

Uso de nematodos entomopatógenos en una solución de quitosano contra *Rhynchophorus ferrugineus* en diferentes especies de palmeras. Casos específicos en una Ciudad y un Jardín Botánico

M.M. Martínez de Altube, A. Martínez de Altube. A. Martínez Peña.

Idebio. Pol. Ind. El Montalvo I. C/Bell nº3. 37008, Salamanca. maraltube@idebio.es

Resumen

La eficacia del nematodo *Steinernema carpocapsae* en una formulación de quitosano contra el picudo rojo de las palmeras, *Rhynchophorus ferrugineus* ha sido estudiada con anterioridad. Esta publicación presenta una revisión de la literatura existente hasta la fecha sobre la aplicación del nematodo entomopatógeno *S. carpocapsae* en combinación con quitosano contra el Picudo Rojo de las Palmeras. En los resultados de cuatro publicaciones científicas se muestran eficacias superiores al 85% en las pruebas curativas y superiores al 90% en los ensayos preventivos en las diferentes especies de palmeras evaluadas. Además de analizar los datos de estas cuatro publicaciones, se expondrán dos casos específicos que se han llevado a cabo en España, uno en la ciudad de Ceuta y otro en el Jardín Botánico de la Universidad de Valencia, para así poder observar el control y la evolución de la plaga en ambos casos. La ciudad de Ceuta ha usado esta combinación de manera continuada durante los últimos cuatro años y el Jardín Botánico la Universidad de Valencia durante los siete últimos años.

Esta combinación ha sido utilizada con buenos resultados en los Jardines Botánicos de Xátiva, Atenas, y Lisboa, diversos ayuntamientos en España y Portugal como Valencia, Espartinas, Silves y Setúbal entre otros. En Grecia, en el Jardín Nacional y en el Palacio Zapion.

Palabras clave: Quitosano, *Steinernema carpocapsae*, control biológico, *Rhynchophorus ferrugineus*, eficacia.

INTRODUCCION

El picudo rojo de las palmeras *Rhynchophorus ferrugineus* (Olivier) es considerada la plaga mas dañina de las palmeras en la Cuenca Mediterránea. Se han reportado ataques de *R. ferrugineus* en 19 especies de palmeras pertenecientes a 15 géneros diferentes (EPPO, 2008).

En cuanto al control químico del mismo, existen serias preocupaciones acerca de la contaminación ambiental y riesgos para la salud de las personas causado por estos tratamientos, especialmente en las zonas públicas donde se encuentran las palmeras ornamentales (Faleiro, 2006). Además, muchos de los insecticidas usados actualmente, especialmente los organofosforados y carbamatos, no son suficientemente eficaces (Kaake, 2006).

Por todo esto, es necesario realizar una gestión integrada con tratamientos que estén de acuerdo al vigente R.D. 1311/2012, de uso sostenible de productos fitosanitarios, que desde 2012 es de aplicación en zonas verdes y urbanas. Por una parte, limita y regula el uso de los productos fitosanitarios, y por otra impone y prioriza la gestión integrada de plagas y de planteamientos o técnicas alternativos, tales como los métodos no químicos. En su Anexo I, punto 4 señala:” *Los métodos sostenibles*

biológicos, físicos y otros no químicos deberán preferirse a los métodos químicos, siempre que permitan un control satisfactorio de las plagas”

El uso de nematodos entomopatógenos (NEP) podría ofrecer una alternativa biológica interesante al control químico de *R. ferrugineus*, (Abbas *et al.*, 2001a, b; Saleh y Alheji, 2003; Elawad *et al.*, 2007). Los NEP son seguros para los vertebrados no diana y para el medio ambiente (Ehlers, 2003).

Como veremos a continuación, los datos sobre el uso práctico de la combinación de nematodos con quitosano, coinciden con los datos obtenidos en las publicaciones que se describirán y analizarán mas adelante, (Gómez *et al.*, 2008; Llacer *et al.*, 2009; Dembilio *et al.*, 2010, Dembilio *et al.*, 2011), con eficacias que llegan hasta el 98%.

El objetivo de este trabajo consistió en recopilar toda la información sobre el uso de la mezcla de *S. carpocapsae* con quitosano en las palmeras, que ha demostrado ser muy eficaz contra *R. ferrugineus* en situación real de campo. Y estudiar o evaluar los casos específicos de la ciudad de Ceuta y el Jardín Botánico de la Universidad de Valencia, para observar el control de plaga y su evolución después de años de la utilización de esta combinación.

MATERIAL Y METODOS

Evolución de la plaga de *Rhynchophorus ferrugineus* en la Ciudad Autónoma de Ceuta. Resumen de las actividades desde su detección en la ciudad en 2009, de acuerdo a los informes trimestrales escritos por la Consejería de Medio Ambiente, Servicios Comunitarios y Barriadas de la Ciudad Autónoma de Ceuta.

El presente informe resume el estado actual y la evolución de la plaga de las palmeras causada por *R. ferrugineus* en la ciudad autónoma de Ceuta, desde su detección, en noviembre de 2009. El trabajo se inició tan pronto como la plaga *R. ferrugineus* fue declarada plaga de interés público en la ciudad de Ceuta (BOC CE. 6 n^o extraordinario, Viernes, 30 de octubre 2009), y que se mantiene hasta la fecha, Julio 2014.

Todos los datos presentados en este informe han sido obtenidos de acuerdo con los informes oficiales trimestrales escritos por la Consejería de Medio Ambiente, Servicios Comunitarios y Barriadas de la Ciudad Autónoma de Ceuta. Los Organismos Gubernamentales son los responsables de desarrollar y ejecutar las acciones tomadas en esta lucha contra el picudo rojo de las palmeras, incluyendo en estas acciones tanto las palmeras públicas como las privadas.

El inventario y geo-referenciación de todas las palmeras en Ceuta se llevó a cabo en 2010 y luego fue actualizado y corregido en 2011. Este informe cuenta con un total de 2.986 palmeras registradas en la ciudad, la mayoría correspondientes al género *Phoenix*. 1.334 de ellas son *Phoenix canariensis* (el 44,6% del total) y 498 son *P. dactylifera* (16,7% del total); las palmeras restantes corresponden al género *Washingtonia* (1.067; 35,8%) y otras especies de diferentes géneros, en su mayoría palmeras de coco (*Cocos nucifera*, 87; 2,91%).

Hubo 2 protocolos de actuación en el tiempo:

En el 1^{er} protocolo (Nov. 2009 - Marzo 2011), todas las palmeras registradas fueron tratadas, un total de 2.986 palmeras. Se aplicaron 6 tratamientos anuales: 4 tratamientos biológicos con *S. carpocapsae* y 2 tratamientos químicos con Imidacloprid

20%. Debido a los escasos resultados obtenidos hasta esa fecha se decidió cambiar de protocolo.

En el 2º protocolo (marzo de 2011 – hasta la fecha, Julio. 2014), Sólo las palmeras pertenecientes al género *Phoenix* fueron tratadas, un total de 1.832 palmeras. Se llevaron a cabo 7 tratamientos anuales: 6 tratamientos biológicos con *S. carpocapsae* en una solución de quitosano (no solo con *S. carpocapsae* como se venía haciendo en el 1º protocolo) y 1 tratamiento químico de Imidacloprid 20%. En los casos en que se detectaron palmeras infestadas y que fue necesario, se realizó una cirugía vegetal, así como un tratamiento curativo intensivo semanal, durante las cuatro semanas siguientes, (2 tratamientos químicos de Imidacloprid 20% combinado con un fungicida metiltiofanato durante la primera y tercera semana, y 2 tratamientos biológicos de *S. carpocapsae* con quitosano durante la segunda y cuarta semana).

RESULTADOS

En el 1º protocolo (Nov. 2009 - Marzo 2011): Se produjeron 53 infestaciones en 2009, 105 en 2010 y 17 hasta Marzo del 2011. Lo que supone un total de 175 infestaciones en este 1º protocolo, de las cuales 173 resultaron insalvables y se procedió a su tala.

En el 2º protocolo (marzo de 2011 – hasta la fecha, Julio 2014): Se produjeron 20 nuevas infestaciones en 2011, 6 en 2012, 0 en 2013 y 0 hasta Julio 2014. Lo que supone un total de 26 infestaciones en este 2º protocolo. Además, en este 2º protocolo solo se produjo una infestación en la que fue necesaria la tala y eliminación de la palmera. En los otros 25 casos, cuando fueron necesarias se realizaron cirugías vegetales combinadas con tratamientos curativos intensivos y en la actualidad todas estas palmeras están recuperadas y progresan favorablemente con un crecimiento activo de la corona. Hasta el momento, todas estas infestaciones pertenecen exclusivamente a la especie *P. canariensis*.

La ciudad de Ceuta ha terminado 2013 y lo que va de año 2014 (Julio 2014) sin registrar ningún caso de nuevas infestaciones de palmeras.

DISCUSIÓN

Durante el 1º protocolo, desde noviembre de 2009 hasta el primer trimestre de 2011, las incidencias suponen el 9,5% respecto al género *Phoenix* en la ciudad. Además de las 175 palmeras infestadas, 173 resultaron insalvables.

Desde marzo de 2011 y después de realizados los cambios en el protocolo, entre los años 2011 y 2012, la incidencia se redujo al 1,42% respecto al género *Phoenix* en la ciudad. Estas palmeras afectadas progresaron favorablemente con un crecimiento activo y en 2014 presentan una apariencia normal. Durante 2013 y hasta Julio de 2014 no solo no ha sido necesario eliminar y talar ninguna palmera, sino que además no se han producido nuevas infestaciones, reduciendo las incidencias hasta el 0% en 2013 y en 2014.

Por lo que de nuestras observaciones podemos concluir que, los tratamientos establecidos en el 2º protocolo han dado unos beneficios obvios, el más importante salvar las palmeras afectadas de la destrucción. Los resultados muestran que el tratamiento redujo la tasa de tala y eliminación de la palmera canaria, respecto a esta misma especie, de un 13% durante el 1º protocolo al 0,07% en el 2º protocolo, lo que nos permite conservar y proteger el patrimonio y material vegetal. Estos resultados también han traído consigo un ahorro de costes en la ejecución de las medidas

fitosanitarias (no talar palmeras afectadas y la eliminación de los desechos que representa la partida más costosa). Los productos también se redujeron, ya que el número de tratamientos es menor puesto que se redujo el número de palmeras a tratar. Sin embargo, poner en práctica este protocolo requiere esfuerzos continuos de vigilancia y un control cuidadoso de las condiciones fitosanitarias de todas las palmeras de la ciudad de Ceuta. La eficacia de la técnica depende en gran medida de su correcta aplicación por un equipo profesional capacitado como el de Ceuta, como de la detección temprana y actuación en las nuevas infestaciones. Es importante destacar que, además de salvar el patrimonio vegetal Ceutí, la plaga del picudo rojo ha sido contenida y controlada además de reducir su población. Si estos resultados se mantienen en el futuro, además de tener la plaga bajo control, posiblemente se podría erradicar, siempre que la fuente de reinfección o de entrada se elimine. Este protocolo establecido y el plan de acción demuestra la capacidad de controlar la plaga de *R. ferrugineus*, que podría ser extrapolado y adaptado a otros municipios o zonas del área mediterránea.

Para 2015, después de las experiencias y por los resultados obtenidos, la ciudad de Ceuta tiene previsto eliminar el tratamiento químico y sustituirlo por otro biológico con esta combinación de nematodos con quitosano.

El Jardín Botánico de la Universidad de Valencia, también ha usado esta combinación de nematodos entomopatógenos junto con quitosano desde 2008. Para el manejo del picudo en el Jardín se han llevado a cabo tratamientos insecticidas, vigilancia semanal intensiva y cirugía vegetal en aquellas palmeras infestadas en las que se consideró necesario realizar esta técnica (seguida de un tratamiento químico post-cirugía). De las 335 palmeras en el jardín, se censaron 53 ejemplares *Phoenix*, uno de ellos es un ejemplar singular del jardín, una *P. dactylifera* macho con 27 brazos conocido como La Carcasa, por lo que un total de 79 individuos *Phoenix* (contando todos los brazos de La Carcasa) fueron tratados en el jardín. El tratamiento biológico consistió en aplicar *S. carpocapsae* en una solución de quitosano. En resumen, un total de 6 tratamientos biológicos se llevaron a cabo en 2010, 5 en 2011 y 9 tratamientos biológicos en 2012 y 9 en 2013. Los tratamientos biológicos se complementaron con dos tratamientos químicos anuales de una combinación de Imidacloprid 20% (SL) con Clorpirifos 48% (EC).

Hay que tener en cuenta que El Jardín Botánico está físicamente situado dentro de la ciudad de Valencia, por lo que a la hora de estudiar el jardín es necesario tener en cuenta la evolución de la plaga en la propia ciudad, que ha ido en aumento desde la primera detección en la ciudad en 2007.

Un total de 8 palmeras, en su mayoría *P. canariensis*, han sido infestadas por la plaga, desde que comenzaron los trabajos en 2008. De estas 8 palmeras, 3 han sufrido reinfestaciones y 2 no se pudieron salvar: una *P. sylvestris* que sufrió un ataque en su zona basal, zona que no estaba recibiendo tratamientos y en la que no fue posible la detección temprana mediante la vigilancia intensiva,; y una *P. canariensis*, en la que a pesar de los esfuerzos realizados mediante la vigilancia intensiva, los tratamientos insecticidas y la cirugía vegetal no fue posible salvar. En resumen, se produjeron 2 infestaciones en 2011, 4 en 2012 (una de ellas reinfestación), 4 en 2013 (dos de ellas reinfestaciones), 1 en 2014 hasta el mes de Julio. De los 79 individuos *Phoenix* que se están tratando en el jardín, estos resultados representan unas incidencias anuales para el género *Phoenix* del 2,53% en 2011, del 5,06% en 2012, también un 5,06% en 2013 y del 1,26% en lo que va de año 2014 (hasta julio 2014).

En cuanto al análisis de las publicaciones previas sobre el uso de nematodos con quitosano, los ensayos de laboratorio y de semi-campo utilizando la combinación de *S. carpocapsae* con quitosano mostraron eficacias entre el 80 y 98% en los ensayos curativos y preventivos, en *P. canariensis* (Llacer *et al.*, 2009). Otros ensayos de campo recientes, de un año de duración en *P. canariensis*, mostraron eficacias que variaron desde 83,8 hasta 99,7%, y resultaron en un aumento significativo de la supervivencia de palmeras en comparación con el control sin tratar, cuando se utilizó, con una frecuencia mensual, esta combinación de nematodos entomopatógenos con quitosano (Dembilio *et al.*, 2010). No sólo se han obtenido buenos resultados en *P. canariensis*, con aplicaciones de esta combinación, sino que también se logró reducir la actividad de insectos ayudando a las palmeras a recuperarse en infestaciones tempranas en *P. theophrasti* (Dembilio *et al.*, 2011). Un ensayo llevado a cabo en *P. dactylifera* mostró también buenos resultados con la aplicación de esta combinación, donde se obtuvieron eficacias del 70 y 83% en los ensayos curativos y preventivos respectivamente (Gómez *et al.*, 2008).

Las eficacias obtenidas son muy elevadas, sobre todo en comparación con los insecticidas químicos que se utilizan contra esta plaga, (Azam y Razvi, 2001; Hernandez-Marante *et al.*, 2003; El-Sebaey, 2004; Kaakeh, 2006). Además estos resultados contrastan con los resultados inconsistentes obtenidos por Abbas *et al.* (2001) al utilizar los nematodos entomopatógenos en las palmas datileras. Una diferencia importante entre los experimentos de Abbas *et al.* (2001) y los que se resumen aquí es el uso de quitosano como un adyuvante. El quitosano protege a los nematodos de las condiciones ambientales adversas y por lo tanto, aumentan y estabilizan la eficacia en comparación con las formulaciones donde los nematodos se aplican sin quitosano, (Dembilio *et al.*, 2010). Así mismo, este producto a base de nematodos entomopatógenos y quitosano, está incluido en la Guía de Respuesta de nuevas plagas, picudo rojo, *Rhynchophorus ferrugineus* emitido por el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos, U.S.D.A (2010), donde dejan claramente reflejada la eficacia de esta combinación de nematodos con quitosano.

El producto probado en todos estos ensayos contiene *S. carpocapsae* y un adyuvante de quitosano. El quitosano es un producto biodegradable y orgánico, cuyo ingrediente activo la N-acetil-glucosamina, activa los mecanismos de defensa en las plantas (Hadwiger y Löschke, 1981), aumenta la respuesta de defensa contra las enfermedades fúngicas en las palmeras (El Hassini *et al.*, 2004; El Hadrami *et al.*, 1996), aumenta la lignificación y promueve el desarrollo de raíces (Ait Barka *et al.*, 2004). El uso de nematodos con quitosano está patentado, Martínez (2002) y hoy en día esta formulación de *S. carpocapsae* con quitosano está incluida en la lista de productos autorizados contra *R. ferrugineus* en España, en el apartado de Organismos de Control Biológico, como OCB 0119.

CONCLUSIONES

El nematodo *S. carpocapsae* mata de forma efectiva y previene las plagas. Gracias al film formado por el quitosano los nematodos van protegidos por un film que les permite resistir condiciones medioambientales adversas, como altas temperaturas y sequías mejor que otros nematodos. El hábitat natural de los nematodos es el suelo, así que este film permite su uso fuera de su hábitat en todos los meses del año en climas mediterráneos, incluyendo los meses de verano.

Todo este trabajo muestra que un protocolo correcto de tratamientos preventivos y curativos basados en *S. carpocapsae* en una solución de quitosano, junto con una vigilancia intensiva y el conocimiento de la plaga, pueden controlar de forma biológica y mantener a unos niveles aceptables la plaga del Picudo Rojo de las Palmeras en ciudades, parques, jardines, etc., de acuerdo al vigente R.D. 1311/2012, de uso sostenible de productos fitosanitarios

Agradecimientos

Los autores queremos mostrar nuestro agradecimiento al personal de la Consejería de Medio Ambiente, Servicios Comunitarios y Barriadas de la ciudad autónoma de Ceuta, al personal del Jardín Botánico de Valencia y al Departamento de Parques y Jardines del Ayuntamiento de Valencia.

Referencias

- Abbas MST., Hanounik SB., Mousa SA., Mansour MI., 2001a - On the pathogenicity of *Steinernema abbasi* and *Heterorhabditis indicus* isolated from adult *Rhynchophorus ferrugineus* (Coleoptera). Int. J. Nematol. 11:69–72.
- Abbas MST., Saleh MME., Akil AM., 2001b - Laboratory and field evaluation of the pathogenicity of entomopathogenic nematodes to the red palm weevil, *Rhynchophorus ferrugineus* (Oliv.) (Col.: Curculionidae). J. Pest. Sci. 74:167–168.
- Ait Barka E., Eullaffroy P., Clément C and Vernet G., 2004 - Chitosan improves development, and protects *Vitis vinifera* L. against *Botrytis cinerea*. *Plant Cell Rep* 22:608–614.
- Azam KM. and Razvi SA., 2001- Control of red palm weevil, *Rhynchophorus ferrugineus* Oliver, using prophylactic spraying of date palms and trunk injection. Proc 2nd Internat. Conf. Date Palms, Al-Ain, UAE, March 2001, pp. 216–222.
- Dembilio O., Llacer E., Martínez de Altube M.M Jacas JA., 2010 - Field efficacy of imidacloprid and *Steinernema carpocapsae* in a chitosan formulation against the red palm weevil *Rhynchophorus ferrugineus* (Coleoptera: Curculionidae) in *Phoenix canariensis*. Pest Manag. Sci. 66, 365- 370.
- Dembilio O., Karamaouna F., Kontodimas D.C., Nomikou M., Jacas J.A., 2011 – Short communication. Susceptibility of *Phoenix theophrasti* (Palmae: Coryphoideae) to *Rhynchophorus ferrugineus* (Coleoptera: Curculionidae) and its control using *Steinernema carpocapsae* in a chitosan formulation. Spain. J. Agric. Res. 9 (2), 0-0.
- Ehlers RU., 2003 - Entomopathogenic nematodes in the European biocontrol market. Commun Agric. Appl. Biol. Sci. 68:3–16.
- Elawad SA., Mousa SA., Shahdad AS., Alawaash SA., Alamiri AMA., 2007 - Efficacy of entomopathogenic nematodes against red palm weevil in UAE. Acta Hort. 736: 415–420.
- El Hadrami I., Ramos T., Macheix J.J., 1996 – Caracterisation de nouveaux derives hydroxycinnamiques amines chez *Phoenix dactylifera* L. relation avec le brunissement des tissue et in resistance des cultivars au bayond. Poliphenols communications 2 :341- 342.
- El Hassini M., El Hadrami A., Daayf F., Ait Birla E., El Hadrami I., Chitosan, antifungal product against *Fusarium oxysporum f.sp.albedinis* and elicitor of defense reactions in date palm roots. Phytopathol. Mediterr. 43:195-204
- El-Sebaey Y., 2004 - Field evaluation of certain insecticides against red palm weevil *Rhynchophorus ferrugineus* Oliv. (Coleoptera; Curculionidae) in Egypt. Egypt J. Agric. Res. 82:1591–1598.
- Faleiro JR., 2006 - A review on the issues and management of red palm weevil *Rhynchophorus ferrugineus* (Coleoptera: Rhynchophoridae) in coconut and date palm during the last one hundred years. Internat. J. Trop. Insect. Sci. 26:135–154.
- Gómez S., Muñoz C., Ferry M., Martínez MM., 2008 – Comunicación Primeros resultados sobre el uso de *Steinernema carpocapsae* (Rhabditida: Steinernematidae) asociado a quitosano para el control de *Rhynchophorus ferrugineus*, Olivier en palmeras datileras. Bol. San. Veg. Plagas, 34: 147-149.

- Hadwiger LA. and Loschke DC. 1981 -, Molecular communication in host–parasite interactions: hexosamine polymers (chitosan) as regulator compounds in race-specific and other interactions. *Phytopathology* 71:756–762.
- Hernández-Marante D., Folk F., Sánchez A., and Fernández-Escobar R., 2003 - Control del curculiónido ferruginoso de las palmeras (*Rhynchophorus ferrugineus* Olivier) mediante inyecciones al tronco y pulverización foliar. *Bol. San. Veg. Plagas* 29:563–574.
- Kaakeh W., 2006 - Toxicity of imidacloprid to developmental stages of *Rhynchophorus ferrugineus* (Curculionidae: Coleoptera): laboratory and field tests. *Crop. Prot.* 25:432–439.
- Llácer E., Martínez de Altube MM., and Jacas JA., 2009 - Evaluation of the efficacy of *Steinernema carpocapsae* in a chitosan formulation against the red palm weevil, *Rhynchophorus ferrugineus*, in *Phoenix canariensis*. *BioControl* 54:559–565.
- Martínez Peña A., 2002 Biological pesticide based on chitosan and entomopathogenic nematodes. WO Patent 037966.
- New Pest Response Guidelines- 2010 Red Palm weevil *Rhynchophorus ferrugineus* http://www.aphis.usda.gov/import_export/plants/manuals/emergency/downloads/nprg-redpalmweevil.pdf
- OEPP/EPPO 2008 - Data sheets on quarantine pests *Rhynchophorus ferrugineus*. *Bull OEPP/EPPO Bull* 38:55–59.
- Saleh MME., Alheji M., 2003 - Biological control of red palm weevil with entomopathogenic nematodes in the eastern province of Saudi Arabia. *Egypt J. Biol. Pest. Control.* 13:55–59.