

UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE CATALUNYA
E. T. S. D'ENGINYERIA AGRARIA

TESIS DOCTORAL

CONTRIBUCION AL CONOCIMIENTO DE
LA BIOLOGIA DE LOS PULGONES DE
CEREALES Y DE LA EPIDEMIOLOGIA
DEL VIRUS DEL ENANISMO
AMARILLO DE LA CEBADA (BYDV)
EN LA ZONA DE REGADIO DE LLEIDA

JORDI COMAS I ANGELET

1991



Agradecimientos

En primer lugar quiero agradecer muy especialmente al Dr Xavier Pons, director de esta Tesis, el estímulo, ayuda, paciencia y eficaz labor de dirección a lo largo del desarrollo de la misma, así como la inestimable y constante ayuda en su realización, sin la cual esta Tesis difícilmente se habría podido llevar a cabo.

Al Dr Ramon Albajes, primer impulsor de esta Tesis, el haberme dado la oportunidad de poderla realizar, el hacerme partícipe de una línea de investigación que con el Dr Xavier Pons iniciaron en el año 1983, y también la paciencia, estímulo y labor didáctica prestadas tanto en la discusión de esta Tesis como, en general, de los temas que forman parte de la línea de investigación.

Al Dr Vicente Medina el interés, estímulo y ayuda en la puesta en marcha del test ELISA y en la discusión de la Tesis.

Al Dr Roger Plumb, la sencillez, buenos consejos e interés que desde prácticamente el principio y durante la realización de esta Tesis ha demostrado, y también el facilitarme el poder trabajar en su laboratorio.

A Margarida Hereu, su muy eficaz y cuidadosa labor en la realización del trabajo de laboratorio.

A Steve Forde y Anne Wangai, del Departamento de Patología Vegetal en Rothamsted Experimental Station, su colaboración en la realización de los tests ISEM y ELISA.

A la Dra M. José Sarasúa la ayuda en la corrección del texto, y a todos los compañeros del Laboratorio de Entomología, el Dr Jesús Avilla, la Dra Matilde Eizaguirre y el Dr Miquel Artigues, su apoyo, estímulo y su buen ejemplo en el trabajo en grupo.

Al Dr Mark Tatchell del Departamento de Entomología y Nematología en Rothamsted el interés y sugerencias sobre la dinámica de poblaciones de pulgones de cereales.

Al Dr Ian Barker del Harpenden Laboratory (MAFF) su colaboración en aspectos de serología, la realización paralela de pruebas serológicas en algunas muestras y la purificación del antisuero KY.

Al Dr Enrique Moriones del IRTA la ayuda en la discusión de la Tesis.

A los compañeros del Departamento de Tecnología de los Alimentos de la UPC, el facilitarnos la utilización de su laboratorio y aparatos.

Y finalmente a todos aquéllos que de una forma u otra han colaborado en la presente Tesis.

Esta Tesis ha sido realizada en las instalaciones del Centro UPC-IRTA de Lleida. Parte de los test serológicos se han realizado en el Departamento de Patología Vegetal en Rothamsted Experimental Station.

Abreviaturas

A*	adultos alados
A	adultos ápteros
NIV*	ninfas de cuarto instar con rudimentos alares
NIV	ninfas de cuarto instar sin rudimentos alares
NI-III	ninfas de primer, segundo o tercer instars
GS	estadio de desarrollo del cereal (Zadoks <i>et al.</i> , 1999)
S1	parcelas experimentales en las que la emergencia del cereal se produjo durante la época de vuelo de pulgones
S2	parcelas experimentales en las que la emergencia del cereal se produjo después de la época de vuelo de pulgones
T0	parcelas experimentales no tratadas
T1	parcelas experimentales en las que se aplicó un tratamiento aficida de otoño
TNI	tasa neta de incremento
tm	temperatura media entre muestreos

INDICES

Indice general

	pág.
RESUMEN	1
ABSTRACT	4
I. INTRODUCCION	7
I.1 <u>Pulgones de cereales de invierno</u>	8
I.1.1 Especies más importantes	9
I.1.2 Tipos de daño causado por los pulgones de cereales	9
I.1.3 Efecto de los pulgones de cereales sobre la cosecha debido a su alimentación	10
I.1.4 Pulgones de cereales como vectores de BYDV	11
I.2 <u>Biología de los pulgones de cereales</u>	11
I.2.1 Ciclo biológico	11
I.2.2 Ciclo biológico de <i>R. padi</i> , <i>S. avenae</i> y <i>M. dirhodum</i> en Europa	12
I.3 <u>Dinámica de poblaciones de los pulgones de cereales</u>	13
I.3.1 Influencia de la temperatura sobre la dinámica poblacional ..	14
I.3.2 Influencia de la planta huésped sobre la dinámica poblacional	15
I.3.3 Análisis de la dinámica de poblaciones de pulgones de cereales en invierno en campo	16
I.4 <u>El virus del enanismo amarillo de la cebada (BYDV)</u>	17
I.4.1 Primeras citas sobre BYDV	17
I.4.2 BYDV dentro del grupo de los luteovirus	18
I.4.3 Efecto de BYDV sobre la cosecha	18
I.4.4 Descripción de BYDV	19
I.4.5 Aislados-tipo de BYDV	20
I.4.6 Serotipos de BYDV	21
I.4.7 Relaciones entre aislados de BYDV	22

I.4.8 Hipótesis sobre el mecanismo de especificidad virus-vector ..	22
I.4.9 Hipótesis sobre la transmisibilidad no específica de <i>R. padi</i> y <i>R. maidis</i> . Relaciones de dependencia de BYDV	23
I.5 <u>Diagnóstico de BYDV</u>	24
I.5.1 Sintomatología producida por BYDV	24
I.5.2 Pruebas biológicas	25
I.5.3 Pruebas serológicas	26
I.5.4 Anomalías en la caracterización de aislados utilizando pruebas serológicas y pruebas biológicas	26
I.6 <u>Epidemiología de BYDV</u>	27
I.6.1 Infección primaria de los cereales de invierno	27
I.6.2 Dispersión secundaria de BYDV en los cereales de invierno ...	28
I.6.3 Fuentes de inóculo de BYDV más importantes	28
I.7 <u>Control de BYDV</u>	30
I.7.1 Ajuste de la época de siembra	30
I.7.2 Eliminación de las fuentes de inóculo	31
I.7.3 Control químico de vectores: tratamiento aficida de otoño ...	31
I.7.4 Uso de cultivares resistentes	31
I.8 <u>El virus del enanismo amarillo de la cebada (BYDV) en España</u> ..	32
I.8.1 Aislados de BYDV detectados en España en cereales de invierno	32
I.8.2 Epidemiología de BYDV en cereales de invierno	33
I.8.3 Epidemiología de BYDV en la zona de regadío de Lleida	34
I.8.3.1 Ciclo biológico de los pulgones de cereales	34
I.8.3.2 Hipótesis sobre la epidemiología de BYDV en la zona de regadío de Lleida	35
I.9 <u>Objetivos de la Tesis</u>	36

II. MATERIAL Y METODOS	37
II.1 <u>La zona de estudio</u>	38
II.2 <u>Dinámica de poblaciones de <i>R. padi</i> y <i>S. avenae</i> en las parcelas experimentales</u>	40
II.2.1 Localización de las parcelas experimentales. Diseño experimental	40
II.2.2 Registro de datos climáticos y de desarrollo del cultivo. Cálculo variables agrometeorológicas	42
II.2.3 Muestreo de pulgones en las parcelas experimentales	43
II.2.4 Procesado de las muestras en el laboratorio	43
II.2.5 Muestreo de BYDV en las parcelas experimentales	44
II.3 <u>Presencia de pulgones en campos comerciales durante el invierno</u>	45
II.3.1 Cultivos muestreados	45
II.3.2 Muestreo de campos comerciales	45
II.3.3 Procesado de muestras en el laboratorio	45
II.4 <u>Presencia de huevos de pulgones de cereales en huéspedes primarios alternativos</u>	46
II.5 <u>Pruebas de infectividad de BYDV de pulgones de cereales</u>	46
II.5.1 Captura de pulgones alados colonizantes en campo	46
II.5.2 Confirmación de la especie en el laboratorio	46
II.5.3 Siembra y cultivo de las plantas a testar	47
II.5.4 Realización de las pruebas de infectividad	48
II.6 <u>Prospección de BYDV en gramíneas cultivadas de la zona de regadío de Lleida</u>	48

	pág.
II.7 <u>Test Elisa para el diagnóstico de BYDV</u>	53
II.7.1 Modalidades de test ELISA realizadas.	
Antisueros utilizados	53
II.7.2 Obtención del extracto crudo vegetal	53
II.7.3 Controles utilizados	54
II.7.4 Protocolo de trabajo seguido en el test ELISA	54
II.8 <u>Test ISEM para la confirmación del diagnóstico</u>	
<u>del test ELISA</u>	57
II.8.1 Obtención del extracto crudo vegetal	57
II.8.2 Protocolo de trabajo seguido en el test ISEM	58
II.9 <u>Análisis estadístico de los resultados</u>	59
II.9.1 Relación entre la dinámica poblacional y las variables	
agrometeorológicas	59
II.9.2 Análisis estadístico	59
III. RESULTADOS	61
III.1 <u>Dinámica de poblaciones de pulgones de cereales en las</u>	
<u>parcelas experimentales</u>	62
III.1.1 Dinámica poblacional de <i>R. padi</i> y <i>S. avenae</i>	
en las parcelas experimentales	62
III.1.2 Estructura de edad de las poblaciones de <i>R. padi</i>	
y <i>S. avenae</i> en las parcelas experimentales	65
III.1.3 Relación entre la dinámica poblacional de <i>R. padi</i> y	
<i>S. avenae</i> y la evolución de la estructura de edad	71
III.1.3.1 Relación entre la dinámica poblacional y las	
relaciones: NI-III/total población y	
A/(A+NICV)	71
III.1.3.2 Relación entre dinámica de poblaciones y la	
evolución de la relación NIV*/(NIV+NIV*)	72
III.1.4 Relación de las mortalidades <i>k</i> de <i>R. padi</i> y de	
<i>S. avenae</i> con las bajas temperaturas	76

III.1.5 Relación entre la tasa neta de incremento (TNI) de las poblaciones totales de <i>R. padi</i> y <i>S. avenae</i> y la temperatura	76
III.1.6 Desarrollo del cultivo. Relación con la integral térmica ..	81
III.1.7 Caracterización agrometeorológica de las campañas 1986-87, 1987-88, 1988-89, y 1989-90	82
III.1.8 Relación entre el desarrollo del cultivo y las variables agrometeorológicas	88
III.2 <u>Prospección de huevos de pulgones de cereales en posibles huespedes primarios en la zona</u>	89
III.3 <u>Presencia de <i>R. padi</i> y <i>S. avenae</i> en campos comerciales en la zona durante el invierno</u>	89
III.4 <u>Infectividad de alados colonizantes capturados en campos de cereales de invierno, y de maíz en la zona de regadío de Lleida</u>	92
III.5 <u>Prospección de BYDV en gramíneas cultivadas de la zona</u>	100
III.5.1 Presencia de BYDV en campos de cereales forrajeros y ricio de cereales	100
III.5.2 Prospección de BYDV en campos de cereales de invierno	103
III.5.3 Prospección de BYDV en campos de maíz	107
III.6 <u>Efecto de la época de siembra, y del tratamiento aficida de otoño sobre los pulgones de cereales y sobre la incidencia de BYDV en las parcelas experimentales</u>	115
III.6.1 Efecto sobre los pulgones de cereales	115
III.6.1.1 Efecto del tratamiento aficida de otoño	115
III.6.1.2 Efecto de la época de siembra	116
III.6.2 Efecto sobre la incidencia de BYDV	121
III.6.2.1 Efecto del tratamiento aficida de otoño	121
III.6.2.2 Efecto de la época de siembra	122

III.6.3 Relación entre las poblaciones de pulgones y la incidencia de BYDV en las parcelas experimentales	126
IV. DISCUSION DE LOS RESULTADOS	128
IV.1 <u>Pulgones de cereales en la zona de regadío de Lleida</u>	129
IV.1.1 Principales especies	129
IV.1.2 Biología de <i>R. padi</i> y <i>S. avenae</i>	129
IV.2 <u>Dinámica poblacional de <i>R. padi</i> y <i>S. avenae</i>, en los cereales de invierno, desde la colonización del cultivo hasta principios de primavera</u>	131
IV.2.1 Efecto de las bajas temperaturas sobre la dinámica de poblaciones	132
IV.2.2 Efecto global de la temperatura sobre la dinámica de poblaciones	133
IV.2.3 Relación entre el cultivo y la dinámica de poblaciones de <i>R. padi</i> y <i>S. avenae</i>	135
IV.3 <u>Relación entre la dinámica de poblaciones de <i>R. padi</i> y <i>S. avenae</i> y la evolución de la estructura de edad</u>	136
IV.4 <u>Predicción de las densidades de poblaciones de <i>R. padi</i> y <i>S. avenae</i> a finales de invierno principios de primavera</u>	138
IV.5 <u>El virus del enanismo amarillo de la cebada (BYDV) en la zona de regadío de Lleida</u>	139
IV.5.1 BYDV en cereales forrajeros y ricio de cereales	140
IV.5.2 BYDV en cereales de invierno	141
IV.5.2.1 Infección primaria de los cereales de invierno ...	141
IV.5.2.2 Incidencia del BYDV en los cereales de invierno ..	142
IV.5.3 BYDV en maíz	143
IV.5.3.1 Infección primaria del maíz	143

IV.5.3.2 Incidencia de BYDV en el maíz	144
IV.6 <u>Ciclo de BYDV en la zona de regadío de Lleida</u>	145
IV.6.1 Relación virus-vector en las pruebas de infectividad de alados colonizantes capturados en cereales de invierno y maíz	145
IV.6.2 Paso de BYDV desde cereales forrajeros, y ricio de cereales, a cereales de invierno	148
IV.6.3 Paso de BYDV desde cereales de invierno a maíz	149
IV.6.4 Relación entre los aislados tipo PAV y MAV en maíz	151
IV.6.5 Paso del BYDV desde maíz a cereales forrajeros, y ricio de cereales	152
IV.6.6 Ciclo de BYDV en la zona de regadío de Lleida	153
IV.7 <u>Densidades de poblaciones de <i>R. padi</i> y <i>S. avenae</i> e incidencia de BYDV en las parcelas experimentales. Efecto del tratamiento aficida de otoño y de la época de siembra</u>	154
IV.8 <u>Aproximación a la epidemiología de BYDV en la zona de regadío de Lleida. Relación entre el ciclo de BYDV y la dinámica poblacional de los pulgones de cereales</u>	157
V. CONCLUSIONES	159
V.1 <u>Sobre la biología y dinámica poblacional de <i>R. padi</i> y de <i>S. avenae</i></u>	160
V.2 <u>Sobre la epidemiología de BYDV en la zona de regadío de Lleida</u>	161
V.3 <u>Sobre el control de BYDV</u>	162
VI. BIBLIOGRAFIA	163

Indice de figuras

pág.

Figura 1. Situación de la zona de regadío de Lleida en el Noreste de España	39
Figura 2. Localización de los puntos de muestreo de cereales forrajeros y ricio de cereales en las campañas 1987-88, 1988-89 y 1989-90	50
Figura 3. Localización de los puntos de muestreo de cereales de invierno en las campañas 1987-88, 1988-89 y 1989-90 .	51
Figura 4. Localización de los puntos de muestreo de maíz en las campañas 1987-88, 1988-89 y 1989-90	52
Figura 5. Evolución de las poblaciones totales de <i>R. padi</i> y de <i>S. avenae</i> durante las campañas 1986-87, 1987-88, 1988-89 y 1989-90 en las parcelas experimentales de siembra precoz, no tratadas (S1-T0)	64
Figura 6. Evolución de las poblaciones de <i>R. padi</i> y <i>S. avenae</i> , descompuestas en A*, A, NIV*, NIV y NI-III, durante la campaña 1986-87	66
Figura 7. Evolución de las poblaciones de <i>R. padi</i> y <i>S. avenae</i> , descompuestas en A*, A, NIV*, NIV y NI-III, durante la campaña 1987-88	67
Figura 8. Evolución de las poblaciones de <i>R. padi</i> y <i>S. avenae</i> , descompuestas en A*, A, NIV*, NIV y NI-III, durante la campaña 1988-89	68
Figura 9. Evolución de las poblaciones de <i>R. padi</i> y <i>S. avenae</i> , descompuestas en A*, A, NIV*, NIV y NI-III, durante la campaña 1989-90	69
Figura 10. Desviaciones de los valores reales de las TNI de la poblaciones totales de <i>R. padi</i> respecto a los valores teóricos obtenidos a partir de la regresión $TNI = 0,95*tm - 8,53$, en cada fecha de muestreo	79

- Figura 11. Desviaciones de los valores reales de las TNI de la poblaciones totales de *S. avenae* respecto a los valores teóricos obtenidos a partir de la regresión $TNI = 0,92*tm - 7,46$, en cada fecha de muestreo 80
- Figura 12. Desviaciones de los valores reales del desarrollo del cultivo (GS), en función de la integral térmica por encima de 0 °C, respecto a los valores teóricos obtenidos a partir del modelo:
 $GS = 0,55*10^{-5}*ST^2 + 0,001*ST + 5,93$ en cada fecha de muestreo 84
- Figura 13. Partículas de BYDV observadas en el microscopio electrónico de transmisión (x 40.000) en muestras procedentes de maíz 113
- Figura 14. Partículas de BYDV observadas en el microscopio electrónico de transmisión (x 40.000) en muestras procedentes de maíz 114
- Figura 15. Densidades poblacionales (*R. padi* + *S. avenae*) en las parcelas de siembra temprana en otoño (S1-T0), y en las parcelas de siembra temprana tratadas con un aficida en otoño (S1-T1) 117

Indice de tablas

pág.

Tabla 1. Fechas de siembra y de tratamiento aficida en las parcelas experimentales en las campañas 1986-87, 1987-88, 1988-89 y 1989-90	41
Tabla 2. Porcentaje de NI-III sobre el total de la población (1), porcentaje de A sobre el conjunto de (NIV+A) (2), y porcentaje de NIV* sobre el total de ninfas de cuarto instar (3) en cada uno de los muestreos en las campañas 1986-87, 1987-88, 1988-89 y 1989-90	74-75
Tabla 3. Situación agrometeorológica desde octubre hasta abril en las campañas 1986-87, 1987-88, 1988-89, y 1989-90 expresada en periodos de 10 días	85-86
Tabla 4. Intensidad de frío expresada como grados*hora de las temperaturas medias horarias inferiores a 0, -3, -6 °C, durante las campañas 1986-87, 1987-88, 1988-89 y 1989-90	87
Tabla 5. Prospección de huevos de <i>R. padi</i> en <i>Prunus sp</i> en la zona de regadío de Lleida, durante las campañas 1986-87 y 1987-88	89
Tabla 6. Densidades de <i>R. padi</i> y <i>S. avenae</i> en campos comerciales de cereales de invierno durante las campañas 1986-87, 1987-88 y 1988-89	90-91
Tabla 7. Infectividad en el aislado tipo PAV de alados colonizantes capturados en campos de cereales de invierno durante el otoño de 1987	93
Tabla 8. Infectividad de alados colonizantes capturados en campos de maíz durante la primavera de 1988	94
Tabla 9. Infectividad de alados colonizantes capturados en campos de cereales de invierno durante el otoño de 1988	95
Tabla 10. Infectividad de alados colonizantes capturados en campos de maíz durante la primavera de 1989	96

Tabla 11. Infectividad de alados colonizantes capturados en campos de cereales de invierno durante el otoño de 1989	97
Tabla 12. Infectividad de alados colonizantes capturados en campos de maíz durante la primavera de 1990	98
Tabla 13. Porcentajes de alados de <i>R. padi</i> y <i>S. avenae</i> infectivos, capturados en campos de cereales de invierno, en otoño, y maíz, en primavera durante las campañas 1987-88, 1988-89 y 1989-90	99
Tabla 14. Presencia de BYDV en campos de cereales forrajeros, y ricio de cereales, durante la campaña 1987-88	101
Tabla 15. Presencia de BYDV en campos de cereales forrajeros, y ricio de cereales, durante la campaña 1988-89	102
Tabla 16. Presencia de BYDV en campos de cereales forrajeros, y ricio de cereales, durante la campaña 1989-90	102
Tabla 17. Prospección de BYDV en campos de cereales de invierno durante la campaña 1987-88	104
Tabla 18. Prospección de BYDV en campos de cereales de invierno durante la campaña 1988-89	105
Tabla 19. Prospección de BYDV en campos de cereales de invierno durante la campaña 1989-90	106
Tabla 20. Prospección de BYDV en campos de maíz durante la campaña 1987-88	109
Tabla 21. Prospección de BYDV en campos de maíz durante la campaña 1988-89	110
Tabla 22. Prospección de BYDV en campos de maíz durante la campaña 1989-90	111
Tabla 23. Número medio de partículas de BYDV por campo detectado en el test ISEM y valores medios de absorbancia en el test ELISA, realizado sobre muestras de maíz	112

Tabla 24. Densidades de poblaciones de <i>R. padi</i> y de <i>S. avenae</i> en las parcelas de siembra temprana no tratadas en otoño (S1-T0) y en parcelas de siembra temprana tratadas en otoño (S1-T1), durante las campañas 1986-87, 1987-88, 1988-89 y 1989-90	118-119
Tabla 25. Densidades de poblaciones de <i>R. padi</i> y de <i>S. avenae</i> en las parcelas de siembra temprana no tratadas en otoño (S1-T0) y en parcelas de siembra tardía (S2), una vez se empieza a registrar población en éstas últimas, durante las campañas 1986-87, 1987-88, 1988-89 y 1989-90	120
Tabla 26. Porcentajes de muestras positivas en el test ELISA, con antisuero tipo PAV, en las parcelas experimentales de siembra temprana no tratadas (S1-T0), en las parcelas de siembra temprana tratadas en otoño (S1-T1), y en las parcelas de siembra tardía (S2)	123
Tabla 27. Porcentajes de muestras positivas en el test ELISA, con antisuero tipo MAV, en las parcelas experimentales de siembra temprana no tratadas (S1-T0), en las parcelas de siembra temprana tratadas en otoño (S1-T1), y en las parcelas de siembra tardía (S2)	124
Tabla 28. Porcentajes de muestras positivas en el test ELISA, con antisuero tipo RPV, en las parcelas experimentales de siembra temprana no tratadas (S1-T0), en las parcelas de siembra temprana tratadas en otoño (S1-T1), y en las parcelas de siembra tardía (S2)	125

RESUMEN

Resumen

En la zona de regadío de Lleida, los pulgones de cereales *Rhopalosiphum padi* (L.) y *Sitobion avenae* (F.) permanecen a lo largo de todo el año en gramíneas cultivadas en la zona; cereales forrajeros, cereales de invierno y maíz. El solapamiento de los ciclos de estos cultivos permiten el paso de los pulgones alados de uno a otro.

En condiciones mediterráneas la temperatura sólo puede explicar parte de la dinámica de poblaciones de estas especies durante el invierno y principios de primavera. El déficit hídrico en el cultivo, durante este período, tiene un efecto indirecto importante sobre la actividad de estas especies a través del efecto que tiene sobre la fisiología del cultivo, y constituye un factor determinante en la dinámica de poblaciones

Se han detectado aislados de BYDV tipo PAV, MAV y RPV. En los cereales de invierno el porcentaje de muestras positivas con el antisuero tipo MAV es relativamente elevado y se mantiene bastante estable de año a año, el del aislado tipo PAV es mucho más variable, y el del aislado tipo RPV es muy bajo. En el maíz destaca el elevado porcentaje de muestras positivas con el antisuero tipo MAV, siendo el de los aislados tipo RPV y PAV muy inferior, especialmente la de este último. Finalmente en los cereales forrajeros, y también en el ricio de cereales, los aislados predominantes son tipo PAV y MAV.

Los alados de *R. padi* y de *S. avenae* que van de un cultivo a otro permiten que el inóculo de BYDV pueda pasar de cultivo a cultivo y por tanto permiten que éste se pueda mantener a lo largo de todo el año en dicha zona, especialmente el aislado tipo MAV. La dispersión del aislado tipo PAV está

fundamentalmente condicionada a *R. padi*, ya que *S. avenae* - debido a la gran incidencia del aislado tipo MAV - no transmite de una forma eficiente el aislado tipo PAV. Es de destacar la relativamente elevada eficiencia de *R. padi* en la transmisión del aislado tipo MAV, principalmente en infecciones mixtas MAV+PAV.

En los cereales de invierno emergidos con anterioridad a la finalización de los vuelos otoñales de pulgones se produce en ésta época infección primaria con aislados tipo PAV y MAV. No se ha hallado evidencia de que en los mismos se produzca infección primaria en primavera, especialmente para el aislado tipo PAV.

La aplicación de un tratamiento aficida en otoño, tiene como consecuencia la disminución a niveles muy bajos o a veces nulos de las poblaciones invernantes de pulgones, y permite reducir la dispersión del virus durante el otoño e invierno. El retraso de la época de siembra permite evitar la infección primaria en otoño. Sin embargo en la zona de Lleida la mayor dispersión del virus tiene lugar en primavera, especialmente en el aislado tipo MAV. La dispersión del aislado tipo PAV - mucho más severo que el aislado tipo MAV - sólo se produce aquellos años en los que durante el invierno y principios de primavera las condiciones son favorables para el desarrollo de *R. padi*.

ABSTRACT

Abstract

In Lleida region (Northeast of Spain), *Rhopalosiphum padi* (L.) and *Sitobion avenae* (F.) populations survive throughout the year on winter cereals, maize and forage cereals, as these crops overlap.

In Mediterranean countries population dynamics of *R. padi* and *S. avenae* is mainly affected not only by low temperatures causing aphid mortality and affecting rates of development and reproduction, but also by other weather features affecting host-plant. Dry and cold weather affect host-plant phenology and quality and reduce aphid population development.

PAV-like, MAV-like and RPV-like isolates of BYDV have been detected. In winter cereals the percentage of samples ELISA positives using antisera against MAV-like isolates is fairly high and is maintained almost steady from year to year, the proportion of samples ELISA positive with antisera against PAV isolate is more variable, and that of RPV-like isolate is very low. In maize MAV-like isolates are the most common although PAV-like and RPV-like isolates are also present but in lower proportion, specially the PAV-like isolate. In forage cereals, and also in cereal volunteers, PAV-like and MAV-like isolates are the predominant.

Viruliferous alates of *R. padi* and *S. avenae* carry BYDV inoculum when flying from one crop to another, especially MAV-like isolate, whereas the spread of PAV-like isolate depends on *R. padi* dynamics, as *S. avenae* does not transmit the PAV-like isolate in autumn, and only in a low proportion in Spring. On the other hand *R. padi* transmits the MAV-like isolate in a fairly high proportion especially in mixed infections with the PAV-like isolate.

In Winter cereals emerging before the end of aphid flights in Autumn, the primary infection takes place with PAV- and MAV-like isolates in that time. There is no evidence of spring primary infection in the crops sown the previous autumn, especially for the PAV-like isolate.

Insecticide spray soon after crop emergence is very effective to reduce aphid numbers to very low levels during the winter, and is also effective to reduce the secondary virus spread during the winter and autumn. Late sowing dates, after autumn aphid migration, avoid primary infection in autumn. However, in Lleida region, the secondary spread of the virus occurs mainly in spring, specially with MAV-like isolate. Secondary spread of PAV - like isolate - more severe than MAV-like isolate - only takes place the years when the winter and the beginning of spring weather conditions are adequate for the development and reproduction of *R. padi*.

INTRODUCCION

I. Introducción

I.1 Pulgones de cereales de invierno

Los pulgones se citan en la literatura científica como insectos que infestan a los cereales, desde finales del siglo XVIII (Bruehl, 1961; Vickerman y Wratten, 1979; Dixon, 1987). Pero no fue hasta 1968 cuando se empezó a prestarles atención como causantes de pérdidas económicas en estos cultivos (Carter *et al.*, 1980). Desde entonces, en Europa, se han incrementado los trabajos de investigación, dedicados a esta plaga de los cereales sobre todo en Gran Bretaña y Francia (Dixon, 1987). En España, se han realizado trabajos sistemáticos sobre pulgones de cereales de invierno en la zona Centro (Castañera y Gutiérrez, 1983, 1985; Castañera, 1988; Fereres *et al.*, 1990) y en el Noreste (zona de regadío de Lleida) (Albajes y Pons, 1985; Pons, 1986; Pons y Albajes, 1986; 1987a, 1987b; Pons *et al.*, 1989). Según Castañera (1988), los pulgones constituyen la plaga más importante de los cereales de invierno en España.

La mayor incidencia de los pulgones en los cereales obedece según algunos autores (Kolbe, 1973; Way, 1979; Carter *et al.*, 1980; Castañera, 1988) a los cambios en los sistemas de cultivo que han conllevado: (1) la introducción de nuevas variedades más favorables a los pulgones (Sotherton y van Emden, 1982), (2) intensificación del cultivo, principalmente en lo que hace referencia a los abonos nitrogenados (Plumb, 1977; Vereijken, 1979; Way y Cammel, 1981), y (3) la expansión de la superficie en regadío (Brown *et al.*, 1984; Pike y Schaffner, 1985).

I.1.1 Especies más importantes

Se han descrito más de 40 especies de pulgones asociadas con gramíneas cultivadas (Vickerman y Wratten, 1979); de éstas, 7 se han citado como las más frecuentes en cereales: *Sitobion avenae* (Fabricius), *Rhopalosiphum padi* (L.), *Metopolophium dirhodum* (Walker), *Metopolophium festucae* (Theobald), *Sitobion fragariae* (Walker), *Rhopalosiphum maidis* (Fitch) y *Rhopalosiphum insertum* (Walker) (Vickerman y Wratten, 1979; Carter et al., 1980).

En España, en la Zona Centro, Castañera y Gutiérrez (1983) y Fereres et al. (1990), citan *S. avenae*, *R. padi* y *M. dirhodum* como las especies más importantes sobre cereales de invierno, y como especies secundarias *Diuraphis noxia* (Mordvilko), *Schizaphis graminum* (Rondani), *R. maidis*, *M. festucae*, *Sipha elegans* (del Guercio), *S. fragariae* y *Forda* sp. En la zona de Lleida, también se citan como especies de mayor importancia, *S. avenae*, *R. padi* y *M. dirhodum*, y como especies menores *S. graminum*, *R. maidis*, *D. noxia*, *S. fragariae*, *M. festucae*, , y *Sipha maydis* (Passerini) (Albajes y Pons, 1985; Pons, 1986).

I.1.2 Tipos de daño causado por los pulgones de cereales

Entre los daños, más importantes, causados por los pulgones sobre el cultivo hay que distinguir: (1) el daño directo, causado por la extracción de asimilados, y los daños indirectos causados, por (2) la melaza excretada por los pulgones, y por (3) las virosis transmitidas por los mismos.

La melaza tiene un efecto importante sobre la fisiología del cultivo, ya que produce una disminución del intercambio gaseoso (taponamiento de estomas), una reducción de la superficie fotosintética activa (como consecuencia de la

presencia de negrilla sobre la melaza excretada), y una aceleración de la senescencia de las hojas. Todo ello tiene como consecuencia una reducción de la fotosíntesis neta del cultivo (Rabbinge *et al.*, 1983).

Entre las virosis de cereales de invierno transmitidas por pulgones hay que destacar, muy especialmente, el virus del enanismo de la cebada o 'Barley Yellow Dwarf Virus' (BYDV). Probablemente la virosis que afecta a las gramíneas cultivadas más extendida en el mundo (Plumb, 1983; Burnett, 1984).

I.1.3 Efecto de los pulgones de cereales sobre la cosecha debido a su alimentación

El daño causado por los pulgones de cereales sobre la cosecha depende del número de pulgones que infestan el cultivo y del momento en que se produce la infestación. Una infestación temprana del cultivo puede tener efectos dramáticos sobre la producción (Dixon, 1987). Infestaciones tardías están, normalmente, asociadas a disminuciones moderadas de cosecha si bien el efecto sobre la calidad del grano puede ser importante (Wratten, 1975, 1978). En Europa los pulgones normalmente alcanzan niveles substanciales de población después de la antesis y durante el llenado del grano (Dixon, 1987).

Se estima que el daño causado por los pulgones sobre los cereales de invierno, depende también del nivel de producción potencial del cultivo, debido fundamentalmente al efecto que tiene la melaza sobre la fisiología del cultivo (Rabbinge *et al.*, 1983). No obstante, en España Castañera y Gutiérrez (1983) citan reducciones de producción importantes (11-25%) para densidades de población de sólo 1 a 8,7 pulgones/planta, y niveles de producción relativamente bajos. Ello se podría

explicar por el hecho de que en condiciones de escasez de agua, la asimilación de nutrientes, por parte de la planta es limitada y, por tanto, la competencia directa de los pulgones con la misma, es mucho más importante. Fereres et al. (1988), sugieren que el status hídrico del cultivo, en condiciones de secano, debería ser tenido en cuenta para determinar el umbral económico de daños de los pulgones de cereales.

I.1.4 Pulgones de cereales como vectores de BYDV

A partir de los años 50, cuando Oswald y Houston (1951) determinaron la etiología viral del amarilleamiento y enanismo que afectó de una forma importante a la cebada en California, se empezó a prestar especial atención a los pulgones como vectores de BYDV (Vickerman y Wratten, 1979).

Se han citado 23 especies de pulgones de cereales como vectores de BYDV (A'Brook, 1981), a los que hay que añadir *D. noxia* (von Wechmar, 1984). En Europa, de estas especies cabe destacar como más importantes *R. padi*, *S. avenae* y *M. dirhodum* (Plumb, 1990).

I.2 Biología de los pulgones de cereales

I.2.1 Ciclo biológico

De las tres especies citadas como más frecuentes sobre cereales en Europa, *R. padi* y *M. dirhodum* son especies heteroécicas entre rosáceas y gramíneas, mientras que *S. avenae* es una especie monoécica sobre gramíneas.

El huésped primario de *R. padi* es *Prunus padus* (L.), aunque también se citan como huéspedes primarios ocasionales *P. spinosus*, *P. tenellus* y *P. virginiana* (Blackman y Eastop, 1985). Como huéspedes secundarios esporádicos se conocen especies de las familias de las *Cyperaceae*, *Iridaceae*, *Juncaceae*, y *Typhaceae* (Blackman y Eastop, 1985).

M. dirhodum tiene como huésped primario *Rosa spp.* y, ocasionalmente, *Agrimonia* y *Fragaria spp.*; también como huésped secundario ocasional *Iris spp.* (Blackman y Eastop, 1985).

El ciclo biológico completo, holociclo, de éstas especies tiene lugar cuando la invernación se produce en forma de huevo. En zonas con inviernos suaves, que permiten la supervivencia de los pulgones durante el período invernal, se puede dar el ciclo biológico incompleto (anholociclo) es decir, la reproducción partenogenética se puede prolongar durante todo el año, incluso durante el periodo invernal (Dixon y Glen, 1971; Ward et al., 1984).

I.2.2 Ciclo biológico de *R. padi*, *S. avenae*, y *M. dirhodum* en Europa

En la mayoría de países del Oeste del continente Europeo *S. avenae* se describe como una especie anholocíclica. En Inglaterra (Dean, 1974, 1978; Chambers et al., 1982; Hand, 1982; Dewar y Carter, 1984; Hand y Wratten, 1985; Dewar y Carter, 1984), en Francia (Robert y Dedryver, 1977; Dedryver, 1978; Dedryver y Gellé 1981), en Los Países Bajos (Ankersmit y Carter, 1981), en Bélgica (Latteur, 1973), y en España (Castañera y Gutierrez, 1983; Pons y Albajes, 1987a; Fereres et al., 1990). No obstante en Escocia esta especie se cita como mayoritariamente holocíclica (Walters y Dewar, 1986; Newton y Dixon, 1988a).

R. padi es exclusivamente holocíclica en los países escandinavos (Wikteliuss, 1984). Es mayoritariamente holocíclica en regiones donde *P. padus* se da espontáneamente (Escocia, Norte de Inglaterra, Este de Francia)(George, 1974, Dedryver y Robert, 1981). En las principales zonas cerealícolas del Oeste Europeo, donde *P. padus* es muy raro, el anholociclo de esta especie es predominante, siendo las gramíneas perennes y los cereales su lugar de invernación (Dedryver, 1978, 1981; Dedryver y Gellè, 1982). En Italia y en Portugal, esta especie es fundamentalmente anholocíclica (Vidano, 1959; Ilharco et al., 1982). En España, en la zona Centro, Castañera (1988) y Fereres et al. (1990), y en el valle del Ebro, en la zona de Lleida, Pons y Albajes (1987), también citan a esta especie como esencialmente anholocíclica.

El ciclo biológico de *M. dirhodum*, es menos claro que el de las especies anteriores. En Gran Bretaña, se cita tanto holocíclica (Hand y Williams, 1981), como anholocíclica (Dean, 1974a; Dean, 1978). En Francia, en la zona de Bretaña, Dedryver y Robert (1981), establecen que la colonización de *Rosa* spp. se produce de una forma muy variable, según los años y las zonas. En España y Portugal esta especie no se ha citado sobre Rosáceas (Ilharco et al., 1982; Castañera y Gutiérrez, 1983).

I.3 Dinámica de poblaciones de los pulgones de cereales

La dinámica poblacional de los pulgones de cereales es el resultado de la migración, y de sus tasas de fecundidad, mortalidad y desarrollo (Carter et al., 1982). Entre los factores intrínsecos que más influyen sobre la fecundidad hay que citar: (1) la edad del individuo (Watt, 1979), (2) su peso (Dixon, 1971, 1976; Wratten, 1977; Watt, 1979) , y

(3) su forma (Wratten, 1974; Newton y Dixon 1988a, 1988b, 1990). De entre los factores extrínsecos que más influyen sobre la fecundidad, y también sobre la mortalidad, hay que destacar la temperatura y la calidad nutritiva de la planta huésped (Dean, 1974b; Dixon, 1987). Los enemigos naturales pueden tener, también, una acción importante como factor de mortalidad regulador de la densidad de población. No obstante, actualmente, se dispone de poca información sobre su efecto sobre la dinámica de poblaciones durante el invierno (Wratten et al., 1985).

I.3.1 Influencia de la temperatura sobre la dinámica poblacional

La mayoría de trabajos sobre el efecto de la temperatura sobre la dinámica poblacional de *S. avenae*, *R. padi* y *M. dirhodum*, se han realizado en condiciones de laboratorio. Hay que destacar, muy especialmente, los trabajos de Dean (1974b), realizados en un régimen de temperaturas entre 10 y 30 °C. Según dicho autor, *R. padi* tiene un mayor desarrollo y mayor fecundidad a altas temperaturas y *M. dirhodum* a bajas, mientras que *S. avenae* parece encontrarse en una situación intermedia.

En estudios específicos sobre el efecto de las bajas temperaturas sobre la mortalidad, Griffiths y Wratten (1979), no encuentran diferencias entre dichas especies, aunque sí entre clones de una misma especie, procedentes de distintas localidades. Williams (1980) sí cita diferencias entre especies; señalando que *R. padi* es más sensible a las bajas temperaturas que *S. avenae* o *M. dirhodum*.

I.3.2 Influencia de la planta huésped sobre la dinámica poblacional

Se han encontrado diferencias significativas en la mortalidad y fecundidad de los pulgones de cereales según el estadio de desarrollo de la planta huésped, órgano y edad sobre el que se produce la alimentación (Dean, 1973, 1974b; Dewar *et al.*, 1980; Cannon, 1984; Dixon, 1985; Leather *et al.*, 1989). Leather y Dixon (1981), citan que el desarrollo y reproducción de *R. padi* es menor en plantas cuando se alimenta sobre las hojas en fase de ahijado, que cuando lo hace en otras fases de desarrollo del cultivo. *S. avenae* muestra una clara preferencia por alimentarse en las espigas de la planta huésped (Dean, 1974c; Wratten, 1975; Latteur, 1976), siendo su fecundidad mayor cuando se alimenta en una espiga en sus primeros estadios de desarrollo (GS 70-79), que cuando lo hace durante el desarrollo de grano pastoso (GS 80-89) (Watt, 1979; Vereijken, 1979).

Carter *et al.* (1982), señalan que temperaturas moderadas o bajas durante la primavera-verano, provocan un mayor desarrollo y fecundidad de *S. avenae* ya que el desarrollo del cultivo es más lento, mientras que en primaveras con temperaturas elevadas el cultivo se desarrolla más rápidamente y por tanto el tiempo disponible para los pulgones para reproducirse, en una fase favorable del cultivo es, en términos relativos, inferior.

I.3.3 Análisis de la dinámica de poblaciones de pulgones de cereales en invierno en campo

La mayoría de trabajos sobre la dinámica de poblaciones de los pulgones de cereales en campo se centran en el período primavera-principios de verano. Poca es la información disponible sobre la dinámica de las poblaciones

anholocíclicas durante el periodo invernal.

Green (1966), en Oregon (EEUU), señala que la supervivencia de *R. padi* y *S. avenae*, de forma vivípara en gramíneas perennes y en cereales es posible durante el invierno. Dean (1974a), establece que la supervivencia de los pulgones sobre los cereales, en forma vivípara, es difícil en la mayoría de inviernos en el Norte y Centro de Europa, pero que ésta es mucho mayor en gramíneas perennes, que ofrecen una mayor protección frente a factores atmosféricos adversos - viento, lluvia y nieve -. Los resultados de Hand (1989), están también en esta línea. Dedryver y Gellé (1982), señalan que la supervivencia de poblaciones anholocíclicas de pulgones de cereales en invierno es frecuente en Bretaña - influencia oceánica -, y difícil en la región de París, posiblemente debido a las bajas temperaturas. En Italia, en la zona central, Zapparoli (1990), indica que *R. padi* puede sobrevivir anholocíclicamente en los cereales de invierno.

En España, en la zona de regadío de LLeida, Pons (1986) señala que la supervivencia de *S. avenae* y de *R. padi* en forma vivípara, durante el invierno, es posible, y que en otoño *R. padi* es la especie dominante, mientras que en primavera lo es *S. avenae*. Fereres *et al.* (1990) en la zona Centro obtienen resultados similares. En Inglaterra, en Rothamsted, Dewar y Carter (1984), observan que a partir de enero-febrero *S. avenae* se convierte en la especie que alcanza mayores densidades, mientras que en el momento de la colonización *R. padi* es la especie dominante. Ello lo atribuyen al hecho de que *R. padi* es más sensible a las bajas temperaturas, y a que la fase de ahijado del cereal es poco favorable para esta especie. Hand y Hand (1986), en Holanda, obtienen resultados parecidos.

En primavera, las especies que se citan como más importantes en Europa occidental son *S. avenae* y *M. dirhodum*, alcanzando *R. padi* densidades mucho menores. En España, en la zona

Centro, Castañera (1988), señala que *S. avenae* es la especie más frecuente, seguida de *M. dirhodum* mientras que la presencia de *R. padi* es mucho más irregular. En la zona de regadío de Lleida, Pons *et al.* (1989), han obtenido resultados similares, aunque destacan una mayor presencia de *R. padi* en algunos años.

I.4 El virus del enanismo amarillo de la cebada (BYDV)

1.4.1 Primeras citas sobre BYDV

El virus del enanismo amarillo de la cebada (BYDV) se describió por primera vez como una enfermedad de etiología viral transmitida por pulgones por Oswald y Houston (1951) en Estados Unidos. Posteriormente se citó en Gran Bretaña por Watson y Mulligan (1957), y en Francia por Bogava *et al.* (1968). En España, la primera cita es de 1978, en arroz, como causante del 'enrojat' en la zona valenciana, por Medina *et al.* (1978), y se caracterizó de forma definitiva en 1979, en éste cultivo y como agente causal de amarilleos en cereales de invierno en las comarcas de Lleida, en 1979 (Medina *et al.*, 1979, Alfaro y Jordà 1983, Jordà *et al.* 1987).

1.4.2 BYDV dentro del grupo de los luteovirus

En término 'Barley Yellow Dwarf Virus' engloba un conjunto de distintos luteovirus con características similares en cuanto a sus vectores y a la sintomatología que inducen en las plantas huéspedes (Plumb, 1983). El aislado de BYDV procedente de Nueva York (USA) y transmitido específicamente por *S. avenae*, es considerado el miembro tipo de los

luteovirus (Rochow y Israel, 1977; Matthews, 1979).

Los luteovirus se caracterizan principalmente por: (1) encontrarse confinados en el floema de las plantas huéspedes (2) transmitirse por pulgones que lo hacen de una forma persistente y circulativa, y (3) no transmitirse mecánicamente. No hay evidencia de su multiplicación en el interior del vector (Paliwal y Sinha, 1970).

No todas las especies de vectores transmiten con la misma eficiencia los luteovirus que producen BYD.

I.4.3 Efecto de BYDV sobre la cosecha

El hecho de que BYDV se encuentre confinado en el floema de sus plantas huéspedes admite un argumento fisiológico para explicar su efecto sobre ellas (Rochow y Duffus, 1981). En efecto, la presencia del virus puede producir una alteración del tejido floemático que interfiere con el metabolismo y/o translocación de carbohidratos, y tiene como consecuencia la aparición de amarillos y/o enrojecimientos en las hojas de la planta huésped (Watson y Mulligan, 1960b; Rochow y Duffus, 1981).

El efecto de BYDV sobre los cereales de invierno es muy variable, dependiendo: (1) de la especie y cultivar (Endo, 1957, 1963; Martens y McDonald, 1970; Cooper y Sorrells, 1983), (2) del estado fenológico del cultivo en el momento de la infección (Endo y Brown, 1957, 1963; Slykhuis *et al.*, 1959; Smith, 1967; Doodson y Saunders 1970a, 1970b; Comeau, 1987; Goulart *et al.*, 1989), (3) del aislado de BYDV (Jedlinski, 1972; Rochow, 1982a; Baltenberger *et al.*, 1987), y (4) del número de pulgones y de su infectividad (Smith, 1967; Plumb, 1990; Pike, 1990).

En general se admite que infecciones en los primeros estadios de desarrollo del cultivo tienen una mayor influencia sobre los componentes del rendimiento que infecciones más tardías (Gildow *et al.*, 1988; Goulard *et al.*, 1989). En parcelas experimentales infestadas naturalmente con *R. padi* virulíferos, en el momento de la emergencia del cultivo se han registrado pérdidas de producción del 1 al 31 % en trigo (Rautapaa y Uoti, 1976; Carrigan *et al.*, 1981; Dubin *et al.*, 1984; Pike, 1990), del 12 al 16.5 % en cebada (Rautapaa y Uoti, 1976; Pike, 1990) y del 5 al 64.5 % en avena (Martens y McDonald, 1970; Rautapaa y Uoti, 1976).

A nivel comercial la información de que se dispone en Europa sobre pérdidas de producción es prácticamente inexistente (Barker, 1990). Burnett (1984) estima que en Estados Unidos las pérdidas de producción debidas a BYD se sitúan entre el 1 al 3 %, aunque en años favorables para el desarrollo de la enfermedad éstas pueden llegar fácilmente al 20-30 % (Burnett 1984, 1990).

I.4.4 Descripción de BYDV

BYDV está formado por partículas isométricas de 25-30 nm de diámetro con unos coeficientes de sedimentación de 115-118 S. Tiene una cápsida proteica de PM 24 kDa (Waterhouse *et al.*, 1986, 1988). Los viriones constan de una sola cadena de RNA, PM 2,0 kDa (Brakke y Rochow, 1974). BYDV da una buena reacción inmunogénica, lo que ha facilitado el desarrollo de tests inmunológicos para su diagnóstico (Mathews, 1979; Rochow y Israel, 1977).

I.4.5 Aislados-tipo de BYDV

En Estados Unidos, Rochow (1969a, 1979a) a partir de BYDV procedente del Estado de Nueva York caracteriza 5 aislados de BYDV, definidos a partir de la transmisibilidad diferencial de 4 especies de pulgones de cereales. Dichos aislados se nombran con las iniciales del vector (o vectores) que lo transmiten de forma más eficiente.

MAV	transmisibile	específicamente	por	<i>S. avenae</i>
RPV	"	"	"	<i>R. padi</i>
RMV	"	"	"	<i>R. maidis</i>
SGV	"	"	"	<i>S. graminum</i>
PAV	transmisibile	no específicamente	por	<i>S. avenae</i> y <i>R. padi</i>

Actualmente estas cepas se reconocen como aislados-tipo, y se toman como un sistema de referencia para caracterizar el BYDV procedente de cualquier zona del mundo. De todas maneras, ningún aislado-tipo de BYDV ha sido testado utilizando todas las especies vectores, ni con la mayoría de clones procedentes de distintas zonas del mundo. Por todo ello, es difícil establecer patrones epidemiológicos en una zona determinada, en base a los aislados tipo, si previamente no se han caracterizado serológica y biológicamente los aislados y especies, respectivamente, de la zona (Plumb, 1983).

Plumb (1974), caracteriza para Gran Bretaña cuatro aislados de acuerdo, con la especificidad virus-vector y su severidad sobre plantas test en invernadero.

F	transmisibile	principalmente	por	<i>S. avenae</i>
R	"	"	"	<i>R. padi</i>
G	"	"	"	<i>S. avenae</i> y <i>R. padi</i>
B	"	"	"	<i>S. avenae</i> y <i>R. padi</i>

El aislado B, transmisible inespecíficamente por *R. padi* y *S. avenae*, al igual que el aislado G, es mucho más severo que este último (Plumb, 1974). *M. dirhodum*, una especie no utilizada por Rochow al establecer los aislados-tipo, transmite con la misma eficiencia los cuatro aislados anteriores (Plumb, 1990).

Herrera (1989), establece que el aislado F es del tipo MAV, el aislado R del tipo RPV, el aislado G del tipo PAV, y el aislado B una infección mixta, que se da de forma espontánea en Inglaterra, entre los aislados tipo PAV y RPV.

I.4.6 Serotipos de BYDV

Los antisueros producidos a partir de los aislados MAV, PAV, RPV, RMV, y SGV (Rochow *et al.*, 1971; Rochow, 1979a; Hsu *et al.*, 1984, Rochow *et al.*, 1987) en Estados Unidos, constituyen un sistema de referencia (serotipos) para caracterizar los sueros producidos en distintos países a partir de aislados propios.

En Gran Bretaña, se han producido a partir de los aislados de BYDV G, R y F antisueros monoclonales que reaccionan de forma específica con los serotipos PAV, RPV, MAV de Rochow (Torrance *et al.*, 1986; Pead y Torrance, 1988). Y antisueros policlonales para los aislados F y R-568 que corresponden a los serotipos MAV y RPV de Rochow (Herrera, 1989; Forde, 1990)

En España, Jordà y colaboradores a partir de aislados procedentes del arroz de la zona valenciana y de aislados procedentes de cereales de invierno de Sevilla y Lleida han obtenido antisueros policlonales tipo RPV y PAV (Jordà *et al.*, 1990) y también antisueros monoclonales (Jordà *et al.*, 1991).

I.4.7 Relaciones entre aislados de BYDV.

Serológicamente, los 5 aislados-tipo de BYDV se pueden clasificar en dos grupos. Un primer grupo constituido por MAV, PAV y SGV , y un segundo grupo formado por RPV y RMV (Rochow et al., 1971; Rochow y Carmichael, 1979).

Las relaciones de sinergismo observadas, en plantas doblemente infectadas, entre los aislados PAV-RPV y MAV-RPV (Jedlinski y Brown, 1965), y la constatación de que en plantas infectadas con MAV la infección con PAV es mucho más difícil, siendo el recíproco también cierto (Jedlinski y Brown, 1965; Aapola y Rochow, 1971; Wen y Lister, 1989, 1990), está en consonancia con la división de los aislados de BYDV en los dos grupos anteriores.

Pruebas citológicas, tomando como criterio la alteración del núcleo, lugar donde se produce la replicación del virus y la naturaleza de las fibrillas contenidas en las vesículas citoplasmáticas (Gill y Chong, 1976), así como las pruebas de hibridación con clones de cDNA (Waterhouse et al., 1986; Barbara et al., 1987) también apoyan la división en los dos subgrupos anteriores.

I.4.8 Hipótesis sobre el mecanismo de especificidad virus vector

Se ha establecido la hipótesis, de que el mecanismo de especificidad virus-vector se encuentra en las glándulas salivares de los pulgones, lugar donde existen receptores que solamente permiten el paso de los viriones de los que reconocen epitopos específicos (Rochow 1969a; Gildow y Rochow 1980a, 1980b, 1980c; Gildow, 1985).

Esta hipótesis permite explicar el hecho de que *S. avenae*,

en plantas doblemente infectadas con PAV y MAV, aislados serológicamente muy relacionados, transmite PAV de una manera mucho menos eficiente que cuando lo hace de plantas con infecciones simples de PAV. Y está de acuerdo con el hecho de que *R. padi*, en infecciones dobles de PAV y RPV, aislados serológicamente distintos, no se produzca ningún fenómeno análogo (Rochow et al., 1983).

I.4.9 Hipótesis sobre la transmisibilidad no específica de *R. padi* y de *R. maidis*. Relaciones de dependencia

Para explicar las transmisiones no específicas de *R. padi* y *R. maidis*, en plantas doblemente infectadas, se ha establecido la hipótesis de que durante la replicación de los dos tipos de partículas, si ésta es simultánea, se produce una encapsidación heteróloga (Rochow, 1975, 1977, 1982b). Se considera que existen dos tipos distintos de encapsidación heteróloga; la transcapsidación (o enmascaramiento fenotípico) y el mezclado fenotípico. En la encapsidación heteróloga la totalidad de las proteínas de la cápsida corresponden al virus normalmente transmitido por el vector, mientras en el mezclado fenotípico las proteínas de la cápsida pertenecen a ambos virus.

Para *R. padi*, se han descrito las siguientes transmisiones no específicas: (1) en plantas que contienen RPV, esta especie puede transmitir los aislados RMV, MAV, SGV, y (2) en plantas que contienen el aislado PAV, esta especie puede transmitir los aislados MAV, y en menor grado RMV (Rochow, 1970, 1973, 1977; Rochow y Gill, 1978; Rochow 1982b).

R. maidis transmite el aislado MAV, y también el aislado RPV, en plantas que contienen RMV (Rochow 1975, 1982b).

La encapsidación heteróloga que tiene lugar en plantas

doblemente infectadas con MAV y RPV, es una transcapsidación (Rochow, 1970). Y la que tiene lugar entre PAV y MAV es un mezclado fenotípico (Hu et al., 1988).

Para *S. avenae* y *S. graminum* no se ha descrito ninguna relación de dependencia (Rochow, 1982b).

I.5 Diagnóstico de BYDV

I.5.1 Sintomatología producida por BYDV

La sintomatología producida por BYDV, y en general de las luteovirosis, es menos clara que la producida por otros grupos de virus vegetales y se pueden confundir fácilmente con desórdenes fisiológicos del cultivo (Conti et al., 1990). El síntoma más característico del BYD es la pérdida de color verde de los tejidos foliares, que normalmente se manifiesta de una manera más intensa en las hojas jóvenes (Stoner, 1977).

En cebada, la pérdida de color verde va asociada a la aparición de un color amarillo brillante, en contraste con el color amarillo más pálido al que normalmente va unida la carencia de nitrógeno. La decoloración empieza en la punta de la hoja y rápidamente se extiende a toda la hoja (Burnett, 1984; Conti et al 1990). En avena, el color verde pálido característico de las hojas sanas da lugar a un color amarillo paja que puede evolucionar a un brillante color rojizo (Plumb, 1974; Conti et al, 1990). En algunos trigos, se producen sombras de color amarillento, rojizo o púrpura. De todas formas en muchas variedades de trigo harinero, trigo duro, y también de triticale los síntomas, en plantas infectadas, no son visibles (Burnett, 1990; Conti et al,

1990). En el maíz, es frecuente encontrar cultivares que no muestran síntomas (Brown *et al.*, 1984). En las plantas susceptibles, BYDV provoca un enrojecimiento de las hojas intermedias de la planta, que empieza por los bordes de la hoja y se va extendiendo (Henry, 1988). También se ha descrito en esta especie, la presencia de pequeñas manchas cloróticas (Conti *et al.*, 1990).

I.5.2 Pruebas biológicas

El método más seguro para diagnosticar la presencia de BYDV es la realización de tests biológicos (Osca, 1990). De todas maneras, la realización de este tipo de pruebas tiene inconvenientes de manejo, infraestructura, y lo que puede ser más relevante de tiempo. Además para poder realizar un diagnóstico fiable son necesarias al menos dos semanas para que los síntomas de la enfermedad se puedan desarrollar en la planta indicadora. Cuando en el diagnóstico se quiere asociar el BYDV detectado a un aislado-tipo (Rochow, 1969a, 1979a), es necesario realizar 6 ó 7 transmisiones seguidas para reducir la probabilidad de las transmisiones no específicas (Herrera, 1989).

I.5.3 Pruebas serológicas

Los tests serológicos, a pesar de que no aportan ninguna información sobre la especificidad virus-vector, son un instrumento de diagnóstico muy fiable para detectar la presencia de BYDV. Los ensayos serológicos que más se utilizan en la detección de BYDV son el test ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) en sus formas directo e indirecto, ambos en su modalidad DAS (Clark y Adams, 1977) y el Test ISEM (Serologically Specific Electronic Microscopy)

(Derrick y Briansky, 1976).

Lister y Rochow (1979) son los primeros autores que utilizaron el test ELISA para diagnosticar BYDV en muestras vegetales. Torrance (1987) utilizó por primera vez el test ELISA amplificado, una modificación del test ELISA, para la detección del virus directamente en el pulgón.

El Test ISEM combina la precisión de la Microscopía Electrónica (ME) con la especificidad de las técnicas serológicas (Diacó *et al*, 1986). El test ISEM tiene la ventaja, sobre el test ELISA, de que no es necesario utilizar anticuerpos marcados con enzimas, ni tampoco hay que utilizar anticuerpos específicos producidos en segundas especies, como en el caso del test ELISA indirecto. El Test ISEM se puede utilizar para confirmar los diagnósticos dudosos realizados con el Test ELISA (Forde, 1989).

I.5.4 Anomalías en la caracterización de aislados utilizando pruebas serológicas y pruebas biológicas

Son varios los casos que se citan en que no hay una buena correspondencia entre las pruebas biológicas y las pruebas serológicas. Así, por ejemplo, en Australia, se ha detectado un aislado de BYDV correspondiente al serotipo MAV que es transmitido de forma eficiente por *R. padi* (Lister y Sward, 1988; Sward y Lister 1988). En California (EEUU), se ha diagnosticado por serología un aislado tipo RPV que es transmitido de forma inespecífica por *R. padi*, *S. avenae*, y *S. graminum* (Creamer y Falk, 1989). También en California, se han detectado clones de *M. dirhodum* que transmiten el aislado PAV, procedente de New York, pero que no transmiten un aislado tipo PAV procedente de California (PAV-CA) (Gildow y Rochow, 1983). En Marruecos se ha detectado, por serología, un aislado tipo PAV que es transmitido de una forma

relativamente eficiente por *R. maidis* (Makkouk *et al.* 1990).

I.6 Epidemiología de BYDV

La epidemiología de BYDV está absolutamente condicionada a la de sus vectores transmisores, y a los factores ambientales que determinan el comportamiento y supervivencia de éstos (Gildow, 1990). El estudio de los aislados presentes en una zona determinada, una vez se han caracterizado biológica (relaciones de especificidad con los vectores), y serológicamente, puede ser de utilidad para facilitar la comprensión de la epidemiología de BYDV en esa zona.

I.6.1 Infección primaria de los cereales de invierno

La infección primaria se puede producir tanto en otoño como en primavera. La importancia relativa dada a cada una de ellas, varía según los autores consultados. La mayoría de autores, consideran que la infección primaria en los campos de cereales de invierno, se produce en otoño por pulgones alados que emigran desde sus huéspedes de verano (A'Brook, 1974; Smith *et al.*, 1977; Plumb, 1976, 1981, 1983; A'Brook y Dewar, 1980). Otros autores, señalan que la infección primaria se produce, principalmente, en primavera por alados procedentes de zonas lejanas, que a su vez proceden de gramíneas perennes, o bien de otros campos de cereales de invierno. Ello se apoya en el hecho de que, en primavera, se encuentran, en los cereales de invierno, aislados de BYDV no detectados en otoño sobre el mismo cultivo (Fargette *et al.*, 1982; Clement *et al.*, 1986; Moriones y García-Arenal, 1990).

I.6.2 Dispersión secundaria de BYDV en los cereales de invierno

La dispersión secundaria de BYDV, al igual que ocurre con la infección primaria, depende de las especies de pulgones de cereales que intervienen, y de su comportamiento. Se pueden distinguir dos momentos principales en la dispersión secundaria de la enfermedad. Uno, en otoño, antes de la llegada de los primeros fríos, y otro posterior, en primavera-inicios de verano. No obstante en inviernos con temperaturas suaves la dispersión secundaria de la enfermedad en esa época puede ser importante (Halbert y Pike, 1985).

Las poblaciones anholocíclicas, a finales de invierno-principios de primavera, cuando empiezan a subir las temperaturas, pueden incrementarse rápidamente y producir una dispersión secundaria importante del virus en ese momento (Plumb, 1990). En regiones donde el holociclo de *R. padi* es importante, los alados procedentes del huésped primario, aunque no contribuyen a la introducción del inóculo en los campos cultivados, pueden contribuir también a la dispersión secundaria del virus en primavera-verano (Plumb, 1990).

I.6.3 Fuentes de inóculo de BYDV más importantes

En Europa occidental, se estima que las gramíneas perennes, tanto espontáneas como cultivadas, constituyen la principal fuente de inóculo de BYDV durante el verano (Doodson, 1967; Plumb 1977b, Plumb 1983). Aunque todas las gramíneas son fuentes de inóculo potenciales de BYDV, no todas son igualmente aptas como huéspedes para los pulgones, o como reservorios del virus. (Kieckhefer y Stoner, 1978; Stoner y Kieckhefer, 1979; Kieckhefer, 1984). El ricio de cereales, también se cita como una fuente de inóculo importante de BYDV, durante el verano, debido : (1) a su proximidad a los

campos de cultivo, (2) a la preferencia que muestran los pulgones por estas plantas, y (3) a la facilidad con la que los pulgones adquieren el virus de dichas plantas (Plumb, 1983).

En las regiones mediterráneas, donde los cereales de invierno se cosechan mucho antes, y donde la emergencia del ricio no se produce hasta principios de otoño - con la llegada de las primeras lluvias -, éste no puede constituir *per se* un huésped durante el verano para los pulgones, pero sí puede serlo a inicios y durante el otoño.

Entre los cultivos de verano que se citan como reservorios de BYDV destaca el maíz, principalmente en regiones mediterráneas (Signoret y Alliot, 1981; Paliwal, 1982; Brown *et al.*, 1984; Pearson y Robb, 1984; Moreau y Lapierre, 1987; Henry, 1988; Osler *et al.*, 1990; Blackmer y Bishop, 1991) . De acuerdo con Halbert *et al.* (1990), si se determina la incidencia del virus en el maíz, en otoño, se puede estimar la importancia de la infección primaria en los cereales de invierno.

En España, en la zona de Lleida, Pons y Albajes (1987a), destacan el papel del maíz, como huésped de verano para los pulgones de cereales y como posible fuente de inóculo potencial de BYDV durante ésta época. Osca (1990) ha recuperado a partir de muestras de maíz procedentes de Lleida, BYDV transmitido por *R. padi*.

Pons y Albajes (1987b) destacan también, la importancia de los cereales forrajeros - que en dicha región ocupan una superficie relativamente importante - como un reservorio alternativo al ricio de cereales, a finales de verano y durante el otoño.

I.7 Control de BYDV

Rochow y Duffus (1981), proponen las siguientes medidas para el control de BYDV: (1) ajuste de la época de siembra de los cereales de invierno y de primavera, (2) eliminación o, al menos, disminución de las fuentes de inóculo, (3) aplicación de tratamientos insecticidas para reducir la dispersión secundaria del virus, y (4) uso de variedades resistentes.

Dichos métodos de lucha, son eficaces para evitar las pérdidas de producción debidas a BYDV, especialmente si se utilizan combinadamente (Rochow y Duffus, 1981).

I.7.1 Ajuste de la época de siembra

En las siembras de otoño, una estrategia de lucha contra BYDV para evitar la infección primaria es retrasar la fecha de siembra, de manera que la emergencia del cultivo se produzca después de la época de vuelos de los pulgones (Plumb 1984, 1988). Plumb (1984, 1988) considera que ésta es la estrategia que mejores resultados da para reducir la incidencia de la enfermedad.

En las siembras de primavera, la estrategia que se sigue consiste en sembrar lo antes posible, para que cuando se produzca el vuelo de los pulgones los cereales se encuentren lo más desarrollados posible (Plumb 1984, 1988). Es conocido que campos con plantas poco desarrolladas constituyen un mayor atractivo para pulgones voladores, que los campos, más uniformes, con plantas de mayor volumen (A'Brook, 1968).

I.7.2 Eliminación de las fuentes de inóculo

Debido al elevado número de especies que son huéspedes potenciales para los pulgones de cereales, la eliminación de todas las posibles fuentes de inóculo de BYDV es imposible. De todas formas, mantener los campos de cultivo limpios de gramíneas espontáneas, muy especialmente de ricio, antes de iniciar el cultivo es una buena medida para disminuir la infección primaria (Plumb 1988).

I.7.3 Control químico de vectores: tratamiento aficida de otoño

La aplicación de un tratamiento aficida en otoño, si bien no puede evitar la infección primaria, se ha señalado como efectivo para reducir la dispersión secundaria del virus cuando se aplica en el momento oportuno, es decir ni demasiado temprano, para que no se produzcan reinfestaciones, ni demasiado tarde, una vez ya haya tenido lugar una dispersión secundaria importante (Horellou y Evans, 1979; Port, 1983; Plumb, 1983, 1984; Kendall et al., 1985). La aplicación de granulados sistémicos en el momento de la siembra del cultivo se señala, en general, como menos efectiva (Kendall y Smith, 1981; Plumb 1983).

I.7.4 Uso de cultivares resistentes

En Europa, la utilización de cultivares de cereales, resistentes a BYDV desempeña un papel menor en el control de BYDV (Plumb, 1988). La mayoría de cultivares de cereales de invierno utilizados son susceptibles a BYDV (Plumb, 1986). En cebada se ha detectado un gen (Yd2) que se ha asociado con tolerancia a BYDV. En presencia de BYDV, cultivares

conteniendo dicho gen producen entre un 20-26% más que líneas isogénicas que no lo contienen (Schaller, 1984). Posiblemente ésta es una de las estrategias que más posibilidades puede ofrecer en el futuro, pero actualmente está poco desarrollada (Plumb, 1991).

I.8 El virus del enanismo amarillo de la cebada (BYDV) en España

Desde la primera cita de BYDV en arroz, en la zona valenciana, y en cereales de invierno, en la zona de Lleida, (Medina *et al.*, 1979), se ha detectado BYDV en todas las zonas cerealícolas importantes de España (Alfaro y Jordà, 1983; Alfaro y Montes, 1984; Fuentes, 1984; Alfaro *et al.*, 1985; Fereres *et al.*, 1989; Lister *et al.*, 1990; Jordá *et al.*, 1990; Moriones y García-Arenal, 1990; Moriones *et al.*, 199-), por lo que se puede afirmar que BYDV se encuentra ampliamente extendido en España, aunque su incidencia es variable de un año a otro (Moriones y García-Arenal, 1990; Moriones *et al.*, 199-). En España no se ha estudiado sistemáticamente el efecto que el enanismo amarillo de la cebada puede tener sobre el rendimiento.

I.8.1 Aislados de BYDV detectados en España en cereales de invierno

Fereres *et al.* (1989), Jordá *et al.* (1990), y Osca (1990), señalan que en España se encuentran aislados de BYDV tipo PAV, RPV, y MAV de BYDV, si bien destacan que el tipo PAV es el predominante, seguido del tipo RPV. Moriones y García-Arenal (1990) señalan que en primavera, los aislados tipo PAV son predominantes sobre los aislados tipo RPV en los cereales

de invierno, mientras que en gramíneas espontáneas los aislados tipo RPV son tan importantes como los aislados tipo PAV.

I.8.2 Epidemiología de BYDV en cereales de invierno

Moriones *et al.* (199-) indican que en España se dan dos patrones distintos en la epidemiología de BYDV. Así dichos autores señalan que en la zona Centro (en Madrid) la infección primaria con aislados tipo RPV se da principalmente en otoño e invierno posiblemente con inóculo de BYDV procedente de gramíneas espontáneas de la misma zona, mientras que la infección primaria con aislados tipo PAV se da principalmente en primavera.

Fereres *et al.* (1989) señalan que en otoño la infección primaria de los cereales de invierno es poco probable, debido a que la emergencia de dicho cultivo se produce demasiado tarde. Y que lo más factible es que ésta se produzca en primavera principalmente por alados de *S. avenae* procedentes de gramíneas espontáneas y/o ricio de cereales. Moriones y García-Arenal (1990) también señalan que la mayor dispersión de BYDV en la mayoría de regiones cerealícolas españolas, se produce probablemente en primavera por *S. avenae*, pero se inclinan por la hipótesis de que el inóculo de BYDV no procede, de una manera mayoritaria, de gramíneas espontáneas próximas a los campos de cultivo de la misma zona, y que por tanto procede de zonas lejanas.

I.8.3 Epidemiología de BYDV en la zona de regadío de Lleida

I.8.3.1 Ciclo biológico de los pulgones de cereales

En la zona de regadío de Lleida, Pons y Albajes (1987a, 1987b, 1990) establecen que los pulgones de cereales, especialmente *S. avenae* y *R. padi*, se pueden mantener a lo largo de todo el año en las gramíneas cultivadas en la zona.

En otoño, cuando la emergencia de los cereales se produce antes de mediados de diciembre, los alados de *R. padi* y *S. avenae* colonizan este cultivo. Poco después se produce un pico de población y con la llegada de los primeros fríos, tiene lugar un declive importante de las densidades de población. No obstante, la mayoría de años, durante el invierno, ambas especies pueden sobrevivir de forma vivípara sobre los cereales. A mediados de primavera se suele producir un incremento significativo de las poblaciones de pulgones y, normalmente, a finales de mayo principios de junio se produce la máxima densidad de población.

Desde poco después del máximo poblacional, tiene lugar la aparición de formas aladas que emigran a campos de maíz. En este cultivo las densidades de población van aumentando durante tres o cuatro semanas. Seguidamente se suele producir un acusado descenso de los niveles poblacionales - los motivos del cual no son suficientemente conocidos -, pero puede mantenerse, aunque a niveles bajos, durante todo el verano en dicho cultivo. A finales de verano, principios de otoño se suele producir un nuevo incremento de los niveles de población.

En la zona de Lleida, a finales de verano se suelen sembrar, en regadío, los cereales forrajeros, normalmente en cultivo asociado con veza. La emergencia de este cultivo poco después, suele coincidir con el pico de población de pulgones

en el maíz. Se produce una colonización de este cultivo, y también de ricio de cereales que emerge con la llegada de las primeras lluvias, por parte de las formas aladas que emigran del maíz cuando éste se encuentra en sus últimos estadios de desarrollo.

En los cereales forrajeros, y en el ricio de cereales, *R. padi* y *S. avenae*, alcanzan densidades de población muy elevadas, y rápidamente se producen formas aladas que pueden colonizar, de nuevo, los cereales de invierno en otoño.

I.8.3.2 Hipótesis sobre la epidemiología de BYDV en la zona de regadío de Lleida

Las consideraciones anteriores sobre el ciclo biológico de los pulgones de cereales, en cereales de invierno, maíz, cereales forrajeros y el hecho de que se hubiera detectado BYDV en la zona de Lleida en cereales de invierno y en maíz (Medina *et al.*, 1979; Alfaro y Jordà, 1983; Alfaro y Montes, 1984; Fuentes, 1984; Alfaro *et al.*, 1985), llevó a Pons y Albajes (1987a, b) a plantear la hipótesis de que el inóculo de BYDV se podía mantener en las gramíneas cultivadas de la zona a lo largo de todo el año.

I.9 Objetivos de la Tesis

El presente trabajo queda encuadrado en una línea de investigación iniciada en el año 1983 sobre la biología de los vectores del enanismo amarillo de la cebada (BYDV) en la zona de regadío de Lleida. Una vez caracterizada la biología de los pulgones de cereales (Pons, 1986), y visto que el BYDV se encontraba presente en la zona (Medina *et al.*, 1979; Alfaro y Jordà, 1983), los objetivos que se plantearon en esta fase del trabajo se concretaron en los siguientes puntos:

1. Profundizar en el conocimiento de la biología y de la dinámica de poblaciones de *R. padi* y *S. avenae* sobre trigo en las comarcas de Lérida, en especial en invierno.
2. Confirmar la presencia de BYDV en las gramíneas cultivadas de la zona, determinar los aislados presentes y su incidencia, así como comprobar si estos aislados se pueden mantener a lo largo de todo el año en dichas gramíneas.
3. Determinar la influencia del tratamiento aficida de otoño y de la época de siembra, como medidas de control, sobre las poblaciones de pulgones de cereales y sobre la incidencia de BYDV

MATERIAL Y METODOS

II. Material y métodos

Con el fin de alcanzar el objetivo 1 se mantuvo a lo largo de los cuatro años de estudio, el mismo diseño experimental utilizado por Pons (1986). Además se realizaron muestreos durante el otoño y el invierno en campos comerciales de la zona para determinar si la invernación en forma vivípara se producía también en campos comerciales de cereales. Asimismo, se muestrearon posibles huéspedes primarios alternativos de *R. padi* para la presencia de huevos de esa especie, con el fin de confirmar el anholociclo de la misma.

El dispositivo experimental establecido por Pons (1986) también permitía obtener resultados para alcanzar el objetivo 3.

Para alcanzar el objetivo 2 se tomaron muestras en campos comerciales de cereales de invierno, de maíz, y de cereales forrajeros, y también en ricio de cereales. Y se realizaron pruebas de infectividad en alados capturados, en el momento de la colonización, sobre cereales de invierno y sobre maíz.

II.1 La zona de estudio

La zona de regadío de Lleida ocupa una superficie de unas 490.000 ha. Administrativamente está constituida por las comarcas de Les Garrigues, La Noguera, El Segrià, L'Urgell, y el Pla d'Urgell. Su clima se caracteriza por tener un régimen térmico: templado, y un régimen de humedad: mediterráneo seco (Elías y Ruíz, 1977).

En esta zona, las principales gramíneas cultivadas son los cereales de invierno, el maíz, y los cereales forrajeros, con

unas superficies estimadas de 325.000, 20.000, y 3.000 ha respectivamente (Anónimo, 1991).

En la figura 1 se sitúa la zona de regadío de Lleida en en Noreste de España.

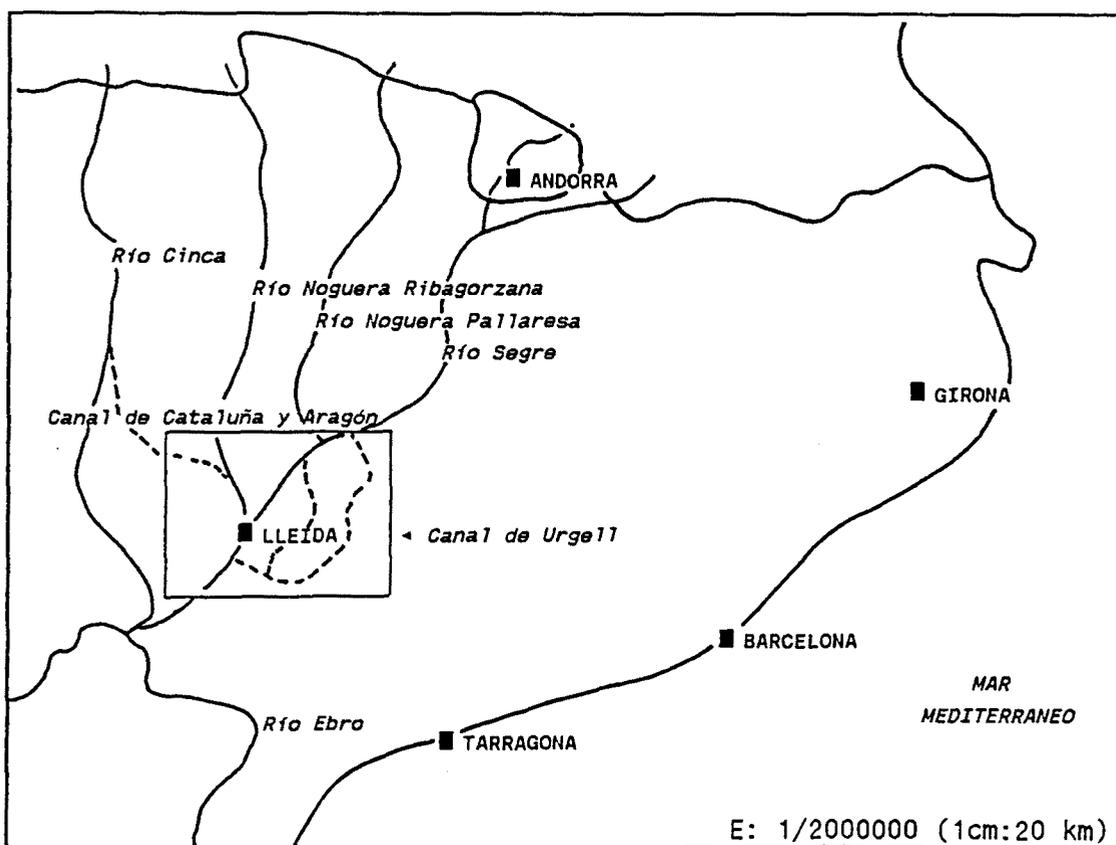


Fig. 1. Situación de la zona de regadío de Lleida en el Noreste de España.

II.2 Dinámica de poblaciones de *R. padi* y *S. avenae* en las parcelas experimentales

II.2.1 Localización de las parcelas experimentales. Diseño experimental

Durante las campañas 1986-87, 1987-88 y 1988-89 las parcelas experimentales se localizaron en el término municipal de El Palau d'Anglesola, a 25 Km, al Este de Lleida capital. En la campaña de 1989-90 la parcela experimental se situó en el término municipal de Lleida.

El diseño experimental utilizado, en todas las campañas, fue un split-plot con cuatro bloques. El factor principal era la época de siembra, y el factor secundario el tratamiento aficida. El tamaño mínimo de las subparcelas era de 9x12 m².

Se establecieron dos épocas de siembra; una siembra temprana (S1), efectuada de manera que la emergencia del cultivo se produjera en plena época de vuelo otoñal de los pulgones, y una siembra tardía (S2) efectuada de manera que ésta se produjera con posterioridad al fin del vuelo.

En el tratamiento aficida se establecieron dos tipos de subparcelas. Las no tratadas (T0), y las tratadas con un aficida (T1); la aplicación del tratamiento se llevó a cabo en el momento de la colonización de otoño, poco después de la emergencia del cultivo (GS entre 10 y 11).

En la tabla 1, se indican las fechas de siembra y de tratamiento aficida en los cuatro años de estudio.

Tabla 1. Fechas de siembra y tratamiento aficida en las campañas 1986-87, 1987-88, 1988-89, y 1989-90.

<i>Campaña</i>	<i>Epoca de siembra</i>	<i>Fecha de siembra</i>	<i>Fecha tratamiento aficida</i>
1986-87	S1	10.10.86	10.11.86
	S2	19.12.86	-
1987-88	S1	15.10.87	03.11.87
	S2	13.12.87	-
1988-89	S1	07.10.88	01.11.88
	S2	12.12.88	-
1989-90	S1	04.11.89	24.12.89
	S2	14.02.89	-

En todos los ensayos se realizaron las labores típicas de preparación del terreno, y de abonado de fondo de la zona. Se sembró trigo duro (*Triticum durum* var. *turgidum*), cv Mexa. La dosis de siembra en la siembra temprana fue de 180 Kg/ha, y de 190 kg/ha en la siembra tardía. La siembra se realizó con una sembradora de líneas.

El tratamiento insecticida se realizó con una barra de tratamiento de 9 m, con cipermetrina 10 % p/v (Ripcord^R, Shell) a 100 cc pc/100 litros de agua.

El tratamiento herbicida se realizó a mediados de febrero. En las tres primeras campañas se utilizó ioxinil 7,7% + mecoprop 37,5 % + bromoxinilo 7,5 % p/p (Oxytril-m^R, Cóndor), contra dicotiledóneas, y en la campaña 1989-90, se utilizó metil diclofob 36 % p/v + tribenuron 75 % p/p (Colt^R, Du Pont), a 2,5 l/ha contra mono y dicotiledóneas.

En las tres primeras campañas se efectuó un sólo riego, a mediados de abril, mientras que en la campaña 1989-90 se efectuó un primer riego en febrero, y otro posterior a finales de marzo.

II.2.2 Registro de datos climáticos y de desarrollo del cultivo. Cálculo variables agrometeorológicas

Durante las campañas de 1986-87, 1987-88 y 1988-89, los datos de temperatura y precipitación se obtuvieron del observatorio de Mollerussa C U, que se encuentra a 3,5 Km del lugar donde se ubicaron los campos experimentales. Durante la campaña de 1989-90 los datos climáticos se obtuvieron del observatorio de Lleida, situado a 10 Km de las parcelas experimentales.

El registro del estado de desarrollo del cultivo, en las parcelas experimentales, se hizo los días de muestreo, siguiendo el Código Decimal de Zadoks *et al.* (1974).

Las temperaturas medias horarias se calcularon ajustando una curva sinusoidal a las temperaturas máxima y mínima diarias, siguiendo a Allen (1976). La evapotranspiración de referencia (ET_o), se calculó a partir de la evapotranspiración media diaria registrada en los evaporímetros de cubeta de las estaciones meteorológicas, corregida con un coeficiente de 0,85 (Doorembos y Kassan, 1979). La evapotranspiración estimada del cultivo (ET_c), se calculó a partir de ET_o, y los coeficientes establecidos por Doorembos y Kassan (1979). Para el cálculo del déficit estimado de la evapotranspiración del cultivo (DE_{Tc}), se supuso que el AWC del suelo de 100 mm.

II.2.3 Muestreo de pulgones en las parcelas experimentales

Para el seguimiento de las poblaciones de pulgones en las parcelas experimentales, se efectuaron muestreos con un aspirador D-Vac modelo 1-A (D-Vac Co., Riverside Cal. USA). La periodicidad de muestreo fue, salvo imponderables, cada 7-10 días. El período de muestreo transcurrió desde poco después de la colonización del cultivo en otoño, GS 11-12, hasta el espigado del cereal. En cada campaña se llevaron a cabo entre 13 y 16 muestreos.

La unidad de muestreo consistió en la superficie determinada por la boca del aspirador (0,09 m²). En cada parcela elemental muestreada, se efectuaron cuatro succiones de un minuto de duración cada una de ellas. De esta manera, la superficie muestreada por parcela elemental fue de 0,36 m² (4x0,09 m²). La elección de los puntos de muestreo, se hizo al azar, con las restricciones siguientes: (1) eliminar una franja de un metro de ancho en todo el perímetro de la parcela, y (2) localizar los puntos de succión en una de las diagonales principales. La aspiración se realizó con la boca del aspirador en contacto con el suelo; cuando las plantas tuvieron demasiada altura para hacerlo de esta manera sin dañarlas, la boca se mantuvo lo más cerca posible de la superficie del suelo.

Después del muestreo de cada parcela elemental, se retiró la bolsa del D-Vac, y se guardó dentro de una bolsa de polietileno, para ser transportada, de esta manera, al laboratorio para su procesado.

II.2.4 Procesado de las muestras en el laboratorio

Las muestras obtenidas en el campo, una vez en el laboratorio, se conservaron en el frigorífico a 40 C durante

un máximo de 2 días. Cuando no se pudieron examinar inmediatamente, se conservaron en un arcón congelador a -30 °C, para facilitar su posterior identificación.

Para la toma de datos se colocó el contenido de la muestra en un cristizador, en donde se mataron los insectos y arácnidos presentes en la muestra con acetato de etilo. Posteriormente, la muestra fue examinada con la ayuda de un microscopio estereoscópico 'Wild', modelo M-5, a 6 y 12 aumentos. La separación de los pulgones de los restos de materia vegetal y materia inerte, presente en la muestra, se llevó a cabo con la ayuda de un pincel.

De cada muestra se anotaron, para cada especie presente, los siguientes datos:

- número de adultos alados (A*)
- " " adultos ápteros (A)
- número de ninfas de cuarto instar con rudimentos alares (NIV*)

- número de ninfas de cuarto instar sin rudimentos alares (NIV)
- número de ninfas de primer, segundo o tercer instars (NI-NIII)

También se registraron el número de momias y de depredadores presentes en las muestras.

II.2.5 Muestreo de BYDV en las parcelas experimentales

A partir del mes de febrero se inició el muestreo de BYDV en las parcelas experimentales. Para ello se tomaron al azar,

en cada subparcela, entre 10 y 20 hojas. Las hojas se conservaron en un arcón congelador para su posterior diagnóstico. En cada campaña se realizaron un total de 3-4 muestreos.

II.3 Presencia de pulgones en campos comerciales durante el invierno

II.3.1 Cultivos muestreados

Se muestrearon campos de trigo y de cebada de la zona durante el invierno. En la campaña 1986-87 se muestrearon 6 campos, 2 en la campaña 1987-88, y 11 en la campaña 1988-89.

II.3.2 Muestreo de campos comerciales

Se utilizó un aspirador tipo 'D-vac' modelo 1A, al igual que se hizo en los campos experimentales. Se buscaron campos de un tamaño mínimo de 5 ha. El método de muestreo consistió en la elección de una de las diagonales del campo y en el establecimiento de un punto de muestreo cada 20 pasos. El tiempo de succión fué de 30 segundos. Se anotó el número de puntos de muestreo para determinar posteriormente la superficie muestreada.

II.3.3 Procesado de muestras en el laboratorio

El procesado de las muestras fue idéntico al que se realizó para las muestras obtenidas en las parcelas experimentales.

II.4 Presencia de huevos de pulgón de cereal en huéspedes primarios alternativos

Se muestrearon brotes de *Prunus* spp presentes en la zona, especialmente *P. amygdalus* y *P. persica*. Se muestreó en campos localizados en distintos puntos de la zona de estudio. De cada árbol se recogieron entre 10 y 12 brotes. Durante la campaña 1987-88 se muestrearon un total de 500 brotes y en la campaña 1988-89 se muestrearon un total de 800 brotes.

II.5 Pruebas de infectividad de BYDV de pulgones de cereales

II.5.1 Captura de pulgones alados colonizantes en campo

Durante las campañas 1987-88, 1988-89, y 1989-90, se capturaron alados colonizantes en campos de cereales de invierno, durante el otoño, y en campos de maíz, durante la primavera, para determinar su infectividad. La captura se realizó con la ayuda de pinzas entomológicas. Se procedió con sumo cuidado para evitar cualquier daño sobre el aparato bucal de los pulgones.

II.5.2 Confirmación de la especie en el laboratorio

Después de ser capturados, los pulgones eran llevados lo más rápidamente posible al laboratorio en donde se determinaba la especie a la que pertenecían. Ello se realizó con la ayuda de un microscopio estereoscópico a 6-50 aumentos. Posteriormente, los pulgones fueron llevados a un invernadero para realizar el test de infectividad. El tiempo transcurrido desde la captura de los pulgones, en el campo, y la

infestación de la planta test, en el invernadero, nunca fue superior a 3 horas.

II.5.3 Siembra y cultivo de las plantas a testar

Como planta test se utilizaron plantas individualizadas de *Triticum durum* var. *turgidum* (cv Mexa), el mismo cultivar utilizado en las parcelas experimentales.

Las semillas se sembraron en macetas de arcilla de 10 cm de diámetro, utilizando como substrato un preparado comercial de turba (pH=5,5-6,5; 1% de N, 0,2% de P₂O₅, 0,2% de K₂O) (Neuhaus Humin-Substrat^R, Klasmann & Deilmann).

Desde la siembra hasta la aparición de la primera hoja, las plantas se mantuvieron en grupos de 25 en jaulas de estructura metálica (de 50 cm de diámetro y 40 cm de altura), recubiertas de tela de visillo de malla lo suficientemente densa para evitar la entrada de pulgones y parasitoides. Posteriormente, se trasladaron a jaulas individuales de las mismas características que las jaulas de siembra pero de 25 cm de diámetro y 40 de altura.

Durante el invierno el invernadero se mantuvo a una temperatura mínima de 7-8 °C. En primavera-verano para evitar temperaturas excesivas en el interior del invernadero, éste se encaló. El riego era automático, se distribuyó el agua con un conjunto de difusores situados sobre las jaulas, que produjeron una fina lluvia sobre las mismas.

II.5.4 Realización de pruebas de infectividad

En cada planta a testar se colocó un único individuo, cuando esta se encontraba en los primeros estadios de desarrollo (GS=10-11). Los pulgones se mantuvieron sobre las plantas test durante 7-10 días. Transcurrido dicho tiempo, se anotó si había habido o no reproducción, y si el individuo seguía vivo. Seguidamente se aplicó una pulverización aficida para matar los pulgones presentes sobre la planta con pirimicarb 1% p/v (ZZ-Aphox^R, ICI), a una dosis de un gramo pc por litro de agua.

Las plantas se dejaron vegetar durante unos 30-40 días, manteniéndose en todo momento libres de pulgones por medio de pulverizaciones periódicas con el aficida indicado. Transcurrido dicho tiempo las plantas se lavaron con agua, y se conservaron a -30 °C, para la realización posterior de su diagnóstico.

II.6 Prospección de BYDV en gramíneas cultivadas de la zona de regadío de Lleida

Durante las campañas 1987-88, 1988-89, y 1989-90 se realizó una prospección de BYDV en campos comerciales de cereales forrajeros, cereales de invierno, y maíz. También se tomaron muestras de ricio de cereales. El muestreo de los cereales forrajeros, y del ricio, se llevó a cabo durante el invierno y principios de primavera. Los cereales de invierno se muestrearon en primavera, y el maíz a finales de verano.

La elección de los campos a muestrear se hizo al azar, con las siguientes restricciones: (1) se buscaron campos de un tamaño mínimo de 5 has, (2) la distancia mínima entre campos consecutivos fue de 10 km.

En los cereales forrajeros y en el ricio, el muestreo fue dirigido, es decir se tomaron como muestras plantas que mostraban síntomas de BYD. En los cereales de invierno, y en el maíz el muestreo fue al azar. Para ello, en los cereales de invierno, se siguió una de las diagonales del campo, y cada 20 pasos se tomó una muestra, que consistía en una de las hojas superiores de la planta. En el caso del maíz, se siguieron 4 ó 5 filas de cada campo, en cada una de ellas, cada 20 pasos se recogió la hoja inmediatamente superior a la mazorca, de la planta correspondiente.

Las muestras recogidas, se conservaron, al igual que las muestras recogidas en las parcelas experimentales, en un arcón congelador a -30°C , hasta su posterior diagnóstico.

En las figuras 2, 3 y 4 se localizan los puntos de muestreo de cereales forrajeros, y ricio de cereales, de cereales de invierno y de maíz, respectivamente, en la zona de estudio durante las campañas 1987-88, 1989-89 y 1989-90.

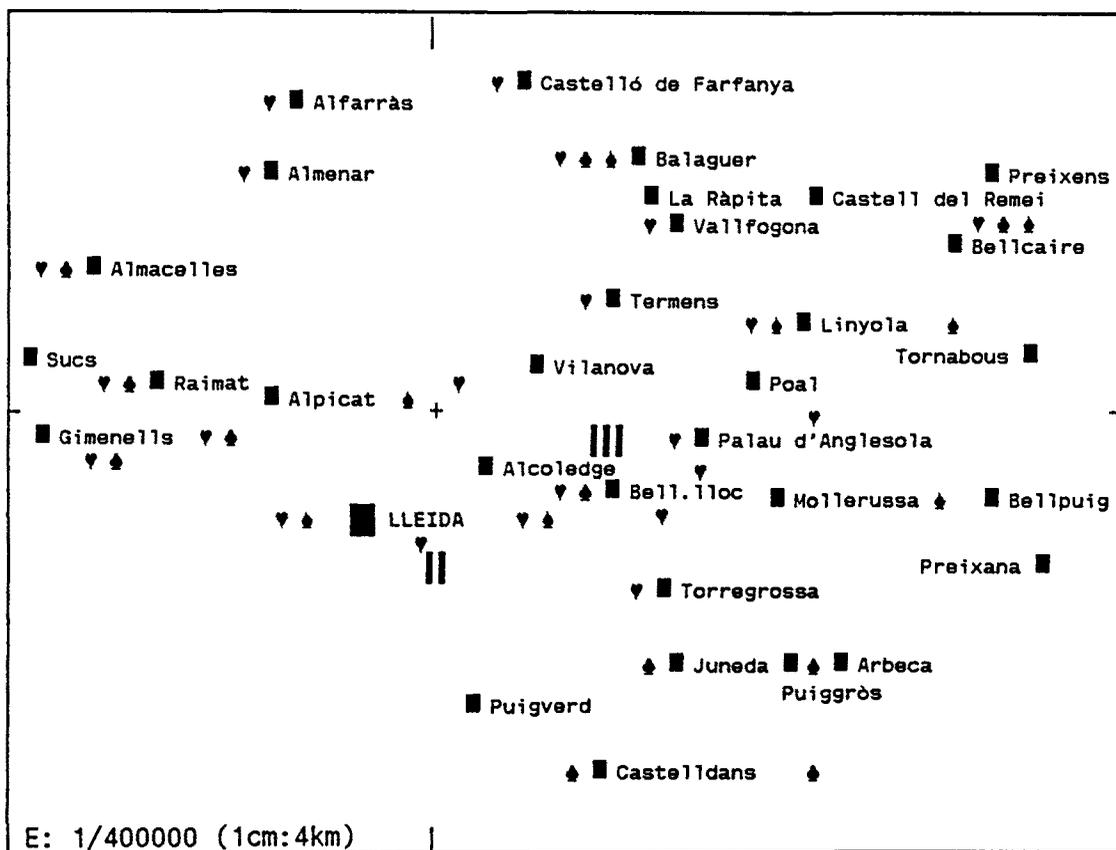


Figura 2. Localización de los puntos de muestreo de cereales forrajeros y ricio de cereales en la zona de estudio en las campañas 1987-88 (▼), 1988-89 (♣) y 1989-90 (♠). Situación de las parcelas experimentales en las campañas 1986-87, 1987-88, 1988-89 (||||) y 1989-90 (||). ■ indica la situación de los núcleos urbanos. + indica la localización de la coordenada geográfica Long. 0°40'E, Lat. 41°40'N.

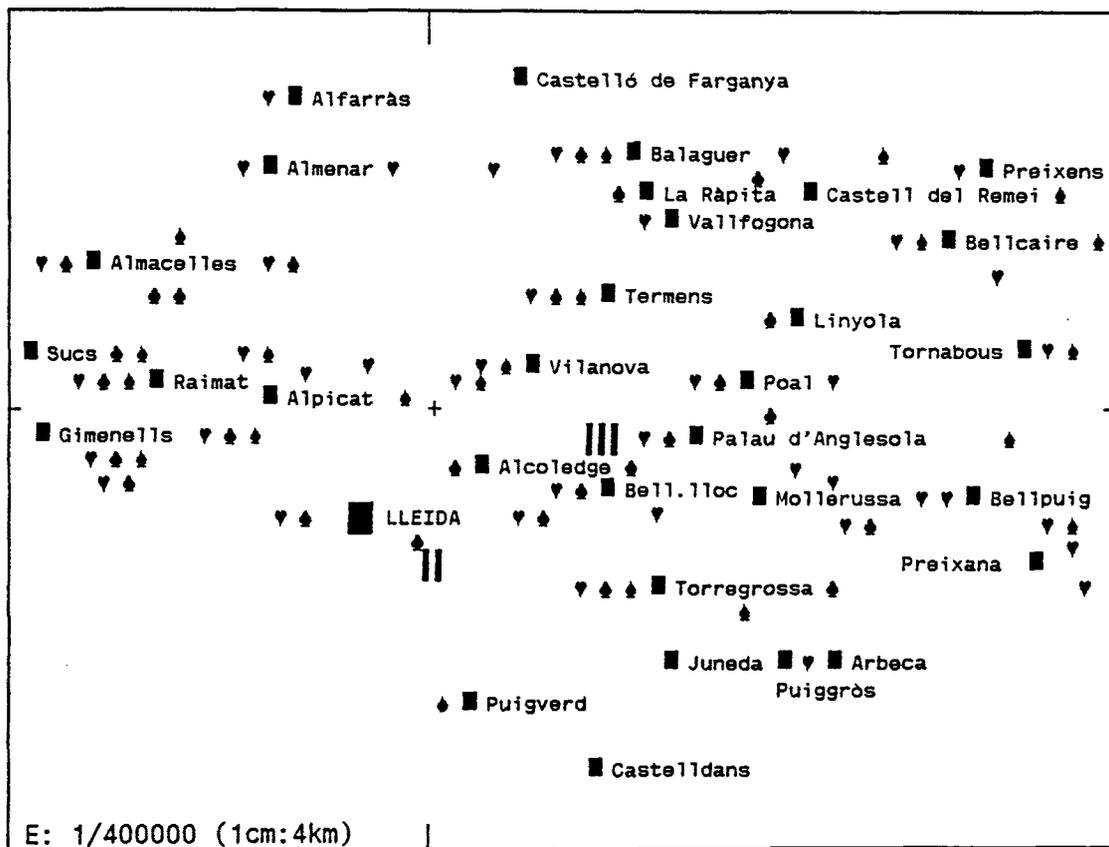


Figura 3. Localización de los puntos de muestreo de cereales de invierno en la zona de estudio en las campañas 1987-88 (▼), 1988-89 (◆) y 1989-90 (▲). Situación de las parcelas experimentales en las campañas 1986-87, 1987-88, 1988-89 (|||) y 1989-90 (||). ■ indica la situación de los núcleos urbanos. + indica la localización de la coordenada geográfica Long. 0°40'E, Lat. 41°40'N.

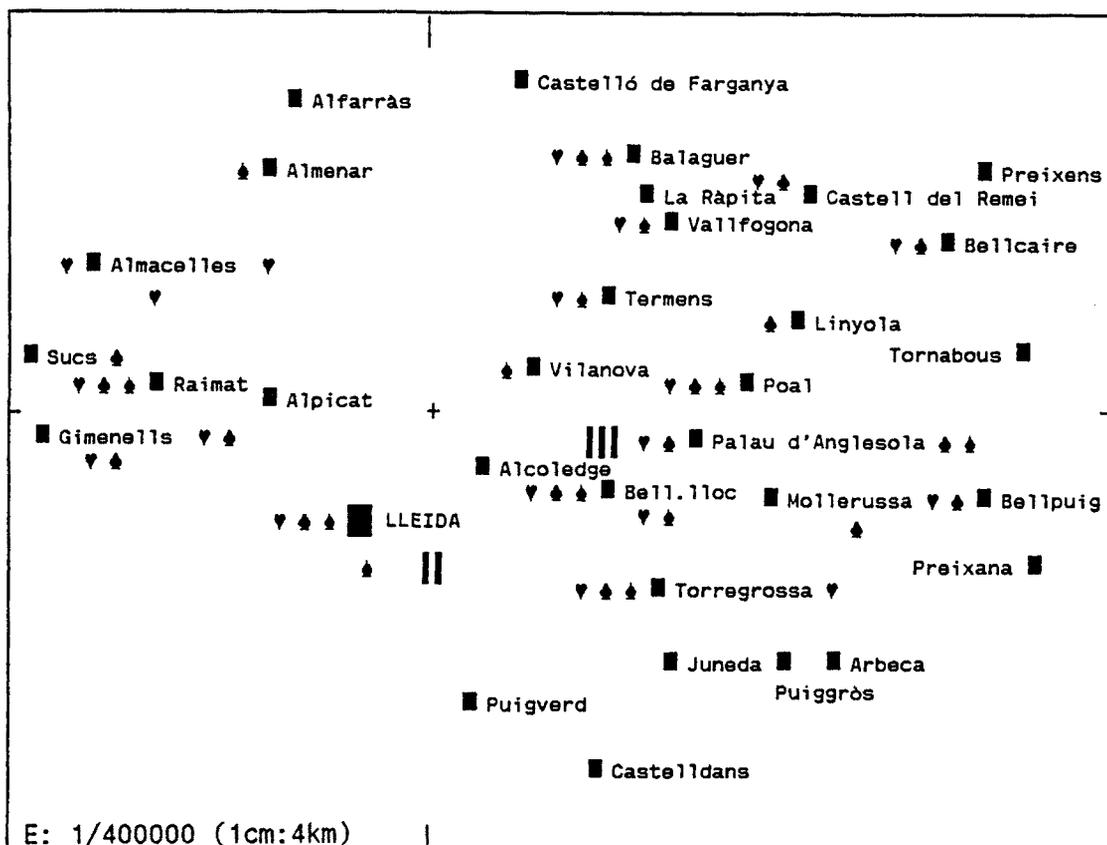


Figura 4. Localización de los puntos de muestreo de maíz en la zona de estudio en las campañas 1987-88 (♥), 1988-89 (♣) y 1989-90 (♠). Situación de las parcelas experimentales en las campañas 1986-87, 1987-88, 1988-89 (▤) y 1989-90 (▥). ■ indica la situación de los núcleos urbanos. + indica la localización de la coordenada geográfica Long. 0°40'E, Lat. 41°40'N.

II.7 Test ELISA para el diagnóstico de BYDV

II.7.1 Modalidades del Test ELISA realizadas. Antisueros utilizados.

Para el diagnóstico de BYDV de las muestras vegetales, se realizaron dos modalidades de test ELISA; el test ELISA directo y el test ELISA indirecto, ambos en su modalidad DAS.

En el test ELISA directo, se utilizaron los antisueros policlonales Bioreba-B y Bioreba-F (Bioreba). Bioreba-B detecta los aislados tipo PAV, mientras que Bioreba-F detecta aislados tipo PAV y MAV (Plumb, 1977).

En el test ELISA indirecto, se utilizaron los siguientes antisueros: (1) KY, para capturar aislados tipo PAV y RPV (Douplik *et al.*, 1982). Suministrado gratuitamente por el profesor Pirone (Universidad de Kentucky, USA). Este antisuero fue purificado en el Harpenden Laboratory (MAFF, Harpenden, Gran Bretaña), y se dejó a una concentración final de 1mg/ml de anticuerpo. (2) RES BYDV-F y RES-R568, para capturar aislados tipo MAV y PAV respectivamente (Herrera, 1989; Forde, 1990), ambos suministrados gratuitamente por el Dr Plumb (Rothamsted Experimental Station).

Para detectar la presencia de aislados tipo PAV, MAV y RPV en el test ELISA indirecto se utilizaron los antisueros monoclonales siguientes: (1) MAC-91, para detectar aislados tipo PAV, (2) MAC-92, para detectar aislados tipo RPV, y (3) MAFF-2 para detectar aislados tipo MAV (Torrance y Pead, 1986; Torrance *et al.*, 1986; Pead y Torrance, 1988). Todos ellos fueron suministrados por el Dr Barker (Harpenden Laboratory, MAFF, Gran Bretaña).

Finalmente en el test ELISA indirecto se utilizó el antisuero 'conejo anti-rata' conjugado con fosfatasa alcalina (Rabbit

anti-rat whole molecule AP conjugate, Sigma).

II.7.2 Obtención del extracto crudo vegetal

Para la obtención del extracto crudo vegetal, se utilizó como tampón de extracción PBSt (0,4 g KH_2PO_4 , 1,16 g K_2HPO_4 , 8 g NaCl, y 0,2 g ClNa por litro de agua, pH=7,4, más 0,5 ml Tween 20) conteniendo un 2 % de Polivinilpirrolidona (Merck). Se trabajó a una relación 1 a 10 entre peso seco de muestra y tampón de extracción.

La extracción en muestras de cereales de invierno frescas se realizó, en una primera fase, utilizando un triturador de cabezal de 1 cm de diametro (Politron, Kinematica) que se ajustaba perfectamente a un tubo de ensayo de 1 cm de diámetro. Posteriormente, para la obtención del extracto crudo se utilizó un mortero, ya que se comprobó que la extracción era mejor. En este último caso antes de trituradas las muestras se dejaron secar a temperatura ambiente durante 48 h. La extracción en hojas de maíz se hizo con mortero, procediendo de la misma forma que con las muestras de cereales de invierno.

Una vez obtenido el extracto crudo, éste se centrifugó a 10.000 revoluciones durante un minuto (Hermle, modelo Z 231 M). Como extracto para las pruebas serológicas se utilizó únicamente el sobrenadante.

II.7.3 Controles utilizados

Como controles positivos se utilizaron muestras procedentes de Rothamsted Experimental Station infectadas con los aislados G, para aislados tipo PAV, R-568, para aislados tipo

RPV, y F, para aislados tipo MAV. También se utilizaron, como controles positivos, muestras procedentes del campo, que se habían testado previamente.

Como controles negativos, se utilizaron plantas de cereales cultivadas en el invernadero en un ambiente libre de pulgones.

II.7.4 Protocolo de trabajo seguido en el test ELISA

Tapizado de placas

Como soporte sólido en el test ELISA se utilizaron placas de poliestireno de 96 pocillos de fondo plano (NUNC II). El tapizado de las placas se realizó con los antisueros nombrados anteriormente, a una concentración 1/1000 de antisuero en tampón de tapizado (1,59 g Na_2CO_3 , 0,2 g NaHCO_3 por litro de agua, pH=9,6). En cada pocillo se colocaron 100 μl de disolución con la ayuda de una micropipeta de 8 canales (Titertek).

Las placas se tapizaron durante 3 horas a 33 $^{\circ}\text{C}$. El lavado de las placas se hizo con PBSt. Se realizó un primer lavado, en el que el PBSt se eliminó inmediatamente, y tres lavados más en los que se mantuvo el tampón durante tres minutos.

Adición del extracto de las muestras

En cada pocillo se colocaron 100 μl de extracto de la muestra, con una micropipeta de 50-200 μl (Pipetman, Gilson). Las placas se mantuvieron en incubación durante toda la noche a 6 $^{\circ}\text{C}$. Posteriormente se lavaron tal como se ha indicado en el apartado anterior.

Adición de antisueros

En el caso del test ELISA directo se adicionó a cada pocillo el antisuero conjugado con fosfatasa alcalina a una disolución 1/1000 en PBSt conteniendo un 0,2 % de BSA (Bovine Serum Albumine, Sigma). Se dejó incubar durante 3 horas a 30 °C. Posteriormente se lavaron las placas.

En el caso del test ELISA indirecto se procedió de la manera siguiente: (1) se adicionaron los antisueros monoclonales - producidos en hibridomas de rata -, a una disolución 1/1000 en tampón de extracción. Se dejaron incubar durante 2 horas a 30 °C. Se lavaron las placas, y (2) se añadió el antisuero 'conejo anti-rata' conjugado con fosfatasa alcalina (Sigma), a una disolución 1/1000 en PBSt conteniendo un 0,2 % de BSA. Se dejó incubar durante dos horas a 30-32 °C. Seguidamente se lavaron las placas.

Adición del substrato

Como substrato se añadió a cada pocillo 100 µl de una solución de 0,6 mg/ml de p-nitrofenil fosfato (Boehringer) en tampón de dietanolamina. Dicho tampón se preparó disolviendo 98 ml de dietanolamina (Panreac 98%) en 800 ml de agua, la disolución final se llevó a un volumen final de 1 l. El pH se ajustó a 9.8 con HCl concentrado.

Lectura de la absorbancia. Discriminación valores positivos

Para la lectura de la absorbancia se utilizó un monitor de lectura de absorbancia (Titertek modelo PLUS MK II) con un filtro de 405 nm. Se utilizó como blanco la lectura media de una columna de una placa vacía, de la mismas características que la que se utilizaron para la realización del test. Se realizó una primera lectura al cabo de 1 hora y una segunda

lectura al cabo de 2 horas.

De cada muestra se hicieron dos repeticiones, excepto de los controles negativos que se hicieron seis. Según Fenlon y Sopp (1991), ello es interesante para ganar precisión en la discriminación de los valores positivos. Se consideraron como positivas aquellas muestras con una D.O. media, al menos dos veces superior a la media de los controles negativos, que es un criterio ampliamente extendido (Lister y Rochow, 1979; Henry, 1988; Herrera, 1989).

II.8 Test ISEM para la confirmación del diagnóstico del test ELISA

Para la confirmación del diagnóstico obtenido con el test ELISA en las muestras de maíz se realizó, con algunas muestras, el test ISEM. El método utilizado es una modificación del protocolo de Roberts y Harrison (1979), y es el método que actualmente se utiliza en el laboratorio de Patología Vegetal en Rothamsted Experimental Station. Se utilizaron los antisueros policlonales RES-F y RES-568

II.8.1 Obtención del extracto crudo vegetal

Para la obtención del extracto crudo vegetal se utilizó tampón fosfato (6,35 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 5,71 g KH_2PO_4 por litro de agua, pH= 6,5), a una relación 1 a 10 entre peso seco de muestra y tampón fosfato. El extracto se centrifugó a 10.000 revoluciones durante un minuto. Únicamente se utilizó el sobrenadante.

II.8.2 Protocolo de trabajo seguido en el test ISEM

Tapizado de las rejillas

Se utilizaron rejillas de cobre (de 200 subdivisiones), recubiertas de una película de nitrocelulosa estabilizadas con carbón, se tapizaron con una mezcla de los antisueros policlonales RES-F y RES-R568. Para ello se colocaron en una placa de cera dental gotas de 25 µl que contenían una disolución 1/1000 de los antisueros en tampón fosfatado. Sobre dichas gotas se colocaron las rejillas de manera que la película con la que se había recubierto las rejillas estuviera en contacto con la disolución de antisueros. El tapizado se realizó durante 2-3 horas a 30 °C. El lavado se realizó haciendo flotar las rejillas en una solución de tampón fosfatado en dos cambios de 15 minutos.

Adición del extracto crudo vegetal

Se colocaron sobre una placa de cera dental gotas de 25 µl. Sobre cada una de las gotas de extracto se colocó una rejilla tapizada con antisuero. La incubación se realizó a 4-6 °C durante toda la noche.

Tinción negativa de las partículas virales

Cada rejilla se lavó con 20 gotas de tampón fosfato al 50 %. La tinción se realizó dejando caer sobre la rejilla 10 gotas de una solución de fosfotungstato de sodio (al 2 %, pH=7,0). Posteriormente se secó con papel de filtro.

Observación de las rejillas al microscopio electrónico

Para la observación de las rejillas se utilizó un Microscopio Electrónico de transmisión Siemens 102, a 40.000 aumentos. El número de partículas por campo se estableció a partir de la observación de 6 campos escogidos al azar.

Como controles se utilizaron muestras procedentes del cultivo de BYDV mantenido en Rothamsted Experimental Station.

II.9 Análisis estadístico de resultados

II.9.1 Relación entre la dinámica poblacional, y las variables agrometeorológicas

Con el fin de relacionar los cambios de población de los pulgones con las variables agrometeorológicas, se realizaron los siguientes cálculos: (1) tasa neta de incremento de población (TNI) ($TNI = \ln(N_{t+1}/N_t)/\text{días}$), entre muestreos consecutivos, (2) valores k de mortalidad, entre fechas de muestreo consecutivas sólo se calculó para periodos en los que había al menos, un día con temperaturas inferiores a 0, -3, ó -6 °C.

II.9.2 Análisis estadístico

Para relacionar las TNI y la temperatura media registrada entre muestreos se realizó un análisis de la covarianza en primer lugar tomando como modelo de regresión una relación lineal, y como variable de clasificación la campaña de muestreo. Y posteriormente, una vez descartado el efecto de

la campaña, una regresión lineal simple.

Para relacionar las mortalidades k con la suma de temperaturas por debajo de 0, -3, ó -6 °C, se calculó el coeficiente de correlación de rangos de Kendall, que es el método utilizado en la bibliografía para este tipo de variables cuando no se distribuyen según una ley normal (Williams y Wratten, 1987).

Para relacionar la fenología del cultivo con la suma de temperaturas por encima de 0°C, se realizó un análisis de la covarianza, tomando como modelo de regresión la ecuación: $y = a + b*x + c*x^2$, y como variable de clasificación la campaña en la que se realizó el ensayo. Una vez determinado que el año no influía significativamente se realizó una regresión simple.

Para comparar las poblaciones de pulgones de las parcelas testigo con las parcelas tratadas con insecticida en otoño, y con las parcelas de siembra tardía, se realizaron pruebas de comparación de medias t-Student. Para comparar los porcentajes de muestras ELISA positivas en las parcelas anteriores, también se realizaron pruebas t-Student, pero transformado previamente los porcentajes según la expresión: $\arcsen\sqrt{\quad}$.

Todos los cálculos estadísticos se realizaron con el paquete de análisis estadístico SAS.

RESULTADOS

III. Resultados

III.1 Dinámica de poblaciones de pulgones de cereales en las parcelas experimentales

En todos los años de estudio, *R. padi* y *S. avenae* fueron con mucho las especies predominantes en otoño e invierno, presentándose otras especies como *S. graminum*, *R. maidis*, *M. dirhodum*, *D. noxia*, *S. fragariae*, *R. insertum* y *Sipha sp* a niveles muy inferiores, o incluso su presencia fue anecdótica.

III.1.1 Dinámica poblacional de *R. padi* y *S. avenae* en las parcelas experimentales

En la figura 5 se muestra la evolución de las densidades de población de *R. padi* y *S. avenae* en los muestreos realizados en las parcelas experimentales de siembra temprana, no tratadas (S1-T0), desde la colonización del cultivo hasta inicio de primavera, durante las campañas 1986-87, 1987-88, 1988-89 y 1989-90.

El patrón general en la dinámica de población de *R. padi* y *S. avenae* se caracteriza porque poco después de la colonización otoñal, se produce un pico de población. En tres de las cuatro campañas estudiadas (1986-87, 1988-89 y 1989-90) las densidades de *R. padi*, en este momento, fueron superiores a las de *S. avenae*. Después del pico de otoño se produce una disminución paulatina de la población, que es variable de año a año.

En la campaña 1986-87 las poblaciones de las dos especies mencionadas fueron disminuyendo de forma continuada hasta

finales de febrero. A partir de este momento la evolución de *R. padi* y *S. avenae* fue distinta: la primera especie disminuyó bruscamente, y no fue hasta principios de abril que las poblaciones se empezaron a recuperar. En cambio la población de *S. avenae* siguió un incremento continuo.

En la campaña 1987-88 la evolución de ambas especies durante el invierno fue similar. En esta ocasión los niveles de población se empezaron a recuperar a finales de diciembre principios de enero, llegándose a alcanzar densidades de población extremadamente altas al comienzo de la primavera (679 individuos/m² de *R. padi*, y 1.197 individuos/m² de *S. avenae*).

En la campaña 1988-89, en la que en otoño las densidades de población de ambas especies fueron muy elevadas (606,25 individuos/m² de *R. padi*, y 206,2 individuos/m² de *S. avenae*), las poblaciones descendieron de forma continuada y paralela después del pico de otoño hasta finales de febrero, al igual que en la campaña 1986-87. No obstante en esta campaña se registraron niveles de población muy bajos de ambas especies a finales de febrero (0,7 individuos/m² de *R. padi*, y 0,7 individuos/m² de *S. avenae*); a partir de este momento la población de *S. avenae* empezó a recuperarse, mientras que *R. padi* no empezó a hacerlo hasta mediados de marzo.

En la campaña 1989-90 la disminución de población fue más lenta, e incluso se interrumpió con incrementos ocasionales a mitad de invierno. A principios de primavera la población alcanzó niveles similares a los registrados en el pico de otoño (63,2 individuos/m² de *R. padi*, y 47,9 individuos/m² de *S. avenae*).

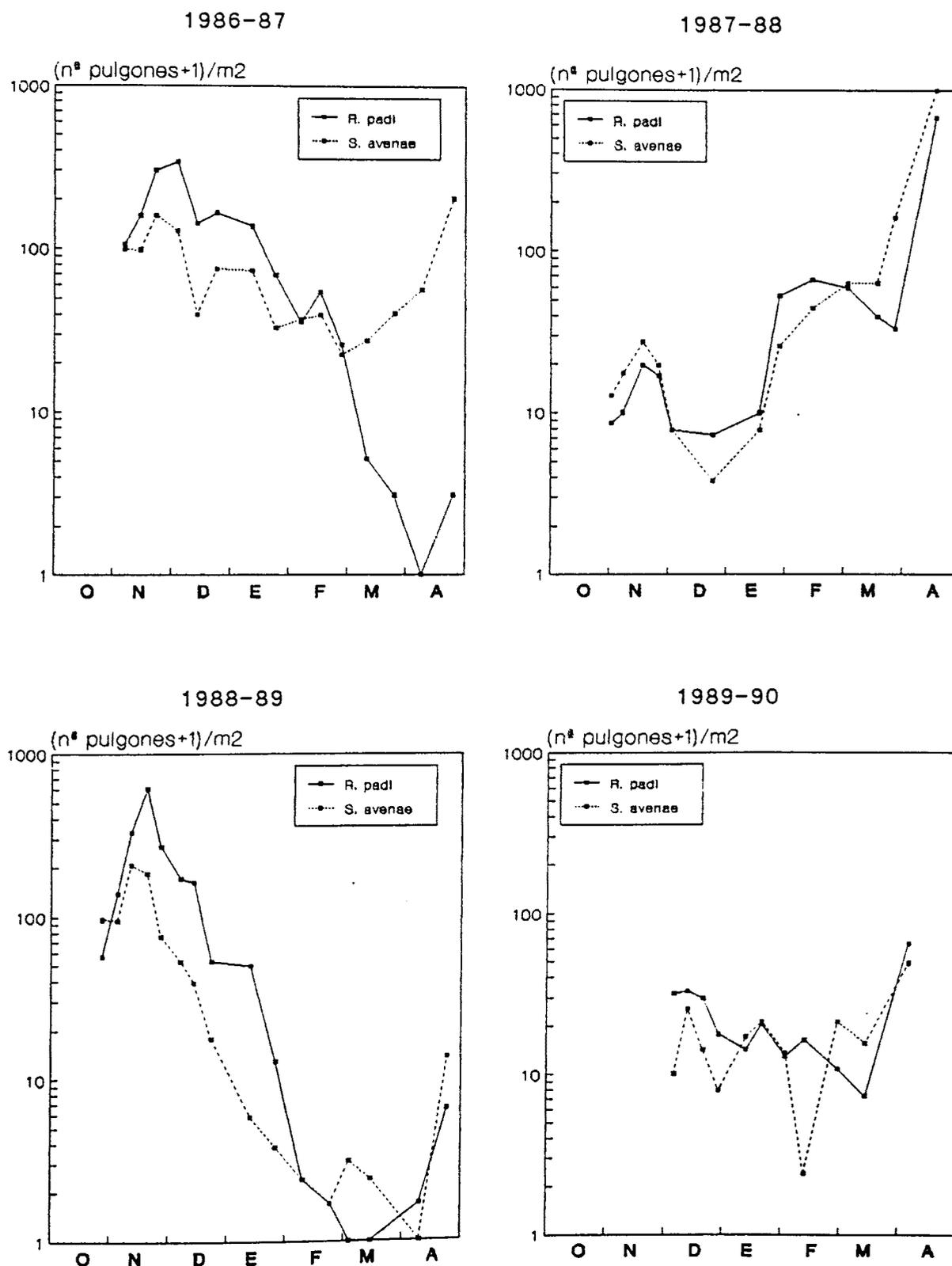


Figura 5. Evolución de las poblaciones totales de *R. padi* y *S. avenae* en las parcelas experimentales de siembra temprana no tratadas (S1-T0), durante las campañas 1986-87, 1987-88, 1988-89 y 1989-90

III.1.2 Estructura de edad de las poblaciones de *R. padi* y *S. avenae* en las parcelas experimentales

En las figuras 6, 7, 8 y 9 se expresa la evolución de las densidades de las poblaciones de *R. padi* y *S. avenae*, en cada uno de los cuatro años de estudio, descompuesta en las siguientes formas : adultos alados (A*), adultos ápteros (A), ninfas de cuarto instar con rudimentos alares (NIV*), ninfas de cuarto instar ápteras (NIV), y ninfas entre primer y tercer instars (NI-III).

En dichas figuras se puede observar como después de la colonización del cultivo por los alados, aparecen, en primer lugar, ninfas jóvenes, posteriormente, ninfas ápteras de cuarto estadio de desarrollo, y finalmente, adultos ápteros. Hay que destacar que en la campaña 1989-90 la aparición de los adultos, se produce mucho más tarde que en las campañas anteriores: no se produce hasta finales de diciembre para *S. avenae* y principios de enero para *R. padi*, mientras que en las restantes campañas aparecen a finales de octubre, principios de noviembre. Hay también que hacer notar, la aparición, cuando las densidades globales de población son relativamente bajas, de una proporción importante de NIV*. En las campañas 1986-87, 1987-88 y 1989-90 ello tiene lugar durante los meses de enero y febrero - aunque en esta última de una forma muy ligera -, y en la campaña 1988-89 durante los meses de noviembre y diciembre.

Campaña 1986-87

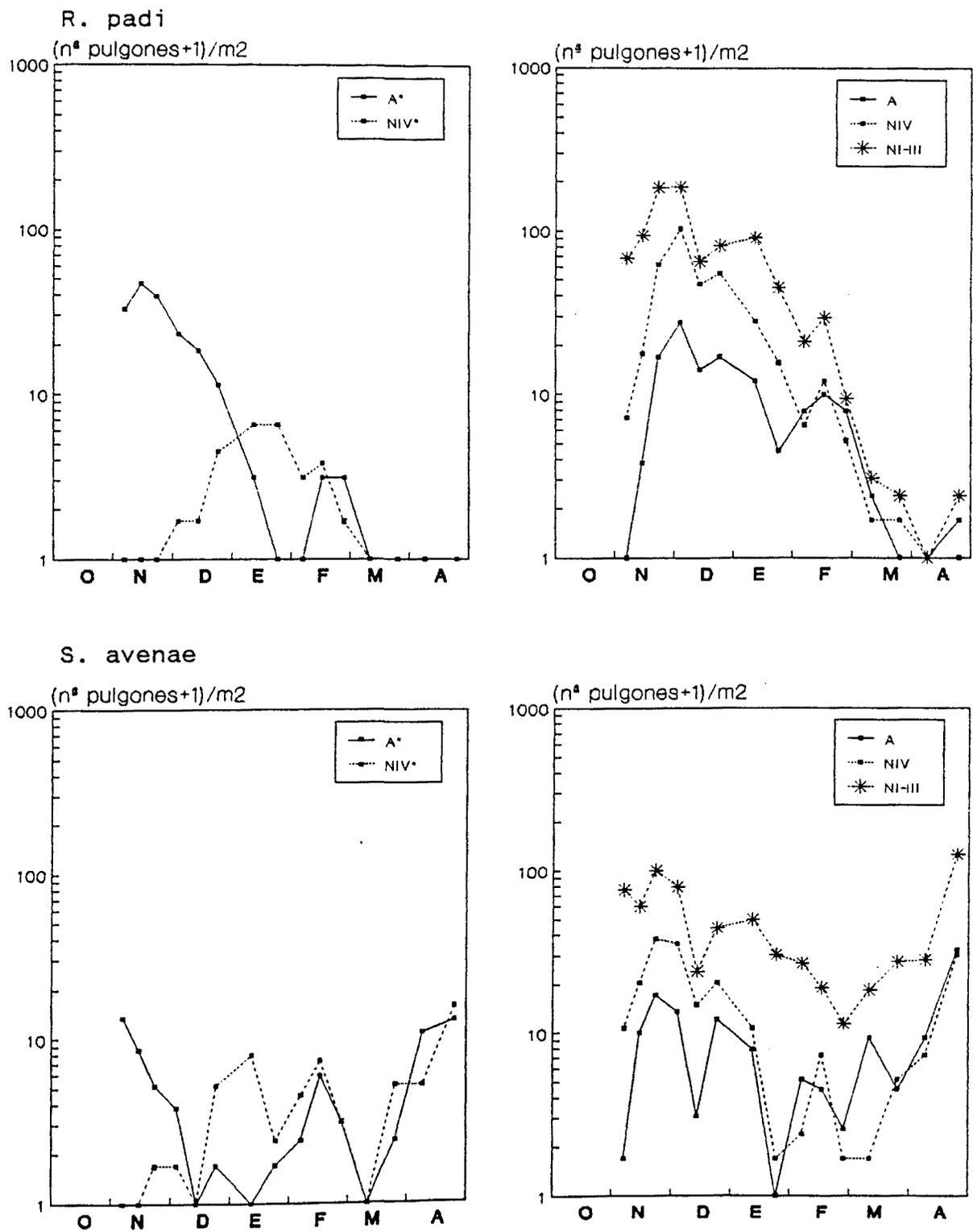
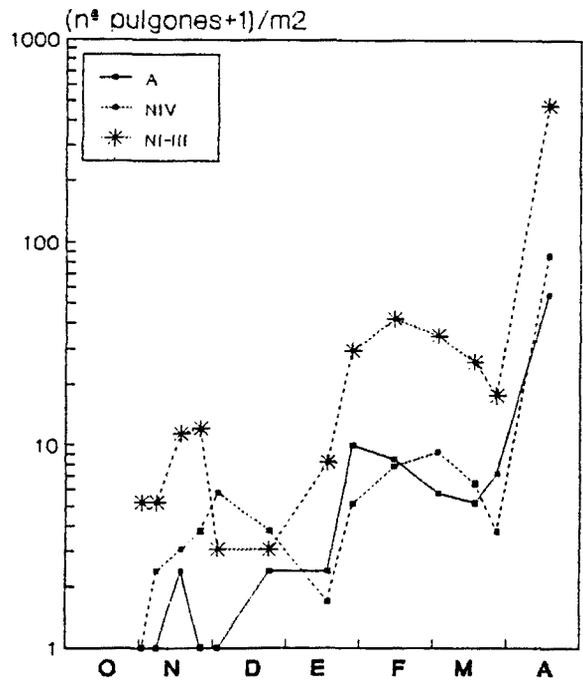
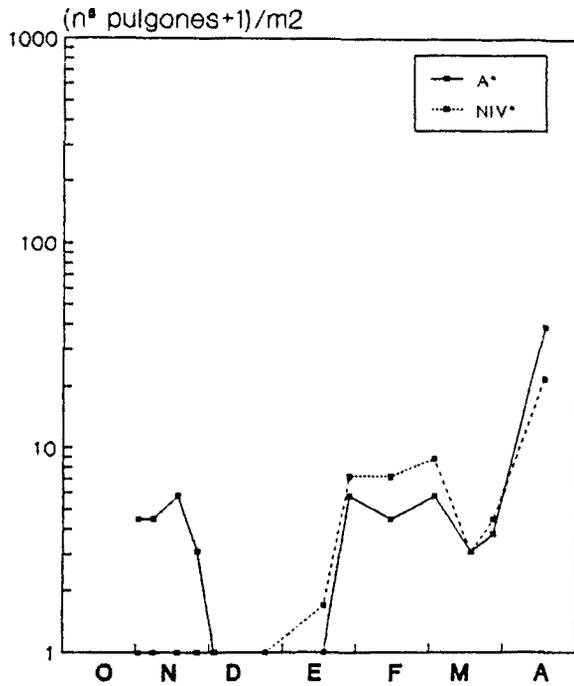


Figura 6. Evolución de las poblaciones de *R. padi* y *S. avenae*, descompuestas en A*, A, NIV*, NIV y NI-III, durante la campaña 1986-87.

Campaña 1987-88

R. padi



S. avenae

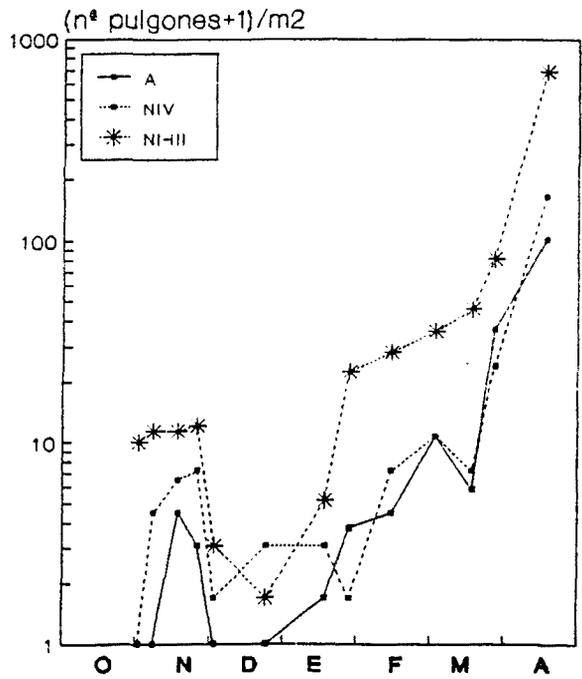
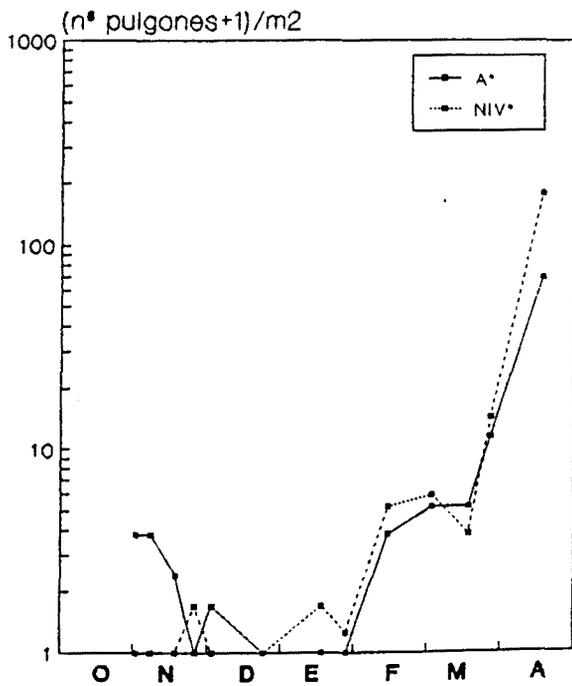


Figura 7. Evolución de las poblaciones de *R. padi* y *S. avenae*, descompuestas en A*, A, NIV*, NIV y NI-III, durante la campaña 1987-88.

Campaña 1988-89

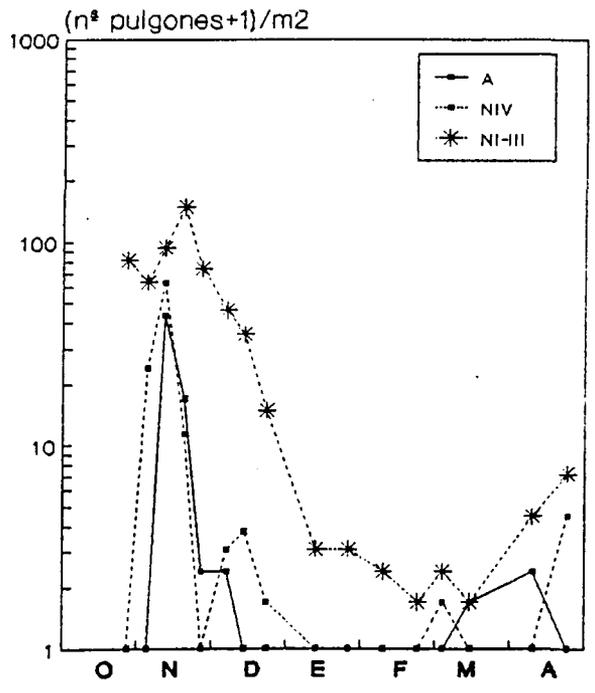
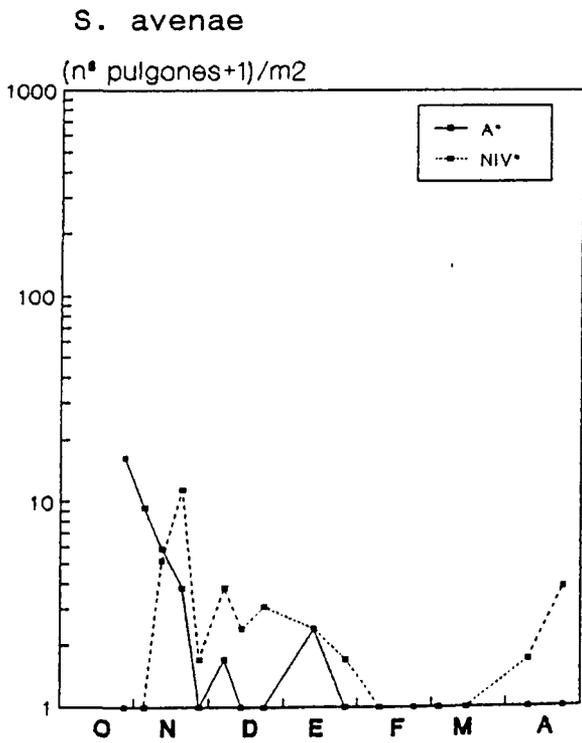
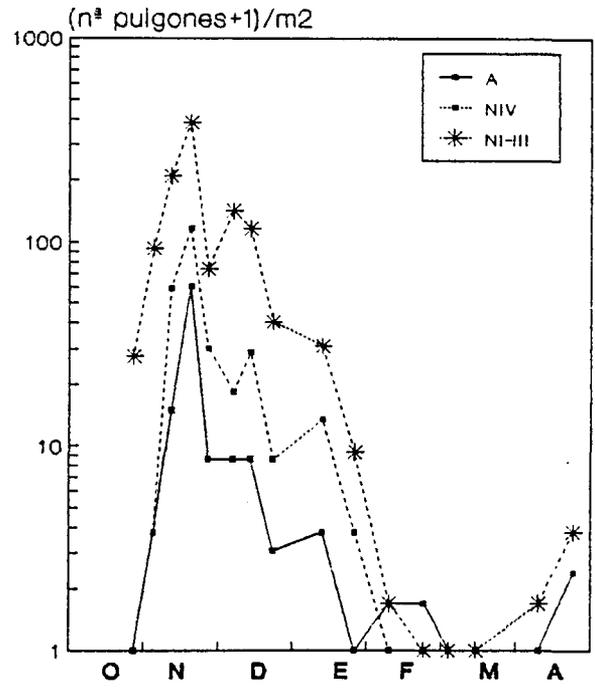
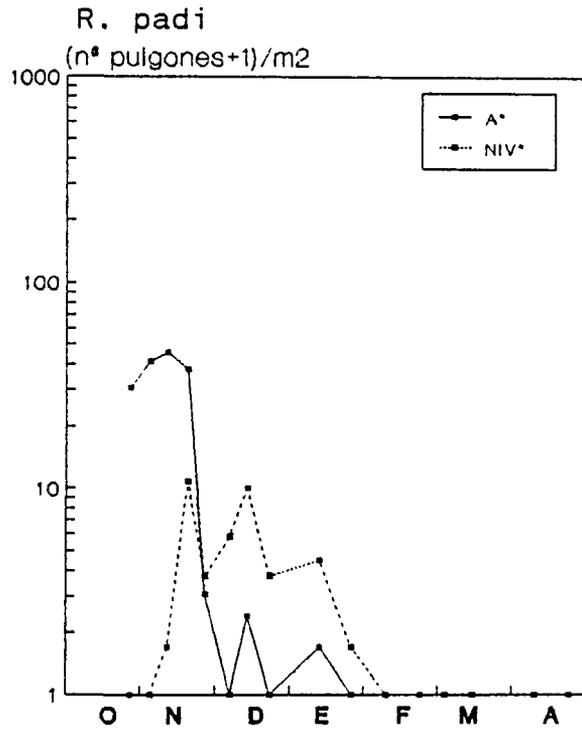


Figura 8. Evolución de las poblaciones de *R. padi* y *S. avenae*, descompuestas en A*, A, NIV*, NIV y NI-III, durante la campaña 1988-89.

Campaña 1989-90

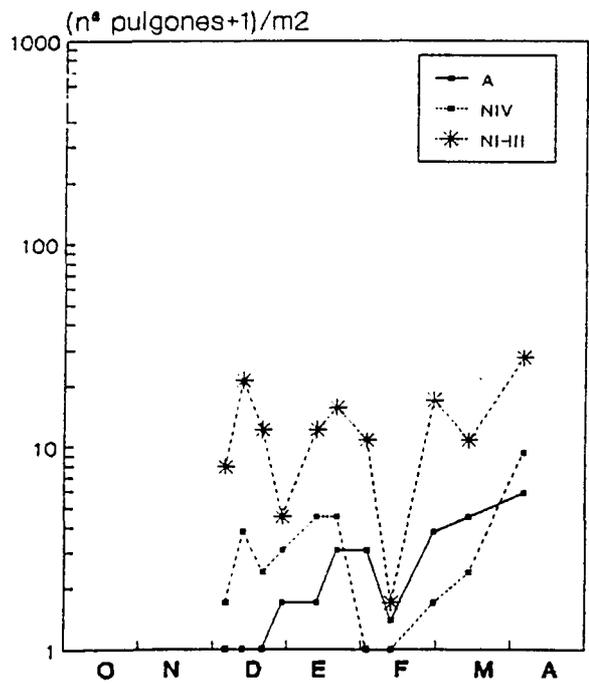
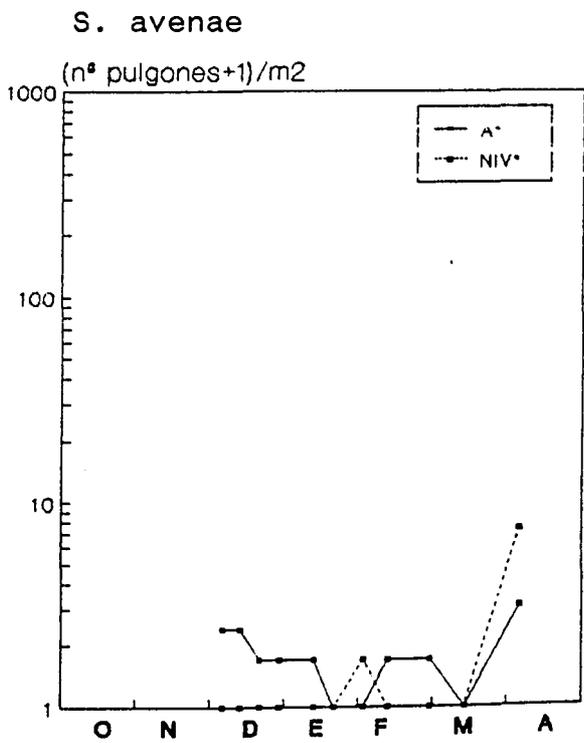
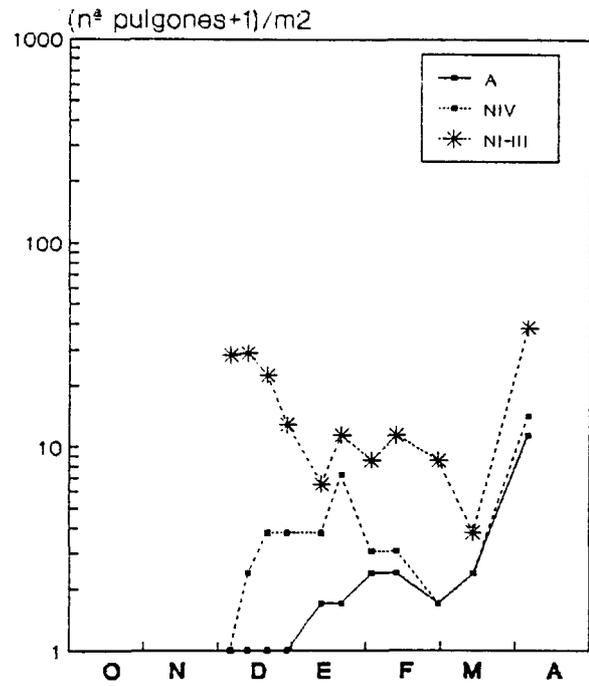
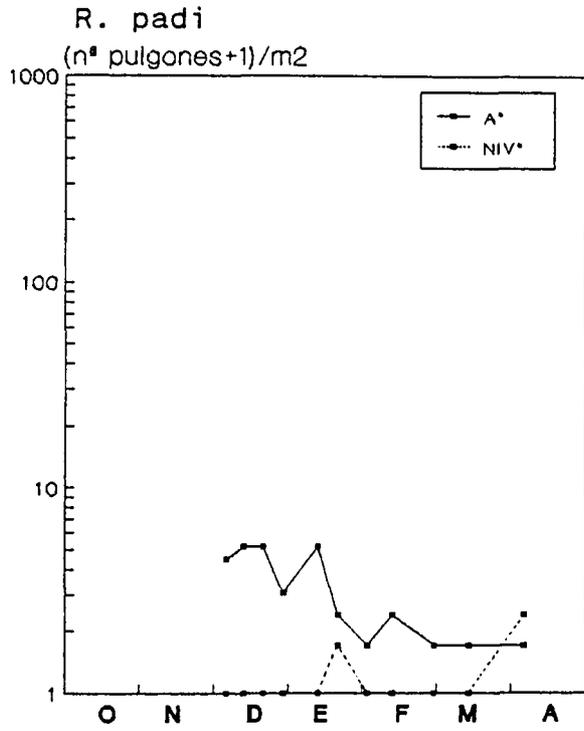


Figura 9. Evolución de las poblaciones de *R. padi* y *S. avenae*, descompuestas en A*, A, NIV*, NIV y NI-III, durante la campaña 1989-90.

En la tabla 2 se expresan, para *S. avenae* y para *R. padi* las siguientes relaciones: (1) porcentaje de NI-III sobre el total de la población, (2) porcentaje de A sobre el conjunto de (NIV+A), y (3) el porcentaje de NIV* sobre (NIV+NIV*), en cada uno de los muestreos realizados durante las cuatro campañas de estudio, .

La relación (1) sigue un comportamiento similar a lo largo de las distintas campañas. Cuando se produce el pico de población otoñal, tiene lugar una disminución en la proporción de ninfas jóvenes. Posteriormente, se produce una recuperación de la proporción de NI-III de la población, no como consecuencia de un aumento en valor absoluto de éstas últimas (figuras 2, 3, 4, y 5), sino como consecuencia de su aumento relativo respecto al total de la población. A partir de esta recuperación la evolución en la proporción de ninfas jóvenes es variable de año a año, y es difícil identificar un patrón general. Respecto la relación (2), que da una indicación de la proporción de ninfas NIV que llegan a adultos - y por tanto da también una idea del potencial de incremento de la población -, se observa que dicha relación va aumentando desde la colonización del cultivo, hasta finales de primavera, para disminuir posteriormente.

Analizando por especies, hay que destacar que la relación (1), es superior en la mayoría de muestreos en *S. avenae* que en *R. padi*. Respecto la relación (2) se observa también, que dicha relación se mantiene, en prácticamente todos los muestreos, superior en *S. avenae*, que en *R. padi*. Es decir, durante el invierno, *S. avenae*, por un lado mantiene una proporción de ninfas jóvenes mayor que *R. padi*, y por otro lado, mantiene también una proporción mayor de formas adultas respecto la población de ninfas de cuarto estadio de desarrollo.

Respecto la relación $(3) \% \text{ NIV* sobre } (\text{NIV}+\text{NIV*})$, hay que destacar que en las campañas 1986-87 y 1987-88, desde enero hasta marzo una proporción importante de las ninfas de cuarto estadio tuvieron rudimentos alares. En la campaña 1988-89 la aparición de ninfas con rudimentos alares se produjo mucho antes, a partir del mes de noviembre. En la campaña 1989-90 la aparición de formas aladas prácticamente no se produjo hasta principios de primavera.

III.1.3 Relación entre la dinámica poblacional de *R. padi* y *S. avenae* y la evolución de la estructura de edad

III.1.3.1 Relación entre la dinámica poblacional y las relaciones: $\text{NI-III}/\text{total población}$ y $\text{A}/(\text{A}+\text{NIV})$

La evolución de las formas de *R. padi* y *S. avenae*, en las parcelas experimentales podría indicar que esta última especie esta mejor adaptada a los cereales de invierno, o al menos al trigo duro - la especie sembrada en los ensayos -, que *R. padi*.

Efectivamente, por un lado, el porcentaje de ninfas jóvenes sobre el total de la población, de *S. avenae* se mantiene, en la mayoría de muestreos, superior al de *R. padi*. Por tanto hay que suponer que la primera especie se reproduce más que la segunda. Por otro lado, la proporción de ninfas de cuarto estadio de desarrollo, que pasan a adulto, y se mantienen en esta forma, durante el invierno y principios de primavera, es también superior en el caso de *S. avenae*. Ello podría indicar que la mortalidad de *S. avenae* es inferior a la de *R. padi*, y en consecuencia el potencial de incremento de la población es mayor para *S. avenae*.

III.1.3.2 Relación entre la dinámica de poblaciones, y la evolución de la relación $NIV*/(NIV+NIV*)$

Observando la evolución de la relación $NIV*/(NIV+NIV*)$ para *R. padi*, y para *S. avenae*, se observa que ésta no es, en general, paralela para ambas especies.

En las campaña 1986-87, durante los meses de febrero y marzo tuvo lugar la aparición de una fracción importante de $NIV*$ en ambas especies. Cuando esto ocurrió, la población de *R. padi* estaba en declive, mientras que la de *S. avenae* estaba en aumento. Para esta última especie, la producción de $NIV*$ se prolongó hasta finales de abril.

En la campaña 1987-88, se observó un fenómeno análogo: *R. padi* inició la producción de $NIV*$, desde finales de enero hasta finales de abril, a la vez que la población disminuía; en cambio, *S. avenae* inició la producción de formas alares un poco más tarde, a partir de febrero, cuando la población se incrementaba.

En la campaña 1988-89, la aparición de formas aladas de *R. padi* y *S. avenae*, tuvo lugar muy pronto - en el mes de diciembre -, coincidiendo con un declive importante de las poblaciones de ambas especies, que se produjo después de unas fuertes heladas que afectaron sensiblemente al cultivo (tabla 4). Posteriormente en el mes de abril, se observó, de nuevo, la aparición de $NIV*$ de *S. avenae*, coincidiendo con un incremento de la población de esta especie.

Finalmente, en la campaña 1989-90, prácticamente no aparecieron formas aladas durante el periodo invernal. Sólomente apareció este instar, especialmente para *S. avenae*, a principios de abril, coincidiendo con un incremento de las poblaciones de ambas especies.

Es difícil, a partir de los datos que se aportan en el presente trabajo, establecer cuáles són los factores que determinan la aparición de las formas aladas de *R. padi*, y de *S. avenae*, durante el invierno e inicios de primavera. De todas formas, las consideraciones anteriores parecen indicar que la aparición de NIV*, en este período, en el caso de *R. padi*, estaría más bien relacionado con una falta de adaptación al cultivo, mientras que en el caso de *S. avenae*, las causas que provocan este fenómeno están menos claras. De todas formas la aparición de las NIV*, de forma paralela, para ambas especies, en la campaña 1888-89, podría estar relacionado con las fuertes heladas que tuvieron lugar a principios de diciembre, que tuvieron un efecto visible sobre el cultivo.

Tabla 2. Porcentaje de NI-III sobre el total de la población (1), porcentaje de A sobre el conjunto de (NIV+A) (2), y porcentaje de NIV* sobre el total de ninfas de cuarto instar (3) en cada uno de los muestreos en las campañas 1986-87, 1987-88, 1988-89, y 1989-90.

Fecha de muestreo	GS cultivo	R. padi			S. avenae		
		(1)	(2)	(3)	(1)	(2)	(3)
<i>Campaña 1986-87</i>							
05.11.86	21	63,8	0,0	0,0	76,6	7,0	0,0
13.11.86	21	58,7	15,3	0,0	62,0	32,0	0,0
21.11.86	23	61,5	20,7	0,0	63,3	30,3	1,8
02.12.86 ■	23	55,0	20,6	0,7	60,9	26,9	2,0
12.12.86	23	45,1	22,1	1,5	58,9	13,1	-
22.12.86	23	48,9	22,8	6,0	54,8	36,4	17,6
09.01.87	30	66,3	29,1	17,0	67,4	41,6	41,7
21.01.87	30	65,2	19,4	27,5	91,3	66,5	66,5
03.02.87	31	58,1	55,7	27,6	71,1	75,0	71,4
13.02.87	32	53,3	45,8	20,1	46,3	47,0	50,0
24.02.87	32	37,7	62,2	14,1	61,7	69,2	74,8
09.03.87	32	49,9	33,5	0,0	65,9	92,2	-
23.03.87	33	66,5	-	0,0	66,6	45,7	50,0
06.04.87	49	-	-	-	48,8	57,1	60,0
22.04.87	61	66,5	-	0,0	58,7	51,9	33,3
<i>Campaña 1987-88</i>							
31.10.87	11	54,5	-	0,0	76,3	-	0,0
06.11.87 ■	13	46,1	0,0	0,0	62,4	0,0	0,0
16.11.87	21	55,7	40,2	0,0	50,0	38,5	0,0
24.11.87	22	69,5	0,0	0,0	55,2	25,0	11,2
01.12.87	22	30,2	0,0	0,0	59,8	-	0,0
22.12.87	22	33,1	33,3	0,0	74,8	-	0,0
15.01.88	30	69,1	58,4	50,0	59,9	25,2	0,0
25.01.88	30	54,0	68,4	60,0	86,1	79,9	0,0
11.02.88	31	63,2	52,4	47,5	61,9	64,3	39,9
29.02.88	32	57,8	36,7	45,4	54,9	50,0	33,3
15.03.88	32	67,9	43,3	27,6	71,4	43,8	30,8
24.03.88	45	52,1	61,2	55,7	49,6	60,7	36,5
14.04.88	61	70,5	38,9	19,6	57,4	48,0	51,3

(■ indica el muestreo en el que se produce el pico de población)

Tabla 2 (cont.). Porcentaje de NI-III sobre el total de la población (1), porcentaje de A sobre el conjunto de (NIV+A) (2), y porcentaje de NIV* sobre el total de ninfas de cuarto instar (3) en cada uno de los muestreos en las campañas 1986-87, 1987-88, 1988-89, y 1989-90.

Fecha de muestreo	GS cultivo	R. padi			S. avenae		
		(1)	(2)	(3)	(1)	(2)	(3)
<i>Campaña 1988-89</i>							
06.10.88	11	46,9	-	0,0	84,1	-	0,0
03.11.88	12	66,8	50,0	0,0	66,7	0,0	0,0
10.11.88	21	64,1	19,2	1,2	45,2	40,7	6,3
18.11.88 ■	22	63,3	44,0	7,7	78,9	60,5	50,0
25.11.88	22	63,6	20,9	8,7	97,2	50,3	-
05.12.88	22	82,5	30,6	21,8	86,6	40,1	57,2
12.12.88	23	71,5	21,6	24,5	89,1	-	33,3
21.12.88	23	76,0	21,4	36,4	83,3	-	74,8
10.01.89	23	59,9	18,2	21,7	42,8	-	-
23.01.89	23	70,5	0,0	20,1	74,8	-	0,0
06.02.89	23	-	-	-	100,0	-	0,0
20.02.89	23	-	-	-	100,0	-	0,0
02.03.89	23	-	-	-	66,5	-	0,0
13.03.89	31	-	-	-	50,0	-	0,0
07.04.89	53	-	-	-	62,4	-	-
21.04.89	61	-	-	-	50,0	-	44,5
<i>Campaña 1989-90</i>							
04.12.89	11	88,6	-	0,0	76,9	0,0	0,0
11.12.89 ■	12	83,3	0,0	0,0	82,8	0,0	0,0
19.12.89	13	75,6	0,0	0,0	84,2	0,0	0,0
27.12.89	13	70,8	0,0	0,0	49,9	25,2	0,0
10.01.90	22	42,1	20,1	0,0	69,6	31	0,0
18.01.90	22	53,5	10,1	10,0	72,4	37,5	0,0
30.01.90	22	64,6	40,1	0,0	77,7	48,7	100,0
09.02.90	30	68,2	40,1	0,0	50,0	68,7	0,0
26.02.90	32	78,4	50,0	0,0	79,3	79,9	0,0
12.03.90	41	44,4	50,0	0,0	66,7	71,4	0,0
03.04.90	59	59,3	44,1	9,5	55,1	36,9	42,9

(■ indica el muestreo en el que se produce el pico de población)

III.1.4 Relación de las mortalidades k de *R. padi*, y de *S. avenae*, con las bajas temperaturas

Calculados los valores de la mortalidad k, para *R. padi*, y para *S. avenae*, entre aquellos muestreos en los que se produjeron temperaturas, medias horarias, por debajo de 0, -3, ó -6 °C, no se encontró ninguna correlación entre los valores k y la suma de temperaturas por debajo de los valores anteriores.

III.1.5 Relacion entre la tasa neta de incremento (TNI) de las poblaciones totales de *R. padi* y *S. avenae* y la temperatura

De acuerdo con Dixon (1987), existe una relación lineal entre la tasa neta de incremento de una población de pulgones de cereales, y la temperatura media, cuando no existen factores limitantes al desarrollo de la misma.

Con el fin de comprobar la respuesta a la temperatura de las poblaciones de *R. padi* y *S. avenae*, en las parcelas experimentales, se realizó un análisis de la covarianza entre las tasa neta de incremento de población (TNI), y temperaturas medias (t_m), entre muestreos consecutivos, tomando como modelo en la ecuación: $TNI = a \cdot t_m + b$, y como variable de clasificación las campañas en que se realizaron los ensayos.

Se obtuvo un nivel de significación alto para la regresión, con un coeficiente de correlación entre TNI y t_m del 65 % para *R. padi* ($p=0.002$, $r^2=0.42$, $gl=46$) y del 64 % para *S. avenae* ($p=0.0001$, $r^2=0.41$, $gl=47$). Para ninguna de las dos especies se obtuvieron diferencias significativas en la regresión entre años. Es por ello que se procedió a analizar la relación entre TNI y t_m para *R. padi* y *S. avenae* para

todas las campañas conjuntamente. Obteniéndose el siguiente resultado:

R. padi:

$$\text{TNI} = 0,95 \cdot \text{tm} - 8,53$$

(p modelo=0,001, $r^2=0,31$, gl=46)

S. avenae:

$$\text{TNI} = 0,92 \cdot \text{tm} - 7,46$$

(p modelo=0,0001, $r^2=0,40$, gl=47)

Con el fin de identificar los muestreos, en los que los valores reales de TNI se apartan más de los valores teóricos según los modelos anteriores, es decir identificar los muestreos en los que el efecto de la temperatura es menor, se procedió a analizar, muestreo a muestreo, los valores residuales que se apartan de una manera significativa ($p < 0,05$) de los valores teóricos obtenidos a partir de las regresiones anteriores.

En las figuras 10 y 11 se presenta, para cada fecha de muestreo, la desviación de los valores de TNI reales respecto a los valores que se obtendrían con el modelo en función de la temperatura media correspondiente.

En la campaña 1986-87, a finales de invierno, y a principios de primavera, se observan valores de las TNI de *R. padi* muy inferiores a los esperados según el modelo. Ello no se observa en las rm de *S. avenae*.

En la campaña 1987-88, se observa un fenómeno similar, con la diferencia de que se produce de una forma mucho más suave, y solamente durante el mes de marzo.

En la campaña 1988-89, se observan valores de las TNI de *R. padi* y *S. avenae*, en pleno periodo invernal - hasta finales

de febrero -, inferiores a los esperados. A finales de invierno, principios de primavera, ello sólo ocurre para *R. padi*.

Finalmente, en la campaña 1989-90, también se detectan valores de las TNI inferiores a los esperados, para ambas especies, durante la primera mitad de invierno. A finales de enero, principios de febrero para *S. avenae*, y de nuevo a finales de invierno, principios de primavera para *R. padi*

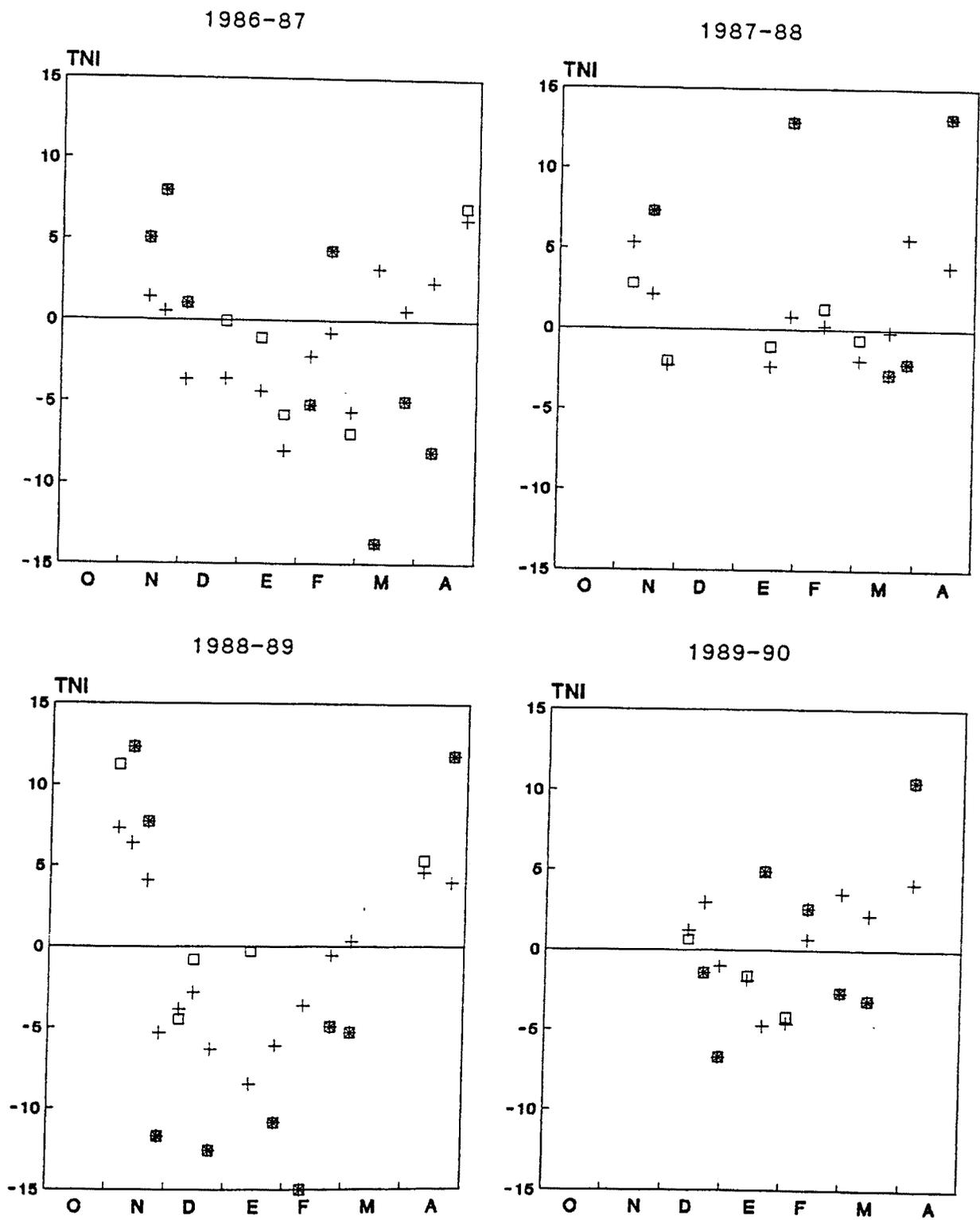


Figura 10. Desviaciones de los valores reales de las TNI de de las poblaciones totales de *R. padi*, respecto a los valores teóricos obtenidos a partir de la regresión $TNI=0,95*tm-8,53$, en cada fecha de muestreo (+ valor teórico, □ valor real, ⊠ valor real significativamente distinto, $p<0,05$).

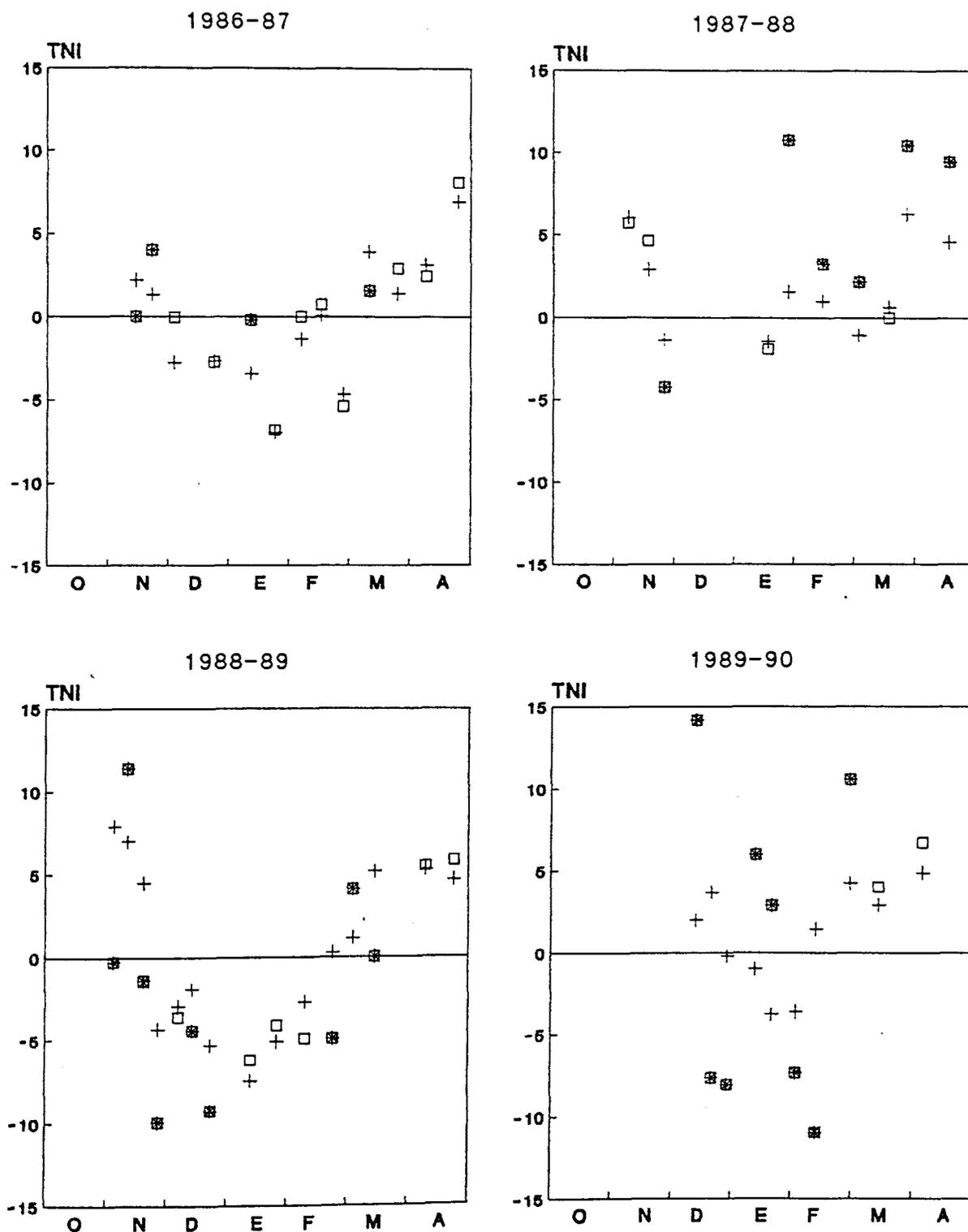


Figura 11. Desviaciones de los valores reales de las TNI de las poblaciones totales de *S. avenae*, respecto a los valores teóricos obtenidos a partir de la regresión $TNI=0,92 \cdot tm-7,46$, en cada fecha de muestreo (+ valor teórico, □ valor real, ⊞ valor real significativamente distinto, $p < 0,05$).

III.1.6 Desarrollo del cultivo. Relación con la integral térmica

Cuando no existen factores distintos de la temperatura, limitantes al crecimiento y desarrollo de los cereales, existe una buena correlación entre la duración de las distintas fases de desarrollo del cultivo, y la suma de temperaturas por encima de un determinado umbral. Para caracterizar dicha relación, Carter *et al.* (1982) utilizan el modelo:

$$GS = a*ST^2 + b*ST + c,$$

donde GS es el estadio de desarrollo del cultivo, expresado en el código decimal de Zadoks *et al.* (1974), y ST es la suma de temperaturas para una temperatura umbral determinada.

Realizado un análisis de la covarianza entre las GS, registradas en las parcelas experimentales, y la suma de temperaturas entre muestreos consecutivos, por encima de 0 °C (Bauer *et al.*, 1984), utilizando la ecuación anterior, y como variable de clasificación la campaña en la que se realizó el ensayo, se obtuvo un nivel de significación muy alto de la regresión, con un coeficiente de correlación del 95 % ($p=0.0001$, $r^2=0.90$, $gl=59$). No se obtuvieron diferencias entre campañas.

Realizada la regresión considerando globalmente las cuatro campañas de investigación se llegó al siguiente resultado:

$$GS = 0,53*10^{-5}*ST^2 + 0,001*ST + 5,93$$

(p modelo = 0,0001, $r^2=0,89$, $gl=59$)

Con el fin de identificar en qué muestreos, los estadios de desarrollo del cultivo registrados en el campo, eran distintos de los valores esperados según la regresión, se realizó un análisis de residuos de los valores de GS reales, que se apartan de una manera significativa ($p < 0,05$) de los esperados.

En la figura 12 se presentan las desviaciones de los valores de GS observados en el campo, de sus valores teóricos a partir del modelo.

En las campañas 1988-89 y 1989-90 se observa un retraso del desarrollo del cultivo durante la fase de ahijamiento, especialmente en la campaña 1989-90.

En las campañas 1986-87, 1987-88 y 1988-89 se produce un retraso en el inicio del alargamiento del tallo, a finales de febrero y durante el mes de marzo. Ello es especialmente acusado en las campañas 1986-87 y 1988-89.

III.1.7 Caracterización agrometeorológica de las campañas 1986-87, 1987-88, 1988-89, y 1989-90

En la tabla 3 se presentan, desde octubre hasta abril, y para cada una de las campañas de estudio, para períodos de 10 días, las siguientes variables agrometeorológicas: (1) temperatura media (t_m), (2) evapotranspiración de referencia (ET_o), (3) evapotranspiración estimada del cultivo (ET_c), (4) reserva de agua en el suelo (R), y (5) déficit estimado de evapotranspiración del cultivo (DET_c).

En la tabla 4 se expresa la intensidad de frío expresada como grados*hora de las temperaturas medias horarias inferiores a 0, -3, y -6 °C.

Como hecho más destacable, hay que hacer notar que en todas las campañas de estudio, se observa un déficit en el balance de agua a finales de invierno, principios de primavera. Y que en la campaña 1988-89 a principios de diciembre se produjeron unas heladas muy fuertes. Seguidamente se describe la situación agrometeorológica en cada una de las campañas.

La campaña 1986-87 se caracterizó porque durante el otoño y primera mitad del invierno, hubo un buen equilibrio entre la ETc y la precipitación, de manera que el suelo se mantuvo con una reserva de agua aceptable, alrededor de 50 mm. No obstante a partir de febrero la precipitación fue muy escasa, las temperaturas bastante altas, y se llegó a finales de abril con un déficit importante en la ETc de 143,3 mm.

En la campaña 1987-88 la precipitación durante el otoño e invierno fue muy superior a la de la campaña anterior. A partir de enero las lluvias fueron muy escasas y poco a poco se fue reduciendo la reserva de agua del suelo. Durante el mes de marzo las temperaturas fueron relativamente altas y se llegó a finales de marzo con un déficit en la ETc de 75 mm. No obstante durante el mes de abril las temperaturas y la ETo fueron moderadas y la lluvia relativamente abundante.

La campaña 1988-89 se caracterizó porque la lluvia durante el periodo invernal fue muy escasa, y las temperaturas relativamente altas, por lo que a partir de noviembre la reserva de agua del suelo fue muy escasa, y durante el periodo invernal hubo déficit en la ETc. A finales de marzo y durante el mes de abril las lluvias fueron relativamente abundantes y no se llegó a sobrepasar durante este periodo un valor en el DETc de 50 mm.

La campaña 1989-90 se caracterizó por una lluvia relativamente abundante en otoño (70 mm) y muy escasa durante la segunda mitad del invierno por lo que a finales de febrero ya se produjo déficit en la ETc. Durante los meses de marzo y abril la lluvia también fue muy escasa.

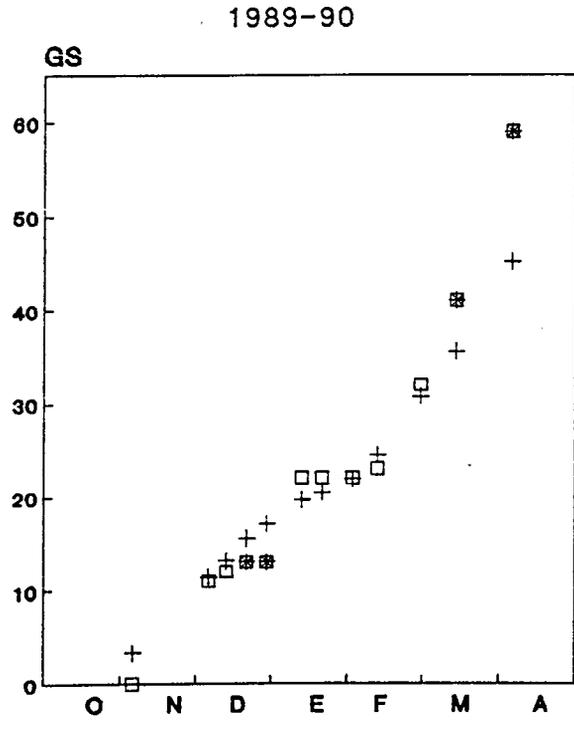
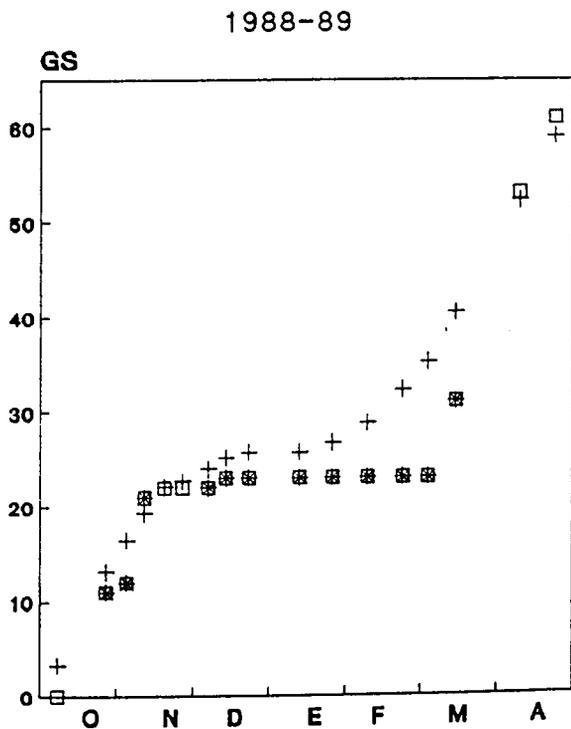
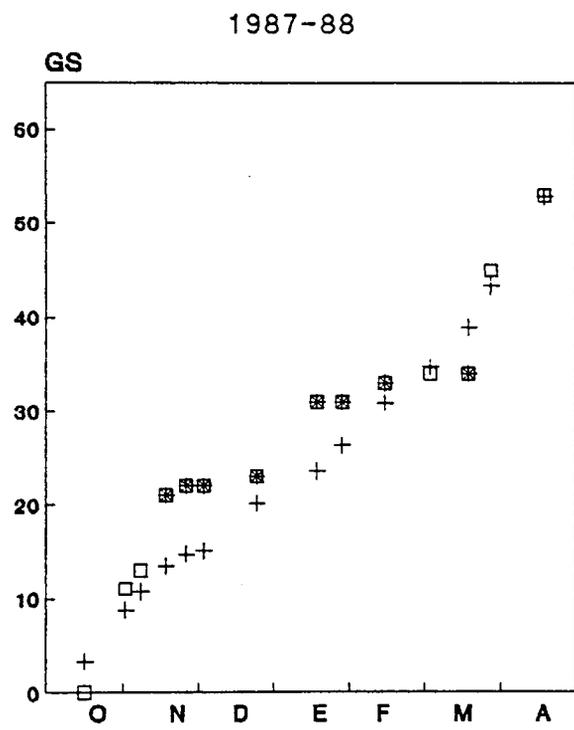
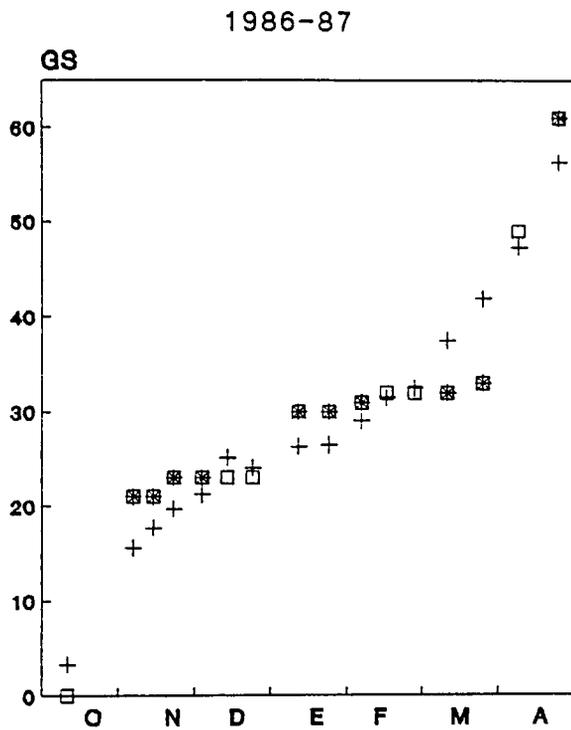


Figura 12. Desviaciones de los valores reales de GS, respecto a los valores teóricos obtenidos a partir de la regresión $GS = 0,53 \cdot 10^{-5} \cdot ST^2 + 0,001 \cdot ST + 5,93$ en cada fecha de muestreo en función de la integral térmica (ST) (+ valor teórico, □ valor real, ⊗ valor real significativamente distinto, $p < 0,05$).

Tabla 3. Situación agrometeorológica desde octubre hasta abril en las campañas 1986-87 y 1987-88, expresada en periodos de 10 días.

tm: temperatura media, P: precipitación (mm), ETo: evapotranspiración de referencia, ETc: evapotranspiración estimada del cultivo, R: reserva de agua en el suelo, DETc: déficit en la evapotranspiración estimada del cultivo.

MES	Campaña 1986-87						Campaña 1987-88					
	tm	P	ETo	ETc	R	DETc	tm	P	ETo	ETc	R	DETc
Oct.	20,3	9,1	23,8	8,3	0,8	0,0	18,8	78,3	17,8	6,3	72,0	0,0
	17,1	53,1	11,5	4,0	49,9	0,0	15,0	2,4	17,8	6,3	68,1	0,0
	14,5	1,1	18,5	6,5	44,5	0,0	16,8	26,3	15,4	5,4	89,0	0,0
Nov.	8,1	0,0	15,6	13,8	30,7	0,0	13,5	15,1	13,1	4,6	99,5	0,0
	10,5	19,0	9,4	7,0	42,7	0,0	7,9	0,0	9,9	7,4	92,1	0,0
	5,9	0,0	6,1	4,6	38,1	0,0	5,1	4,3	7,2	5,4	91,0	0,0
Dic.	4,2	17,7	2,7	2,0	53,8	0,0	7,3	11,9	9,4	7,1	95,8	0,0
	5,2	12,2	6,1	4,6	61,4	0,0	9,5	34,6	5,3	4,0	100,0	0,0
	4,7	0,0	14,7	11,0	50,4	0,0	4,0	1,1	3,0	2,3	98,8	0,0
Ene.	4,1	20,3	13,3	10,0	60,7	0,0	6,1	1,6	8,1	6,1	94,3	0,0
	4,0	11,7	5,7	6,6	65,8	0,0	7,7	21,0	6,0	6,9	100,0	0,0
	5,2	5,6	10,9	12,5	58,9	0,0	10,7	16,7	14,0	16,1	100,0	0,0
Feb.	8,3	9,1	6,5	7,5	60,5	0,0	8,4	2,9	16,7	19,2	83,7	0,0
	4,7	6,8	14,5	16,7	50,6	0,0	7,4	0,0	20,1	23,1	60,6	0,0
	4,8	9,6	7,3	8,4	51,8	0,0	5,4	0,0	18,4	21,2	39,4	0,0
Mar.	12,8	0,4	20,4	23,5	28,7	0,0	7,7	0,0	25,2	28,9	10,5	0,0
	9,1	0,0	19,4	22,3	6,4	0,0	12,3	0,0	32,1	36,9	0,0	26,4
	11,3	0,0	30,1	34,6	0,0	28,2	13,9	0,0	42,3	48,6	0,0	75,0
Abr.	12,7	8,7	24,1	27,7	0,0	47,2	11,4	21,4	17,3	19,9	1,5	0,0
	14,7	0,0	41,6	47,8	0,0	95,0	16,6	17,9	20,0	23,0	0,0	5,1
	17,9	0,0	42,0	48,3	0,0	143,3	14,0	11,0	20,1	23,1	0,0	17,2

Tabla 3 (continuación). Situación agrometeorológica desde octubre hasta abril en las campañas 1986-87 y 1987-88, expresada en periodos de 10 días. *tm*: temperatura media, *P*: precipitación (mm), *ETo*: evapotranspiración de referencia, *ETc*: evapotranspiración estimada del cultivo, *R*: reserva de agua en el suelo, *DETC*: déficit en la evapotranspiración estimada del cultivo.

MES	Campaña 1988-89						Campaña 1989-90					
	<i>tm</i>	<i>P</i>	<i>ETo</i>	<i>ETc</i>	<i>R</i>	<i>DETC</i>	<i>tm</i>	<i>P</i>	<i>ETo</i>	<i>ETc</i>	<i>R</i>	<i>DETC</i>
	19,3	0,0	26,1	9,2	0,0	0,0	16,7	0,0	33,5	8,3	0,0	0,0
Oct.	17,9	23,9	27,9	9,7	14,2	0,0	14,3	3,3	15,2	4,0	0,0	0,0
	17,0	0,0	16,1	5,6	8,6	0,0	15,9	9,6	21,1	6,5	2,2	0,0
	15,1	2,9	11,7	4,1	7,4	0,0	11,9	0,1	20,1	13,8	0,0	0,0
Nov.	11,8	19,9	7,2	5,4	21,9	0,0	13,2	33,9	13,4	7,0	29,2	0,0
	15,0	1,6	9,5	7,1	16,4	0,0	12,3	32,1	9,1	4,6	58,1	0,0
	12,1	0,2	15,3	11,5	5,1	0,0	9,3	0,4	8,5	2,0	55,5	0,0
Dic.	26,0	0,0	8,5	6,4	0,0	1,3	11,0	2,3	11,1	4,6	53,9	0,0
	3,0	0,0	6,6	5,0	0,0	6,3	7,7	2,4	13,8	11,0	51,5	0,0
	-2,0	5,4	1,1	0,8	4,6	0,0	6,1	4,2	3,5	10,0	53,1	0,0
Ene.	20,0	0,0	1,5	1,2	3,4	0,0	5,2	0,3	2,5	6,6	51,6	0,0
	6,3	0,0	12,4	9,3	0,0	5,9	4,7	2,3	9,3	12,5	47,0	0,0
	5,4	1,7	8,3	6,2	0,0	4,5	9,7	0,6	13,9	7,5	37,2	0,0
Feb.	8,7	0,0	19,2	14,4	0,0	18,9	12,5	0,5	41,9	16,7	0,0	10,5
	6,5	33,9	13,7	10,3	23,6	0,0	24,9	0,0	25,8	8,4	0,0	29,7
	12,7	0,0	26,9	20,2	3,4	0,0	9,2	2,2	30,4	23,5	0,0	32,7
Mar.	13,0	6,7	23,6	27,1	0,0	17,0	13,8	0,0	29,6	22,3	0,0	34,0
	16,3	11,1	53,3	61,3	0,0	50,2	12,1	0,0	46,2	34,6	0,0	53,1
	11,3	40,7	17,6	20,2	20,5	0,0	12,1	14,6	31,3	27,7	0,0	21,4
Abr.	11,9	1,3	35,4	40,	0,0	7,2	12,5	2,6	41,7	47,8	0,0	45,3
	11,8	14,5	27,3	314	0,0	24,1	13,1	1,6	33,1	48,3	0,0	36,5

Tabla 4. Intensidad de frío expresada como grados*hora de las temperaturas medias horarias inferiores a 0 °C (1), a -3 °C (2), y a -6 °C (3), durante las campañas 1986-87, 1987-88, 1988-89, y 1989-90.

<i>Fecha de muestreo</i>	<i>(1)</i>	<i>(2)</i>	<i>(3)</i>	<i>Fecha de muestreo</i>	<i>(1)</i>	<i>(2)</i>	<i>(3)</i>
<i>Campaña 1986-87</i>				<i>Campaña 1987-88</i>			
05.11.86	-	-	-	31.10.87	-	-	-
13.11.86	-19	0	0	06.11.87	0	0	0
21.11.86	-12	0	0	16.11.87	0	0	0
21.11.86	0	0	0	24.11.87	-3	0	0
02.12.86	-23	0	0	01.12.87	-125	-82	0
12.12.86	-68	0	0	22.12.87	-22	0	0
22.12.86	-15	0	0	15.01.88	-81	-32	0
09.01.87	-405	-283	-60	25.01.88	0	0	0
21.01.87	-402	-255	-97	11.02.88	-33	0	0
03.02.87	-41	0	0	29.02.88	-181	-113	0
13.02.87	0	0	0	15.03.88	-73	-35	0
24.02.87	-310	-250	-124	24.03.88	0	0	0
09.03.87	0	0	0	14.04.88	0	0	0
23.03.87	-16	0	0				
06.04.87	-6	0	0				
22.04.87	0	0	0				
TOTAL	-1319	-787	-281	TOTAL	-519	-263	0
<i>Campaña 1988-89</i>				<i>Campaña 1989-90</i>			
26.10.88	-	-	-	04.11.87	0	0	0
03.11.88	0	0	0	11.11.87	0	0	0
10.11.88	0	0	0	19.12.87	0	0	0
18.11.88	0	0	0	27.12.87	-3	0	0
25.11.88	0	0	0	10.01.88	-5	0	0
05.12.88	-236	-214	-136	18.01.88	0	0	0
12.12.88	-102	-41	0	30.02.88	-123	-18	0
21.12.88	-62	-14	0	09.02.88	-1	0	0
10.01.89	-283	-196	-44	26.03.88	0	0	0
23.01.89	-817	-395	0	12.03.88	-70	-40	0
06.02.89	-40	-18	0	03.04.88	-5	0	0
20.02.89	-146	-47	0				
02.03.89	-45	-14	0				
13.03.89	0	0	0				
07.04.89	0	0	0				
21.04.89	-5	0	0				
TOTAL	-1732	-941	-180	TOTAL	-208	-58	0

III.1.8 Relación entre el desarrollo del cultivo, y las variables agrometeorológicas

Seguidamente se relaciona el desarrollo del cultivo, en cada una de las cuatro campañas de estudio, con las variables agrometeorológicas.

Durante la fase de crecimiento vegetativo del cultivo no se observó retraso en las campañas 1986-87 y 1987-88. Ello coincide con una buena reserva de agua en el suelo durante el invierno durante dichas campañas, alrededor de 50 mm. No obstante en la campaña 1988-89, en la que tuvo lugar un retraso notable en el desarrollo del cultivo, desde el mes de diciembre hasta marzo, se caracterizó también por una gran sequía invernal. Además en esta campaña tuvo lugar una fuerte helada a principios de diciembre que perjudicó de una forma notable el cultivo. A partir del mes de diciembre ya se empezó a registrar déficit en la evapotranspiración estimada del cultivo que se prolongó hasta finales de campaña. En la campaña 1989-90 tuvo lugar un retraso desde la emergencia hasta el inicio del ahijado - durante el mes de diciembre - que no se puede atribuir ni a la temperatura, ni a un déficit de agua en el suelo.

En todas las campañas se observa que a medida que va avanzando la estación se va reduciendo la reserva de agua en el suelo, fenómeno que se acentúa a partir de febrero con la subida de las temperaturas. De esta manera a finales de invierno-principios de primavera ya tiene lugar un déficit en la evapotranspiración estimada del cultivo. Ello coincide con un retraso en el inicio de la fase de alargamiento del tallo. Dicho fenómeno, es especialmente manifiesto en la campaña 1986-87 en la que la lluvia entre marzo y abril fue inferior a 9 mm. En la campaña 1989-90, en la que no se observa dicho retraso, se realizaron dos riegos, uno en febrero y otro en marzo, mientras que en las anteriores campañas el riego no se suministró hasta finales de abril.

III.2 Prospección de huevos de pulgones de cereales en posibles huéspedes primarios de la zona

En la tabla 5 se presenta el resultado de la prospección realizada en la búsqueda de huevos de *R. padi* en *Prunus sp.*, durante las campañas 1986-87, y 1987-88.

Tabla 5. Prospección de huevos de *R. padi* en *Prunus sp.* durante las campañas 1986-87 y 1987-88 en la zona de regadío de Lleida.

Fecha	especie	núm. de brotes muestreados	núm. de huevos hallados	núm. de huevos de <i>R. padi</i>
Dic. 1986	<i>P. persica</i>	250	23	0
Feb. 1987	"	250	10	0
Dic. 1987	<i>P. persica</i>	300	6	0
Feb. 1988	"	300	35	0
Mar. 1988	<i>P. amygdalus</i>	200	0	0

III.3 Presencia de *R. padi* y *S. avenae* en campos comerciales de la zona durante el invierno

En la tabla 6 se muestra los niveles de población de pulgones de cereales en campos comerciales de la zona durante el período invernal e inicios de primavera. Hay que resaltar los niveles de población relativamente importantes en dichos campos comerciales. Al igual que ocurre en las parcelas experimentales en otoño *R. padi* es la especie dominante, mientras que a finales de invierno-principios de primavera la especie que alcanza mayores densidades es *S. avenae*.

Tabla 6. Densidades de *R. padi* y *S. avenae* registradas en campos comerciales de cereales de invierno durante las campañas 1986-87, 1987-88 y 1988-89.

Localidad	cultivo	Fecha	GS cultivo	pulgones/m ²	
				<i>R. padi</i>	<i>S. avenae</i>
<i>Campaña 1986-87</i>					
Almenar	cebada	23.12.86	22	7,71	17,28
		27.01.87	22	5,56	4,44
		03.03.87	31	2,22	3,33
		01.04.87	45	30,00	85,60
		23.04.87	61	51,90	84,00
Lleida	cebada	22.12.86	22	9,50	0,00
		20.01.87	22	12,50	0,00
		13.02.87	23	12,40	22,20
		05.03.87	45	16,70	19,40
		10.04.87	65	162,20	263,00
Gimenells	cebada	23.12.86	22	56,50	2,80
		19.01.87	22	8,30	0,90
		06.02.87	22	0,90	0,00
		23.02.87	23	3,70	0,00
		11.03.87	30	2,60	6,00
		10.04.87	45	16,10	37,00
		26.04.87	65	1,80	9,40
Alpicat	cebada	23.12.86	21	27,80	2,20
		19.01.87	22	13,30	4,50
		06.02.87	22	2,20	1,10
		23.02.87	23	5,10	3,10
		11.03.87	31	0,00	11,20
		10.04.87	45	7,40	17,30
		26.04.87	48	4,60	12,10
Almacelles -1-	cebada	08.01.87	21	6,00	0,00
		27.01.87	22	2,10	0,00
		03.03.87	32	0,00	0,00
		01.04.87	45	2,60	12,80
		23.04.87	65	2,80	33,30
Almacelles -2-	cebada	08.01.87	21	27,80	1,20
		27.01.87	22	37,50	1,40
		03.03.87	32	6,90	2,80
		01.04.87	45	15,90	41,30
		23.04.87	65	2,80	86,10

Tabla 6 (continuación). Densidades de *R. padi* y *S. avenae* registradas en campos comerciales de cereales de invierno durante las campañas 1986-87, 1987-88 y 1988-89.

Localidad	cultivo	Fecha	GS cultivo	pulgones/m ²	
				<i>R. padi</i>	<i>S. avenae</i>
<i>Campaña 1987-88</i>					
Gimenells -1-	trigo	12.11.87	13	11,70	18,30
		23.12.87	23	4,50	1,50
		01.02.88	23	46,50	24,30
		03.03.88	30	67,40	36,10
Gimenells -2-	trigo	01.02.88	23	16,70	1,40
		25.02.88	30	2,10	3,50
<i>Campaña 1988-89</i>					
Raimat	cebada	16.11.88	11	1,40	0,00
		20.03.89	34	0,00	1,20
Gimenells	cebada	16.11.88	11	40,30	0,00
		20.03.89	33	0,00	0,00
Almacelles	cebada	02.12.88	12	8,90	3,30
		20.03.89	33	0,00	1,60
LLeida-1	cebada	02.12.88	11	2,20	2,20
		21.03.89	30	1,50	8,20
Lleida-2	trigo	02.12.88	11	0,90	2,80
		21.03.89	22	0,00	0,70
Mollerussa	cebada	19.01.89	12	1,10	1,10
		21.03.89	31	0,00	3,30
Torregrossa	trigo	02.12.88	11	5,60	1,90
		21.03.89	31	0,00	1,40
Alcoletge	trigo	05.12.88	13	1,90	5,60
		22.03.89	31	0,00	1,50
La Ràpita	trigo	20.01.89	22	6,70	0,00
		22.03.89	31	0,00	10,30
Palau d'A.	trigo	20.02.89	23	0,00	0,00
		13.03.89	30	0,00	2,40
		21.04.89	45	0,00	19,10

III.4 Infectividad de alados colonizantes capturados en campos de cereales de invierno y de maíz en la zona de regadío de Lleida

En las tablas 7, 8, 9, 10, 11 y 12 se presenta el resultado de las pruebas de infectividad realizadas en alados colonizantes capturados en campos de cereales de invierno y maíz, durante las campañas 1987-88, 1988-89 y 1989-90, en la zona de regadío de Lleida. A excepción de la tabla 7, se presentan los resultados del test desglosadas en infectividades simples en aislados de BYDV tipo PAV, MAV y RPV, y las infectividades mixtas en los aislados tipo PAV+MAV, PAV+RPV, MAV+RPV y PAV+MAV+RPV.

En la tabla 13 se muestran los resultados anteriores - expresados en porcentajes - de manera conjunta, en las tres campañas de estudio.

Los resultados expuestos en estas tablas indican que *R. padi* es el principal vector de aislados de BYDV tipo PAV y RPV. No obstante, hay que destacar que esta especie transmite también, en un porcentaje relativamente importante, el aislado tipo MAV, principalmente, en infecciones mixtas con aislados tipo PAV y RPV. *S. avenae* es el principal vector del tipo MAV. Esta especie transmite también, en pequeña proporción, el aislado tipo RPV tanto en infecciones simples como en infecciones dobles con el aislado MAV.

De los resultados anteriores, se desprende también que, en los campos de cereales de invierno, en otoño, hay introducción del inóculo de BYDV tipos PAV y MAV. La infección primaria con BYDV tipo PAV se realiza únicamente por *R. padi*, mientras que la introducción del BYDV tipo MAV se produce por *S. avenae* y en menor medida por *R. padi*. En primavera, los resultados del test de infectividad de los alados capturados en campos de maíz, señalan que la introducción del inóculo de BYDV tipo PAV se realiza por *R.*

padi, y en menor medida por *S. avenae*. La infección con el aislado tipo MAV se realiza, al igual que ocurre en el cereal de invierno, por *S. avenae* y en menor medida por *R. padi*.

Finalmente hay que destacar que la proporción de alados infectivos del aislado tipo RPV es siempre pequeña, siendo superior en primavera, que en otoño.

Tabla 7. Infectividad en el aislado tipo PAV, de alados colonizantes capturados en campos de cereales de invierno durante el otoño de 1987.

<i>Localidad</i>	<i>Fecha Captura</i>	<i>Especie</i>	<i>Total capturas</i>	<i>Total infectivos</i>
<i>Palau d'A.</i>	<i>30.10.87</i>	<i>R. padi</i>	<i>8</i>	<i>2</i>
		<i>S. avenae</i>	<i>4</i>	<i>0</i>
<i>Palau d'A.</i>	<i>06.11.87</i>	<i>R. padi</i>	<i>6</i>	<i>2</i>
<i>Palau d'A.</i>	<i>16.11.87</i>	<i>R. padi</i>	<i>8</i>	<i>0</i>
		<i>S. avenae</i>	<i>4</i>	<i>0</i>
<i>Palau d'A.</i>	<i>25.11.87</i>	<i>R. padi</i>	<i>3</i>	<i>0</i>
<i>Total</i>		<i>R. padi</i>	<i>25</i>	<i>4</i>
		<i>S. avenae</i>	<i>8</i>	<i>0</i>

Tabla 8. Infectividad de alados colonizantes capturados en campos de maíz durante la primavera de 1988.

Localidad	Fecha	Especie	Total capturas	Alados infectivos con BYDV tipo							
				PAV	MAV	RPV	PAV + MAV	PAV + RPV	MAV + RPV	PAV+MAV + RPV	Total
Palau d'A.	25.04.88	<i>R. padi</i>	9	2	2	0	1	0	0	0	5
		<i>S. avenae</i>	1	0	1	0	0	0	0	0	1
Rimat	10.05.88	<i>R. padi</i>	13	1	0	0	0	1	1	1	4
Almacelles	13.05.88	<i>R. padi</i>	6	5	0	0	0	0	0	0	5
		<i>S. avenae</i>	1	0	1	0	0	0	0	0	1
Alpicat	13.05.88	<i>R. padi</i>	9	1	0	0	0	0	0	0	1
		<i>R. maidis</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	0
		<i>S. avenae</i>	2	0	1	0	0	0	0	0	1
Almacelles	18.05.88	<i>R. padi</i>	13	1	-	-	-	-	-	-	-
Bell-lloc	25.05.88	<i>R. padi</i>	8	1	0	1	0	2	3	1	8
		<i>S. avenae</i>	2	0	0	0	0	1	1	0	2
Termens	27.05.88	<i>R. padi</i>	12	6	0	1	0	0	0	0	7
		<i>S. avenae</i>	1	0	1	0	0	0	0	0	1
Vallfogona	18.06.88	<i>R. padi</i>	8	6	-	-	-	-	-	-	-
		<i>S. avenae</i>	1	0	-	-	-	-	-	-	-
Lleida	15.06.88	<i>R. padi</i>	15	0	3	0	2	0	0	0	5
		<i>S. avenae</i>	5	0	2	0	0	0	0	0	2
Palau d'A.	15.06.88	<i>R. padi</i>	5	3	0	0	0	0	0	0	3
		<i>S. avenae</i>	16	1	1	0	1	0	1	0	4
Almacelles	16.06.88	<i>R. padi</i>	4	3	-	-	-	-	-	-	-
		<i>S. avenae</i>	5	0	-	-	-	-	-	-	-
Gimenells	18.06.88	<i>R. padi</i>	3	1	-	-	-	-	-	-	-
		<i>S. avenae</i>	1	0	-	-	-	-	-	-	-
Palau d'A.	18.06.88	<i>R. padi</i>	4	1	0	0	0	0	0	0	1
		<i>S. avenae</i>	9	3	2	0	0	0	0	0	5
TOTAL		<i>R. padi</i>	81*	20*	5	2	3	3	4	2	39
		<i>R. maidis</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	1
		<i>S. avenae</i>	37*	4*	9	0	1	1	2	0	17

(Valores totales seguidos de '*' no incluyen las muestras testadas únicamente con el antisuero tipo PAV)

Tabla 9. Infectividad de alados colonizantes capturados en campos de cereales de invierno durante el otoño de 1988.

Localidad	Fecha	Especie	Total capturas		Alados infectivos con BYDV tipo						Total	
					PAV	MAV	RPV	PAV	PAV	MAV		PAV+MAV
								+	+	+		+
		<i>R. padi</i>	10	1	0	0	3	0	0	0	3	
Palau d'A.	21.10.88	<i>S. avenae</i>	7	0	6	0	0	0	1	0	7	
Palau d'A.	26.10.88	<i>R. padi</i>	7	0	2	0	0	0	0	0	2	
		<i>R. padi</i>	19	2	0	0	6	0	0	0	8	
Palau d'A.	31.10.88	<i>S. avenae</i>	5	0	5	0	0	0	0	0	5	
		<i>R. padi</i>	4	0	0	0	1	0	0	0	1	
Palau d'A.	03.11.88	<i>S. avenae</i>	3	0	2	0	0	0	0	0	2	
		<i>R. padi</i>	41	9	0	0	6	0	1	0	7	
Palau d'A.	08.11.88	<i>S. avenae</i>	2	0	0	0	0	0	0	0	0	
		<i>R. padi</i>	12	0	2	1	1	0	1	0	5	
Palau d'A.	10.11.88	<i>S. avenae</i>	2	0	2	0	0	0	0	0	2	
Lleida	16.11.88	<i>R. padi</i>	27	5	2	0	9	0	1	2	19	
Palau d'A.	22.11.88	<i>R. padi</i>	14	1	2	0	0	0	1	2	6	
		<i>R. padi</i>	134	18	8	1	26	0	4	4	60	
TOTAL		<i>S. avenae</i>	19	0	15	0	0	0	1	0	16	

Tabla 10. Infektividad de alados colonizantes capturados en campos de maíz durante la primavera de 1989.

Localidad	Fecha	Especie	Total capturas	Alados infectivos con BYDV tipo							Total
				PAV	MAV	RPV	PAV	PAV	MAV	PAV+MAV	
							+ MAV	+ RPV	+ RPV	+ RPV	
Palau d'A.	10.05.89	<i>R. padi</i>	10	3	2	1	2	0	0	0	8
		<i>S. avenae</i>	8	0	1	0	0	0	0	0	1
		<i>M. dirhodum</i>	17	1	4	0	1	0	0	0	6
Palau d'A.	24.05.89	<i>R. padi</i>	3	0	0	1	0	0	0	0	1
		<i>R. maidis</i>	3	0	0	0	0	0	0	0	0
		<i>S. avenae</i>	27	0	7	0	0	0	0	0	7
		<i>M. dirhodum</i>	11	0	0	0	0	0	0	0	0
Palau d'A.	26.05.89	<i>R. padi</i>	16	1	0	0	5	0	0	0	6
		<i>S. avenae</i>	3	0	0	0	0	0	0	0	0
Raimat	26.05.89	<i>R. padi</i>	5	0	0	0	0	0	0	0	0
		<i>R. maidis</i>	2	0	0	0	0	0	0	0	0
		<i>S. avenae</i>	9	0	0	1	0	0	0	0	1
		<i>M. dirhodum</i>	8	0	0	0	0	0	0	0	0
Alpicat	31.05.89	<i>S. avenae</i>	16	0	0	0	0	0	0	0	0
Raimat	31.05.89	<i>S. avenae</i>	46	3	6	0	2	0	0	0	11
Torregrossa	07.06.89	<i>R. padi</i>	36	0	1	0	3	0	0	0	4
		<i>S. avenae</i>	20	0	4	1	0	0	1	0	6
Alpicat	07.06.89	<i>R. padi</i>	6	0	0	0	0	0	0	0	0
		<i>S. avenae</i>	7	0	1	0	0	0	0	0	1
Palau d'A.	13.06.89	<i>R. padi</i>	23	0	1	0	0	0	0	0	1
		<i>S. avenae</i>	37	0	6	0	2	0	0	0	8
TOTAL		<i>R. padi</i>	99	4	4	2	10	0	0	0	20
		<i>S. avenae</i>	173	3	25	2	4	0	1	0	35
		<i>M. dirhodum</i>	36	1	4	0	1	0	0	0	6
		<i>R. maidis</i>	5	0	0	0	0	0	0	0	0

Tabla 11. Infectividad de alados colonizantes capturados en campos de cereales de invierno durante el otoño de 1989.

Localidad	Fecha	Especie	Total capturas	Alados infectivos con BYDV tipo							
				PAV		PAV + MAV		MAV + RPV		PAV+MAV + RPV	
				PAV	MAV	RPV	MAV	RPV	RPV	RPV	Total
Lleida	22.11.89	<i>R. padi</i>	21	0	0	1	0	0	0	0	1
		<i>R. maidis</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	0
		<i>S. avenae</i>	2	0	1	0	0	0	0	0	1
Lleida	25.11.89	<i>R. padi</i>	8	0	0	0	0	0	0	0	0
		<i>R. maidis</i>	5	0	0	0	0	0	0	0	0
		<i>S. avenae</i>	8	0	0	0	0	0	0	0	0
		<i>S. graminum</i>	3	0	0	0	0	0	0	0	0
Lleida	02.12.89	<i>R. padi</i>	4	1	0	0	0	0	0	0	1
		<i>R. maidis</i>	3	0	0	0	0	0	0	0	0
		<i>S. avenae</i>	5	0	1	0	0	0	0	0	1
		<i>S. graminum</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	0
TOTAL		<i>R. padi</i>	33	1	0	1	0	0	0	0	2
		<i>R. maidis</i>	9	0	0	0	0	0	0	0	0
		<i>S. avenae</i>	15	0	2	0	0	0	0	0	2
		<i>S. graminum</i>	4	0	0	0	0	0	0	0	0

Tabla 12. Infectividad de alados colonizantes capturados en campos de maíz durante la primavera de 1990.

Localidad	Fecha	Especie	Total capturas		Alados infectivos con BYDV tipo						
			PAV	MAV	RPV	PAV + MAV	PAV + RPV	MAV + RPV	PAV+MAV + RPV	Total	
Palau d'A.	05.06.90	<i>R. padi</i>	16	3	1	0	4	0	1	0	9
		<i>R. maidis</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	0
		<i>S. avenae</i>	17	0	10	0	0	0	0	0	10
		<i>M. dirhodum</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Termens	08.06.90	<i>R. padi</i>	4	1	0	0	0	0	0	0	1
		<i>R. maidis</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	0
		<i>S. avenae</i>	14	0	6	0	0	0	0	0	6
		<i>M. dirhodum</i>	1	0	1	0	0	0	0	0	1
Palau d'A.	15.06.90	<i>R. padi</i>	6	1	0	0	1	0	0	0	2
		<i>S. avenae</i>	10	1	3	0	0	0	0	0	4
Lleida	16.06.90	<i>R. padi</i>	17	4	1	0	1	0	0	0	6
		<i>S. avenae</i>	19	1	6	0	0	0	0	0	7
Palau d'A.	13.06.90	<i>R. padi</i>	5	0	0	1	0	0	0	0	0
		<i>S. avenae</i>	36	1	11	0	0	0	0	0	12
TOTAL		<i>R. padi</i>	48	9	2	1	6	0	1	0	19
		<i>R. maidis</i>	2	0	0	0	0	0	0	0	0
		<i>S. avenae</i>	96	3	36	0	0	0	0	0	39
		<i>M. dirhodum</i>	2	0	1	0	0	0	0	0	1

Tabla 13. Porcentaje de alados de *R. padi* y *S. avenae* infectivos capturados en cereales de invierno, en otoño, y en maíz, en primavera.

	Total capturas	Porcentaje de alados infectivos con BYDV tipo							TOTAL
		PAV	MAV	RPV	PAV +	PAV +	MAV +	PAV +	
		PAV	MAV	RPV	MAV	RPV	RPV	RPV+MAV	
<i>Campaña 1987-88</i>									
<u>Otoño</u>									
<i>R. padi</i>	25	16,0	-	-	-	-	-	-	16,0
<i>S. avenae</i>	8	0,0	-	-	-	-	-	-	0,0
<u>Primavera</u>									
<i>R. padi</i>	81	24,7	6,2	2,5	3,7	3,7	4,9	2,5	48,2
<i>S. avenae</i>	37	10,8	24,3	0,0	2,7	2,7	5,4	0,0	45,9
<i>Campaña 1988-89</i>									
<u>Otoño</u>									
<i>R. padi</i>	134	13,4	6,0	0,7	19,4	0,0	3,0	3,0	45,5
<i>S. avenae</i>	19	0,0	78,9	0,0	0,0	0,0	5,6	0,0	84,1
<u>Primavera</u>									
<i>R. padi</i>	99	2,0	2,0	2,0	10,1	0,0	0,0	0,0	20,1
<i>S. avenae</i>	173	1,8	14,5	1,2	2,3	0,0	0,6	0,0	20,4
<i>Campaña 1989-90</i>									
<u>Otoño</u>									
<i>R. padi</i>	33	3,0	0,0	3,0	0,0	0,0	0,0	0,0	6,0
<i>S. avenae</i>	15	0,0	13,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	13,3
<u>Primavera</u>									
<i>R. padi</i>	48	18,7	4,2	2,1	12,5	0,0	2,1	0,0	39,6
<i>S. avenae</i>	96	3,1	37,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	40,6