

## Investigaciones sobre la detección, difusión natural y control del enrollamiento clorótico del albaricoquero\*

G. LLACER, V. MEDINA y D. ARCHELOS

Se ha aplicado la técnica de la tinción con el fluorocromo DAPI (4'-6-diamidino-2-fenilindol) a la detección de organismos del tipo micoplasma («mycoplasma-like organisms» o MLOs) y al seguimiento, a lo largo de un año, de la distribución de MLOs en albaricoqueros enfermos de enrollamiento clorótico («apricot chlorotic leaf roll» o ACLR). Los resultados obtenidos confirman la poca fiabilidad de esta técnica para la detección precoz de micoplasmosis en árboles frutales, a causa de la baja concentración e irregular distribución de MLOs dentro de los árboles enfermos. En cambio, la tinción con DAPI es útil para la observación a lo largo del año de la distribución de MLOs en diferentes partes de los árboles infectados por ACLR. A lo largo del invierno y la primavera, los MLOs fueron detectados solamente en las raíces y en los ramos formados el año anterior. La presencia de MLOs en los nuevos brotes no pudo ser detectada hasta el principio del verano.

En trabajos previos se observaron grandes variaciones en la difusión natural del ACLR, incluso entre áreas próximas de la misma provincia de Valencia. Las investigaciones efectuadas ahora sobre las poblaciones de cicadélidos han mostrado que tanto el número de especies como el de individuos capturados son superiores en un área con una importante difusión natural del ACLR que en otra zona donde la difusión de la enfermedad es prácticamente nula. Las diferencias entre los cicadélidos capturados en estas dos áreas han proporcionado indicaciones acerca de las especies que tienen más probabilidades de ser vectores del ACLR. Se ha estudiado también, durante tres años, la influencia de tratamientos insecticidas y herbicidas sobre la difusión natural del ACLR en una plantación de albaricoqueros. En la mitad de la plantación que se dejó sin tratar, el número de cicadélidos capturados, así como el de nuevos árboles con síntomas de ACLR fue mayor que en la parte de la plantación que había sido tratada.

G. LLACER, V. MEDINA y D. ARCHELOS. Departamento Protección de los vegetales. IVIA. Generalidad Valenciana.

### INTRODUCCION

El enrollamiento clorótico del albaricoque («apricot chlorotic leaf roll» o ACLR) es una enfermedad atribuida inicialmente a virus (MORVAN, 1957) y más tarde asociada a la presencia de organismos del tipo micoplasma («mycoplasma-like organisms» o MLOs) en los vasos liberianos de los árboles enfermos (MORVAN *et al.*, 1973). El ACLR afecta a albaricoqueros (figura 1), ciruelos japoneses y, más raramente, a melocotoneros, produciendo con frecuencia el decai-



Fig. 1.—Síntomas de enrollamiento clorótico de hojas en albaricoquero.

\* Trabajo presentado al «Premio Jorge Pastor 1985».



Fig. 2.—Decaimiento de un albaricoquero con síntomas de ACLR.

miento y la muerte de los árboles infectados (figura 2). La expresión y evolución de síntomas en las tres especies frutales vienen determinadas, fundamentalmente, por el tipo de patrón utilizado en cada caso (LLACER, 1978).

El ACLR ha sido descrito de una forma clara en unos pocos países ribereños o próximos al mediterráneo: Francia, España, Italia, Suiza, Grecia, Rumanía y Yugoslavia. La importancia económica de esta enfermedad es muy variable de unas zonas a otras. En Francia, por ejemplo, alrededor del 80% de los albaricoqueros que mueren en las regiones de Lyon y Perpignan lo hacen a causa del ACLR. En cambio, en la región de Avignon, el ACLR es sólo responsable del 30% de las muertes en albaricoquero (MORVAN, 1977). En España, el ACLR fue identificado por primera vez en la región del Ebro (LLACER, 1972), aunque mucho antes SALA (1935) había descrito los síntomas en Cataluña. Luego fue estudiado en las regiones de Valencia y Murcia (SÁNCHEZ-CAPUCHINO *et al.*, 1973; SÁNCHEZ-CAPUCHINO y FORNER, 1973; FORNER, 1979). La máxima incidencia de la enfermedad se encuentra en algunas zonas de las provincias de Valencia y Castellón (áreas de secano y nuevos regadíos de la zona media). En Murcia, la incidencia del ACLR es prácticamente nula. En los valles del Ebro y del Llobregat la impor-

tancia del ACLR es baja o moderada (LLACER *et al.*, 1982).

La detección precoz del ACLR presenta problemas similares a los de otras micoplasmosis frutales. Los síntomas invernales (desarreglos vegetativos, figura 3), son muy específicos y su observación es suficiente para los estudios epidemiológicos, pero no para el control de la enfermedad mediante el arranque sistemático de los árboles que empiezan a mostrar desarreglos (SÁNCHEZ-CAPUCHINO *et al.*, 1981). La transmisión por injerto del ACLR tiene lugar en porcentajes bastante bajos y no se conocen indicadores adecuados, a pesar de los trabajos de MORVAN (1968). La microscopía electrónica permite determinar la presencia de MLOs en los tubos cribosos (MORVAN *et al.*, 1973; GOIDANICH *et al.*, 1980; PLOAIE, 1981), pero es un método lento y costoso, imposible de aplicar en gran escala. Durante los últimos años han sido descritas varias técnicas de tinción con colorantes específicos del ADN, lo que permite una detección rápida y simple de MLOs utilizando un microscopio óptico normal o de fluorescencia (SEMULLER, 1976; CAZELLES, 1978; DELEY *et al.*, 1979; MARWITZ y PETZOLD, 1980). De estas técnicas, la más empleada ha sido la tinción con el fluorocromo DAPI (4'-6-diamidino-2-fenilindol). SCHAPER (1979 y 1981) la utilizó para estu-



Fig. 3.—Desarreglos vegetativos (brotación de hojas en pleno invierno antes de la floración) en albaricoqueros infectados por ACLR.

diar los cambios estacionales en la presencia de MLOs en diferentes partes de árboles enfermos de «pear decline» o «apple proliferation». DOSBA y LANSAC (1982) la emplearon para la detección de MLOs en varias especies frutales.

El ACLR se difunde de una forma natural en las plantaciones. Los estudios epidemiológicos realizados en Valencia (agrupamiento en rodales de árboles enfermos, efecto de las lindes, etc., SÁNCHEZ-CAPUCHINO *et al.*, 1976) indican que el vector o los vectores de transmisión deben ser insectos cicadélidos (*Homoptera, Cicadellidae*), al igual que sucede con otras micoplasmosis de vector conocido. No ha podido establecerse todavía qué especies de cicadélidos son responsables de la difusión natural del ACLR. Hasta ahora se han estudiado las poblaciones de cicadélidos existentes en plantaciones frutales de Valencia y Murcia (MEDINA *et al.*, 1981 a) y se han puesto de manifiesto grandes diferencias en la difusión natural del ACLR, incluso entre dos áreas próximas de la misma provincia de Valencia (LLACER *et al.*, 1982).

En los últimos diez años se han ensayado en Valencia diversos métodos de control del ACLR con resultados poco satisfactorios. Las inyecciones de tetraciclina produjeron únicamente una corta remisión temporal de los síntomas de la enfermedad (LLACER *et al.*, 1976 y 1977), mientras que el arranque sistemático de los árboles con desarreglos vegetativos no fue suficiente para impedir la difusión de la misma durante el período 1976-1981 (SÁNCHEZ-CAPUCHINO *et al.*, 1981). La causa de este fallo en los intentos de erradicación del ACLR puede encontrarse en un período de incubación demasiado largo, en la existencia de huéspedes alternativos entre la vegetación herbácea espontánea o en ambos factores a la vez.

En consecuencia de todo lo expuesto, los objetivos del presente trabajo eran los siguientes:

— Determinar la fiabilidad de la tinción con DAPI para una detección precoz del ACLR, antes de la aparición de los primeros síntomas.

— Estudiar los cambios a lo largo del año en la distribución de MLOs dentro de los árboles enfermos.

— Comprobar si las diferencias en la difusión natural del ACLR se correspondían con diferencias apreciables en las poblaciones de cicadélidos de dos áreas concretas.

— Investigar el efecto de tratamientos insecticidas y herbicidas en la población de cicadélidos y en la difusión natural de la enfermedad.

## MATERIALES Y METODOS

Para determinar la fiabilidad de la tinción con DAPI, al final del invierno 1984-85 se tomaron al azar diez ramos por árbol de los albaricoqueros siguientes:

— Cinco árboles con síntomas muy claros de ACLR (desarreglos vegetativos fuertes y generalizados por toda la copa).

— Cinco árboles con los primeros síntomas de ACLR (desarreglos vegetativos muy ligeros y localizados).

— Cinco árboles sin síntomas de ACLR, aunque situados al lado de árboles con síntomas (posibilidad de infección latente).

Para el estudio de los cambios estacionales en la distribución de MLOs, a lo largo de todo un año se tomaron mensualmente muestras de raíces, ramas y brotes de árboles enfermos de ACLR. Durante el período de crecimiento activo, las muestras de brotes incluían siempre parte del ramo crecido el año anterior. Todos los árboles mencionados hasta ahora eran albaricoqueros de la variedad Canino, injertados sobre albaricoquero de semilla.

De cada una de las muestras de ramos, brotes y raíces se cortó transversalmente un trozo de 5 mm. de longitud. Luego, cada

trozo se cortó longitudinalmente con un microtomo de congelación. Las secciones, de 10 a 20  $\mu$  de espesor, se sumergieron en una solución de DAPI de 1 mg./litro durante 10-20 minutos. La observación de las secciones se realizó con luz ultravioleta, utilizando un microscopio de fluorescencia Leitz-Orthoplan, un iluminador Ploemopak 2.2 y un filtro violeta BG 3.

Para confirmar que la fluorescencia observada en el interior de los tubos cribosos correspondía a la presencia de MLOs, secciones ultrafinas de muestras positivas con la tinción DAPI fueron también observadas con un microscopio electrónico Jeol JEM 100S, después de efectuar la fijación con glutaraldehído 4% en tampón cacodilato de sodio (pH 7,5; 2 horas), la postfijación con

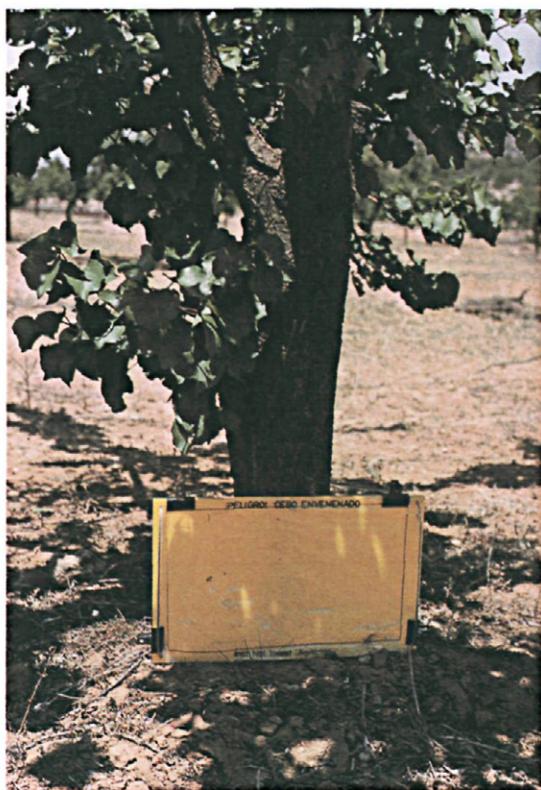


Fig. 4.—Cebos adhesivos para la captura de cicadélidos situado en el suelo, al pie de un albaricoquero.

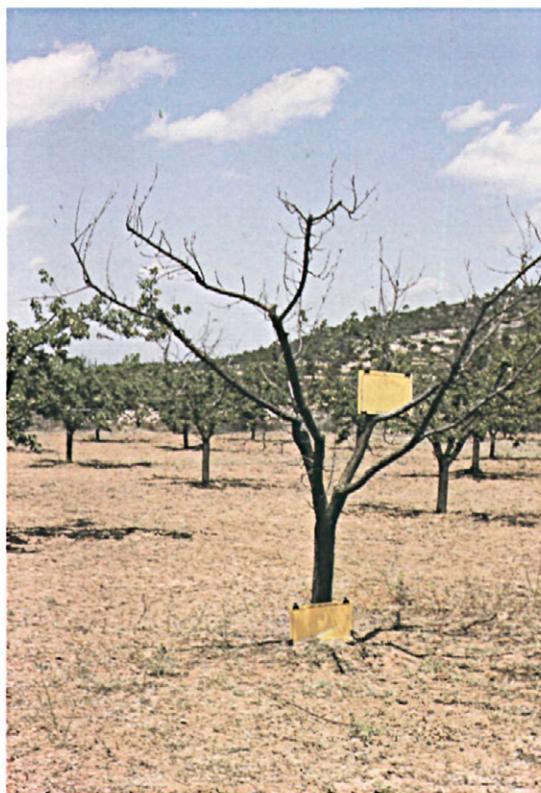


Fig. 5.—Cebos adhesivos amarillos para la captura de cicadélidos en dos niveles distintos (suelo y copa).

tetróxido de osmio 2% en tampón veronal acetato (pH 7,3-7,5, 2 horas), la deshidratación a través de una serie de concentración creciente de acetona, la tinción con acetato de uranilo 1% durante la fase de acetona 70% y, finalmente, la inclusión en Durcupan.

Para comprobar si las diferencias en la difusión natural del ACLR se correspondían con diferencias apreciables en las poblaciones de cicadélidos, se escogieron dos plantaciones de albaricoquero Canino injertado sobre albaricoquero de semilla. La primera plantación, ya descrita por SÁNCHEZ-CAPUCHINO *et al.* (1981), estaba situada en Liria (Valencia), en una zona de secano con una importante difusión natural del ACLR. La segunda plantación estaba situada en Carlet (Valencia), a unos 50 km. de la primera, en



Fig. 6.—Cebos adhesivos amarillos para la captura de cicadélidos situado en el suelo, en una linde de la plantación.

una zona de regadío donde la difusión natural del ACLR es prácticamente nula. En esta zona se podían encontrar algunos árboles enfermos, muy pocos, pero sin progresión aparente. En cada una de estas plantaciones se colocaron, a principios de 1982, dos cebos adhesivos amarillos de 25×40 cm., cada uno atado a un tronco de árbol a nivel del suelo (figura 4). Durante 1983 y 1984 se colocaron cuatro cebos más, idénticos a los anteriores, en cada plantación: dos colgados de las copas de los árboles, a 1,80 m. de altura (figura 5), y los otros dos en el suelo, en las lindes de la plantación (figura 6). Cada mes se reemplazaron todos los cebos y los cicadélidos capturados se identificaron y contaron. La identificación de las especies se llevó a cabo mediante el examen a la lupa binocular de la armadura genital de los machos y otros caracteres morfológicos externos. Se siguieron los criterios taxonómicos de RIBAUT (1936 y 1952) y la sistemática adoptada ha sido la de NAST (1972). Los cebos adhesivos amarillos como método de captura de cicadélidos fueron ya utilizados satisfactoriamente en un trabajo anterior (MEDINA *et al.*, 1981 a) y sus ventajas sobre otros métodos de muestreo han sido expuestas por PURCELL y ELKINTON (1980).

Para estudiar el efecto de tratamientos insecticidas y herbicidas, se escogió otra

plantación de Canino/albaricoquero de semilla situada en Bugarra (Valencia), en una zona de secano con una difusión natural del ACLR similar a la de Liria. La plantación se efectuó en el invierno 1970-71 y tenía, inicialmente, 424 árboles a un marco de 6,25×6,25 m. En el invierno 1981-82, 20% de los árboles iniciales habían muerto por causas diversas y 11 árboles, distribuidos por toda la plantación, presentaban síntomas de ACLR (desarreglos vegetativos). Esta parcela se dividió en dos partes casi iguales (figura 7). Una de estas partes se trató con el insecticida diazinón, a razón de 3 aplicaciones

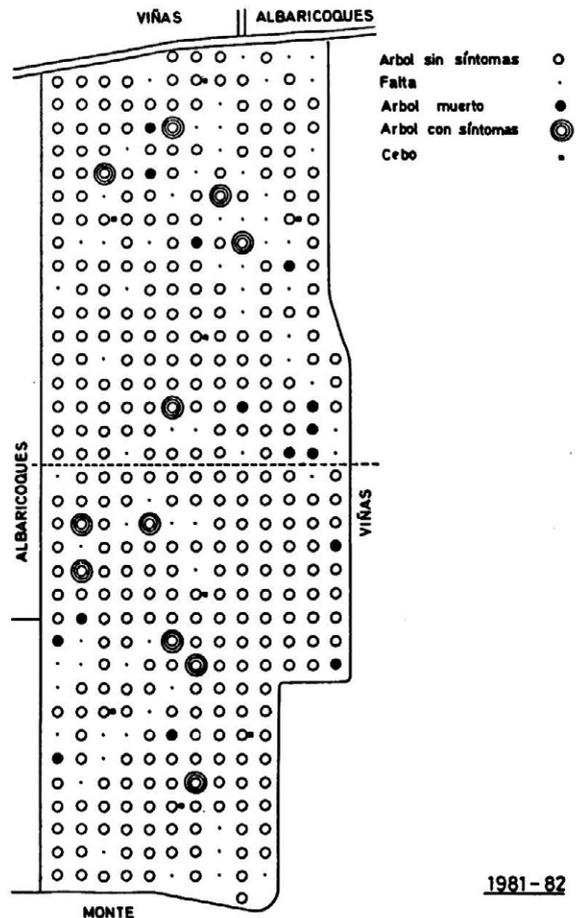


Fig. 7.—Croquis de la plantación de albaricoqueros de Bugarra (Valencia), donde se ha estudiado el efecto de tratamientos insecticidas y herbicidas.

1981-82



Fig. 8.—Aspecto de la plantación de albaricoqueros de Bugarra (Valencia), donde se aprecia la diferencia de vegetación herbácea entre la zona tratada y la no tratada.

anuales a lo largo de la primavera y el verano. En la primavera de 1982, la misma área se trató con el herbicida glifosato para eliminar la vegetación herbácea espontánea, manteniendo el suelo lo más limpio posible de malas hierbas durante el trienio 1982-84 (figura 8) mediante una combinación de labores mecánicas y aplicaciones del herbicida (rodajes más resistentes). En abril y septiembre de 1984, ante el creciente ataque de gusano cabezudo (*Capnodis tenebrionis* L.) que ha devastado las plantaciones de albaricoquero de secano en Valencia durante los últimos años, se efectuaron tratamientos con metil paratión a toda la parcela, en un intento de prolongar la vida de la planta-

ción y, en consecuencia, la duración de la experiencia. En cada una de las dos partes de la plantación se colocaron, al final del invierno 1982-83, 10 cebos adhesivos amarillos idénticos a los de Liria y Carlet: 4 colgados de las copas a 1,80 m. de altura, otros 4 al pie de los árboles y 2 en las lindes. En 1982 sólo se utilizaron los cebos situados al pie de los árboles. Todos los cebos se reemplazaron también cada mes. Al final de cada invierno se examinaron todos los árboles de la plantación para detectar aquéllos que mostraban síntomas de ACLR por primera vez.

## RESULTADOS Y DISCUSION

### Detección de organismos tipo micoplasma

Los resultados de la tinción con DAPI para la detección de MLOs en albaricoque-

Cuadro 1.—Detecciones positivas, negativas o dudosas de MLOs en ramos de albaricoqueros con y sin síntomas de ACLR, utilizando la técnica de la tinción con DAPI (final del invierno 1984-85).

Albaricoqueros	Nº de ramos analizados por árbol	Detecciones positivas	Detecciones dudosas	Detecciones negativas
<b>Con síntomas muy claros de ACLR</b>				
1	10	2	0	8
2	10	6	1	3
3	10	3	2	5
4	10	9	1	0
5	10	3	1	6
<b>Con síntomas ligeros de ACLR</b>				
1	10	0	1	9
2	10	0	0	10
3	10	3	1	6
4	10	1	1	8
5	10	0	1	9
<b>Sin síntomas de ACLR</b>				
1	10	0	4	6
2	10	0	4	6
3	10	0	0	10
4	10	4	2	4
5	10	0	2	8

ros con y sin síntomas de ACLR vienen expuestos en el cuadro 1. Las detecciones positivas y negativas corresponden a la presencia o ausencia, respectivamente, de puntos y áreas de fluorescencia blanca en los tubos cribosos de las secciones examinadas (figura 9). Las detecciones dudosas significan que el número de puntos fluorescentes era muy pequeño o que una fluorescencia difusa y amarillenta enmascaraba la posible presencia de áreas de fluorescencia blanca (figura 10). La aparición de una fluorescencia difusa y amarillenta puede ser debida a

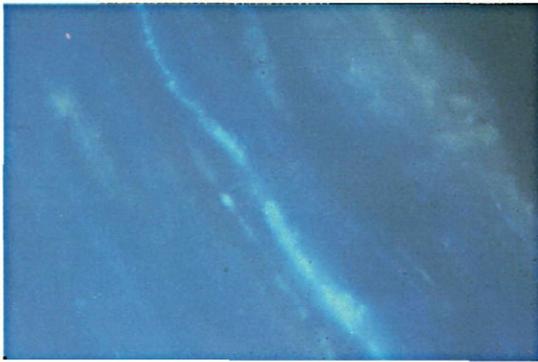


Fig. 9.—Sección longitudinal teñida con DAPI de un brote de albaricoquero con ACLR mostrando la fluorescencia blanca en los tubos cribosos (presencia de MLOs).

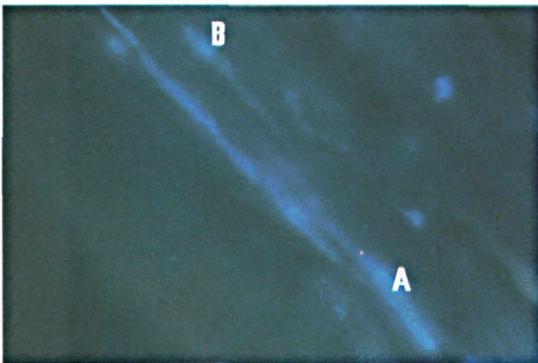


Fig. 10.—Sección longitudinal teñida con DAPI de una raíz de albaricoquero con ACLR mostrando (a) un tubo criboso con fluorescencia blanca (presencia de MLOs) y (b) un tubo criboso con fluorescencia amarillenta (tubo no funcional).

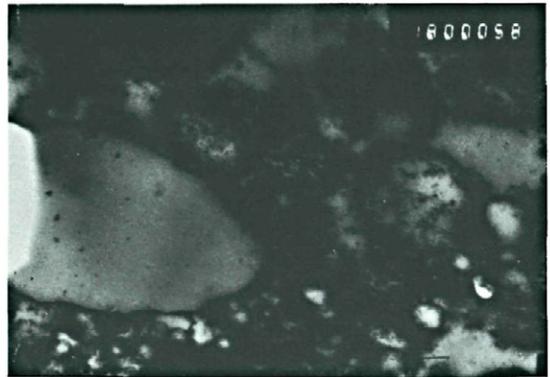
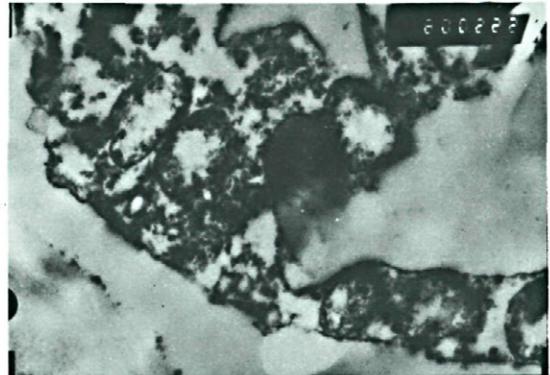


Fig. 11.—Microfotografías electrónicas de MLOs dentro de tubos cribosos de albaricoqueros con ACLR (muestras positivas en la tinción con DAPI).

depósitos de callosa en los tubos cribosos lesionados o no funcionales (SHIMOMURA y DIJKSTRA, 1975). La relación entre áreas de fluorescencia blanca y presencia de MLOs fue confirmada por microscopía electrónica (figura 11).

Los resultados del cuadro 1 indican la poca fiabilidad de la tinción con DAPI para una detección precoz del ACLR. Incluso en los árboles con síntomas muy claros de la enfermedad, el número de secciones donde los MLOs no se detectaron fue a menudo superior que el de secciones positivas. De los 5 árboles con síntomas ligeros, sólo 2 presentaron algunos ramos (3 sobre 10 y 1 sobre 10), donde podían detectarse MLOs. En un caso, la presencia de MLOs pudo ponerse de manifiesto antes de la aparición

de los primeros síntomas de ACLR. Estos resultados concuerdan con los obtenidos en la detección de MLOs en manzanos enfermos de «apple proliferation» (datos no publicados) y están de acuerdo con las conclusiones expuestas por DOSBA y LANSAC (1982), que atribuyeron dicha falta de fiabilidad a la irregular distribución de los MLOs dentro de los árboles enfermos. De hecho, en un trabajo anterior (MEDINA *et al.*, 1981 b), la tinción con DAPI se reveló como una técnica muy fiable para la detección de MLOs en plantas de *Vinca rosea* L., donde la repartición de estos organismos es mucho más regular y su concentración muy superior. En los árboles frutales, la tinción con DAPI encuentra su mayor utilidad como paso previo a los trabajos de microscopía electrónica, ya que por su rapidez y bajo coste permite seleccionar las muestras con mayores probabilidades de ser positivas.

El estudio de las fluctuaciones en la distribución de MLOs dentro de albaricoqueros afectados por ACLR proporcionó resultados muy erráticos, debidos probablemente al decaimiento de los árboles enfermos que impidió utilizar los mismos árboles a lo largo de todo un año. Algunos de los árboles elegidos inicialmente murieron en el transcurso del año o mostraron un crecimiento tan pobre que no permitía tomar cada mes el número mínimo de muestras necesario. Otros árboles tenían una gran cantidad de tubos cribosos no funcionales, a juzgar por la fluorescencia difusa y amarillenta que presentaron. No obstante, la detección de MLOs en raíces y en los ramos formados durante el período vegetativo anterior fue posible a lo largo de todo el año, aunque el porcentaje de muestras positivas varió mucho de unos árboles a otros y de unas épocas a otras. En los brotes que estaban en pleno crecimiento, la presencia de MLOs no pudo detectarse hasta principios del verano. Parece como si los MLOs invadieran cada año los nuevos brotes con unos

meses de retraso respecto a su crecimiento. Estos resultados recuerdan a los obtenidos por SCHAPER (1979) en Alemania al estudiar los cambios estacionales en la distribución de los MLOs asociados a otras micoplasmosis frutales. En perales enfermos de «pear decline», la presencia de MLOs disminuía en toda la parte aérea al empezar el invierno, llegando a desaparecer por completo de la copa en el mes de febrero. En esa época, sólo podían detectarse MLOs en las raíces. En la parte aérea no reaparecía la fluorescencia debida a los MLOs hasta el mes de julio, aumentando progresivamente a lo largo del verano y el otoño, para volver a disminuir a comienzos del invierno. La reinvasión de la copa de los árboles se produciría, por tanto, a partir de las raíces. En manzanos enfermos de «apple proliferation» se produjo una evolución similar, pero los MLOs no desaparecieron totalmente de la parte aérea durante el invierno. Este parece ser también el caso del ACLR, ya que en nuestro estudio se pudieron detectar MLOs en algunos ramos a lo largo de todo el invierno y la primavera. La invasión de los nuevos brotes a principios de verano no dependería exclusivamente de las raíces, como en el caso del «pear decline», sino que se produciría también a partir de ramos formados el año anterior.

#### **Relación entre difusión natural y cicadélidos capturados**

En el cuadro 2, figura la relación completa de las 60 especies de cicadélidos capturados a lo largo de todo el trabajo, con indicación de las localidades, situación de los cebos y años en que dichas capturas han tenido lugar.

En el cuadro 3 se expone la comparación entre el número de cicadélidos capturados en un área con una importante difusión natural del ACLR (Liria) y otra donde dicha



	Localidad	1982		1983		1984			Total
		su	su	co	li	su	co	li	
Subfamilia <i>Dorycephalinae</i> OMAN, 1943									
Género <i>Paradorydium</i> KIRKALDY, 1901:									
<i>Paradorydium paradoxum</i> (HERRICH-SCHAFFER, 1837) .....									
	B	2	—	—	1	—	—	—	3
	L	1	—	—	—	—	—	—	1
	C	—	—	—	—	—	—	—	—
Género <i>Eupelix</i> GERMAR, 1821:									
<i>Eupelix cuspidata</i> (FABRICIUS, 1775) ..									
	B	—	—	1	—	—	—	—	1
	L	—	—	—	—	—	—	—	—
	C	—	—	—	—	—	—	—	—
Subfamilia <i>Hecalinae</i> DISTANT, 1908									
Género <i>Hecalus</i> STAL, 1864:									
<i>Hecalus storai</i> (LINDBERG, 1957) .....									
	B	—	2	1	4	—	—	1	8
	L	10	—	1	1	—	—	1	13
	C	—	—	—	—	—	—	—	—
Subfamilia <i>Aphrodinae</i> HAUPT, 1927									
Género <i>Aphrodes</i> CURTIS, 1833:									
<i>Aphrodes carinatus</i> (STAL, 1864) .....									
	B	—	10	2	—	5	1	—	18
	L	—	—	—	1	—	—	—	1
	C	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Aphrodes histrionicus</i> (FABRICIUS, 1794)									
	B	—	—	—	—	—	—	—	—
	L	—	—	—	—	—	—	—	—
	C	—	—	—	1	—	—	—	1
Subfamilia <i>Stegelytrinae</i> BAKER, 1915									
Género <i>Stegelytra</i> MULSANT ET REY, 1855:									
<i>Stegelytra putoni</i> MULSANT ET REY, 1875									
	B	—	—	—	—	—	—	—	—
	L	—	—	—	1	—	—	—	1
	C	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Stegelytra alticeps</i> MULSANT ET REY 1855									
	B	—	1	—	—	—	—	—	1
	L	—	—	—	—	—	—	—	—
	C	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Stegelytra gavoyi</i> RIBAUT, 1852 .....									
	B	—	—	—	1	—	—	—	1
	L	—	—	—	—	—	—	—	—
	C	—	—	—	—	—	—	—	—
Subfamilia <i>Typhlocybinae</i> KIRSCHBAUM, 1868									
Tribu <i>Empoascini</i> DISTANT, 1908									
Género <i>Empoasca</i> WALSH, 1862:									
<i>Empoasca alsiosa</i> RIBAUT, 1933 .....									
	B	1.014	11.212	21.357	6.318	1.431	2.385	1.230	44.947
<i>Empoasca decedens</i> PAOLI, 1932 .....									
<i>Empoasca decipiens</i> PAOLI, 1930 .....									
<i>Empoasca solani</i> (CURTIS, 1846) .....									
	L	734	184	495	131	370	340	218	2.472
<i>Empoasca vitis</i> (GOTHE, 1875) .....									
Género <i>Austroasca</i> LOWER, 1952:									
Subgénero <i>Austroasca</i> LOWER, 1952:									
<i>Austroasca (Jacobiasca) lybica</i> (BERGEVIN ET ZANON, 1922) .....									
	C	18	93	26	5	363	617	65	1.187

	Lo- cali- dad	1982		1983		1984			Total
		su	su	co	li	su	co	li	
<b>Género <i>Chlorita</i> FIEBER, 1872:</b>									
<i>Chlorita maritima</i> (RIBAUT, 1933) ...	B	8	3	1	37	5	—	17	71
	L	12	1	—	5	1	—	1	20
	C	—	—	—	—	—	—	—	—
<b>Tribu <i>Typholocybini</i> KIRSCHBAUM, 1868</b>									
<b>Género <i>Edwardsiana</i> ZACHVATKIN, 1929:</b>									
<i>Edwardsiana frustalor</i> (EDWARDS, 1908) .....	B	2	—	—	—	—	—	—	2
	L	—	—	—	—	—	—	—	—
	C	—	—	—	—	—	—	—	—
<b>Género <i>Ficocyba</i> VIDANO, 1960:</b>									
<i>Ficocyba ficaria</i> (HORVATH, 1897) ...	B	—	—	2	173	—	—	105	280
	L	—	1	1	1	—	—	1	4
	C	—	—	—	—	2	6	—	8
<b>Género <i>Ribautiana</i> ZACHVARTKIN, 1947:</b>									
<i>Ribautiana cruciata</i> (RIBAUT, 1931) .	B	—	1	—	—	1	1	—	3
	L	—	—	3	1	—	—	—	4
	C	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Ribautiana debilis</i> (DOUGLAS, 1876) .	B	—	—	—	—	—	—	—	—
	L	1	—	—	—	—	—	—	1
	C	7	1	3	—	—	2	—	13
<i>Ribautiana ulmi</i> (LINNAEUS, 1758) ...	B	—	—	—	—	—	—	—	—
	L	—	—	—	1	—	—	—	1
	C	—	—	—	—	—	—	—	—
<b>Género <i>Eupteryx</i> CURTIS, 1833:</b>									
<i>Eupteryx rostrata</i> RIBAUT, 1936 .....	B	14	3	1	—	5	1	2	26
	L	3	1	—	2	—	—	—	6
	C	—	—	—	—	1	—	—	1
<b>Tribu <i>Erythroneurini</i> YOUNG, 1952</b>									
<b>Género <i>Hauptidia</i> DWORAKOWSKA, 1970:</b>									
<b>Subgénero <i>Hauptidia</i> DWORAKOWSKA, 1970:</b>									
<i>Hauptidia (Hauptidia) marocanna</i> (MELICHAR, 1907) .....	B	2	5	1	—	2	—	—	11
	L	1	4	—	—	2	—	1	7
	C	1	—	—	—	—	—	—	1
<b>Género <i>Zyginidia</i> HAUPT, 1929:</b>									
<b>Subgénero <i>Zyginidia</i> HAUPT, 1929:</b>									
<i>Zyginidia (Zyginidia) scutellaris</i> (HE- RRICHZ-SCHAFFER, 1838) .....	B	98	133	64	55	148	56	69	623
	L	466	229	48	629	144	24	239	1.747
	C	91	61	—	5	75	1	15	248
<b>Género <i>Zygina</i> FIEBER, 1866:</b>									
<b>Subgénero <i>Zygina</i> FIEBER, 1866:</b>									
<i>Zygina (Zygina) flammigera</i> FOUR- CROY, 1785) .....	B	200	83	354	27	21	55	8	736
	L	50	43	195	16	11	9	3	327
	C	16	10	2	1	2	—	—	31

	Localidad	1982		1983		1984			Total
		su	su	co	li	su	co	li	
<i>Zygina (Zygina) nivea</i> Mulsant et Rey, 1855) .....									
	B	6	—	—	5	—	—	3	14
	L	6	1	1	—	—	—	1	9
	C	4	—	1	—	—	2	—	7
Género <i>Frutoidia</i> ZACHVARTKIN, 1946: Subgénero <i>Frutoidia</i> ZACHVATKIN, 1946: <i>Frutoidia (Frutoidia) bisignata</i> (Mulsant et Rey, 1855) .....									
	B	68	94	167	24	124	167	34	678
	L	63	38	123	40	32	38	19	353
	C	51	39	46	—	35	43	2	216
Subfamilia <i>Deltocephalinae</i> FIEBER, 1869 Tribu <i>Grypotini</i> EVANS, 1947 Género <i>Grypotes</i> FIEBER, 1866: <i>Grypotes staurus</i> IVANOFF, 1885 .....									
	B	30	493	550	509	163	99	176	2.020
	L	16	28	22	17	21	31	1	136
	C	14	1	2	1	1	—	—	19
Tribu <i>Gomiagnathini</i> WAGNER, 1951 Género <i>Gomiagnathus</i> FIEBER, 1866: <i>Gomiagnathus guttulinervis</i> (KIRSCH- BAUM, 1868) .....									
	B	2	1	—	1	2	—	1	8
	L	2	—	—	—	—	—	—	2
	C	—	—	—	—	—	—	—	—
Tribu <i>Opsiini</i> EMELJANOV, 1962 Género <i>Nealiturus</i> DISTANT, 1918: <i>Nealiturus alboguttatus</i> (LETHIERRY, 1874) .....									
	B	4	—	3	—	—	—	—	7
	L	—	—	—	—	—	—	—	—
	C	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Nealiturus fenestratus</i> (HERRICH- SCHAEFFER, 1834) .....									
	B	22	147	474	413	160	851	497	2.977
	L	21	22	66	18	2	15	6	150
	C	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Nealiturus haematoceps</i> (Mulsant et Rey, 1855) .....									
	B	1.442	937	255	1.222	542	145	596	5.139
	L	31	614	57	67	136	18	21	944
	C	4	9	2	2	—	—	—	17
Tribu <i>Macrostelini</i> KIRKALDY, 1906 Género <i>Irinula</i> RIBAUT, 1948: <i>Irinula erythrocephala</i> (FERRARI, 1882)									
	b	18	63	10	4	8	1	3	107
	L	—	4	—	3	—	—	—	7
	C	11	—	—	—	1	—	1	13
Género <i>Balclutha</i> KIRKALDY, 1900: <i>Balclutha punctata</i> (FABRICIUS, 1775) .									
	B	10	5	1	3	4	1	3	27
	L	67	4	—	21	1	—	4	97
	C	—	—	—	—	1	—	1	2
<i>Balclutha rosea</i> (SCOTT, 1876) .....									
	B	—	—	1	—	2	—	2	3
	L	1	—	—	7	—	—	—	8
	C	—	3	—	1	—	—	—	4



	Lo- cali- dad	1982		1983		1984			Total
		su	su	co	li	su	co	li	
Género <i>Hardya</i> EDWARDS, 1922:									
<i>Hardya tenuis</i> (GERMAR, 1821) .....	B	2	14	2	3	20	17	6	63
	L	5	7	1	2	15	3	4	37
	C	—	—	—	—	1	—	1	2
Género <i>Paluda</i> DELONG, 1937:									
<i>Paluda vitripennis</i> (FLOR, 1861) .....	B	—	1	—	—	—	—	—	1
	L	2	—	—	—	—	—	—	2
	C	—	—	—	—	—	—	—	—
Género <i>Euscelidius</i> RIBAUT, 1942:									
<i>Euscelidius variegatus</i> KIRSCHBAUM, 1853) .....	B	—	—	—	—	—	—	—	—
	L	—	6	—	—	2	—	1	9
	C	238	221	3	36	227	6	9	750
Género <i>Euscelis</i> BRULLE, 1832									
<i>Euscelis incisus</i> (KIRSCHBAUM, 1858) .	B	—	—	—	—	—	—	—	—
	L	1	—	—	—	—	—	—	1
	C	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Euscelis lineolatus</i> BRULLE, 1832 ....	B	6	4	—	7	5	—	2	24
	L	22	8	—	5	5	—	1	41
	C	1	—	—	—	—	—	—	1
Género <i>Psammotettix</i> HAUPT, 1929:									
<i>Psammotettix striatus</i> (LINNAEUS, 1758).	B	114	114	28	23	235	25	40	579
	L	197	43	11	42	37	5	46	381
	C	6	2	1	2	4	—	1	16
Género <i>Adarrus</i> RIBAUT, 1947:									
<i>Adarrus taurus</i> RIBAUT, 1952 .....	B	—	2	—	3	1	—	—	6
	L	—	—	1	1	—	—	—	2
	C	—	—	—	—	—	—	14	14
Género <i>Araldus</i> RIBAUT, 1946:									
<i>Araldus propinquus</i> (FIEBER, 1869) ..	B	—	—	—	1	—	—	—	1
	L	—	—	—	—	—	—	—	—
	C	—	—	—	—	—	—	—	—
Género <i>Enantiocephalus</i> HAUPT, 1926:									
<i>Enantiocephalus cornutus</i> (HERRICH-SCHAFFER, 1838) .....	B	—	—	—	—	—	—	—	—
	L	7	—	—	—	—	—	—	7
	C	—	—	—	—	—	—	—	—
Género <i>Proceps</i> MULSANT ET REY, 1855:									
<i>Proceps acicularis</i> KIRSCHBAUM, 1868).	B	2	—	—	1	6	—	2	11
	L	—	—	—	—	—	—	—	—
	C	—	—	—	—	—	—	—	—
ORDEN <i>Homoptera</i> LATREILLE, 1810									
Suborden <i>Auchenorrhyncha</i> DUMERIL, 1806									
Infraorden <i>Fulgoromorpha</i> EVANS, 1946									
Familia <i>Cixidae</i> SPINOLA, 1839									
Género <i>Hyalestes</i> SIGNORET, 1865:									

	Lo- cali- dad	1982		1983		1984		Total
		su	su	co	li	su	co	
<i>Hyalestes obsoletus</i> SIGNORET, 1865 .								
Género <i>Oliarus</i> STAL, 1862:								
<i>Oliarus panzeri</i> LOW, 1883 .....								
Familia <i>Delphacidae</i> LEACH, 1815								
Subfamilia <i>Criomorphinae</i> KIRKALDY, 1910								
Género <i>Toya</i> DISTANT, 1906:								
<i>Toya propinqua</i> (FIEBER, 1866) .....								
Género <i>Laodelphax</i> FENNAH, 1963:								
<i>Laodelphax striatellus</i> FALLEN, 1826).								
Familia <i>Dictyopharinae</i> SPINOLA, 1939								
Género <i>Dictyophara</i> GERMAR, 1833:								
<i>Dictyophara europeae</i> (LINNAEUS, 1767).								
Familia <i>Tettigometriadae</i> GERMAR, 1821								
Género <i>Tettigometra</i> LATREILLE, 1804:								
<i>Tettigometra obliqua</i> (PANZER, 1799).								
Infraorden <i>Cicadomorpha</i> EVANS, 1946								
Familia <i>Cercopidae</i> LEACH, 1845								
Subfamilia <i>Aphrophorinae</i> AMYOT ET SERVILLE, 1843								
Género <i>Aphrophora</i> GERMAR, 1821:								
<i>Aphrophora</i> spp. ....								
Género <i>Philaenus</i> STAL, 1864:								
<i>Philaenus spumarius</i> (LINNAEUS, 1758).								

difusión es prácticamente nula (Carlet). En el cuadro se ha efectuado una distinción entre la subfamilia de los tiflocibinos y el resto de cicadélidos, ya que no se ha podido confirmar ningún vector de micoplasmosis entre los miembros de dicha subfamilia, hecho que se atribuye a sus hábitos alimenticios (BONFILS *et al.*, 1976).

Aunque la cifras de capturas variaron considerablemente de un año para otro, lo cierto es que tanto el número de especies como el de individuos capturados en Liria fueron casi siempre superiores a los de Carlet. En este sentido, más significativo todavía es el cuadro 4, donde la comparación entre Liria y Carlet se ha efectuado únicamente para aquellas especies de cicadélidos que han sido citadas ya sea como trasmiso-

ras de micoplasmosis (FRITZSCHE *et al.*, 1972), ya como portadoras, al menos, de *Spiroplasma citri* (BOVE, 1979), el micoplasma productor del «stubborn» de los agrios. También se han incluido en el cuadro 3 algunas especies próximas a las anteriores, aunque no estén citadas como trasmisoras o portadoras. El análisis de dicho cuadro indica que la única especie capturada con gran abundancia en Carlet fue *Euscelidius variegatus*. Esta especie se encontró sobre todo en los cebos situados al pie de los árboles. En Liria, en cambio, se capturaron poquísimos ejemplares de esta especie, lo que en principio permite descartarla como vector del ACLR en Valencia. El examen de la situación contraria (especies más o menos abundantes en Liria y ausentes

Cuadro 3.—Comparación entre el número de cicadélidos capturados en un área con una importante difusión natural del ACLR (Liria) y otra donde la difusión es prácticamente nula (Carlet). Cebos situados en el suelo, al pie de los árboles (su), en la copa de los mismos árboles (co) o en las lindes (li)

Nº especies		Tiflocibinos		No tiflocibinos		Total	
		Liria	Carlet	Liria	Carlet	Liria	Carlet
1982	su	15	9	27	13	42	22
1983	su	10	6	22	10	32	16
	co	9	8	11	5	20	13
	li	10	5	26	10	36	15
1984	su	8	7	13	9	21	16
	co	6	8	8	1	14	9
	li	11	1	13	5	24	6
Total		15	10	34	14	49	24

Nº individuos		Tiflocibinos		No tiflocibinos		Total	
1982	su	3.715	595	1.025	441	4.740	1.036
1983	su	831	497	864	261	1.695	758
	co	1.205	651	169	9	1.374	660
	li	1.054	22	248	85	1.302	107
1984	su	357	443	245	249	602	692
	co	410	673	79	6	489	679
	li	483	82	93	49	576	131
Total		8.055	2.963	2.723	1.100	10.778	4.063

o casi en Carlet) permite apuntar como posibles vectores del ACLR a las siguientes especies de cicadélidos: *Austroagallia sinuata*, *Euscelis lineolatus*, *Neotalitrus fenetratus*, *Neotalitrus haematoceps* y *Psammotettix striatus*. Todas estas especies están citadas como trasmisoras por FRITZSCHE *et al.* (1972), a excepción de los dos *Neotalitrus*. Estos últimos, sin embargo, están estrechamente relacionados con *Neotalitrus (Circulifer) tenellus* (Baker), uno de los vectores del «stubborn» de los agrinos en California (OLDFIELD *et al.*, 1976), y se tienen fundadas razones para pensar que *Neotalitrus haematoceps* es el vector del «stubborn» en los países mediterráneos (BOVE, 1985, comunicación personal).

#### Control de la enfermedad

El cuadro 5 muestra los efectos de los tratamientos insecticidas y herbicidas sobre los

cicadélidos capturados en el interior de la plantación situada en Bugarra. Los tratamientos disminuyeron de modo apreciable el número de cicadélidos no tiflocibinos, que viven esencialmente sobre la vegetación herbácea; en cambio apenas afectaron a la subfamilia de los tiflocibinos, que dependen mucho menos de la cubierta vegetal. Del total de tiflocibinos capturados en esta plantación, más del 90% pertenecían a la tribu *Empoascini*, que son cicadélidos típicos de la vid. Precisamente, el espectacular aumento de tiflocibinos capturados en 1983 puede atribuirse al arranque de las vides colindantes, lo que debió obligarles a emigrar hacia la plantación de albaricoqueros. Menos del 10% de los tiflocibinos capturados pertenecía a la tribu *Erythroneurini*, que son más típicos de los frutales. De todas formas, no se ha podido confirmar ningún vector de micoplasmosis entre los tiflocibinos (BONFILS *et al.*, 1976), por lo que el objetivo perse-

**Cuadro 4.—Comparación entre las capturas de Liria (LIR) y Carlet (CAR) de cicadélidos citados como transmisores de micoplasmosis (T), portadores de *Spiroplasma citri* (P) o cercanos a los anteriores (C). Cebos situados en el suelo, al pie de los árboles (su), en la copa de los mismos árboles (co) o en las lindes (li)**

Cicadélidos capturados	Localidad	1982		1983		1984			Total
		su	su	co	li	su	co	li	
<i>Austroagallia sinuata</i> (T)	LIR	4	51	3	4	11	3	1	77
	CAR	1	0	0	0	0	0	0	1
<i>Agallia laevis</i> (C)	LIR	15	26	3	9	4	0	2	59
	CAR	7	11	1	4	1	0	4	28
<i>Euscelidius variegatus</i> (T)	LIR	0	6	0	0	2	0	0	8
	CAR	238	221	3	36	237	6	19	760
<i>Euscelis incisus</i> (T)	LIR	1	0	0	0	0	0	0	1
	CAR	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Euscelis lineolatus</i> (T)	LIR	22	8	0	5	5	0	1	41
	CAR	1	0	0	0	0	0	0	1
<i>Exitianus capicola</i> (P)	LIR	221	11	0	11	2	0	1	246
	CAR	8	2	0	26	3	0	6	45
<i>Macropsis fuscula</i> (T)	LIR	0	0	0	1	0	0	0	1
	CAR	1	0	0	0	0	0	0	1
<i>Macrosteles forficula</i> (C)	LIR	1	0	0	0	0	0	0	1
	CAR	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Macrosteles quadripunctulatus</i> (T)	LIR	3	5	0	5	4	2	1	20
	CAR	11	21	0	6	10	0	3	51
<i>Neoliturus fenestratus</i> (C)	LIR	21	22	66	18	2	14	6	149
	CAR	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Neoliturus haematoceps</i> (P)	LIR	31	614	57	67	135	18	21	943
	CAR	4	9	2	2	0	0	0	17
<i>Psammotettix striatus</i> (T)	LIR	197	43	11	42	37	5	46	381
	CAR	6	2	1	2	4	0	1	16

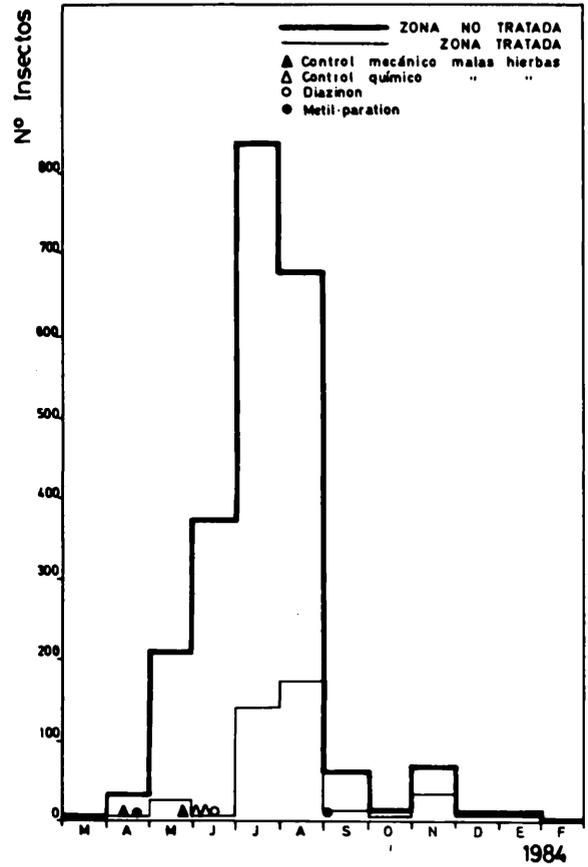
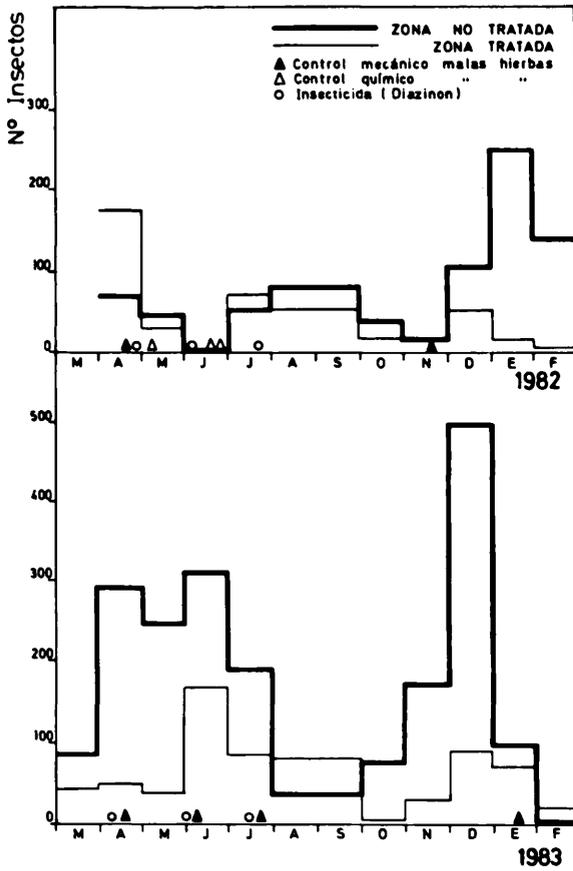
guido —la reducción de la población de los vectores probables del ACLR— puede considerarse alcanzado.

El cuadro 5 muestra sólo los efectos glo-

ales de los tratamientos insecticidas y herbicidas. La evolución mensual del número de cicadélidos no tiflocibinos capturados en la plantación de Bugarra puede observarse

**Cuadro 5.—Efecto de los tratamiento insecticidas y herbicidas sobre el número de cicadélidos capturados en cebos situados en el suelo, al pie de los árboles (su), o en las copas de los mismos árboles (co). T=zona tratada; NT=zona no tratada**

Nº individuos		Tiflocibinos		No tiflocibinos		Total	
		Zona T	Zona NT	Zona T	Zona NT	Zona T	Zona NT
1982	su	756	664	446	814	1.202	1.478
1983	su	4.320	7.214	682	2.002	5.002	9.216
	co	12.931	9.016	292	1.239	13.223	10.255
1984	su	848	891	334	1.136	1.182	2.027
	co	1.141	1.364	86	1.076	1.227	2.440
Total		19.996	19.149	1.840	6.267	21.836	25.416



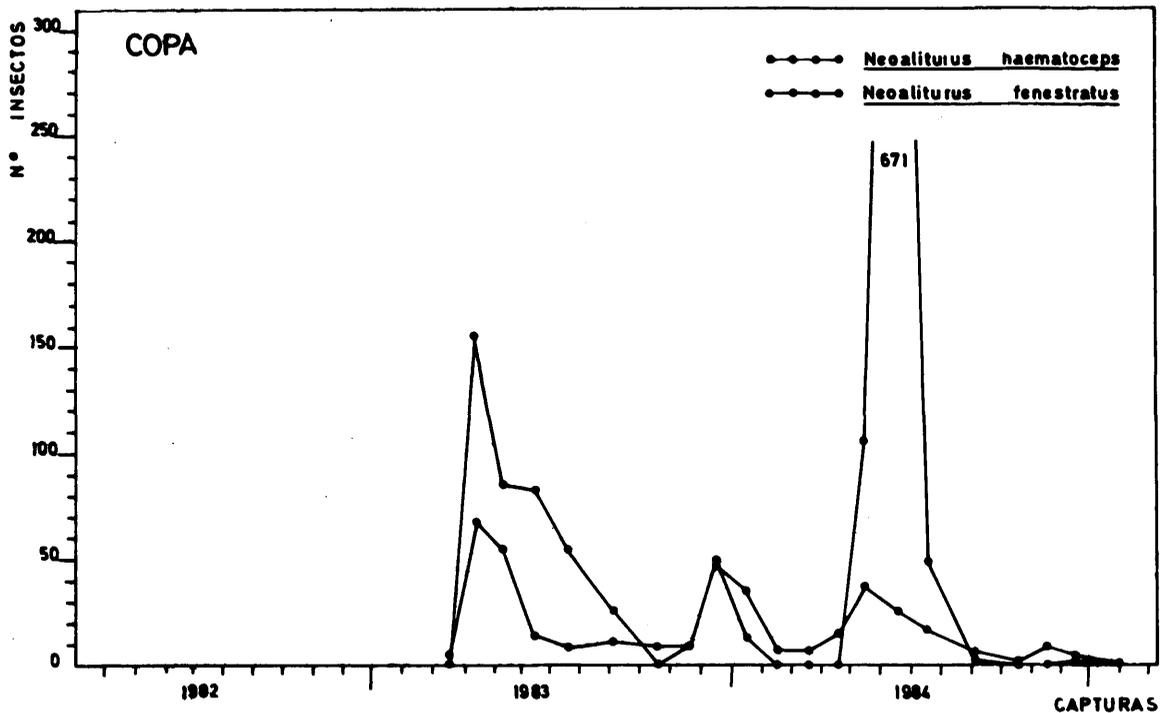
Figs. 12, 13 y 14.—Evolución mensual del número de cicadélidos no tiflocibinos capturados en la plantación de albaricoqueros de Bugarra (Valencia) en 1982, 1983 y 1984.

en las figuras 12, 13 y 14. En 1982, la disminución del número de cicadélidos en la zona tratada sólo empezó a ser apreciable hacia finales del año. Dicha disminución se mantuvo prácticamente a lo largo de 1983 y fue muy marcada entre mayo y septiembre de 1984. El tratamiento con metil paration efectuado, a toda la parcela, en septiembre de 1984 anuló casi por completo la población de cicadélidos no tiflocibinos en las dos partes de la plantación.

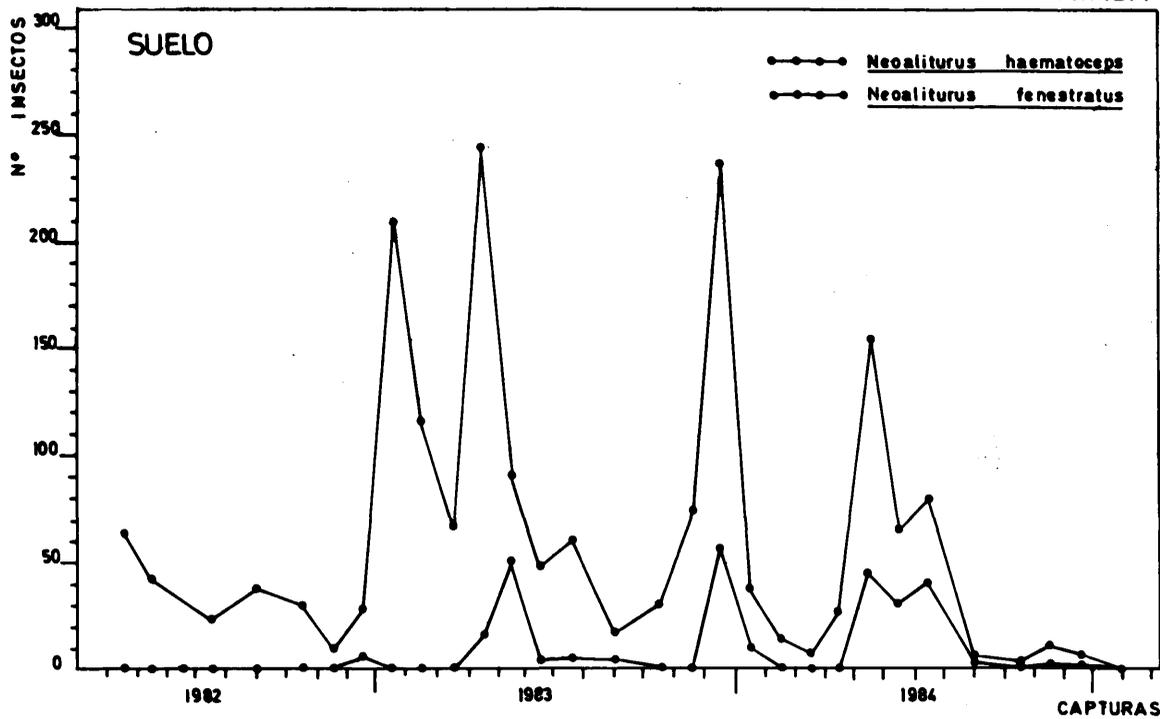
En las figuras 15, 16 y 17 se han representado las capturas a lo largo del trienio 1982-84 de las dos especies de cicadélidos no tiflocibinos más abundantes en Bugarra: *Neolitu-*

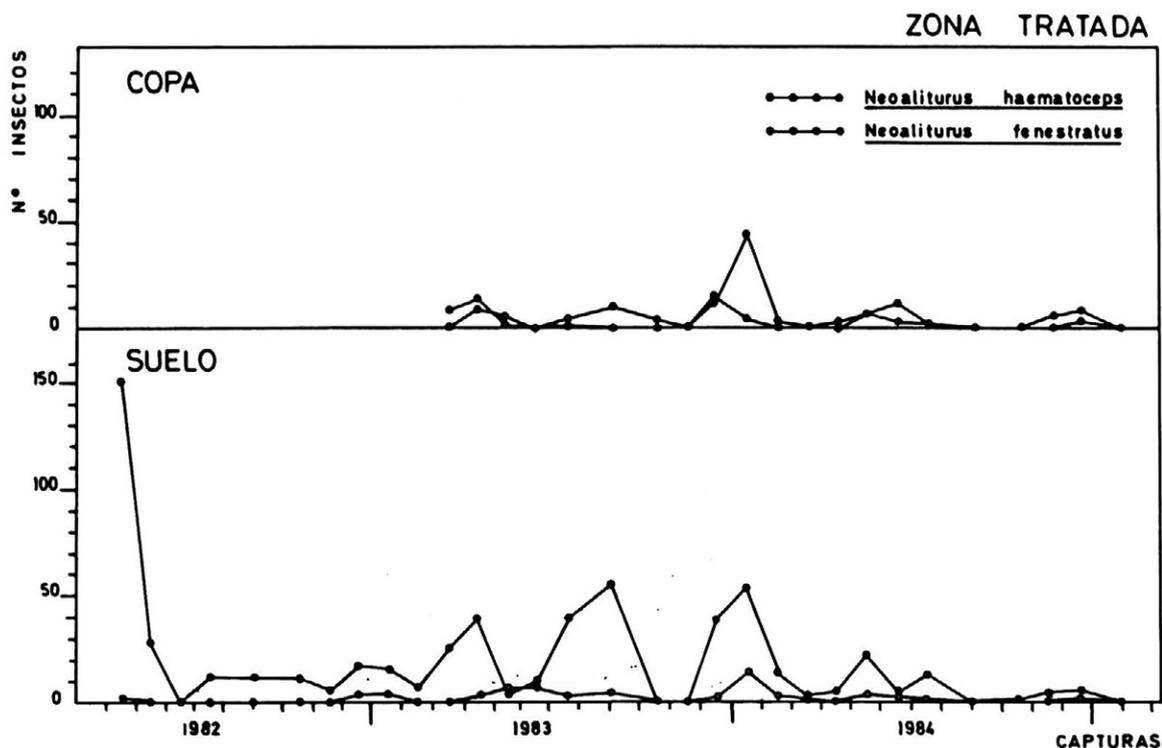
*tus fenestratus* y *Neoliturus haematoceps*. Se observa que las dos especies fueron mucho más numerosas en la zona no tratada, tanto a nivel de la copa de los árboles como en el suelo. *N. fenestratus* se capturó especialmente en los cebos situados en las copas de árboles de la zona no tratada, mientras que, en la misma zona, *N. haematoceps* se cogió más en los cebos colocados en el suelo, al pie de los árboles. En la zona tratada, *N. haematoceps* fue siempre más numeroso que el otro *Neoliturus*, de lo que se deduce que los tratamientos efectuados disminuyeron sobre todo la población de *N. fenestratus* en las copas de los árboles. El

ZONA NO TRATADA



ZONA NO TRATADA





Figs. 15, 16 y 17.—Capturas de *Neoaliturus fenestratus* y *Neoaliturus haematoceps* en la plantación de albaricqueros de Bugarra (Valencia) a lo largo del trienio 1982-84.

aspecto general y el dibujo de las partes de mayor valor taxonómico de los dos *Neoaliturus* puede verse en las figuras 18, 19, 20 y 21.

Finalmente, las figuras 22, 23 y 24 muestran cómo influyó la disminución del número de cicadélidos no tiflocibinos en la parte tratada de la plantación sobre la difusión

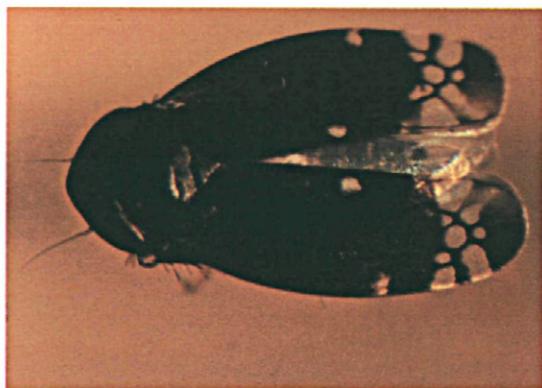


Fig. 18.—Aspecto general del cicadélido *Neoaliturus fenestratus*.



Fig. 19.—Aspecto general del cicadélido *Neoaliturus haematoceps*.

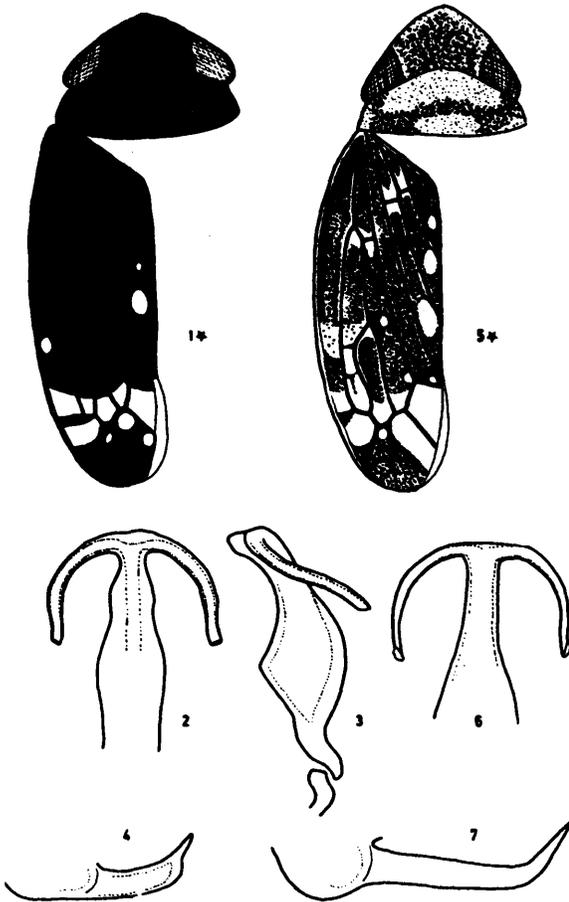


Fig. 20.—Dibujo de las partes de mayor valor taxonómico de *Neoliturus fenestratus*.

natural del ACLR. En el invierno 1982-83 no hubo diferencias entre las dos partes de la plantación en cuanto al número de nuevos árboles que presentaron síntomas de ACLR: sólo 2 albaricoqueros en cada parte aparecieron con desarreglos vegetativos por primera vez. Parece lógico que tras el primer año de tratamientos no se apreciaran aún diferencias en la difusión natural, ya que la infección de los árboles debió suceder bastantes meses antes de que empezara a disminuir la población de cicadélidos no tiflocibinos. Por el contrario, tras el segundo y tercer año de tratamientos sí que se observa-

ron diferencias en el número de nuevos árboles con síntomas de ACLR: 7 en la zona no tratada y 3 en la tratada (invierno 1983-84), por 14 y 7, respectivamente, en el invierno 1984-85

En resumen, los tratamientos insecticidas y herbicidas disminuyeron la población de cicadélidos no tiflocibinos y el número de nuevos árboles con síntomas de ACLR, en un proceso similar al descrito por LACY *et*

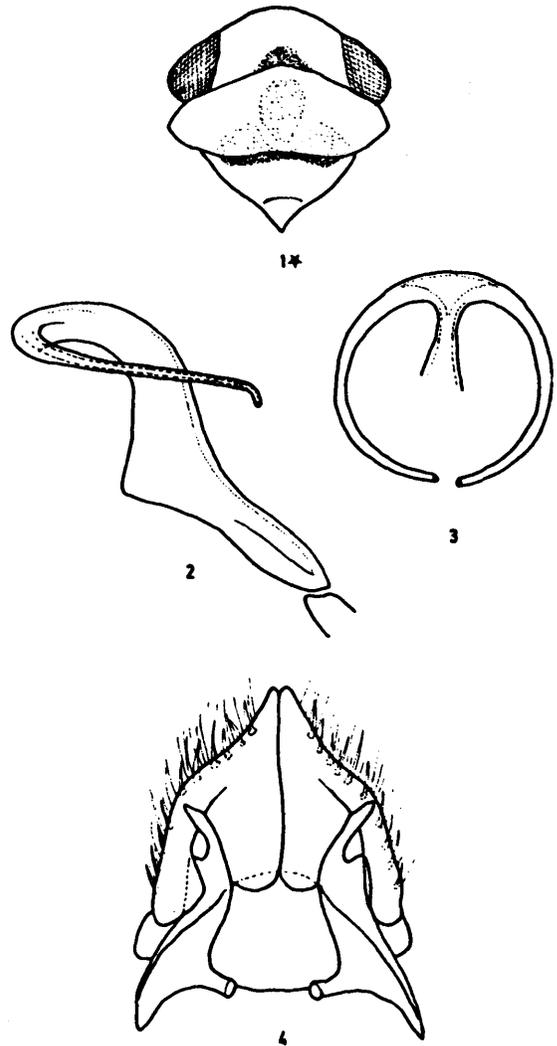
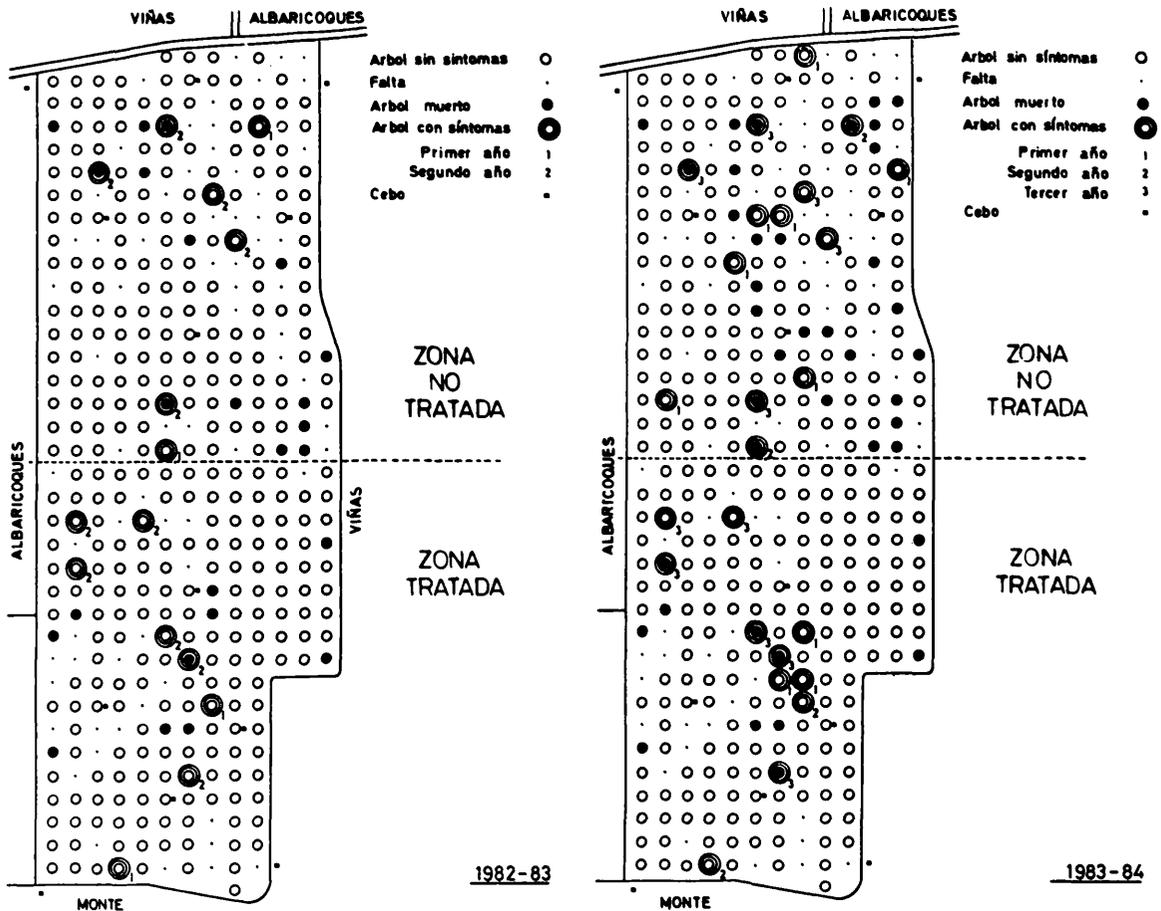


Fig. 21.—Dibujo de las partes de mayor valor taxonómico de *Neoliturus haematoceps*.

al. (1979) y McClure *et al.* (1982) para el control de la «X-disease» en los Estados Unidos. El insecticida metil paratión aplicado en septiembre fue mucho más drástico en la eliminación de cicadélidos no tiflocibinos que el diazinón aplicado en primavera y verano. En cuanto a los tratamientos y labores herbicidas, hay que tener en cuenta que la vegetación herbácea de las plantaciones sirve no sólo como soporte para los cicadélidos vectores, sino que algunas plantas pueden actuar como huéspedes alternativos para los MLOs asociados al ACLR. En un trabajo previo (MORENO *et al.*, 1985)

hemos demostrado que algunas malas hierbas muy frecuentes en las plantaciones frutales, como *Convolvulus arvensis* L. (figura 25) y *Diplotaxis erucoides* (L.) DC. (figura 26), presentan a veces síntomas típicos de micoplasmosis que están asociados a la presencia de MLOs (figura 27). Aunque estos MLOs parecen distintos de los asociados al ACLR (por los síntomas que producen sobre *Vinca rosea* L.), nada impide que otras plantas de la vegetación herbácea puedan albergar a estos últimos, con o sin síntomas. En ese caso, la eliminación de la cubierta vegetal sería útil, tanto por la disminución



Figs. 22, 23 y 24.—Croquis de la plantación de albaricoqueros de Bugarra (Valencia) donde se muestran los árboles muertos y los nuevos árboles con síntomas de ACLR durante los inviernos 1982-83, 1983-84 y 1984-85.

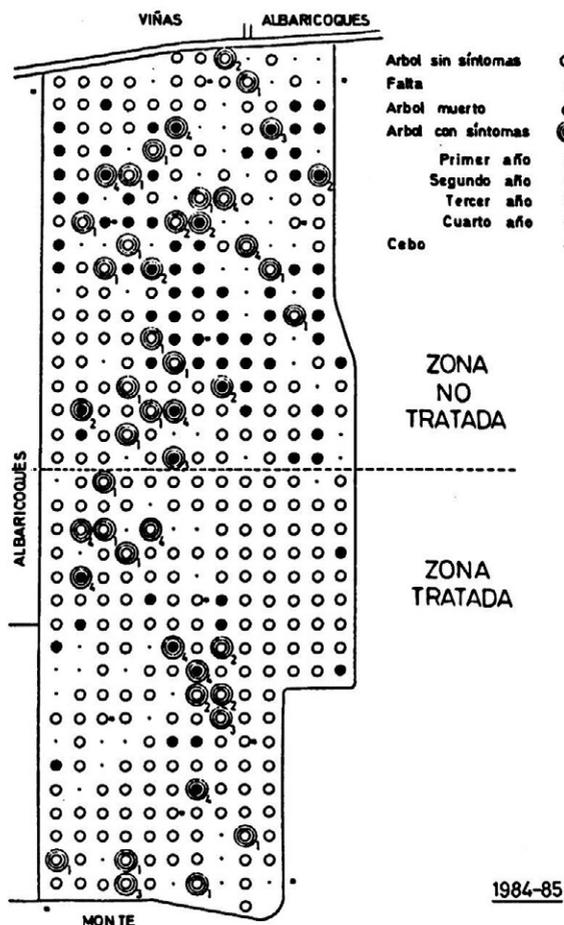


Fig. 25.—Síntomas de micoplasmosis/amarilleamiento, reducción de crecimiento, proliferación en plantas de *Convolvulus arvensis* (a los lados). En el centro, planta normal.

etc.) y, por otra parte, de distintos tratamientos herbicidas, evaluando en cada caso la rentabilidad económica y la incidencia de dichos tratamientos en el resto de factores del cultivo.

Desgraciadamente, la plantación de albaricoqueros de Bugarra ya no nos proporcionará más información: la gran mortalidad producida por los ataques de gusano cabezudo ha obligado a abandonar las experiencias, pero es interesante observar (figura 24) que en el invierno 1984-85 el número total de árboles muertos en la zona no tratada (51%) era muy superior al de la zona tratada (19%). Aunque en el invierno 1981-82, antes

de vectores de la enfermedad como por la reducción del propio inóculo.

Ciertamente, los tratamientos insecticidas y herbicidas de nuestro ensayo no han sido suficientes para un control completo de la difusión del ACLR en el período estudiado de 3 años. Para concluir con más seguridad sobre la validez de este método de lucha contra el ACLR sería necesario prolongar las experiencias durante más tiempo y ampliarlas a plantaciones o áreas más grandes, para reducir la influencia de la vegetación herbácea de las lindes y de las plantaciones contiguas. También habría que estudiar los efectos por separado de diversos tratamientos insecticidas (productos, épocas de aplicación,

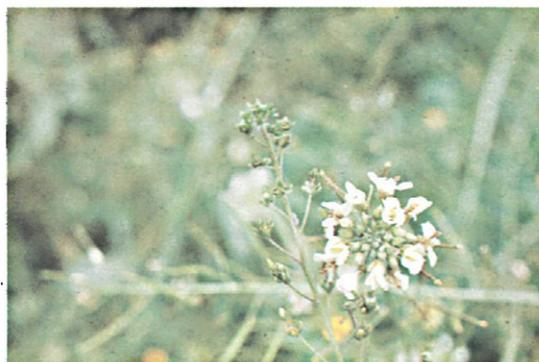


Fig. 26.—Síntomas de micoplasmosis (filodia) en un tallo de *Diplotaxis erucoides* (a la derecha).

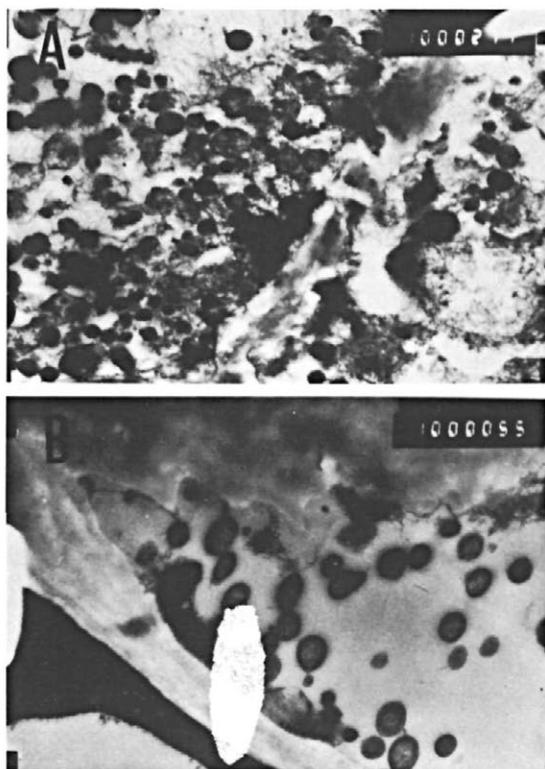


Fig. 27.—Microfotografías electrónicas de MLOs dentro de tubos cribosos de *Convolvulus arvensis* (a) y *Diplotoxus erucoides* (b) con síntomas de micoplasmosis.

de que empezaran los tratamientos, ya había cierta diferencia entre las dos partes de la plantación (24 y 16% de árboles muertos, respectivamente, figura 7) parece como si las aplicaciones de diazinón o la eliminación de la cubierta vegetal hubieran frenado la progresión del gusano cabezudo en la zona tratada. GARRIDO (comunicación personal, 1985) ha encontrado recientemente que el diazinón es muy efectivo contra el gusano cabezudo. Como consecuencia de la gran mortalidad producida por el gusano cabezudo en la zona no tratada, las diferencias entre las dos partes de la plantación por lo que respecta a la difusión del ACLR fueron, en realidad, mayores de lo que se deduce del simple recuento de nuevos árboles con síntomas. Los 14 albaricoqueros que presentaron des-

arreglos vegetativos por primera vez en la zona no tratada (invierno 1984-85) representaban el 13,7% de los árboles vivos en esa zona, mientras que en la zona tratada los 7 nuevos árboles enfermos representaban solamente el 4,3% de los albaricoqueros vivos (figura 24). Los 3 años de tratamientos insecticidas y herbicidas redujeron, por tanto, a menos de la tercera parte el número de nuevos árboles con síntomas de ACLR.

## CONCLUSIONES

1) La técnica de la tinción con DAPI es poco fiable para un diagnóstico precoz del ACLR. La detección de esta enfermedad antes de que aparezcan los primeros síntomas sigue siendo, por lo tanto, un problema no resuelto, lo que impide una lucha eficaz mediante el arranque sistemático de árboles enfermos.

2) La poca fiabilidad de la tinción con DAPI para la detección precoz del ACLR es más una deficiencia de la repartición y concentración de los MLOs asociados a la enfermedad que un defecto de la técnica en sí. Cualquier otra técnica de detección que se ensaye en el futuro (serología, etc.) deberá tener en cuenta este hecho.

3) La tinción con DAPI puede ser muy útil para comprobar la asociación con MLOs de enfermedades con síntomas poco específicos, también como técnica auxiliar en microscopía electrónica y para el estudio de los cambios a lo largo del año en la distribución de MLOs dentro de los árboles enfermos.

4) Los MLOs asociados al ACLR parece que no invaden los nuevos brotes formados cada año hasta principios del verano. Esta invasión se produce a partir de las raíces y de los ramos formados el año anterior, donde la detección de MLOs es posible en cualquier época (aunque en porcentajes muy variables). La ausencia de MLOs en los

nuevos brotes durante la primavera es un dato a tener en cuenta en los ensayos de transmisión del ACLR por cuscuta o cicadélidos. Algunos de los fallos producidos en dichos ensayos podrían explicarse por la ausencia de MLOs en los brotes utilizados.

5) Los vectores del ACLR en Valencia son, con gran probabilidad, cicadélidos no tiflocibinos, más concretamente alguno de los pertenecientes a la subfamilia *Agallinae* (como *Austroagallia sinuata*) o a la subfamilia *Deltocephalinae* (como *Euscelis lineolata*, *Nealiturus fenestratus*, *Nealiturus haematoceps* o *Psammotettix striatus*). La confirmación de la capacidad de una o varias de estas especies para transmitir el ACLR deberá pasar por la cría en laboratorio de las mismas y la realización de los ensayos de transmisión adecuados.

6) Los tratamientos insecticidas y herbicidas disminuyen de modo notable el número de cicadélidos no tiflocibinos en el área tratada. En cambio, apenas afectan a la subfamilia *Typhlocybinae*.

7) La disminución del número de cicadélidos no tiflocibinos se traduce en una reducción paralela del número de nuevos árboles con síntomas de ACLR. Por lo tanto, los tratamientos insecticidas y herbi-

cidas constituyen una aproximación importante al objetivo que se perseguía: el control de la difusión natural de la enfermedad. Indudablemente, el conocimiento exacto de la especie o especies vectoras y de los posibles huéspedes herbáceos alternativos haría más efectivos y rentables los tratamientos.

8) Es muy posible que los tratamientos para disminuir la población de cicadélidos vectores del ACLR sean también útiles para frenar la expansión del gusano cabezudo (*Capnodis tenebrionis* L.), una plaga que en los últimos años ha destruido muchos más albaricqueros que el ACLR. Si las futuras investigaciones confirman tal posibilidad, la puesta a punto de un método eficaz para combatir simultáneamente las dos principales causas de mortalidad en los albaricqueros de secano sería la consecuencia más importante de este trabajo.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores desean expresar su agradecimiento a Eusebio GARCÍA y Herminio CERVERA, de la Agencia de Extensión Agraria de Villar del Arzobispo (Valencia), por la realización de los tratamientos insecticidas y herbicidas en la plantación de Bugarra.

## ABSTRACT

G. LLACER, J. MEDINA y D. ARCHELOS: Investigaciones sobre la detección, difusión natural y control del amarilleamiento clorótico del albaricquero. *Bol. San. Veg. Plagas*, 12: 181-207.

The technique of fluorochromate dye with DAPI (4'-6-diamidino-2-phenylindole) has been applied in detecting MLOs (mycoplasma-like organisms) and in follow-up throughout the year of MLOs distribution in apricot trees diseased by ACLR (apricot chlorotic leaf roll). The results obtained confirmed the little reliability of this test for early diagnosis of mycoplasma-like diseases in fruit trees, because of the low concentration and uneven distribution of MLOs within diseased trees. In contrast, the DAPI test has proved fairly useful for observation throughout the year of MLOs distribution on different parts of apricot trees diseased with ACLR. Over the winter and the spring, MLOs were detected only in roots and twigs from the previous year growth. Presence of MLOs in new growth shoots could not be detected until the beginning of the summer.

Great variations in natural spread of ACLR in the VALENCIA region have been described in previous reports. Even between two adjacent areas these differences occur. Investigations carried out on populations of leafhoppers showed that the number of species and specimens caught in an area with an important ACLR spread was higher than that found in another location where ACLR spread was virtually inexistent. The variations between the leafhoppers caught in these two

areas provide an indication about which species could be vectors. In an apricot grove, ACLR diseased, the influence of insecticide and herbicide treatments on natural spread of the disease was studied over a period of 3 years. In one half of the orchard left untreated, the values of leafhopper population and the number of newly ACLR infected trees were higher than those found in the other half that had been treated.

## REFERENCIAS

- BONFILS, J.; LAURIAUT, F.; LECLANT, F., 1976: Leafhopper fauna of apricot orchards in Southern France: observations on the biology of a presumed vector of chlorotic leaf roll, *Fieberiella florii* Stal. Transmission trials. *Acta Horticulturae*, 67: 137-140.
- BOVE, J. M. 1979: Recherches sur la maladie du stubborn des agrumes. I. Découverte et propriétés de *Spiroplasma citri*, le mycoplasme responsable de la maladie du stubborn des agrumes: un historique. *Fruits*, 34 (4): 263-281.
- CAZELLES, O., 1978. Mise en évidence, par fluorescence, des mycoplasmes dans les tubes criblés intacts isolés des plantes infectées. *Phytopath. Z.*, 91: 314-319.
- DEELEY, J.; STEVENS, W. A.; FOX, R. T. V., 1979: Use of Dienes' stain to detect plant diseases induced by micoplasmalike organisms. *Phytopathology*, 69: 1169-1171.
- DONBA, F.; LANSAC, M., 1982: Détection des organismes de type mycoplasme chez les espèces fruitières au moyen du test D.A.P.I. 2e Colloque sur les Recherches Fruitières. Bordeaux, 247-257.
- FORNER, J. B., 1979. Desarrreglos vegetativos, «chlorotic leaf roll» y problemas adicionales en frutales de hueso de la provincia de Valencia. Tesis doctoral. ETSIA de la Universidad Politécnica de Valencia: 429 pp.
- FRITZSCHE, R.; KARI, E.; LEHMANN, W.; PROESLER, G., 1972: *Tierische Vektoren Pflanzenpathogener Viren*. 521 p. Gustav Fischer Verlag. Jena.
- GOIDANICH, G.; CANOVA, A.; BERTACCINI, A.; MARANI, F., 1980: Stone fruit decline associated with mycoplasma-like bodies and its natural diffusion. *Proc. 5th Congr. Un. Phytopath. Mediterr.*, Patras, Grecia: 16.
- LACY, G. H.; McCLURE, M. S.; ANDREADIS, T. G., 1979: Reducing populations of vector leafhoppers is a new approach to X-disease control. *Frontiers of plant science*, 32 (1): 2-4.
- LLACER, G., 1972: El «déperissement» del albaricoquero. Estudio de una posible forma viral en la región del Ebro. Tesis doctoral (ETSIA, Valencia): 197 pp. Resumen en *Anales INIA, Ser. Prot. Veg.*, 4: 27-74, 1974.
- LLACER, G., 1978: «Apricot chlorotic leaf roll» (enrollamiento clorótico del albaricoquero). En «Virosis y Micoplasmosis de los Arboles Frutales». *Monografías INIA*, 23: 198-203.
- LLACER, G.; SÁNCHEZ-CAPUCHINO, J. A.; CASANOVA, R., 1977: New contribution to tetracycline treatments for apricot chlorotic leaf roll. *Acta Horticulturae*, 85 (1980): 257-262.
- LLACER, G.; SÁNCHEZ-CAPUCHINO, J. A.; CASANOVA, R., 1982: Incidencias actuales del enrollamiento clorótico del albaricoquero y de la proliferación del manzano en distintas comarcas del Levante español. *ITEA*, 47: 41-47.
- LLACER, G.; SÁNCHEZ-CAPUCHINO, J. A.; FORNER, J. B.; CASANOVA, R., 1976: Tetracycline treatments of stone fruit trees affected by apricot chlorotic leaf roll. *Acta Horticulturae*, 67: 141-148.
- MARWITZ, R.; PETZOLD, H., 1980: Eine einfache fluoreszenzmikroskopische Nachweismethode für die Infektion von Pflanzen mit mykoplasmaähnlichen Organismen. *Phytopath. Z.*, 97: 302-306.
- McCLURE, M. S.; ANDREADIS, T. G.; LACY, G. H., 1982: Manipulating orchard ground cover to reduce invasion by leafhopper vectors of peach X-disease. *J. Econ. Entomol.*, 75 (1): 64-68.
- MEDINA, V.; ARCHELOS, D.; LLACER, G.; CASANOVA, R.; SÁNCHEZ-CAPUCHINO, J. A.; MARTÍNEZ, A.; GARRIDO, A., 1981 a: Contribución al estudio de los cicadélidos (*Homoptera, Cicadellidae*) en las provincias de Valencia y Murcia. *An. INIA, Ser. Agric.*, 15: 157-179.
- MEDINA, V.; LLACER, G.; MORENO, P., 1981 b: Aplicación de diversas técnicas de microscopía óptica a la detección rápida de micoplasmosis. VI Reunión del Grupo Especializado de Fitopatología de la SEM. Resúmenes de las comunicaciones. *Monografías INIA*, 48: 138-139.
- MORENO, P.; LLACER, G.; MEDINA, V., 1985: Descripción y comparación de varias micoplasmosis en *Vinca rosea* L. *Anales INIA*, en prensa.
- MORVAN, G., 1957: Transmission par greffage des symptômes de dépérissement de l'abricotier. *Fruits d'Outremer* 12 (8): 335-339.
- MORVAN, G., 1968: Méthodes de diagnostic du virus de l'enroulement chlorotique de l'abricotier et de quelques autres virus rencontrés sur abricotier. *Acta Horticulturae*, 11 (3): 373-381.
- MORVAN, G., 1977: Apricot chlorotic leaf roll. In «Apricot apoplexy». *EPPO Bulletin*, 7 (1): 37-55.
- MORVAN, G.; GIANNOTTI, J.; MARCHOUX, G., 1973: L'étiologie de l'enroulement chlorotique de l'abricotier: Présence de mycoplasmes. *Phytopath. Z.*, 76: 33-38.
- NAST, J., 1972: *Palaearctic Auchenorrhyncha (Homoptera)*, and annotated check list, 550 pp., Polish Academy of Sciences. Warszawa.
- OLFFIELD, G. N.; KALOOSTIAN, G. H.; PIERCE, H. D.; CALAVAN, E. C.; GRANETT, A. L.; BLUE, R. L., 1976: Beet leafhopper transmits citrus stubborn disease. *Calif. Agric.*, 30 (6): 15.
- PLOAIE, P. G., 1981: Mycoplasma or L-forms of Bacteria suspected etiologic agent of apricot decline (apoplexy). *Acta Horticulturae*, 121 (1982): 405-410.

- PURCELL, A. H.; ELKINTON, J. S., 1980: A comparison of sampling methods for leafhopper vectors of X-disease in California cherry orchards. *J. Ecom. Entomol.*, 73: 854-860.
- RIBAUT, H., 1936: *Homoptères Auchenorhynques. I. (Typhlocybidae)*. 232 pp. Paul Lechevalier et Fils, Paris.
- RIBAUT, H., 1952: *Homoptères Auchenorhynques. II. (Jassidae)*. 474 pp. Paul Lechevalier. Paris.
- SALA, R., 1935: Vegetación invernal. En «El ciruelo y su cultivo», 1ª ed., 206-209. Salvat Editores, S. A., Barcelona.
- SÁNCHEZ-CAPUCHINO, J. A.; CASANOVA, R.; LLACER, G., 1981: An approach to control apricot chlorotic leaf roll and epidemiological observations. *Acta Horticulturae*, 121 (1982): 435-437.
- SÁNCHEZ-CAPUCHINO, J. A.; FORNER, J. B., 1973: Vegetative disorders in the Japanese plum trees on myrobalan rootstock in the province of Valencia (Spain). *Acta Horticulturae*, 44 (1975): 93-97.
- SÁNCHEZ-CAPUCHINO, J. A.; FORNER, J. B.; BONO, R., 1974: Desarreglos vegetativos en albaricoquero sobre albaricoquero en la provincia de Valencia. *Levante Agrícola*, 150: 23-27.
- SÁNCHEZ-CAPUCHINO, J. A.; LLACER, G.; FORNER, J. B., 1976: Epidemiology and natural hosts of the apricot chlorotic leaf roll in Valencia (Spain). *Agric. Consp. Scient.*, 39 (49): 339-347.
- SCHAPER, U., 1979: Jahrezertliche Veränderung in der fluoreszenzoptischen Nachweisbarkeit von M.L.O. in verschiedenen Pflanzenteilen von pear decline und tribsucht kranken Bäumen. *Mittl. Biol. Bund.*, 191: 303-304.
- SCHAPER, U. 1981: Untersuchungen zum Nachweis und Besiedlungsverhalten sowie zur Bekämpfung der Erreger der Tribsucht des Apfels und des Birnenverfalls. Diss. Univ. Göttingen. 147 pp.
- SEEMULLER, E., 1976: Fluoreszenzoptischer Direktmacheis von mykoplasmaähnlichen Organismen in Phloem pear-decline und tribsuchtkranker Bäume. *Phytopathl. Z.*, 85: 368-372.
- SHIMOMURA, T.; DIJKSTRA, J. 1975: The occurrence of callose during the process of local lesion formation. *Neth. J. Pl. Path.*, 81: 107-121.