

Efecto de la alimentación de *P. citri* McGREGOR en la hoja de cítrico (Acarina: Tetranychidae).

F. BEITIA y A. GARRIDO*

EFFECT OF THE FEEDING OF *P. CITRI* (McGREGOR) (MITES, TETRANYCHIDAE) ON CITRUS LEAVES.

F. BEITIA and A. GARRIDO.

Fruits, Jan.-Feb. 1990, vol. 45, nº 1, p. 43-47.

ABSTRACT - Study on the effect of the feeding of *P. citri* on the chlorophyll concentration and on colorimetric values of bitter orange tree leaf.

Leaves with two population levels (5 and 15 mites per leaf) were compared with leaves free of *P. citri* for 18 days. It was found that parasite feeding caused chlorophyll loss related to duration and intensity. Loss was also directly related to variation in leaf colorimetric values.

EFFET DE L'ALIMENTATION DE *P. CITRI* (McGREGOR) SUR LA FEUILLE D'AGRUMES (ACARIENS : TETRANYCHIDAE)

F. BEITIA et A. GARRIDO.

Fruits, Jan.-Feb. 1990, vol. 45, nº 1, p. 43-47.

RESUME - Etude de l'effet produit par l'alimentation de *P. citri* sur la concentration de la chlorophylle et sur les valeurs de colorimétrie de la feuille du bigaradier.

Des feuilles avec deux niveaux de population, 5 et 15 acariens par feuille ont été comparées à des feuilles sans présence de *P. citri*, pendant une durée de 18 jours. On a déterminé que l'alimentation du parasite entraîne une perte de la chlorophylle en relation avec la durée et avec l'intensité. Cette perte est, en outre, en relation directe avec la variation des valeurs colorimétriques de la feuille.

INTRODUCCION

Panonychus citri (McGREGOR) constituye una de las plagas más importantes de los cítricos a nivel mundial. Este ácaro ataca a frutos, hojas, brotes y ramas tiernas de todas las variedades de cítrico, aunque parece ser que demuestra cierta preferencia por las hojas (FRENCH y HUTCHINSON, 1980).

En general, *P. citri* se alimenta en el haz de la hoja, produciendo la extracción de todos los contenidos citoplásmicos, excepto algunos granos de almidón de las células del parénquima en empalizada (ALBRIGO *et al.*, 1981). Esta alimentación conduce, como primer síntoma detectable, a la aparición de pequeñas punteaduras ligeramente coloreadas que configuran manchas irregulares, indicadoras típicas de la presencia del ácaro. De especial importancia, en sentido económico, es el efecto de estas picaduras en frutos atacados (GARRIDO *et al.*, 1984).

Una de las consecuencias directas de la alimentación de los ácaros fitófagos es la reducción en el contenido clorofílico de las hojas (VAN DE VRIE *et al.*, 1972). Según

TOMCZYK y KROPCZYNSKA (1985), la causa principal de esta reducción es probablemente el daño mecánico infligido en los cloroplastos, durante la alimentación del ácaro. Ahora bien, esta disminución difiere según la especie de ácaro y la variedad de la planta huésped; así, mientras que diversos autores indican la existencia de una marcada disminución en el contenido de clorofila, correlacionada con la duración del período alimenticio y la densidad poblacional (ZWICK *et al.*, 1976; ANDREWS y LA PRE 1979; DE ANGELIS *et al.*, 1983); en otros casos se indica que ocurren pequeñas variaciones en el contenido clorofílico, incluso en hojas fuertemente atacadas por ácaros (POSKUTA *et al.*, 1975; SANCES *et al.*, 1979 a y b).

Este efecto puede ser debido a la localización de los ácaros en la hoja y así, ácaros que se alimentan sobre el haz producirán un mayor efecto al dañar el parénquima en empalizada, que ácaros que actúan en el envés y afectan principalmente al mesófilo esponjoso, que contiene menos cloroplastos (SUMMERS y STOCKING, 1972).

Tal y como señalan ALBRIGO *et al.*, (1981), para *P. citri* aún no se ha evaluado la relación entre la densidad poblacional y la intensidad de alimentación, con cambios anatómicos y respuesta fisiológica de las hojas de cítrico, que son aspectos cuantitativos de interés en orden a deter-

* - Departamento de Protección Vegetal - IVIA
46113 MONCADA-VALENCIA (España).

minar los umbrales de daño económico de una plaga.

En el presente trabajo se estudia la variación que se produce en el contenido clorofílico de una hoja de cítrico y en los valores colorimétricos de la misma, en relación con la densidad poblacional del ácaro y duración de su presencia en la hoja ; igualmente, se establece la relación existente entre ambos parámetros de la hoja de cítrico.

MATERIAL Y METODOS

Los ejemplares de *P. citri* empleados en la experiencia procedían de una cría controlada, que se mantenía sobre limones verdes y con condiciones climáticas de $24 \pm 2^\circ\text{C}$ de temperatura, humedad relativa de $60 \pm 50\%$, y un fotoperíodo de 16:8 (L:O). Dichas condiciones pueden considerarse óptimas para el desarrollo del ácaro (MUNGER y GILMORE, 1960 ; MUNGER, 1963).

El material vegetal utilizado consistió en plántulas de naranjo Amargo (*Citrus aurantium* L.) que crecían en semillero, con las mismas condiciones climáticas que *P. citri*. Se tomaban plántulas de 4 meses, sacándolas del semillero sin dañar las raíces, y se introducían individualmente en frascos de plástico de 100 c.c. de volumen, conteniendo una solución nutritiva. Este método ya se ha empleado en experiencias anteriores con resultado satisfactorio (GARRIDO *et al.*, 1976 ; BEITIA y GARRIDO, 1985).

Para confinar los ácaros en el haz de las hojas se empleó una pieza doble de cartón fino, que se ajustaba a la hoja, colocando en sus bordes una sustancia pegajosa que evitaba fugas de ácaros y delimitaba su movilidad a una superficie de $7,5\text{ cm}^2$.

La medida de los valores colorimétricos de las hojas (reflectancia y color) se realizó con un medidor HUNTERLAB COLOR/DIFERENCE METER D25-2. Dicho aparato proporciona 3 valores de medida de una hoja : reflectancia (*L*) y color (*a* y *b*). Según HUNTER (1967), *L* oscila entre 100 (blanco perfecto) y 0 (negro) ; *a* mide el predominio de color rojo (si es +), de gris (si es 0), o de verde (si es -) ; *b* mide el valor de amarillo (si es +), gris (0), o azul (si es -).

El contenido clorofílico de las hojas se obtuvo con un ULTRATON UNIVERSAL PHOTOMETER, realizando las lecturas a 645 nm y 663 nm.

Desarrollo experimental.

- Relación colorimetría-contenido clorofílico de la hoja.

Se quiso establecer la relación existente entre los valores de color y reflectancia de la hoja de cítrico y su contenido en clorofila. Este aspecto ya ha sido parcialmente estudiado por WALLIHAN (1973), quien calculó la relación entre concentración de clorofila en hoja y su valor de reflectancia.

Se tomaron hojas de naranjo Amargo, de edad y consistencia semejantes, con las que se establecieron dos grupos : hojas con síntomas de ataque de *P. citri* y hojas sin síntomas. Cada grupo tenía un total de 20 hojas, con diferencias

de color entre ellas a nivel visual.

Se calculaba el valor de los factores colorimétricos de cada hoja, tras lo cual se guardaban en un arcón congelador a -20°C y con oscuridad total, según las indicaciones de HOLDEN (1976). La extracción de clorofilas se realizó por el método de ARNON (1945) y la determinación clorofílica se efectuó en base a las clorofilas a y b, que son las más importantes a nivel químico y tecnológico (SIMPSON *et al.*, 1976).

Se obtuvieron las «ecuaciones de relación» entre los dos factores estudiados, para hojas atacadas y no atacadas por el ácaro.

- Efecto de la alimentación de *P. citri*.

Se empleó un total de 30 plántulas, cada una con 3 hojas de consistencia y edad semejantes. Se consideró cada plántula como una repetición, y se estudiaron tres niveles poblacionales : 0 (testigo), 5 y 15 ácaros/hoja, para cada una de las tres hojas de una misma plántula.

Antes de colocar los ácaros en la plántula, se calculaba la medida colorimétrica de todas las hojas. Se realizaban tres controles diarios para asegurar los niveles poblacionales iniciales y, en su caso, se reponía los individuos muertos.

Cada tres días se separaban 5 plántulas del conjunto. Tras quitar los ácaros y huevos depositados, se realizaba la medida de colorimetría y se guardaban las hojas en arcón congelador a -20°C y oscuridad total.

Se realizó un total de 6 mediciones, con 5 repeticiones cada una. Así se obtuvo la variación producida en la colorimetría de las hojas, por la acción del ácaro.

Para calcular la pérdida producida en el contenido clorofílico de las hojas, se realizaba la extracción y determinación de las clorofilas a y b. Estos valores se compararon con los que poseían las hojas antes de iniciar la experiencia, que se habían calculado a partir de los valores colorimétricos de las mismas y empleando las ecuaciones de relación, antes determinadas. Evidentemente, se utilizó diferente ecuación para el testigo que para 5 y 15 ácaros/hoja.

RESULTADOS Y DISCUSION

En la tabla 1 se observan los valores obtenidos del análisis de los dos grupos de hojas y empleados en la confección de las ecuaciones de relación. Al efectuar un ANOVA de regresión, ésta evidenció ser significativa en ambos casos. El ajuste de las dos ecuaciones se hizo empleando la función polinomial.

Con estos resultados se puede considerar que existe una relación medible entre los valores colorimétricos de una hoja de cítrico y su contenido en clorofila ; con las ecuaciones de regresión se puede calcular la cantidad aproximada de clorofila en la hoja, sin tener que dañarla.

También se realizó un ANOVA de regresión entre los

TABLA 1 - Valores colorimétricos y de contenido en clorofila utilizados en la construcción de las ecuaciones de relación.

Hojas con ataque				Hojas sin ataque			
L	a	b	Clorofila	L	a	b	Clorofila
25,6	- 6,8	1,2	4,58	25,2	- 6,3	0,6	3,81
26,6	- 7,3	2,0	4,01	25,3	- 6,7	1,1	3,91
26,7	- 7,2	1,9	3,89	25,6	- 6,8	1,1	4,34
27,3	- 8,2	3,3	4,03	25,7	- 6,9	1,5	4,35
27,5	- 8,4	3,5	3,26	26,3	- 7,3	1,9	3,72
27,7	- 8,5	3,8	3,09	27,1	- 8,3	3,3	4,00
28,0	- 8,8	4,0	2,89	28,7	- 9,6	5,0	3,13
28,7	- 8,9	4,7	2,91	29,4	- 9,5	5,3	2,74
28,7	- 9,6	5,0	2,88	32,3	- 10,9	9,1	2,46
29,7	- 7,4	3,7	2,84	33,9	- 12,0	10,1	2,17
30,7	- 10,5	6,8	3,18	36,4	- 13,2	12,4	1,66
31,4	- 8,9	6,2	1,92	36,5	- 13,4	12,8	1,82
31,6	- 8,6	9,9	1,82	39,3	- 12,9	14,9	1,33
32,1	- 8,6	6,7	1,79	39,9	- 14,6	15,6	1,14
33,1	- 9,9	8,1	1,62	45,7	- 13,2	20,2	1,01
33,8	- 9,5	8,6	2,09	48,0	- 12,1	20,0	0,80
34,3	- 10,1	8,5	1,73	48,8	- 9,0	20,7	0,56
34,8	- 9,6	10,1	1,59	49,8	- 9,8	21,8	0,49
35,0	- 10,8	9,9	1,51	51,4	- 13,2	21,2	0,56
37,0	- 10,7	11,2	1,24	57,3	- 7,9	25,7	0,31

Ecuaciones : H. con ataque - $y = + 8,205 - 0,173 L - 0,057 a - 0,135 b$ $R = 0,92$

H. sin ataque - $y = + 4,132 + 0,021 L + 0,066 a - 0,180 b$ $R = 0,98$

. La concentración de clorofila viene expresada en mg/g de hoja (peso fresco)

. Cada media de color de clorofila está calculada sobre una hoja.

factores L , a y b por separado, y el contenido clorofílico, viendo la existencia de significación en los tres casos. Con esto se confirma la conveniencia de emplear los tres factores colorimétricos, pues no tienen valores independientes y la variación de uno de ellos afecta a los otros dos.

Se efectuó la comparación entre las rectas de regresión de cada factor, para los dos grupos de hojas, por un análisis de covarianza. Se encontraron diferencias significativas para los factores a y b , lo que determinó la posterior utilización de las dos ecuaciones de relación en el cálculo teórico de contenido clorofílico, una para las hojas testigo y la otra para las hojas con ataque del ácaro.

En la tabla 2 se tienen los valores que indican el efecto de la alimentación de *P. citri* sobre la colorimetría de la hoja. Cada cifra representa la diferencia entre el valor del

factor al comienzo de la experiencia y en el momento de su análisis, y es la media de 5 repeticiones. Se efectuó un ANOVA para detectar diferencias debidas a la alimentación, y un test de MDS (mínima diferencia significativa). Si se considera cada densidad poblacional por separado, se observa que no existen diferencias significativas en la variación de los factores para el testigo, pero sí en los otros dos casos, principalmente para L y b . Por otro lado, considerando los días del análisis por separado, se tiene que hay diferencias significativas entre las tres densidades de población que se acentúan con el tiempo. Todo lo cual indica el efecto que tiene la alimentación de *P. citri* en la colorimetría de una hoja.

Para determinar la pérdida en clorofila debida a la alimentación de *P. citri* se comprobó, en primer lugar, que no existían diferencias significativas entre los valores de

TABLA 2 - Efecto de la duración y de la intensidad del ataque de *P. citri* en los valores colorimétricos de una hoja de cítrico.

Días	Densidad poblacional								
	Testigo			5 Acaros			15 Acaros		
	L	a	b	L	a	b	L	a	b
3	0,32	0,06	0,20	0,42	0,06	0,36	0,46	0,08	0,42
6	0,28	0,10	0,18	0,72	0,18	0,48	0,96	0,18	0,66
9	0,30	0,12	0,16	0,98	0,24	0,64	1,34	0,30	0,88
12	0,40	0,12	0,24	1,40	0,30	0,86	1,96	0,36	1,16
15	0,42	0,12	0,32	1,74	0,34	1,12	2,54	0,44	1,42
18	0,46	0,20	0,28	2,12	0,30	1,50	3,32	0,50	1,98

Cada valor representa la diferencia entre el comienzo de la experiencia y el momento de utilización de las plantas, y es la media de 5 repeticiones (= hojas).

TABLA 3 - Pérdida de clorofila en hoja, por la alimentación de *P. citri*.

Días	Densidad poblacional		
	Testigo	5 Acaros	15 Acaros
3	0,056	0,115	0,128
6	0,064	0,182	0,229
9	0,061	0,249	0,337
12	0,090	0,322	0,467
15	0,104	0,414	0,625
18	0,101	0,557	0,831

. Cada valor representa la pérdida de clorofila entre el comienzo de la experiencia y el momento del análisis de las hojas, y es la media de 5 repeticiones.

. Esta pérdida se refiere a mg/g de clorofila en hoja (peso fresco).

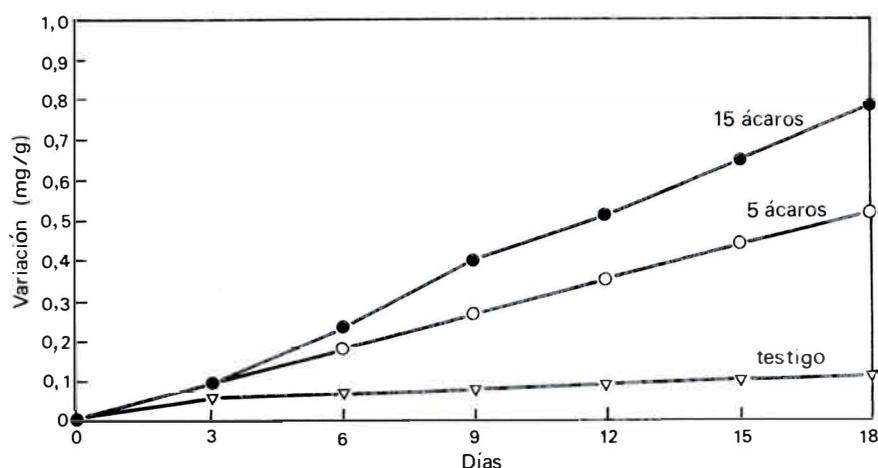


Figura 1 * VARIACION EN LA PERDIDA DE CLOROFILA EN LA HOJA DE NARANJO AMARGO, POR LA ALIMENTACION DE *P. CITRI*.

Los valores utilizados en la construcción de las gráficas corresponden a los teóricos, de acuerdo con las ecuaciones de regresión.

Ecuaciones de regresión :

$$\text{Testigo : } y = + 0,0419 + 0,0036x$$

$$5 \text{ ácaros : } y = - 0,0086 + 0,0284x$$

$$15 \text{ ácaros : } y = - 0,0471 + 0,0460x$$

clorofila, hallada y teórica, del final de la experiencia. Para ello se efectuó un test de comparación de dos muestras, que no detectó diferencias entre las parejas de valores. Posteriormente, se emplearon las ecuaciones de relación para determinar el contenido clorofílico de las hojas al comienzo.

En la tabla 3 se observa la pérdida de clorofila (en mg/g) a lo largo de la experiencia, para cada nivel poblacional. Se practicó un ANOVA y un test de MDS para detectar la significación de dicha pérdida. Se obtuvo que existen diferencias significativas para 5 y 15 ácaros/hoja, pero no para el testigo. Se efectuó un análisis de regresión para cada uno de los tres casos considerados, evidenciando todos una regresión significativa (Figura 1).

Es decir, la alimentación de *P. citri* induce una pérdida de clorofila en las hojas, relacionada directamente con su duración e intensidad. Este fenómeno debe atribuirse al efecto directo de la acción del ácaro sobre las células

foliares, concretamente sobre los cloroplastos, tal como indican DE ANGELIS *et al.*, (1983) y coincide con los resultados obtenidos por HALL y FERREE (1975) y ANDREWS y LA PRE (1979) para otras especies de tetránquidos.

Si se comparan los niveles de 5 y 15 ácaros/hoja se ve que existe una diferencia, que lógicamente aumenta con el tiempo ; pero parece ser que con mayor densidad de individuos se tiene un menor consumo de clorofila por ácaro. Esto podría explicar, en parte, la menor fecundidad de *P. citri* cuando se encuentra en elevada densidad poblacional (observación personal).

En conjunto, los resultados indican que la relación entre colorimetría y clorofila se mantiene con la alimentación de *P. citri*, y que es totalmente válida la utilización de las ecuaciones de relación para el cálculo teórico del contenido clorofílico, y por tanto, de la pérdida de clorofila en hoja producida por el ácaro.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- ALBRIGO (L.G.), CHILDERS (C.C.) and SYVERTSEN (J.P.). 1981.**
Structural damage to Citrus leaves from spider mite feeding.
Proc. int. Soc. Citr., 2:649-652.
- ANDREWS (K.L.) and LA PRE (L.F.). 1979.**
Effects of pacific spider mite on physiological processes of almond foliage.
J. econ. Entom., 72 (5), 651-654.
- ARNON (D.). 1949.**
Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenol oxidase in *Beta vulgaris*.
Plant Physiol., 24, 1-15.
- BEITIA (F.) y GARRIDO (A.). 1985.**
Estudio de la esterilización de *Cales noacki* HOW. (Hym. Aphelinidae) por el empleo de plaguicidas.
Anales INIA - Ser. Agric., 28 (3), 147-155.
- DE ANGELIS (J.), BERRY (R.E.) and KRANTZ (G.W.). 1983.**
Photosynthesis, leaf conductance and leaf chlorophyll content in spider mite (Acari:Tetranychidae) - injured peppermint leaves.
Environ. Entom., 12 (2), 345-349.
- FRENCH (J.V.) and HUTCHINSON (E.M.). 1980.**
Citrus red mite found in Lower Rio Grande Valley.
Jour. Rio Grande Valley Hort. Soc., 34, 107-114.
- GARRIDO (A.), DEL BUSTO (T.) y TARANCON (J.). 1984.**
Bioecología y control de *Panonychus citri* (McGREGOR) (Acarina:Tetranychidae).
Levante Agrícola, 249-250, 26-43.
- GARRIDO (A.), HERMOSO (A.), DEL BUSTO (T.) y TARANCON (J.). 1976.**
Cría de la mosca blanca (*Aleurothrix floccosus* MASK., Hom. Aleyrodidae) en cautividad a condiciones constantes.
Dpto. Prot. Veg. - CRIDA 07, Publicado por IATA, 25 p.
- HALL (F.R.) and FERREE (D.C.). 1975.**
Influence of two-spotted spider mite populations on photosynthesis of apple leaves.
J. Econ. Entom., 68 (4), 517-520.
- HOLDEN (M.). 1976.**
«Chlorophylls».
En : Metabolism in senescent and stored tissues.
Vol. 2, 1-35, Ed. T.W. Goodwin, Academic Press, London.
- HUNTER (R.S.). 1967.**
Development of the Citrus colorimeter.
Food Tech., 21, 906-911.
- MUNGER (F.). 1963.**
Factors affecting growth and multiplication of the Citrus red mite, *Panonychus citri*.
Ann. Ent. Soc. Amer., 867-874.
- MUNGER (F.) and GILMORE (J.E.). 1960.**
Mass production of the Citrus red mite.
J. Econ. Entom., 53 (5), 964-966.
- POSKUTA (J.), KOTODZIEJ (A.) and KROPCZYNSKA (D.). 1975.**
Photosynthesis, photorespiration and respiration of strawberry plants as influenced by infestation with *Tetranychus urticae* KOCH.
Fru. Sci. Rep., 2, 1-11.
- SANCES (F.V.), WYMAN (J.A.) and TING (I.P.). 1979 a.**
Morphological responses of strawberry leaves to infestations of the two-spotted spider mite.
J. Econ. Entom., 72 (5), 710-713.
- SANCES (F.V.), WYMAN (J.A.) and TING (I.P.). 1979 b.**
Physiological responses to spider mite infestations on strawberries.
Environ. Entom., 8 (4), 711-714.
- SIMPSON (K.L.), LEE (T.C.), RODRIGUEZ (D.B.) and CHICHESTER (C.D.). 1976.**
«Chemistry and biochemistry of plant pigments».
En : Metabolism in senescent and stored tissues, vol. 1, 779-836, Ed. T.W. Goodwin, Academic Press, London.
- SUMMERS (F.M.) and STOCKING (C.R.). 1972.**
Some immediate effects on almond leaves of feeding by *Bryobia rubrioculus* (SCHENTEN).
Acarologia, 14, 170-178.
- TOMCZYK (A.) and KROPCZYNSKA (D.). 1985.**
«Effects on the hort plants».
En : Spider mites. Their biology, natural enemies and control. vol. 1 A, 317-329, Eds. W. Helle, M.W. Sabelis, Elsevier Sci. Publ., Amsterdam.
- VAN DE VRIE (M.), McMURTRY (J.A.) and HUFFAKER (C.B.). 1972.**
Ecology of tetranychid mites and their natural enemies.
III.- Biology, ecology and pest status and host-plant relations of tetranychids.
Hilgardia, 41, 343-432.
- WALLIHAN (E.F.). 1973.**
Portable reflectance meter for estimating chlorophyll concentrations in leaves.
Agron. Jour., 65, 659-662.
- ZWICK (R.W.), FIELDS (G.J.) and MELLENTHIN (W.M.). 1976.**
Effects of mite population density on «Newton» and «Golden Delicious» apple tree performance.
J. Am. Soc. Hort. Sci., 101, 123-125.

EFFECTO DE LA ALIMENTACION DE *P. CITRI* (McGREGOR) EN LA HOJA DE CITRICO (ACARINA:TETRANYCHIDAE).

F. BEITIA y A. GARRIDO.

Fruits, Jan.-Feb. 1990, vol. 45, nº 1, p. 43-47.

RESUMEN - Se ha estudiado el efecto que produce la alimentación de *P. citri* sobre el contenido en clorofila y los valores de colorimetría de la hoja de naranjo amargo.

Se tomaron 2 niveles poblacionales : 5 y 15 ácaros/hoja, que se compararon con hojas sin presencia de *P. citri*, durante un período de tiempo de 18 días.

Se ha determinado que la alimentación de *P. citri* produce una pérdida de clorofila en la hoja, de acuerdo con la duración e intensidad de la misma. Además, esta pérdida está en relación directa con la variación, que también se detecta, en los valores colorimétricos de la hoja.

