogenic to insects and the geographical distribution of *Neoaplectana carpocapsae* Weiser (Rhabditida: Steinernematidae). *Zoologicheskii Zhurnal*, 49: 966-969.
- Pons, X., Lumbierres, B., Lopez, C., Albajes, R., 2005. Abundance of non-target pests in transgenic Bt-maize: A farm scale study. *European Journal of Entomology*, 102(1): 73-79.
- Pons, X., Albajes, R., 2002. Control of maize pests with imidacloprid seed dressing treatment in Catalonia (NE Iberian Peninsula) under traditional crop conditions. *Crop Protection*, 21: 943-950.
- Radcliffe, E.R., 1982. Insect pest of potato. *Annual Review of Entomology*, 27: 173-204.
- Raman, K. V., Radcliffe, E.B., 1992. Insect pests. En: *The Potato Crop* 909 pp Harris Ed., Chapman y Hall. Londres, 476-506.
- Remaudière, G., Keller, S., Papierok, B., Latge, J. P., 1976. Considerations systematiques et biologiques sur quelques especes d'*Entomophthora* du groupe *Spaerosperma* pathogenes d'insectes (Phycomycetes: Entomophthoraceae). *Entomophaga*, 21: 163-177.
- Robert, Y., Dedryver, C.A. y Pierre, J.S. 1988. Sampling Techniques. pp 1-20 en: Aphids: Their Biology, Natural Enemies and Control. Vol. 2B. Minks, A.K. & P. Harrewijn (Eds.) Elsevier, Amsterdam.
- Robert, Y., Rousselle, P., Crosnier, J.C., 1999. *Plagas en La Patata* 597 pp. Mundi Prensa. Madrid. 216-219.
- Robertson, L.N., 1993. Population dynamics of false wireworms (*Gonocephalum macleayi*, *Pterohelaeus alternatus*, *P. darlingensis*) and development of an integrated pest management program in central Queensland. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 33: 953-962.

- Rodríguez, J.M., 2001. Utilización de cebos trampa para determinación del riesgo de daños por gusano de alambre (*Agriotes sp*) en el cultivo de patata en La Rioja Alta. *Bol. San. Veg. Plagas*, 27:225-237.
- Rose, P.W., Oades, L., 2001. Effects of imidacloprid cereal seed treatment against wireworms and slugs. BCPC Symposium Proceedings. *British Crop Protection Council*. 76: 191-196.
- S.A.S. Inc. 1999. SAS/STAT User's Guide, Version 8, SAS Publishing, Cary, North Carolina.
- Salk, J., Salk, J., 1981. *World Population and Human Values: a New Reality*. Harper & Row ed. New York. 170 pp.
- Salt, G., Hollick, F.S.J., 1944. Studies of wireworm populations. I. A census of wireworms in pasture. *Annals of Applied Biology*, 31: 52-64.
- Salt, G., Hollick, F.S.J., 1946. Studies of wireworm populations II. Spatial distribution. *Journal of Experimental Biology*, 23: 1-46.
- Samson, P.R., Calder, A.A., 2003. Wireworm (Coleoptera: Elateridae) identity, monitoring and damage in sugarcane. *Australian Journal of Entomology*, 42: 298-303.
- Samson, P.R., Robertson, L.N., 1996. Development of a decision-support plan for wireworm management. *Proceedings of the Australian Society of Sugar Cane Technologists*, 18: 62-70.
- Sánchez Ruiz, A., 1996. *Catálogo bibliográfico de las especies de la familia Elateridae (Coleoptera) de la Península Ibérica e Islas Baleares*. Documentos Fauna Ibérica 2. Ramos, M.A. (ed.). Museo Nacional de Ciencias Naturales, CSIC. Madrid. 265 pp.
- Sánchez Ruiz A., Muñoz, J., Blasco Zumeta, J., 1998. Nuevos datos para la fauna de Elateridae (Coleoptera) de Aragón. *Boletín de la Sociedad Entomológica Aragonesa*, 22: 13-15.
- Schalk, J.M., Bohac, J.R., Dukes, P.D., Martin, W.R., 1993. Potential of nonchemical control strategies for reduction of soil insect damage in sweet potato. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 118: (5) 605-608
- Seal, D.R., Chalfant, R.B., 1994. Bionomics of *Conoderus rudis* (Coleoptera: Elateridae) newly reported pest of sweet potato. *Journal of Economic Entomology*, 87: 802-809.
- Seal, D.R., Chalfant, R.B., Hall, M.R., 1992a. Effects of cultural practices and rotational crops on abundance of wireworms (Coleoptera: Elateridae) affecting sweetpotato in Georgia. *Environmental Entomology*, 21(5): 969-974.
- Seal, D.R., Chalfant, R.B., Hall, M.R., 1992b. Effectiveness of different seed baits and baiting methods for wireworms (Coleoptera: Elateridae) in sweetpotato. *Environmental Entomology*, 21(5): 957-963.
- Seal, D.R., McSorley, R., Chalfant, R.B., 1992. Seasonal abundance and spatial distribution of wireworms (Coleoptera: Elateridae) in Georgia sweet potato fields. *Journal of Economic Entomology*, 85: 1802-1808.
- Servicio de Estadística y Análisis Sectorial, 2008. Departamento de Agricultura, Pesca y Alimentación. Gobierno Vasco.

- Sevacherian, V., Stern V.M., 1972. Spatial distribution patterns of *Lygus bugs* in California cotton fields. *Environmental Entomology*, 1: 695-704.
- Sewell, G.H., Alyokhi, A. 2004. Control of wireworm on potato 2003. *Arthropod Management Tests*. 29,E69
- Shamiyeh, N.B., Pereira, R., Straw, R.A., Follum, R.A., Meister, C.W., 1999. Control of wireworms in potato, 1998. *Arthropod Management Tests*, 24: 164-165.
- Simmons, C. L., Pedigo, L. P., M. E. Rice., 1998. Evaluation of seven sampling techniques for wireworms (Coleoptera: Elateridae). *Environmental Entomology*, 27: 1062-1068.
- Sit, V., 1992. A repeated measures example, Pamphlet No. 39, Biometrics Information, British Columbia Ministry of Forests, Victoria.
- Slanina, P., 1990. Assessment of health risks related to glycoalkaloides ("Solanine") in potatoes: a Nordic view. *Vár Föda*, 43.
- Sokal, R. R., Rohlf, F. J., 1995. *Biometry. The principles and practice of statistics in biological research*. 3rd. edition. W. H. Freeman y Co., New York. 859 pp.
- Soper, J.,1996. *Bio-dynamic Gardening*. Eds.: Barbara Saunders- Davies; K. Castelliz. New edition. London: The Souvenir Press.
- Spilman, T.J., 1978. Pests not known to occur in The United States. U.S. Dep. Agric Coop. *Cooperative Plant Pest Report*, 3 (48-52): 731-734.
- Steel, R.G.D., Torrie, J.H. 1960. *Principles and procedures of stadistics*. 2^a Edition. McGraw-Hill, New York. 633pp.
- Stone, M.W., Foley, F.B., 1955. Effect of season, temperature, and food on the movement of sugar beet wireworm. *Annals of the Entomological Society of America*, 48(4): 308-312
- Strickland, A.H., Bardner, H.M., Waines, R.A., 1962. Wireworm damage and insecticide treatment of the ware potato crop in England and Wales. *Plant Pathology*, 11: 93-107.
- Taylor, L.R., 1961. Agregation, variance and the mean. *Nature*. 189:732-735.
- Taylor, L.R., 1984. Assessing and interpreting the spatial distributions of insect populations. *Annual Review of Entomology*, 29: 321-357.
- Thomas, G.W., Keaster, A.J., Ward, R.H., Arnold, F.J., 1982. Control of wireworms and other corn insects in 1982. *Agriculture Guide University of Missouri Cooperative Extension Service Publication* (4154), University of Missouri Columbia Extension Division.
- Thompson, V., 1998. Parallel colour form distributions in European and North American populations of the spittlebug *Philaenus spumarius* (L) *Journal of Biogeography*, 15: 507-512.
- Tingey, W.M., 1984. Glycoalkaloids as pest resistance factors. *American Potato Journal*, 61: 157-167.
- Toba, H.H., 1987. Treatment regimes for insecticidal control of wireworms on potato. *Journal of Agricultural Entomology*. 4: 207-212.

- Toba, H.H., Lindegren, J.E., Turner, J. E., y Vail, P.V., 1983. Susceptibility of the Colorado potato beetle and the sugarbeet wireworm to *Steinernema feltiae* and *S. glaseri*. *Journal of Nematology*, 15: 597-601.
- Toba, H.H., Turner, J.E., 1979. Chemical control of wireworms on potato. *Journal of Economic Entomology*, 72: 636-641.
- Toba, H.H., Turner, J.E., 1983. Evaluation of baiting techniques for sampling wireworms (Coleoptera: Elateridae) infesting wheat in Washington. *Journal of Economic Entomology*, 76: 850-855.
- Tóth, M., Furlan, L., Szarukan, I., Ujvary, I., 2002. Geranyl hexanoate attracting males of click beetles *Agriotes rufipalpis* Brulle and *A. sordidus* Illiger (Coleoptera: Elateridae). *Journal of Applied Entomology*, 126: 1-3.
- Toth, M., Furlan, L., Yatsynin, V.G., Ujvary, L., Szarukan, I., Imrei, Z., Tolasch, T., Francke, W., Jossi, W., 2003. Identification of pheromones and optimization of bait composition for click beetle pests (Coleoptera: Elateridae) in Central and Western Europe. *Pest Management Science*, 59 (4):417-425.
- Townsend, G. R., Heuberger, J. W., 1943. Methods for estimating losses caused by diseases in fungicide experiments. *The Plant Disease Reporter*, 27: 340-343.
- Van Herk, W.G., Vernon, R.S., 2006. Effect of temperature and soil on the control of a wireworm, *Agriotes obscurus* L. (Coleoptera: Elateridae) by flooding. *Crop Protection*, 25: 1057-1061.
- Van Herk, W.G., Vernon, R.S., 2008. Effect of temperature on the morbidity and recovery of the Pacific Coast wireworm, *Limonius canus*, following contact with tefluthrin-treated wheat seeds. *Entomologia experimentalis et applicata*, 126: 228-232.
- Vedie, H., Blot, Y., Nouet, Y., Taulet, A., 2002. Biological control of wireworms in market gardens. *PHM Revue Horticole*, 441: 32-36.
- Vernon, R.S., 2005. Aggregation and mortality of *Agriotes obscurus* (Coleoptera: Elateridae) at insecticide treated trap crop of wheat. *Journal of Economical Entomology*, 98(6): 2000-2005.
- Vernon, R.S., Kabaluk, T., Behringer, A., 2000. Movement of *Agriotes obscurus* (Coleoptera: Elateridae) in strawberry (Rosaceae) plantings with wheat (Gramineae) as a trap crop. *The Canadian Entomologist*, 132: 231-241.
- Vernon B., Päts, P., 1997. Distribution of two European wireworms, *Agriotes lineatus* and *A. obscurus*, in British Columbia. *Journal of the Entomological Society of British Columbia*, 94: 59-61.
- Vernon, R.S., Tóth, M., 2007. Evaluation of pheromones and a new trap for monitoring *Agriotes lineatus* and *Agriotes obscurus* in the Fraser Valley of British Columbia. *Journal of Chemical Ecology*, 33: 345-351.
- Waliwitiya, R., Isman, M.B., Vernon, R.S., Riseman, A., 2005. Insecticidal activity of selected monoterpenoids and Rosemary Oil to *Agriotes obscurus* (Coleoptera: Elateridae). *Journal of Economic Entomology*, 98(5): 1560-1565.

- Waller, R.A., Duncan, D.B. 1969. A Bayes rule for the symmetric multiple comparisons problem. *Journal of the American Statistical Association*, 64: 1484-1503.
- Ward, R. H., Keaster, A. J., 1977. Wireworm baiting: use of solar energy to enhance early detection of *Melanotus depressus*, and *Aelus mellillus* in Midwest cornfields. *Journal of Economic Entomology*, 79: 403-406.
- Weiser, J. 1955. *Neoaplectana carpocapsae* n. sp. (Anguillulata, Steinernematidae) novy cizopasnic housenik obalece jablecneho, *Carpocapsa pomonella* L. *Vestnik Ceskoslovenske Spolecnosti Zoologicke*, 19: 44-52.
- Wheatley, G.A., Hardman, J.A., Strickland, A.H., 1962. Residues of chlorinated hydrocarbon insecticides in some farm soils in England. *Plant Pathology*, 11: 81-90.
- Wheeler, R., 2004. Wiley wireworms. Cyber herlp for organic farfarmers. <http://www.certificadorganic.bc.ca/rcbtos/training/wireworms.htm>.
- Wilde, G., Roozeboom, K., Claassen, M., Janssen, K., Witt, M., 2004. Seed treatment for control of early-season pests of corn and its effect on yield. *Journal of Agricultural and Urban Entomology*, 21(2): 75-85.
- Wilkinson, A.T.S., Finlayson, D.G., Campbell, C.J., 1977. Soil incorporation of insecticides for control of wireworms in potato land in British Columbia. *Journal of Economic Entomology*, 70: 755-758.
- Wood, G. R., 2002. Assessing goodness of fit for Poisson and negative binomial models with low mean. *Communications in Statistics. Theory and methods* 31: 1977-2001.
- Woodring, J.L., Kaya, H.K., 1988. *Steinernematid and Heterorhabditid nematodes: A Handbook of Biology and technique*. Southern Cooperative Series, Bulletin 331, Arkansas, USA, 32 pp.
- Yamamura, K., Mitsunobu, K., Arakaki, N., Kawamura, F., Sadoyama Y. 2003 Estimation of dispersal distance by mark-recapture experiments using traps: correction of bias caused by the artificial removal by traps. *Population Ecology*, 45: 149-155.
- Yates, F., Finney, D.J., 1942. Statistical problems in field sampling for wireworms. *Annals of Applied Biology*, 29: 156-167.
- Yatsynin, V.G., Lebedeva, K.V., 1984. Identification of the multicomponent pheromones of the striped click beetle *Agriotes lineatus* (L.) and the western click beetle (*Agriotes ustulatus* S.). *Khemoretsepsiya Nasekomykh*, 8: 52-57.
- Zhang, R., Myers, D. E., Warrick, A. W., 1992. Estimation of the Spatial Distribution of Soil Chemical Using Pseudo Cross-Variograms. *Soil Science Society of America Journal*, 56 (5): 1444-1452.

TESIS DOCTORALES PUBLICADAS

- Nº 1. La raza Latxa: Sistemas de producción y características reproductivas. EDUARDO URIARTE EGURCEGUI
- Nº 2. Estudio y puesta a punto de un método simplificado de control lechero cualitativo en la raza ovina Latxa y su inclusión en el plan de selección. GUSTAVO ADOLFO MARIA LEVRINO
- Nº 3. Implicaciones tecnológicas de la composición química del pescado con especial referencia a los lípidos. ROGELIO POZO CARRO
- Nº 4. Estudio de suelos de Vizkaia. MARGARITA DOMINGO URARTE
- Nº 5. El Maedi o neumonía progresiva en el conjunto de las enfermedades respiratorias crónicas del ganado ovino en la Comunidad Autónoma Vasca. LORENZO GONZÁLEZ ANGULO
- Nº 6. Estudio experimental de las fases iniciales de la paratuberculosis ovina. RAMÓN A. JUSTE JORDAN
- Nº 7. Identificación, origen y factores fisicoquímicos que condicionan la contaminación por elementos metálicos de sedimentos de ríos. ESTILITA RUIZ ROMERA
- Nº 8. Análisis financiero de proyectos de inversión en repoblaciones forestales. ÁLAVARO AUNOS GÓMEZ
- Nº 9. Desarrollo y evaluación del sistema integrado de diagnóstico y recomendación (DRIS) para la fertilización de las praderas permanentes. Marta Rodríguez Julia
- Nº 10. Estudio de las mieles producidas en la Comunidad Autónoma del País Vasco. MARÍA TERESA SANCHO ORTIZ
- Nº 11. La biomasa microbiana como agente de las transformaciones de nitrógeno en el suelo tras el enterrado de la paja de cereal. JESÚS ÁNGEL OCIO ARMENTIA
- Nº 12. Análisis jurídico y económico de la implementación de la política agraria comunitaria en la Comunidad Autónoma del País Vasco. BEATRIZ PÉREZ DE LAS HERAS
- Nº 13. Nemátodos formadores de quistes (*Globodera spp.*) en patata (*Solanum tuberosum L.*): caracterización taxonómica, reproducción y actividad de las formas juveniles. AZUCENA SALAZAR BAYONA
- Nº 14. Ensayo comparativo de tres métodos de tratamiento antihelmítico estratégico en rebaños de ovejas latxas. ANA LUISA GRACIA PÉREZ
- Nº 15. Estudio sobre una encefalitis vírica similar al Louping-ill en el ganado ovino de la Comunidad Autónoma Vasca. DANIEL FERNÁNDEZ DE LUCO MARTINÉZ
- Nº 16. Análisis de caracteres involucrados en la selección y mejora de *Lupinus hispanicus* Boiss. et Reuter. VERÓNICA ARRIETA PICO
- Nº 17. Contribución al estudio de fermentaciones artesanales e industriales de Rioja Alavesa. MILAGROS VIÑEIRA GARCÍA
- Nº 18. Estudio del manejo de la alimentación en los rebaños ovinos de raza Latxa y su influencia sobre los resultados reproductivos y de producción de leche. LUIS M^a. OREGUI LIZARRALDE
- Nº 19. El sector pesquero vizcaíno, 1800-1960. Análisis de la interacción de los elementos ambiental, extractivo y comercial en la pesquería. JOSÉ AGUSTÍN MAIZ ALCORTA
- Nº 20. Epidemiología, diagnóstico y control de la paratuberculosis ovina en la Comunidad Autónoma del País Vasco. J. J. ADURIZ RECALDE
- Nº 21. Agrupación de poblaciones locales de maíz (*Zea mays L.*) mediante caracteres morfológicos y parámetros ambientales. JOSÉ IGNACIO RUIZ DE GALARRETA GÓMEZ
- Nº 22. Estudio del potencial melífero de Bizkaia. AMELIA CERVELLO MARTÍNEZ

- Nº 23. Influencia de los procesos de salado y ahumado sobre las características fisicoquímicas del queso Idiazabal (compuestos nitrogenados). FRANCISCO C. IBAÑEZ MOYA
- Nº 24. El Euskal Artzain Txakurra (el perro pastor vasco) descripción y tipificación racial. MARIANO GÓMEZ FERNÁNDEZ
- Nº 25. Evaluación de diferentes ciclos de selección recurrente en dos poblaciones sintéticas de maíz. GOTZONE GARAY SOLACHI
- Nº 26. Valoración agronómica de la gallinaza: Compostaje. ADOLFO MENOYO PUELLES
- Nº 27. Relación clima-vegetación en la Comunidad Autónoma del País Vasco. AMELIA ORTUBAY FUENTES
- Nº 28. Influencia de los procesos de salado y ahumado tradicional sobre las características microbiológicas y organolépticas del queso Idiazabal. FRANCISCO J. PÉREZ ELORTONDO
- Nº 29. Mastitis en la oveja Latxa: epidemiología, diagnóstico y control. JUAN C. MARCO MELERO
- Nº 30. Contribución al conocimiento anatomopatológico y diagnóstico de la tuberculosis caprina y ovina por *Mycobacterium bovis*. M.^a MONTSERRAT GUTIÉRREZ CANCELA
- Nº 31. Estudio de factores que pueden influir en la calidad de la pluma de gallos Eusko-oiloa (Variedad *Marradune*) para la fabricación de moscas artificiales utilizadas en la pesca de la trucha. ROSA M.^a ECHARRI TOMÉ
- Nº 32. Estudio de la fracción lipídica durante la maduración del queso Idiazabal. Influencia de los procesos tecnológicos del tiempo de permanencia en salmuera y ahumado. ANA ISABEL NÁJERA ORTIGOSA
- Nº 33.- Influencia del tipo de cuajo y adición de cultivo iniciador sobre los compuestos nitrogenados durante la maduración del queso Idiazabal. M.^a SOLEDAD VICENTE MARTÍN
- Nº 34. Estudio de la infección por *Borrelia burgdorferi*, grupo *Ehrlichia phagocytophila* y virus de la encefalitis ovina en las poblaciones de ixódidos de la Comunidad Autónoma Vasca. MARTA BARRAL LAHIDALGA
- Nº 35. Lipólisis en el queso Idiazabal: efecto de la época de elaboración, del cultivo iniciador, de la pasteurización y del tipo de cuajo. FELISA CHAVARRI DÍAZ DE CERIO
- Nº 36. Aspectos inmunológicos de la paratuberculosis de los pequeños rumiantes. Respuesta inmune asociada a la vacunación. JUAN MANUEL CORPA ARENAS
- Nº 37. Desarrollo y evaluación de nuevas técnicas de diagnóstico del Maedi-Visna. ANA BELÉN EXTRAMIANA ALONSO
- Nº 38. Estudios sobre Patogenia y Diagnóstico de la Adenomatosis Pulmonar Ovina. MARÍA MERCEDES GARCÍA GOTI
- Nº 39. Análisis de los factores de explotación que afectan a la producción lechera en los rebaños de raza Latxa de la CAPV. ROBERTO J. RUIZ SANTOS
- Nº 40. Crecimiento y producción de repoblaciones de *Pinus radiata* D. Don en el Territorio Histórico de Gipuzkoa (País Vasco). LUIS MARIO CHAUCHARD BADANO
- Nº 41. Puesta a punto de técnicas PCR en heces y de Elisa para el diagnóstico de la Paratuberculosis. Estudio de prevalencia en ganado bovino. JOSEBA M. GARRIDO URKULLU
- Nº 42. Epidemiología y diagnóstico de la leptospirosis y la neosporosis en explotaciones de bovino lechero de la CAPV. RAQUEL ACHAERANDIO GALDOS
- Nº 43. Relaciones aire-agua en sustratos de cultivo como base para el control del riego. Metodología de laboratorio y modelización. VALENTÍN TERÉS TERÉS
- Nº 44. Zonas endémicas de enfermedad de Lyme en la CAPV: estudio del papel de los micromamíferos en el mantenimiento de *Borrelia burgdorferi* sensu lato en el medio natural. HORACIO GIL GIL

- Nº 45. Optimización del esquema de mejora de la raza Latxa: análisis del modelo de valoración e introducción de nuevos caracteres en el objetivo de selección. ANDRÉS LEGARZA ALBIZU
- Nº 46. Influencia de las condiciones de almacenamiento, reimplantación y lluvia ácida en la viabilidad de *Pinus radiata* D. Don. MIREN AMAIA MENA PETITE
- Nº 47. Estudio sobre encefalopatías en peces: patogenicidad del nodavirus causante de la enfermedad y retinopatía vírica (ERV) y transmisión experimental del prión *scrapie* a peces. RAQUEL ARANGUREN RUIZ
- Nº 48. Enfermedades transmitidas por semilla en judía-grano (*Phaseolus vulgaris* L.): detección, control sanitario y mejora genética. ANA MARÍA DÍEZ NAVAJAS
- Nº 49. Pastoreo del ganado vacuno en zonas de montaña y su integración en los sistemas de producción de la CAPV. NEREA MANDALUNIZ ASTIGARRAGA
- Nº 50. Aspectos básicos de la mejora genética de patata (*Solanum tuberosum* L.) a nivel diploide. LEIRE BARANDALLA URTIAGA
- Nº 51. El cuajo de cordero en pasta: preparación y efecto en los procesos proteolíticos y lipolíticos de la maduración del queso de Idiazabal. M^a. ÁNGELES BUSTAMANTE GALLEGO
- Nº 52. Dinámica de la población de atún blanco (*Thunnus alalunga* Bonnaterre 1788) del Atlántico Norte. JOSU SANTIAGO BURRUTXAGA
- Nº 53. El pino radiata (*Pinus radiata* D. Don) en la historia forestal de la Comunidad Autónoma de euskadi. Análisis de un proceso de forestalismo intensivo. MARIO MICHEL RODRÍGUEZ
- Nº 54. Balance hídrico y mineral del pimiento de Gernika (*Capsicum annuum* L., cv Derio) en cultivo hidropónico. Relaciones con la producción. HUGO MACÍA OLIVER
- Nº 55. Desarrollo de métodos moleculares y su aplicación al estudio de la resistencia genética y patogenia molecular del Scrapie. DAVID GARCÍA CRESPO
- Nº 56. Estudio epidemiológico y experimental de la transmisión y control del virus Maedi-Visna en ovino lechero de raza Latxa del País Vasco. VEGA ÁLVAREZ MAIZTEGUI
- Nº 57. Desarrollo y aplicación de técnicas de diagnóstico serológico para el estudio de la transmisión calostrual y horizontal del virus Maedi-Visna (VMV) en ovino. MARA ELISA DALTABUIT TEST
- Nº 58. Integral Study of Calving Ease in Spanish Holstein Population. EVANGELINA LÓPEZ DE MATURANA LÓPEZ DE LACALLE
- Nº 59. Caracterización Molecular, Detección y Resistencia de *Mycobacterium avium subespecie paratuberculosis*. IKER SEVILLA AGIRREGOMOSKORTA
- Nº 60. Desarrollo de un sistema de fertilización nitrogenada racional en trigo blando de invierno bajo condiciones de clima mediterráneo húmedo. M.^a ARRITOKIETA ORTUZAR IRAGORRI
- Nº 61. Estructura y dinámica de la materia orgánica del suelo en ecosistemas forestales templados: de lo particular a lo general. NAHIA GARTZIA BENGOTXEA
- Nº 62. Análisis sensorial del vino tinto joven de Rioja Alavesa: descripción y evaluación de la calidad. IÑAKI ETAIO ALONSO

ISBN: 978-84-457-3031-7



P.V.P.: 15 €