



PLAN DE MUESTREO SECUENCIAL PARA LARVAS DE LA POLILLA DE LAS COLES, *PLUTELLA XYLOSTELLA* (L.), EN COLZA

Marcela Lietti¹, Eduardo Trumper², Celina Fernández¹, Verónica Reyes¹, Georgina Leoncelli³, Luis Vignaroli¹

¹ Docentes-Investigadores. Cátedra de Zoología Agrícola, Facultad de Ciencias Agrarias, UNR. C.C. 14. S2125ZAA. Zavalla, Santa Fe, Argentina. Email: mlietti@unr.edu.ar

² Investigador. Sección Entomología. EEA INTA Manfredi. Ruta Nac. 9 Km 636, Manfredi, Córdoba, Argentina. Email: trumper.eduardo@inta.gob.ar

³ Estudiante de grado. Becario Fundación Nuevo Banco de Santa Fe 2012-2013. Fac. Cs. Agrarias, UNR

RESUMEN

La superficie sembrada con cultivo de colza en Argentina está en expansión. *Plutella xylostella* (L.) es un herbívoro específico de Brassicaceae y plaga clave del cultivo de colza por alimentarse de hojas y órganos reproductivos. La estimación de la densidad poblacional mediante un plan de muestreo constituye una herramienta indispensable dentro de un programa de MIP para ser utilizada en la toma de decisión del control de la plaga. El objetivo de este trabajo fue desarrollar protocolos de muestreo secuencial para estimar la densidad poblacional de larvas con un nivel de precisión prefijado, para aplicar en dos etapas fenológicas del cultivo. El estudio se realizó en dos parcelas de colza var. Impact Don Atilio. Se implementó un esquema de muestreo con una frecuencia de dos veces por semana. En cada fecha, y en cada parcela, se tomó una muestra aleatoria de 20 plantas. El período de estudio se dividió en dos etapas fenológicas: 1) Etapa Fenológica Temprana: desde el estado de roseta (1.3) hasta inicio de floración (6.0), la unidad muestral consistió en el conteo de larvas en la totalidad de cada planta; 2) Etapa Fenológica Tardía: desde floración (6.2) hasta inicio de maduración de frutos (8.0), la unidad muestral consistió en el conteo de larvas en la mitad de las hojas y en la totalidad de las ramas florales. El patrón de distribución muestral se analizó mediante la ley de potencias Taylor, aplicando análisis de regresión $\ln(S^2)$ sobre $\ln(m)$. Sobre la base de los parámetros de la ley de Taylor estimados a través de análisis de regresión, se calcularon las líneas críticas de muestreo secuencial para estimación de abundancia de acuerdo al modelo de Green, correspondientes a distintos niveles de precisión, definido como $C=EE/m$. La densidad media de larvas de *P. xylostella* varió entre 0,65 y 10,75 larvas por planta; y entre 0,13 y 3,31 larvas por planta, para las Etapas Temprana y Tardía, respectivamente. Las regresiones ajustadas fueron $\ln(S^2) = 0.078 + 1.47 \ln(m)$; $R^2=0.81$ y $\ln(S^2) = 0.335 + 1.43 \ln(m)$; $R^2=0.9$, respectivamente. El valor de la pendiente de estas regresiones es consistente con un patrón de distribución espacial altamente agregado. La comparación de las líneas críticas de muestreo secuencial muestra que el incremento de esfuerzo de muestreo es proporcionalmente mayor al incremento de precisión.

PALABRAS CLAVES: *Plutella*, ley de Taylor, muestreo secuencial, colza, Argentina

INTRODUCCIÓN

El cultivo de colza (*Brassica napus* L.) se está incrementando de manera sostenida en la región pampeana de Argentina, como consecuencia de la demanda mundial de biocombustibles y del

alto valor nutricional de su aceite. Se considera un cultivo de invierno conveniente como antecesor de soja, al desocupar el lote más temprano que el cultivo de trigo, con la posibilidad de acumular más humedad en el suelo. Permite diversificar las rotaciones agrícolas y aumentar la diversidad vegetal, reduciendo los riesgos climáticos y económicos inherentes al uso de una sola especie (trigo) como cultivo de invierno, y favoreciendo el desarrollo de predadores polífagos (principalmente sírfidos, coccinélidos) y polinizadores (IRIARTE & VALETTI, 2008; FERNÁNDEZ et al, 2012).

La polilla de las coles, *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae), es una especie cosmopolita, herbívoro específico de brasicáceas y plaga clave de brasicáceas cultivadas a nivel mundial (FURLONG et al, 2013). Las larvas se alimentan de hojas, pimpollos florales, flores y silicuas pequeñas, como también de brotes vegetativos y reproductivos, disminuyendo el número final de granos (DOSDALL et al, 2011).

A nivel mundial, el muestreo de *P. xylostella* en colza, mediante trampa de feromona para adultos y red de arraste para larvas, brindan información sobre su presencia y su nivel de abundancia general. El método más confiable para estimar la densidad de larvas es el conteo de los individuos en cada planta o en una superficie de 0,1 m² (DOSDALL et al, 2011; LEONCELLI et al, 2013; MILUCH et al, 2013). Se han desarrollado distintos métodos y protocolos de muestreo para cultivos hortícolas de brasicáceas (HAMILTON et al, 2004). Sin embargo, para el cultivo de colza tanto las recomendaciones sobre la cantidad de unidades de muestreo como los umbrales económicos, no están basados en estudios experimentales y por lo tanto son de carácter nominal (DOSDALL et al, 2011).

El excesivo e inapropiado uso de plaguicidas para el control de la polilla de las coles en colza, motivaron el desarrollo de programas de *Manejo Integrado de Plagas* (MIP), con predominio de técnicas de bajo impacto ambiental para mantener el tamaño poblacional debajo del nivel de daño económico (FURLONG et al, 2013). Para ello es necesario la integración del conocimiento sobre la biología y ecología de la especie con los instrumentos de apoyo a la toma de decisiones de manejo de la plaga. El muestreo constituye uno de los pilares básicos de la implementación del concepto de *Manejo Integrado de Plagas*, porque permite estimar la densidad poblacional y compararla con el umbral económico previamente establecido (FAVA et al, 2010). El desarrollo de un sistema de muestreo y monitoreo práctico y eficiente es un requisito previo para todas las actividades de manejo de una plaga. Un método que habilita al usuario a decidir sobre la marcha cuándo interrumpir la recolección de unidades muestrales es el método conocido como *muestreo secuencial* (PEDIGO & BUNTIN, 1994).

OBJETIVO

El objetivo del presente estudio es desarrollar un protocolo de muestreo secuencial para estimación de abundancia de *Plutella xylostella* con niveles fijos de precisión, para dos estados fenológicos del cultivo de colza.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se realizó en el Campo Experimental de la Facultad de Ciencias Agrarias, UNR. (33° 01', S; 60° 53', W). Se establecieron dos parcelas sembradas con colza (*Brasica napus* L.) variedad Impact Don Atilio el 23/04/12: 1) 26 m x 200 m (5200 m²) y, 2) 30 m x 125 m (3750 m²), separadas entre sí por 300 m. El área de muestreo abarcó una superficie de 2600 m² (26 m x 100 m) y 3000 m² (30 m x 100 m) en el extremo norte de las parcelas 1 y 2, respectivamente.

Durante un período de 146 días, a razón de dos veces por semana, se tomaron muestras de larvas en las dos áreas de muestreo. En cada fecha de muestreo se seleccionaron al azar 20 plantas por área de muestreo, las cuales fueron cortadas en su base y colocadas individualmente en bolsas de plástico transparente en el campo. En el laboratorio fueron examinadas bajo lupa estereoscópica para registrar el número de larvas de distintos estadios

sobre cada planta. Se diferenciaron dos periodos fenológicos para proceder al registro de larvas sobre las plantas (LANCASHIRE et al, 1991): 1) Etapa Fenológica Temprana: desde el estado de roseta (1.3: 3 hojas expandidas) hasta inicio de floración (6.0), se revisó toda la planta; 2) Etapa Fenológica Tardía: desde floración (6.2) hasta inicio de maduración de frutos (8.0), se examinó un nudo en forma alterna (el nudo comprende la hoja y el brote axilar) desde la parte inferior de cada planta y cada rama con flores.

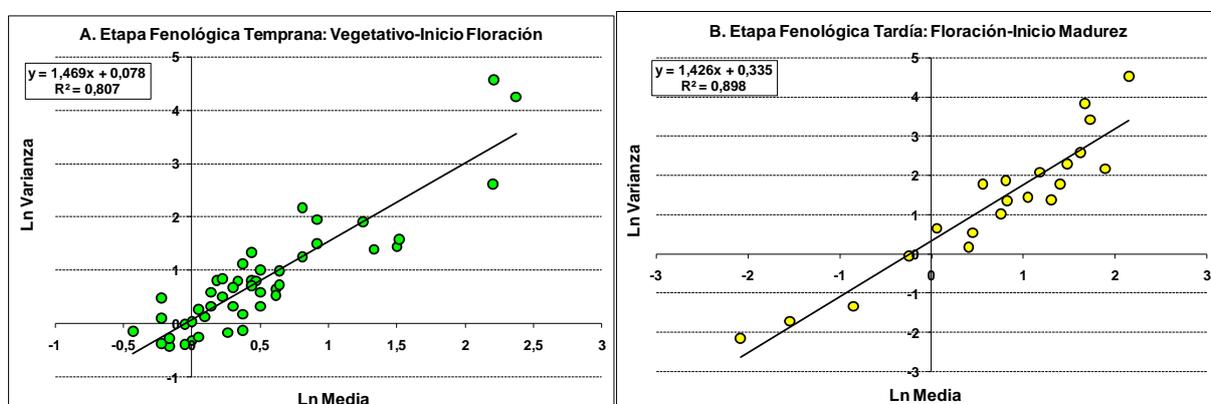
Se caracterizó el patrón de distribución muestral de las larvas sobre la base de la ley de Taylor, que relaciona las varianzas (S^2) y las medias (m) muestrales a través de la ecuación $S^2 = a.m^b$. Se calculó la media y la varianza de cada una de las muestras y se realizó un análisis de regresión del $\ln(S^2)$ sobre el $\ln(m)$. La ecuación ajustada por regresión lineal es $\ln(S^2) = \ln(a) + b \ln(m)$, donde a y b son los parámetros de la ley de Taylor. Este análisis se aplicó para cada uno de los dos conjuntos de datos correspondientes a las dos etapas fenológicas. Para probar la hipótesis nula de que la pendiente es igual a 1 se realizó un test t. A partir de los parámetros estimados por el análisis de regresión de la ley de Taylor linealizada y aplicando el modelo de Green de muestreo secuencial se calcularon las líneas críticas o de interrupción de muestreo para estimación de abundancia con niveles de precisión prefijados y las correspondientes curvas de tamaño de muestra esperado en función de la densidad poblacional media (PEDIGO & BUNTIN, 1994; TRUMPER et al, 2008).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se obtuvieron 24 y 12 muestras por parcela, para las Etapas Fenológicas Temprana y Tardía, respectivamente. La densidad media de larvas de *P. xylostella* por planta varió entre 0,65 y 10,75 y entre 0,13 y 3,31, respectivamente.

Los análisis de regresión arrojaron las ecuaciones $\ln(S^2) = 0.078 + 1.47 \ln(m)$, $R^2 = 0.81$ (Figura 1.A), para la Etapa Fenológica Temprana; y $\ln(S^2) = 0.335 + 1.43 \ln(m)$, $R^2 = 0.9$ (Figura 1.B), para la Etapa Fenológica Tardía. Los valores estimados del parámetro b (1.47 y 1.43) fueron significativamente superiores a 1 ($P < 0.001$) en ambos casos, sugiriendo un patrón de distribución espacial altamente agregado, en coincidencia con la disposición de larvas de *P. xylostella* en campos de canola en las praderas canadienses. En esta región se determinó mediante estudios espacio-temporales que el tipo de disposición agregada depende tanto de la velocidad y dirección del viento como de la calidad nutricional de las plantas (SARFRAZ et al, 2010).

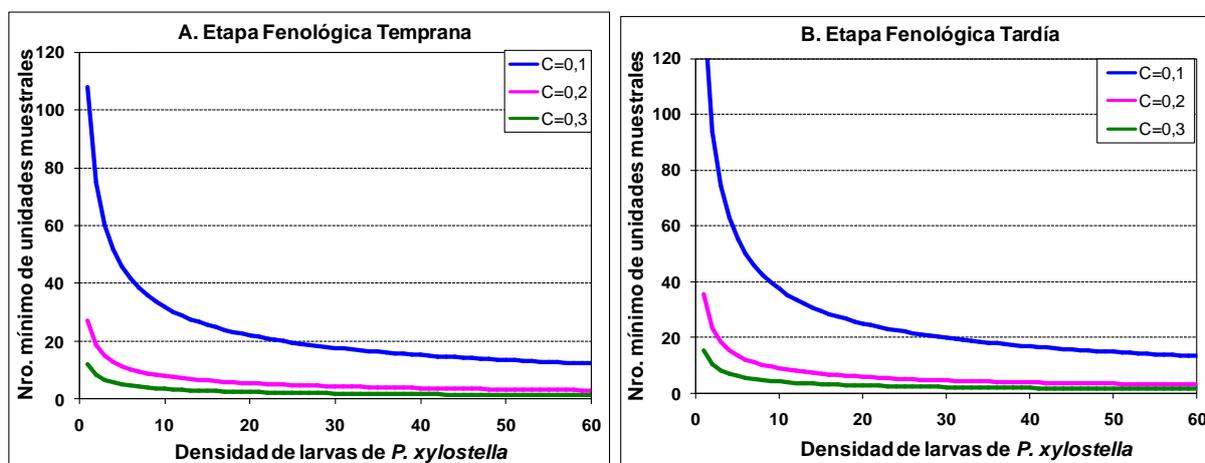
Figura 1. Ajuste de la Ley de Taylor sobre datos de muestreo de larvas de *P. xylostella* por planta en dos etapas fenológicas.



Las curvas que representan el número mínimo de plantas a muestrear con diferentes niveles de precisión ($C = 0,1, 0,2$ y $0,3$) se muestran en la Figura 2. El tamaño mínimo de muestra requerido se incrementa con un nivel de precisión mayor para una misma densidad de larvas; y

con una densidad de larvas menor con un mismo nivel de precisión, en cada etapa fenológica. En general por debajo de 5 larvas/planta se produce un incremento de tipo exponencial en el tamaño mínimo de muestras requerido. En la Etapa Fenológica Tardía se requiere un esfuerzo de muestreo levemente mayor para la estimación de una misma densidad de larvas. A partir de floración, el esfuerzo de observación estuvo dirigido a las ramas florales, si bien se registraron las larvas en la mitad de las hojas por debajo de la inserción de las ramas florales. Cuando las plantas comienzan a florecer las larvas se alimentan de pimpollos florales, flores y silicuas pequeñas. Este perjuicio retrasa la maduración del cultivo y reduce significativamente el rendimiento; siendo más dañino cuando las plantas están bajo estrés abiótico y no pueden compensar produciendo nuevos brotes y flores (DOSDALL et al, 2011).

Figura 2. Tamaños mínimos de muestra esperados en función de la densidad poblacional de larvas de *P. xylostella*, con tres niveles de precisión ($C=0.1, 0.2$ y 0.3), correspondientes a dos etapas fenológicas del cultivo de colza.



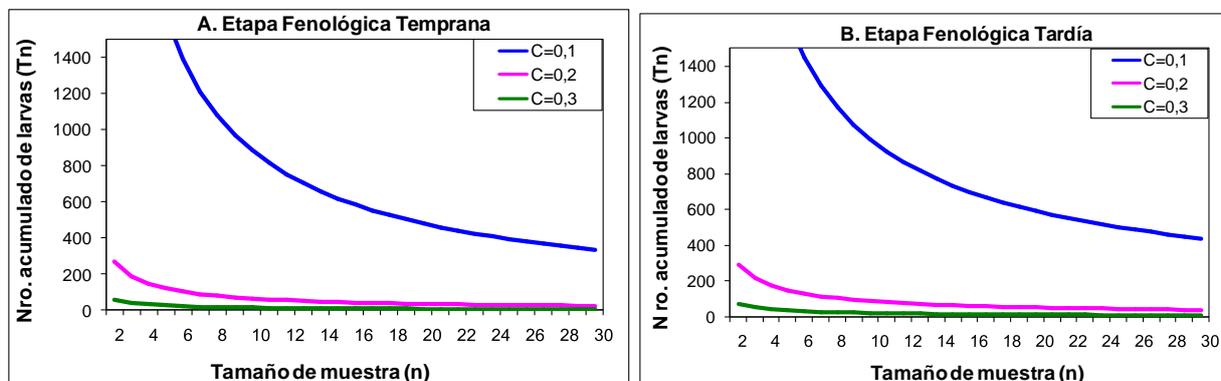
El umbral económico (UE) recomendado en Canadá es de 100 a 150 larvas/m² (aproximadamente 1 a 1,5 larvas/planta) durante el estado vegetativo a inicio de floración; y de 200 a 300 larvas/m² (aproximadamente de 2 a 3 larvas/planta) en floración y fructificación, sin discriminar por edad de las larvas (DOSDALL et al, 2011). De acuerdo al protocolo de muestreo desarrollado en este trabajo correspondiente a la Etapa Fenológica Temprana, y tomando como referencia los UE fijados en Canadá, se necesita un número mínimo de plantas entre 27 y 22 y, entre 12 y 10, para estimar la densidad de larvas con nivel de precisión $C=0,2$ y $C=0,3$, respectivamente. Para estimar la densidad de larvas para el UE correspondiente a la Etapa Fenológica Tardía, se necesita un número mínimo de plantas entre 23 y 18 con nivel de precisión $C=0,2$; y entre 10 y 8 con nivel de precisión $C=0,3$.

Las líneas críticas de muestreo secuencial para estimación de abundancia de larvas de *P. xylostella* con tres niveles de precisión en dos etapas fenológicas se ilustran en la Figura 3.

CONCLUSIONES

La comparación de las líneas críticas de muestreo secuencial muestra que el incremento de esfuerzo de muestreo es proporcionalmente mayor al incremento de precisión. En general por debajo de 5 larvas/planta se produce un incremento de tipo exponencial en el tamaño mínimo de muestra. En la Etapa Fenológica Tardía se requiere un esfuerzo de muestreo levemente mayor para la estimación de una misma densidad de larvas. Este plan de muestreo secuencial desarrollado puede ser fácilmente adaptado cuando se necesite estimar la densidad de larvas para determinar distintas propiedades de las poblaciones de larvas como para fines prácticos de toma de decisión de manejo de la plaga.

Figura 3. Líneas críticas de muestreo secuencial para estimación de abundancia de larvas de *P. xylostella* con tres niveles de precisión ($C=0.1$, 0.2 y 0.3), correspondientes a dos etapas fenológicas del cultivo de colza.



AGRADECIMIENTOS

El presente proyecto de investigación fue financiado por la Secretaría de Ciencia y Tecnología, Gobierno de la Provincia de Santa Fe, la Fundación Facultad de Ciencias Agrarias y la Universidad Nacional de Rosario.

BIBLIOGRAFIA

- DOSDALL, L.; SOROKA, J.; OLFERT, O. 2011. The Diamondback Moth in Canola and Mustard: Current Pest Status and Future Prospects. *Prairie Soils and Crops* 4: 66-76. Available at: <http://www.prairiesoilsandcrops.ca>
- FAVA, F. D.; TRUMPER, E. V.; IMWINKELRIED, J. M. Patrones de distribución de los gusanos blancos *Diloboderus abderus* y *Liogenys* sp., y protocolos de muestreo para su manejo. Manfredi, Córdoba: INTA, 2010. 28 p. (Boletín de Divulgación Técnica N° 8).
- FERNÁNDEZ, C.; LIETTI, M.; MONTERO, G. Ensamblajes de herbívoros y predadores-parasitoides, en *Brassicaceae* de cultivos y bordes en agroecosistemas agrícolas y hortícolas. En: Congreso Argentino de Entomología VIII. San Carlos de Bariloche, Argentina 17-20/04/12. Libro de Resúmenes, Trabajo Nro. 175, pág. 268.
- FURLONG, M.J.; WRIGHT, D.J.; DOSDALL, L.M. 2013. Diamondback moth ecology and management: problems progress and prospects. *Ann. Rev. Entomol.* 58: 517-41.
- HAMILTON, A.J.; SCHELLHORN, N.A.; ENDERSBY, N.M.; RIDLAND, P.M.; WARD, S.A. 2004. A dynamic binomial sequential sampling plan for *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) on broccoli and cauliflower in Australia. *J. Econ. Entomol.* 97: 127-135.
- IRIARTE, L.; VALETTI, O. Cultivo de colza. Ciudad Autónoma de Buenos Aires: INTA, 2008. 156 p.
- LANCASHIRE, P.D.; BLEIHOLDER, H.; VAN DEN BOOM, T.; LANGELUDEKE, P.; STAUSS, R.; ELFRIEDE WEBER; WITZENBERGER, A. 1991. A uniform decimal code for growth stages of crops and weeds. *Ann. Appl. Biol.* 119: 561-601.

LEONCELLI, G.; FERNÁNDEZ, C.; LIETTI, M. Monitoreo de las polilla de las coles, *Plutella xylostella* (L.), con trampa de feromona en colza. En: Encuentro de Jóvenes Investigadores de la Universidad Nacional de Litoral XVII. Santa Fe, Argentina 4-5/09/13. CD-ROM. 4 p.

MILUCH, C.E.; DOSDALL, L.M.; EVENDEN, M.L. 2013. The potential for pheromone-based monitoring to predict larval populations of diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.), in canola (*Brassica napus* L.). *Crop Protection* 45: 89-97.

PEDIGO, L.P.; BUNTIN, G.D. (EDS.). Handbook of sampling methods for arthropods in agriculture. Boca Ratón: CRC Press, 1994. 714 p.

SARFRAZ, R.M.; DOSDALL, L.M.; BLAKE, A.J.; KEDDIE, B.A. 2010. Leaf nutrient levels and the spatio-temporal distributions of *Plutella xylostella* and its larval parasitoids *Diadegma insulare* and *Microplitis plutellae* in canola. *BioControl* 55: 229-244.

TRUMPER, E.V.; EDELSTEIN, J.D.; FAVA, E.D.; SOSA, M.A. 2008. Protocolos de muestreo para estimación de abundancia y toma de decisiones de chinches en soja. En: TRUMPER, E.V.; EDELSTEIN, J.D. (eds.), Chinches fitófagas en soja. Revisión y avances en el estudio de su ecología y manejo, Ediciones INTA, Manfredi, pp. 149-168.