

Tesis y Seminarios

Proyectos Fin de Máster



Setos en manzanos ecológicos asturianos: floración y papel como reservorio de fauna auxiliar

Máster: Agricultura ecológica.

Autor: Eduardo Prida Barreiro.

Año: Octubre, 2012.

Director: Dr. Marcos Miñarro Prado (SERIDA).

Lugar de presentación: Universidad de Barcelona, Facultad de Biología (Barcelona).

Los setos vivos son formaciones vegetales con mezclas arbóreas, arbustivas y herbáceas que rodean las parcelas de cultivo y que realizan diversas funciones de gran valor. Las especies de plantas con flores pueden atraer insectos y jugar un papel en la conservación de la biodiversidad y en el funcionamiento del agrosistema. Dichas flores podrían proveer unos servicios al cultivo al ser fuente de polen y néctar para insectos beneficiosos, como los sírfidos que depredan sobre los pulgones que son plaga del manzano, o los insectos que participan en la polinización del manzano. Los objetivos del trabajo fueron (1) identificar las especies con flores que hay en los setos cercanos a las parcelas de manzano ecológico en Asturias, conocer su abundancia y su fenología de floración, y (2) cuantificar el papel de esas flores como atrayentes de insectos beneficiosos, como los enemigos naturales de las plagas o los polinizadores.

Los estudios se realizaron desde mediados de mayo hasta principios de septiembre de 2012 en los setos que rodeaban ocho plantaciones ecológicas de manzano en los concejos de Nava, Sariego y Villaviciosa. Se contaron 7555 flores pertenecientes a 62 especies de plantas. Las cinco especies más abundantes fueron: *Stellaria holostea* L. (14,1%), *Rubus ulmifolius* L. (13,8%), *Bellis perennis* L. (13,6%), *Veronica persica* Weber (8,8%) y *Geranium robertianum* L. (5,6%). Se encontraron flores durante todo el periodo muestreado, aunque su número dismi-

nuyó a medida que avanzó la temporada. No se encontraron diferencias entre parcelas ni en la abundancia de flores ni en el índice de diversidad de Shannon-Wiener ni en la riqueza específica.

La visita de insectos a las flores fue muestreada en 1089 flores de 22 especies de plantas, sobre las que se observaron 690 insectos. Entre los insectos beneficiosos destacaron por su abundancia las abejas silvestres (con el 27,1 % del total de insectos), los sírfidos depredadores (14,9 %), los abejorros (5,5%) y las abejas melíferas (5,2 %). Hubo diferencias entre plantas en el número de insectos que las visitaron. Las tres especies de plantas más atractivas para sírfidos depredadores fueron: *Sambucus nigra* L., *Oenanthe crocata* L. y *Stellaria media* (L.) Vill., y las tres especies más atractivas para polinizadores fueron: *Potentilla reptans* L. (para abejas silvestres), *Rosa arvensis* Hunds (para abejas melíferas) y *Rubus ulmifolius* (para abejorros), siendo esta última especie la que más diversidad de insectos atrajo.

El trabajo ha permitido identificar los recursos florales de los setos que rodean las parcelas de manzano en Asturias y sus asociaciones con insectos beneficiosos, como los enemigos de las plagas y los polinizadores.



Empleo de indicios de actividad para estimar la abundancia de roedores perjudiciales para el manzano

Máster: Agricultura, ganadería y silvicultura ecológicas.

Autora: Cecilia Montiel Pantoja.

Año: Diciembre, 2011.

Directores: Dr. Marcos Miñarro Prado y Dr. Enrique Dapena de la Fuente (SERIDA).

Lugar de presentación: Universidad Internacional de Andalucía, sede Antonio Machado (Baeza).

Los roedores constituyen una de las principales amenazas para el cultivo del manzano. Los micrótidos son roedores de hábitos sub-

terráneos que roen el sistema radicular de los árboles reduciendo considerablemente su productividad o llegando, incluso, a causar su muerte, por lo que los daños económicos producidos son cuantiosos. Para realizar un control sostenible de esta plaga es necesario identificar su presencia y estimar su abundancia. Dado que son animales subterráneos, esto se podría hacer mediante índices de actividad superficial. El objetivo principal del trabajo fue establecer un índice de abundancia para las poblaciones de roedores en los cultivos de manzanos. En Asturias, los roedores más problemáticos son la rata topo (*Arvicola terrestris*) y el topillo lusitano (*Microtus lusitanicus*). Dada la dificultad de diferenciar los indicios de actividad (toperas) de la rata topo de los indicios de topo ibérico (*Talpa occidentalis*), insectívoro que no come las raíces de los árboles, se marcaron tres etapas de estudio para conseguir el objetivo principal del Proyecto:

- Diferenciar las toperas de rata topo de las de topo ibérico,
- Diferenciar los indicios recientes de topillo lusitano de los antiguos, y
- Examinar la relación entre la abundancia de los roedores y la de sus indicios superficiales.

Se examinaron un total de 316 toperas de rata topo y topo y se determinaron nueve variables que diferenciaban las toperas de rata topo de las de topo ibérico al 95% de fiabilidad. Tres de éstas resultan muy prácticas para los agricultores por su fácil identificación en campo: la no linealidad en la distribución de las toperas, la ausencia de caminos de tierra entre toperas y la ausencia de terrones compactos en la superficie de las toperas, características todas ellas propias de la rata topo. Además, se analizaron 85 agujeros de topillo lusitano, resultando que la redondez del agujero es la variable más estrechamente correlacionada con la presencia y la cantidad de topillo. Para establecer el índice de abundancia se realizaron 35 transectos lineales en siete parcelas de cultivo de manzanos; se hallaron correlaciones muy elevadas y significativas entre la abundancia de animales y la presencia de indicios de actividad tanto para rata topo como para topillo lusitano.

Este estudio muestra, por primera vez, la fiabilidad de la utilización de un índice de abundancia basado en la presencia de toperas y agujeros para evaluar las poblaciones de los roedores perjudiciales para el manzano en Asturias. Este método es fácil de aplicar y permitirá ahorrar tiempo y dinero a los agricultores a la hora de manejar y controlar los roedores perjudiciales y, por otro lado, facilitará el seguimiento de las poblaciones con fines de investigación.

Tesis Doctorales



Pseudomonas fitopatógenas en malas hierbas que acompañan al cultivo de la judía: Identificación, Tipificación y Patogenicidad

Autora: Ana M^a Fernández Sanz.

Año: 2013.

Directoras: Dra. Ana J. González Fernández (SERIDA), Dra. M^a del Rosario Rodicio Rodicio (Universidad de Oviedo).

Lugar de presentación: Universidad de Oviedo.

Las malas hierbas que, en ocasiones, acompañan a los cultivos pueden interferir y competir con la especie cultivada reduciendo su rendimiento, pero además pueden ser refugio de microorganismos patógenos perjudiciales para dichos cultivos. En esta Tesis se muestra la presencia de *Pseudomonas* patógenas en las malas hierbas asociadas al cultivo de la judía granja asturiana.

A partir de muestras de malas hierbas se identificaron las especies *P. viridiflava*, *P. syringae* pv. *phaseolicola* y *P. syringae* pv. *syringae*, siendo la más frecuente *P. viridiflava* que se aisló a partir de 12 especies distintas de malas hierbas.

El estudio fenotípico, molecular y filogenético de *P. viridiflava* reveló que se trataba de un grupo heterogéneo y que los aislamientos obtenidos de malas hierbas y judía eran muy similares. Más de la mitad de los aislamientos causaron daños en vainas de judía y todos presentaron una isla de patogenicidad (S-PAI o T-PAI).

P. syringae pv. *syringae* se aisló a partir de cinco especies de malas hierbas. Su caracterización fenotípica y genética reveló también una gran diversidad. El análisis filogenético permitió distinguir tres subpoblaciones: 2A, 2B y 2C, incluidas en el filogrupo 2 de *P. syringae*. El grupo 2B, formado por aislamientos de malas hierbas y judía fue el

más abundante y con mayor potencial patógeno, ya que todos sus aislamientos (excepto uno) contenían los genes responsables de la producción de toxinas y un 26,3% de ellos produjeron síntomas en los ensayos de patogenicidad en judía.

P. syringae pv. *phaseolicola* apareció en cinco especies de malas hierbas (*Fumaria* sp., *Mercurialis annua*, *Polygonum lapathifolium*, *Solanum nigrum* y *Sonchus oleraceus*) y se comprobó su supervivencia en *S. oleraceus*, al menos 11 semanas después de eliminado el cultivo de judía. Esta bacteria tiene un rango de hospedador restringido a las leguminosas y su presencia en las especies de malas hierbas mencionadas (excepto *S. nigrum*) no había sido descrita previamente.

Se identificó, además, una nueva especie de *Pseudomonas* a partir de tres cepas aisladas en 2001 de soja forrajera y dos obtenidas de malas hierbas, concretamente *Solanum nigrum* y *Rumex obtusifolius*.



Epidemiología y virulencia de Pseudomonas viridiflava atípica, un patógeno emergente que afecta a plantas de interés agronómico en el Principado de Asturias

Autor: Mateo San José García.

Año: 2013.

Directoras: Dra. M^a del Rosario Rodicio Rodicio (Universidad de Oviedo), Dra. Ana Jesús González Fernández (SERIDA).

Lugar de presentación: Universidad de Oviedo.

Pseudomonas viridiflava es una de las bacterias aisladas con frecuencia a partir de plantas sintomáticas en el Principado de Asturias. Esta especie, aunque puede cau-

sar daño, ha sido tradicionalmente considerada como un patógeno de debilidad. No obstante, a partir de 1999 se describió en Asturias la emergencia de aislamientos altamente virulentos, capaces de infectar hospedadores como la judía (*Phaseolus vulgaris* L.), el kiwi (*Actinidia deliciosa*), la lechuga (*Lactuca sativa* L.) y el hebe (*Hebe* sp.). Estos aislamientos mostraban un perfil LOPAT atípico [+v+] en vez de [-++], diferenciándose por la producción de exopolisacárido amarillento en medio hipersacrosado, y por una reacción pectinolítica variable.

En esta Tesis se caracterizaron 108 aislamientos de esta bacteria obtenidos de kiwi (56), judía (37), lechuga (9), arándano (2), grosella (1), hebe (2) y *Chaenomeles* sp. (1). Estos aislamientos mostraron una elevada variabilidad que pone de manifiesto la ausencia de clonalidad en esta especie, apoya la necesidad de redefinir los criterios de identificación de esta especie y podría explicar su amplio rango de hospedador.

Se comprobó además el mantenimiento del polimorfismo en la posesión de las islas de patogenicidad T-PAI/S-PAI, aunque con ligeras diferencias en su frecuencia respecto de la población típica previamente analizada.

La aplicación de ribotipia y MLSA permitió establecer clados y subclados en la población local de este patógeno. También se encontraron plásmidos en el 7,4% de los aislamientos, evidenciando la existencia de barreras a la adquisición y/o mantenimiento de ADN exógeno. Los plásmidos pPv1274 y pPv1206 fueron secuenciados y caracterizados, encontrando en ellos genes que confieren ventajas adaptativas bajo determinadas condiciones, como la exposición a la luz ultravioleta o a compuestos de cobre y genes relacionados con funciones metabólicas y funciones aún desconocidas. Estos plásmidos pertenecen a la familia plasmídica pPT23A de *P. syringae*, sugiriendo el potencial de transmisión y recombinación con plásmidos portadores de factores de virulencia de esta especie.

Mediante mutagénesis transposicional se descubrieron dos genes que parecen estar implicados en la virulencia de la bacteria cuya función aún no ha sido confirmada, pero las evidencias encontradas apuntan a la posibilidad de que participen en la síntesis de algún tipo de toxina o en la manipulación de la respuesta defensiva de la planta mediante la oxidación de poliaminas.

Por último, se investigó el papel de genes que confieren resistencia en *Arabidopsis thaliana* frente a *P. viridiflava* y se encontraron tres genes que parecen mediar la respuesta defensiva.