

ISSN 1016-0469

Manejo Integrado de Plagas

Marzo 2000

No. 55



CATIE

Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza, CATIE

El CATIE es una asociación civil sin fines de lucro, autónoma, de carácter internacional, cuya misión es mejorar el bienestar de la humanidad, aplicando la investigación y la enseñanza de posgrado al desarrollo, conservación y uso sostenible de los recursos naturales en el Trópico Americano. El Centro está integrado por miembros regulares y miembros adherentes. Entre los miembros regulares se encuentran: Belice, Costa Rica, Colombia, El Salvador, Guatemala, Honduras, México, Nicaragua, Panamá, República Dominicana, Venezuela y el Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA).

Director General

Pedro Ferreira Rossi

Programa de Enseñanza

Gilberto Páez Bogarín

Programa de Investigación

Markku Kanninen

Programa de Proyección Externa

José Arze Borda

Administración y Finanzas

Luis Enrique Ortiz

Portada: La larva de *Hypsipyla grandella* barrena el brote principal de maderas tropicales preciosas, como las caobas y los cedros (p. 12-23). Los brotes mueren, causando la proliferación de ramas múltiples y la deformación del tronco, lo cual impide su aprovechamiento comercial.

Fotos: Francisco Solano y Luko Hilje.

Comité Editorial Operativo

Elkin Bustamante, Presidente

Manuel Carballo

Daniel Coto

Eduardo Hidalgo

Luko Hilje

Wilberth Phillips M.

Galileo Rivas Platero

Joseph L. Saunders

Laura Rodríguez, Editora

Dirección Técnica

Elkin Bustamante

Coordinación y edición

Laura Rodríguez

Diseño y diagramación

Unidad de Comunicación CATIE

La producción y administración de esta revista se encuentra bajo el Área de Comunicación e Informática.

Luis A. Ugalde Arias

Jefe del Área

Tiraje y Distribución:

1150 ejemplares

Se envía en Canje por publicaciones que son de interés para las actividades que realiza el CATIE.

Correspondencia

Revista Manejo Integrado de Plagas CATIE. Unidad de Fitoprotección.

7170 Turrialba, **Costa Rica**

Tel. (506)556 1632/556 6784

Fax: (506)556 0606/556 6282

E-Mail: lrodrigu@catie.ac.cr ó

cicmip@catie.ac.cr

Estrategia esencial para la conservación de los recursos naturales la salud y producción agrícola sostenible

CONTENIDO

FORO

- La biodiversidad y el control de plagas en sistemas agroforestales**1-5
John H. Vandermeer, Ivette Perfecto

EXPERIENCIAS DE PRODUCCION SOSTENIBLE EN LOS PAISES

- Estatus de las principales enfermedades del cultivo de frijol, y posibilidades organizativas para su manejo integrado en Costa Rica**6-11
Carlos Manuel Araya

INFORMES DE INVESTIGACION

- Efecto de extractos vegetales sobre larvas de *Hypsipyla grandella***12-23
Fernando Mancebo, Luko Hilje, Gerardo A. Mora, Rodolfo Salazar
- Sobrevivencia de una cepa de *Pseudomonas putida* antagonista a *Phoma medicaginis* var. *medicaginis* en hojas de alfalfa**24-29
Yolanda Guevara, Felix Lukezic
- Actividad biológica de un Virus de la Poliedrosis Nuclear en *Heliothis armigera* y *Spodoptera exigua***30-35
Patricio Borges Maracajá, Enrique Vargas Osuma, Cándido Santiago Alvarez
- Caracterización de aislamientos de *Phytophthora infestans* nativos de Costa Rica**6-42
Vera Sánchez-Garita, Richar C. Shattock, Elkin Bustamante
- Variación estacional de la mosca blanca *Aleurodicus dispersus* y sus parasitoides en plantaciones de banano, en Matina, Costa Rica**43-48
Helga Blanco-Metzler, Sergio Laprade
- Movimientos diarios de *Bemisia tabaci* en parcelas de tomate, en Turrialba, Costa Rica**49-55
Juan Jovel, Luko Hilje, Christoph Kleinn, Víctor Cartín, Bernal Valverde
- Control biológico de *Brevipalpus* spp. en *Citrus aurantifolia* en Guerrero, México**56-59
José Luis Rosas Acevedo, Laura Sampedro Rosas

HOJA TECNICA

- Gallinas ciegas como plagas de cultivos anuales y perennes**i-iv
Daniel Coto

SECCION INFORMATIVA

- Nuevo Proyecto CATIE/GTZ**60
- Nuevas Publicaciones CATIE**60
- Tesis de Postgrado**61-62
- Futuros Eventos**63
- Mosca Blanca al Día**64-65
- Acciones MIP en Hortalizas**66-69
Evaluación de agentes biológicos para el control del complejo de gusanos del fruto de tomate en el Valle de Guatemala
Alvaro Hernández Dávila, Fernando Rodríguez, José Domingo Mendoza
- Agromedicina.**
- Utilización de plaguicidas sintéticos, un problema a resolver en el nuevo milenio**70-72
Sanuel Hemano
- Guía para autores**73-74

Las ideas y opiniones expresadas o implícitas en esta publicación son responsabilidad de cada autor y no necesariamente de las instituciones auspiciadoras.

FORO

La biodiversidad y el control de plagas en sistemas agroforestales*

John H. Vandermeer**
Ivette Perfecto***

RESUMEN. Un aspecto importante de la intensificación de la agricultura es el tema de la biodiversidad, tanto la planeada como la "asociada"; sin embargo, muy poco se conoce sobre los agroecosistemas. Si al incorporar árboles a un agroecosistema, realmente aumenta la biodiversidad en mayor cantidad que únicamente la asociada a las especies de los árboles plantados, entonces es muy importante determinar la funcionalidad de ésta. Uno de los postulados asumidos es que la biodiversidad mejora el control de plagas. Sin embargo, esta relación es complicada y aún no es totalmente clara. Por lo tanto, el manejo de plagas debe promover la estabilidad y el manejo autónomo del ecosistema, evitando que el productor actúe como un técnico que aplica productos para controlar cada plaga y por el contrario se convierta en un artesano que procure mantener el equilibrio del sistema como un todo.

Palabras clave: Biodiversidad, Control de plagas, Sistemas agroforestales.

ABSTRACT. Biodiversity and pest control in agroforestry systems. An important feature of agricultural intensification is the general topic of biodiversity, both planned and associated; little is known well in agroecosystems. If it is the case that by adding trees to an agroecosystem we actually are adding more biodiversity than just the species of trees that are planted, it then becomes especially important to ask what is the functional role of the biodiversity. One such role has been assumed to be enhanced pest control. However, the relationship between pest control and biodiversity is complicated and not yet well understood. We call for a vision of pest management that promotes ecosystem buffering and autonomous ecosystem management while at the same time renders the farmer less a technician who applies particular products for particular pests and more an artisan who seeks to maintain the health of the system as a whole.

Key words: Biodiversity, Pest control, Agroforestry systems.

Introducción

En una investigación reciente sobre las prácticas de control de plagas utilizados por agricultores tradicionales de las tierras altas de Guatemala, Morales (1998) confirmó lo que los antropólogos habían considerado para otras latitudes; en las entrevistas y para sorpresa de la investigadora, los agricultores manifestaron que no tenían problemas de plagas. Sin embargo, el cuestionario utilizado fue revisado y la pregunta "¿Qué clase de plagas tienen en sus cultivos?" fue re-

planteada por "¿Qué clase de insectos afectan sus cultivos?", y entonces las respuestas fueron totalmente diferentes. Los agricultores mencionaron todos los tipos de insectos herbívoros presentes en sus plantaciones y reconocieron la posibilidad de que algunos, o incluso muchos de ellos, podrían llegar a convertirse en plagas. Pero insistieron en que en ese momento no tenían problemas de plagas. Esta opinión es frecuente entre agricultores tradicionales, quienes consideran sus fincas como ecosistemas muy complejos y no co-

Recibido: 15/08/99. Aprobado: 22/02/2000.

* Traducido de Agroforestry Forum, 1998. 9(2):2-6.

** Department of Biology, University of Michigan, Ann Arbor, MI 49109 USA. Fax + 1734-647-0884 Email:jvander@umich.edu

*** School of Natural Resources and the Environment, University of Michigan.

mo un conjunto de subsistemas pequeños e independientes, como es la percepción de muchos profesionales en agricultura. En este sentido, la finca se toma como un sistema total que es regulado ecológicamente, tanto que los insectos son considerados como insectos y no necesariamente como plagas.

La ecología moderna está llegando a una conclusión similar, aunque de una manera totalmente diferente. Los ecólogos reconocen que los ecosistemas son enormes objetos complejos, que pueden tener sus propios modelos de organización, resultantes de las reglas que rigen los sistemas complejos y no la sumatoria de las partes que lo componen (Vandermeer 1993, Vandermeer y Maruca 1998). El enfoque de preguntas tales como "¿Qué controla esta población?" ha sido modificado por otras sobre "¿Cómo se mantiene la cadena alimentaria?". Pero mientras este nuevo enfoque no este totalmente aceptado por disciplinas más prácticas, como la agronomía, silvicultura o entomología, este será sólo un conocimiento de la teoría ecológica. La similitud del nuevo enfoque con la visión de los agricultores tradicionales es obvia.

Un problema asociado al anterior y ampliamente difundido por la prensa en todo el mundo, es la crisis por la pérdida de la biodiversidad. Si las tasas actuales de daño ambiental continúan, el mundo enfrentará una extinción de especies animales y vegetales sólo comparable con la de finales del período Cretáceo (Wilson 1988). La importancia de esta situación está en discusión, pero su veracidad nadie la discute. Sin embargo, aún persiste algo de miopía entre los conservacionistas del mundo (Vandermeer y Perfecto 1997). La pérdida de la biodiversidad es lamentada cuando las especies más grandes y llamativas están en peligro o los hábitats más hermosos están amenazados. Cualquier individuo sensible censura la extinción de elefantes y orangutanes; y la destrucción de los bosques lluviosos y los arrecifes de coral solo es aceptado por los defensores más incultos del sistema industrial. El énfasis en las grandes especies y hábitats especiales, hace que se ignore el problema real. La mayoría de la superficie del planeta está cubierta con ecosistemas manejados y la mayoría de las especies no son carismáticas. La crisis real es la transformación de los ecosistemas manejados y la pérdida de especies inconspicuas. El agroecosistema es un ejemplo adecuado, y las especies que lo conforman, desde los cultivos hasta los microorganismos, son parte de la biodiversidad del mundo. Las personas comprometidas con el ambiente también deben procurar su conservación.

Existe una fuerte relación entre los siguientes tres aspectos: las técnicas de manejo usadas por los agricultores tradicionales, la sabiduría convencional de la teoría ecológica y la crisis contemporánea de la biodiversidad. El agricultor que no considera a los áfidos que observa como plagas, también sabe que las hormigas los cuidan y que éstas además se alimentan de herbívoros, los cuales podrían causar severos daños al cultivo si ellas no estuvieran presentes. Implícitamente, el agricultor está consciente de la biodiversidad de hormigas, áfidos y de otros herbívoros e intuitivamente sabe que al eliminar las primeras también se eliminan los áfidos y se pueden crear las condiciones que provocan la explosión en la población de otros herbívoros del sistema. En conclusión, el productor comprende la necesidad de conservar la biodiversidad del sistema.

La historia del desarrollo agrícola está muy relacionada con su intensificación. Este comenzó con un sistema extensivo, con poco manejo y largos períodos de barbecho, hasta llegar con el transcurso del tiempo a un uso de la tierra más intensivo, reduciendo los períodos de barbecho, mediante la incorporación de varias tecnologías modernas. Esta ha sido también una manera útil de evaluar la agricultura moderna, en la cual las fincas más tradicionales usan metodologías consideradas intensivas, desde el punto de vista del agricultor, pero no en el uso de insumos externos ni en la alteración del equilibrio ecológico. Por ejemplo, un huerto agroforestal tradicional de los mayas en las tierras bajas de Guatemala, representa el extremo de un espectro y en el otro extremo está una plantación bananera. Realmente, esta no es una manera correcta para clasificar un agroecosistema, pero es útil heurísticamente para evaluar el efecto de la modernización (también un término inadecuado) en éste.

Uno de los aspectos de la transformación de la agricultura (en el sentido de cambiar de menor a mayor intensificación) que recibe menos atención de la requerida es el tema de la biodiversidad. Los interesados en la crisis de la biodiversidad mundial tienden a ignorar los agroecosistemas y a enfocar su atención en las reducidas y aisladas reservas de vida silvestre, mientras que aquellos que desarrollan actividades en agroecosistemas se preocupan por la biodiversidad sólo cuando su función en la productividad es obvia (Vandermeer y Perfecto 1997). Es razonable argumentar que los sistemas biodiversos probablemente son más sostenibles (aunque hay controversia sobre este aspecto) y obviamente la mayoría de la superficie terrestre, sin considerar la de las altas latitudes, está

cubierta por agroecosistemas. Por ambas razones, el estudio de la biodiversidad en los agroecosistemas pareciera ineludible.

En el pasado, con frecuencia, estos estudios se hicieron en forma limitada. Los agricultores han otorgado gran respeto a la diversidad los cultivos plantados, como por ejemplo los huertos caseros en Java, que pueden incluir más de 100 tipos de plantas y animales (Brownrigg 1985, Gliessman 1990, Herrera-Castro 1991, Michon *et al.* 1986). Sin embargo, esta biodiversidad "planificada" es solamente uno de los componentes del sistema. También está la biodiversidad casual, que es consecuencia de la agricultura intensiva, así como la biodiversidad "asociada", dada por la gran cantidad de insectos que son plagas potenciales y sus enemigos naturales, así como la flora y fauna del suelo (Vandermeer *et al.* 1998). La biodiversidad total (la planeada más la asociada) incluye mucho más que las especies sembradas y manejadas por el agricultor y abarca todo, desde las malezas hasta los gusanos.

Sorprendentemente, el análisis de los aspectos elementales sobre cómo afecta la intensificación de la agricultura a la biodiversidad es poco usual. Si la intensificación de la agricultura es tan importante para el ser humano y la crisis de la biodiversidad es tan severa, es notable, y quizás extraño, que esta relación sea tan poco investigada (Greenberg *et al.* 1997a, 1997b, Perfecto y Vandermeer 1994, Perfecto y Snelling 1995, Perfecto *et al.* 1997, Roth *et al.* 1994, Wunderle y Latta 1996). Por ejemplo, en la Fig. 1 se representan cuatro hipótesis sobre cómo se relaciona la biodiversidad con la intensificación de la agricultura (Swift *et al.* 1996). De estas, la hipótesis IV es la que la mayoría de los conservacionistas piensan intuitivamente, mientras que la hipótesis I representa el otro extremo. La hipótesis II y III son posiciones menos extremas que las otras dos. Cualquiera de estas hipótesis es válida para cualquier sistema específico, pero aún estamos lejos de saber cuál. El único estudio que se conoce sobre esta temática son nuestras propias investigaciones sobre los artrópodos en un agroecosistema intervenido de café. En la Fig. 2 se muestran algunos de esos datos. Estos sugieren, de manera sorprendente, que al menos un componente de la biodiversidad asociada, como los son las hormigas que se alimentan sobre el suelo, se comportan de la manera descrita por la hipótesis II (Fig. 1), mucho más de lo que se podría esperar.

Más allá de un análisis simple y empírico sobre en qué consisten exactamente los modelos de biodiversidad en los agroecosistemas, aún subsisten muchas di-

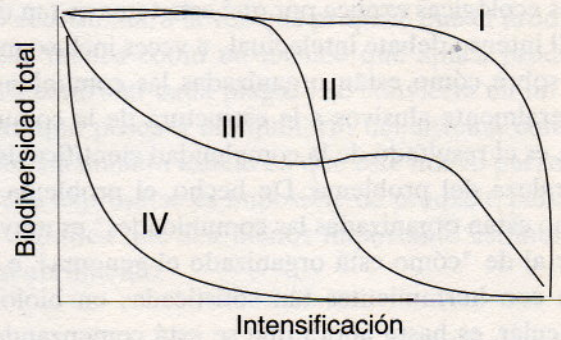


Figura 1. Relación entre la biodiversidad total y la intensificación de los sistemas agrícolas. La hipótesis I señala que hay pocos cambios en la biodiversidad hasta que la intensificación alcanza condiciones extremas. La hipótesis IV indica que se produce un cambio inmediato tan pronto como el sistema "natural" se transforma a agricultura. La hipótesis III y IV son posiciones intermedias en las cuales hay un efecto de umbral.

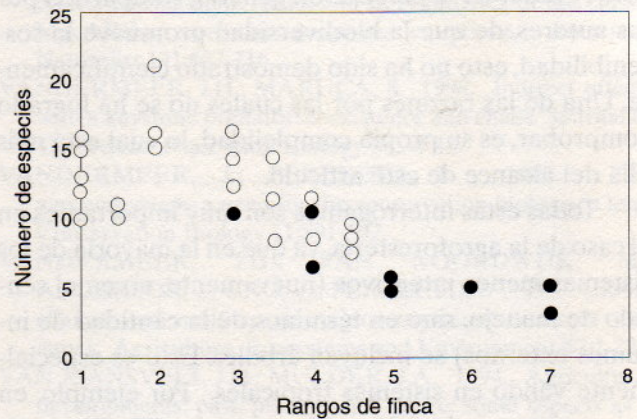


Figura 2. Riqueza de especies de hormigas que se alimentan sobre el suelo, en fincas de café en Chiapas, México (círculos blancos) y Costa Rica (círculos negros). El rango de clases de fincas comprende: bosques naturales (clase 1) café rústico, o sea café en el sotobosque del bosque natural (clase 1, 5 y 2, 0), café con sombra (clase 3 y 3, 5), café con sombra monoespecífica (clase 4 y 4, 5), café con sombra monoespecífica con fuertemente podada (clase 5) y café a pleno sol (clase 6 y 7). El número de especies corresponde a las especies de hormigas que se alimentan sobre el suelo, capturadas en 50 trampas o cebos de atún. Los datos de Costa Rica informados por Perfecto y Snelling (1995) y los datos de Chiapas fueron recolectados por los autores durante junio y julio de 1998.

ficultades lógicas acerca del rol o funcionalidad de la biodiversidad. Una aproximación tosca, como por ejemplo establecer tratamientos con diferentes niveles de biodiversidad y medir las variables de respuesta de cada tratamiento, no funcionaría, tanto por razones obvias como sutiles (Huston 1997). De hecho, la gran cantidad de literatura sobre la teoría de comuni-

dades ecológicas explica por qué este tema es tan difícil. El intenso debate intelectual, a veces incluso mordaz, sobre cómo están organizadas las comunidades (generalmente alusivos a la estructura de la comunidad), es el resultado de la complejidad científica de la naturaleza del problema. De hecho, el problema de "cómo están organizadas las comunidades" es muy similar al de "cómo está organizado el genoma", e incluso con herramientas tan sofisticadas en biología molecular, es hasta ahora que se está comenzando a comprender esto. Por tanto, no es sorprendente que aún se desconozca cómo están organizadas las comunidades ecológicas.

Por tanto, las preguntas se reducen a aspectos muy específicos sobre el papel de la biodiversidad. Quizás el más importante de éstos es si al disminuir la biodiversidad, el sistema pierde elasticidad, es decir, si existe una relación entre biodiversidad y sostenibilidad. A pesar de la percepción general, compartida por los autores, de que la biodiversidad promueve la sostenibilidad, esto no ha sido demostrado científicamente. Una de las razones por las cuales no se ha logrado comprobar, es su propia complejidad, lo cual está más allá del alcance de este artículo.

Todas estas interrogantes son muy importantes en el caso de la agroforestería, ya que en la mayoría de los sistemas menos intensivos (nuevamente, no en el sentido de manejo, sino en términos de la cantidad de insumos externos) se incluyen árboles. Esto es especialmente válido en sistemas tropicales. Por ejemplo, en los ecosistemas de café en Mesoamérica (Fig. 2), precisamente cuando los árboles se eliminan (aproximadamente en la clase 5) ocurre una disminución dramática en la biodiversidad total. De hecho se puede suponer que: la mayoría de los agroecosistemas se comportan más o menos como el representado en la curva II (Fig. 1), y que es cuando se eliminan los árboles que ocurre una drástica reducción en la biodiversidad.

Debemos admitir que no hay suficientes datos para respaldar esta suposición, desde un punto de vista riguroso, pero nuestra experiencia con agroecosistemas tropicales sugiere que merece ser considerada.

Si al incorporar árboles a un agroecosistema se aumenta la biodiversidad en mayor grado que con la simple inclusión de las especies de árboles plantados (es decir, la biodiversidad asociada), entonces es muy importante determinar la funcionalidad de la biodiversidad en el campo agroforestal. Al respecto, existen dos puntos de vista diferentes. Es muy probable que quienes practican la agricultura tradicional consideren

que entre más componentes existan en el sistema, se aumenta la posibilidad de que algunos de ellos puedan ser perjudiciales, es decir, que con mayor biodiversidad aumenta la probabilidad de tener más plagas. Por otra parte, quienes tienen una formación más ecológica creen que la mayor biodiversidad aumenta la probabilidad del control de las plagas mediante sus enemigos naturales, porque en la biodiversidad están incluidas numerosas especies de depredadores y parasitoides, además de los herbívoros. No obstante, este tema es de importancia crucial y debe resolverse empíricamente y no en términos especulativos.

Una forma de conocer mejor esta problemática es mediante la revisión de investigaciones específicas. Algunos estudios demuestran claramente que al incrementar la biodiversidad con la incorporación de árboles en los agroecosistemas, aumentan los problemas de plagas; por ejemplo, la moniliasis del cacao alcanza mayor incidencia cuando el cultivo tiene sombra. Otros estudios indican que parte de la biodiversidad agregada, como la gran cantidad de depredadores y parasitoides, actúan como enemigos naturales de las nuevas plagas; por ejemplo, las hormigas *Dolichoderine* que atienden a áfidos, a su vez alejan a moscas que dispersan las esporas de la monilia (Khou y Ho 1992). Se pueden citar muchos otros ejemplos. No obstante, hay una tendencia a abordar este problema en forma tosca, mediante un escrutinio o votación (por lo demás, comunes en ciencia): cuántos estudios muestran el primer patrón y cuántos el segundo.

Sin embargo, el desafío de comprender la relación entre el control de plagas y la biodiversidad en el campo agroforestal, no puede lograrse mediante un simplón recuento de opiniones. El entendimiento de esta relación debe buscarse a un nivel más profundo, vale decir, cómo es que las interacciones biológicas en una comunidad biológica diversa crean la estructura general de dicha comunidad. Desde el punto de vista práctico, se busca un ecosistema "equilibrado", en el cual los herbívoros sean controlados automáticamente por los enemigos naturales que conviven con ellos. Nosotros buscamos reconstruir las condiciones encontradas por Morales (1998) con agricultores mayas tradicionales, en cuyos agroecosistemas no hay plagas que controlar, y donde la comunidad ecológica actúa como un sistema que posee un "manejo autónomo del ecosistema" (Mansvelt y Mulder 1994). Así, siempre que un herbívoro amenace con convertirse en plaga, los depredadores y parasitoides presentes manejarán el ecosistema en forma autónoma, al herbí-

voros. En este sentido, la biodiversidad del sistema actuará como un tipo de amortiguador ecológico. Este no es un retorno romántico a los tiempos pasados, sino un desafío científico significativo, de sintetizar el conocimiento tradicional con la ecología moderna, en la búsqueda un nuevo paradigma en el control de plagas. Se sugiere un enfoque de control de plagas que promueva el amortiguamiento y el manejo autónomo

del ecosistema, a la vez que propicie que el productor actúe menos como un técnico que aplica productos para controlar cada plaga, y se convierta en un artesano que procura el equilibrio del sistema como un todo. La manera exacta en que este nuevo paradigma pueda expresarse es imposible de predecir, pero esto no significa que sea menos importante estimular su descubrimiento.

Literatura citada

- BROWNRIGG, L.A. 1985. Home gardening in international development. Washington D.C., League for Int. Food Education. US Agency Int. Dev.sp.
- GLIESSMAN, S.R. 1990. Understanding the basis of sustainability for agriculture in the tropics: experiences in Latin America. *In* Sustainable agricultural systems. Edwards, C.A.; Lal, R.; Madden, P; Miller, R.H.; House, G. Ed. Ankeny, Iowa, Soil Water Conservation Society. p. 170-190.
- GREENBERG, R.; BICHER, P.; STERLING, J. 1997a. Bird populations in rustic and planted shade coffee plantations of Eastern Chiapas, México. *Biotropica* 29:501-514.
- GREENBERG, R.; RICHER, P.; CRUZ ANGON, A.; REITSMA, R. 1997b. Bird populations in shade and sun coffee plantations in Central Guatemala. *Conservation Biology* 11:448-459.
- HERRERA-CASTRO, N. 1991. Los huertos familiares de los mayas en el Oriente de Yucatán. México, DF, Universidad Nacional Autónoma de México. sp.
- HUSTON, M.A. 1997. Hidden treatments in ecological experiments: re-evaluating the ecosystem function of biodiversity. *Oecologia* 110:449-460.
- KHOO, K.C.; HO, C.T. 1992. The influence of *Dolichoderus thoracicus* (Hymenoptera: Formicidae) on losses due to *Helopeltis theivora* (Heteroptera: Miridae), black pod disease, and mammalian pests in cocoa in Malaysia. *Bull. Ent. Res.* 82:485-491.
- MICHON, G.; MARY, F.; BOMPARD, J. 1986. Multi-stories agroforestry garden system of West Sumatra, Indonesia. *Agroforestry Systems* 4:315-338.
- MORALES, H. 1998. Pest control and soil management in the Guatemalan Highlands: understanding traditional agricultural practices. Ph.D. Dissertation, Ann Arbor, University of Michigan.
- PERFECTO, L.; HASSEN, P.; VANDERMEER, J.; CARTIN, V. 1997. Arthropod diversity loss and the technification of a tropical agroecosystem. *Conservation and Biodiversity* 6:935-945.
- ROTH, D.S.; PERFECTO, I.; RATHCKE, B. 1994. The effects of management systems on ground-foraging ant diversity in Costa Rica. *Ecological Applications* 4:423-436.
- SWIFT, M.J.; VANDERMEER, J.; RAMAKRISHNAN, P.S.; ANDERSON, J.M.; ONG, C.K.; HAWKINS, B.A. 1996. Biodiversity and agroecosystem function. *In* Functional roles of biodiversity: a global perspective. Mooney, H.A.; Cushman, J.H.; Medina, E.; Salas, O.E.; Schulze, E.D. Ed. London, Wiley. p. 261-298.
- VANDERMEER, J.H. 1993. Loose coupling of predator prey cycles: entrainment, chaos, and intermittency in the classic MacArthur consumer-resources equations. *American Naturalist* 141:687-716.
- VANDERMEER, J.H.; MARUCA, S. 1998. Indirect effects with a keystone predator: coexistence and chaos. *Journal of Theoretical Population Biology* 54:38-43.
- VANDERMEER, J.; PERFECTO, I. 1997. The agroecosystem: a need for the conservation biologist's lens. *Conservation Biology* 11:591-592.
- VANDERMEER, J.H.; VAN NOORDWIJK, M.; ANDERSON, J.; ONG, C.; PERFECTO, I. 1998. Global change and multi-species agroecosystems: concepts and issues. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 67:1-22.
- VAN MANSVELT, J.D.; MULDER, J.A. 1994. Agricultural developments: past, present and future: some aspects as a contribution to the dialogue. *In* Proceedings of the International seminar for policy makers on "The Contribution of Organic Agriculture to Sustainable Rural Development in Central and Eastern Europe". (Znaor, D. ed.). The Avalon Foundation.
- WILSON, E.O. 1998. Biodiversity. National Academy Press, Washington D.C.
- WUNDERLE, J.; LATTA, S. 1996. Avian abundance in sun and shade coffee plantations and remnant pine forest in the Cordillera Central, Dominican Republic. *Ornitología Neotropical* 7:19-34.

Estatus de las principales enfermedades del cultivo de frijol, y posibilidades organizativas para su manejo integrado en Costa Rica

Carlos Manuel Araya*

RESUMEN. El frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) es un cultivo de gran importancia económica y social en Costa Rica. Las mayores áreas de cultivo de este grano básico se encuentran en las regiones Brunca (sur del país) y Huetar Norte, que representan 72% del área nacional sembrada de este grano. Los problemas fitopatológicos son una de las principales limitantes de la producción, causando pérdidas de hasta 70% en el rendimiento. En este artículo se presentan aspectos estadísticos de la producción de frijol en Costa Rica y se describen las enfermedades que con mayor frecuencia se manifiestan en el campo, así como sus características epidemiológicas. Se propone, además una estrategia de trabajo interinstitucional y multidisciplinaria, en la que la investigación, la extensión y la capacitación en el manejo de las enfermedades del cultivo, se entrelazan para alcanzar, de la manera más efectiva, el apoyo al productor.

Palabras clave: *Phaseolus vulgaris*, Enfermedades, Costa Rica, Manejo integrado de plagas.

ABSTRACT. Status of the principal diseases in the bean crop and organizational possibilities for its integrated management in Costa Rica. Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) is a crop of great economic and social importance in Costa Rica. The major producing areas of this basic grain crop are located in the Brunca (in the south of the country) and Huetar Norte regions, representing 72% of the national area sowed with this grain. Plant disease problems are one of the main limits to production, causing losses in yield of up to 70%. This article presents statistical aspects of bean production in Costa Rica and describes the diseases that most frequently occur in the field and similarly their epidemiological characteristics. Furthermore, it proposes an inter-institutional and multidisciplinary work strategy, in which research, extension and training in the management of diseases of the crop are entwined in order to provide support to the producer in the most effective manner.

Key words: *Phaseolus vulgaris*, Diseases, Costa Rica, Integrated pest management.

Importancia del frijol en Costa Rica

El frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) es un grano de consumo popular en Costa Rica y es parte fundamental de la dieta proteínica de la población, en especial en las zonas rurales donde, por limitaciones económicas, muchas veces el consumo de proteína animal es reducido. El consumo per capita en el país es de aproximadamente 10 kg (Salazar 1997).

Los pequeños agricultores cultivan frijol con el propósito de satisfacer el consumo familiar, y en muy pocos casos representa una fuente importante de in-

gresos. Estos productores enfrentan una serie de limitaciones que reducen significativamente la producción y el rendimiento; por ejemplo, terrenos con alta pendiente sujetos a constante erosión, suelos con deficiente contenido de nutrientes, sistemas de siembra rudimentarios, escasa asistencia técnica y poco acceso a fuentes de financiamiento.

En Costa Rica el área dedicada al cultivo del frijol ha variado en los últimos años. A partir de 1980 se dió un incremento sostenido, pasando de 23 681 ha a 63 160 ha en el período 1991-1992 (CNP 1988, Salazar

Recibido: 23/07/99. Aprobado:

* Laboratorio de Fitopatología, Universidad Nacional, Apartado 86-3000, Heredia, Costa Rica.

(*) Fuente: Servicio Información de Mercados, Dirección de Mercadeo Agropecuario. Consejo Nacional de Producción (CNP). Mayo de 1999.

1997). Sin embargo, después de ese período, el área sembrada decreció hasta llegar a reducirse al 50% en el ciclo 1995-1996, debido principalmente, a políticas gubernamentales. Para el ciclo agrícola 1998-1999 el área sembrada fue de 36 142 ha(*).

La región Brunca, al sur del país, y la región Huetar Norte, son las zonas de mayor producción de frijol. Históricamente, la región Brunca fue considerada el granero de Costa Rica, pero a partir de 1986 se experimentó un notable cambio en la distribución geográfica de la producción, no sólo en términos de área sembrada, sino también en cuanto al tipo de productor. El auge de la producción de frijol en la región Huetar Norte (Upala, Los Chiles y Guatuso) produjo un nuevo concepto en el manejo agronómico del cultivo, en el cual se incorporó el sistema de siembra mecanizada, aprovechando los terrenos planos propios de la región. Actualmente, esta región aporta cerca del 65% de la producción nacional.

El desplazamiento de las mayores áreas de siembra hacia la zona norte del país, ha traído consigo la sustitución paulatina de prácticas agronómicas muy arraigadas entre los pequeños productores, entre las cuales están la siembra de frijol tapado y a espeque. Ambos sistemas son ampliamente difundidos en la región Brunca, pero el número de explotaciones que los usan se redujo de 19 763 en el período 1993-1994 a 14 408 en el año agrícola 1995-1996 (Mora *et al.* 1999). La siembra mecanizada de frijol ha permitido, no solo aumentar el área plantada, sino que también ha propiciado un aumento en los rendimientos, pasando de 452 kg/ha en la región Brunca a 830 kg/ha en la región Huetar Norte de 1990 a 1996 (Salazar 1997). En 1999 el rendimiento promedio fue de 770 kg/ha, según el Consejo Nacional de Producción (CNP).

En Costa Rica, la preferencia de consumo es por frijoles pequeños, brillantes, de color negro o rojo. Los cultivares comerciales de grano negro que se encuentran en el mercado son: Brunca, Huasteco, Guaymí y en menor proporción Talamanca y Purisice, las variedades rojas más comunes son: Huetar y Chirripó. Todas estas variedades presentan buena adaptación a la mayoría de las zonas productoras y buen rendimiento; sin embargo, con ligeras variaciones en su respuesta, todas son susceptibles a las principales enfermedades presentes en el país. Para garantizar el abastecimiento de todas ellas, el CNP se encarga de ofrecer semilla certificada. Muchas otras variedades criollas se encuentran también en el mercado, pero su uso está restringido a algunas zonas.

Problemas fitopatológicos

De los cultivos alimenticios de importancia económica, el frijol es probablemente uno de los más afectados por enfermedades e insectos. En la mayoría de las áreas productoras, estos dos factores constituyen la principal causa de reducción del rendimiento. Se han descrito más de 200 patógenos que afectan la planta de frijol; muchos de ellos con la capacidad de infectar durante todo el ciclo del cultivo y, además, capaces de ser transmitidos y sobrevivir en la semilla.

Por la diversidad de ambientes donde el frijol es cultivado, la población de patógenos y la importancia económica de estos varía entre regiones, de acuerdo con las condiciones necesarias para el desarrollo de la enfermedad, el nivel de inóculo actual y residual en el campo, y la susceptibilidad de la variedad. En Costa Rica, el frijol es cultivado en altitudes que van desde los 60 hasta 1500 msnm, lo que expone al cultivo a diversos factores que favorecen el ataque de patógenos. Las enfermedades fungosas más frecuentes son la mustia hilachosa o telaraña (*Thanatephorus cucumeris* (Frank) Donk), antracnosis (*Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc & Magn.) Scrib), mancha angular (*Phaeoisariopsis griseola* (Sacc.) Ferraris), pudriciones radicales causadas por *Rhizoctonia solani* Kühn, *Sclerotium rofsii* Sacc. y varias especies de *Fusarium*. Las enfermedades bacterianas más importantes son la bacteriosis o tizón común (*Xanthomonas campestris* (Erw. & Smith) Dowson) y el anublo o tizón de halo (*Pseudomonas syringae* Burkholder), mientras que el mosaico común y el mosaico dorado son las virosis más distribuidas en el país. Recientemente, se ha identificado un problema de origen viral muy diseminado en la región Brunca conocido como amachamiento (Morales *et al.* 1999).

El combate de enfermedades constituye el rubro más importante durante el ciclo del cultivo; sin embargo, por las limitaciones que sufre el pequeño productor no es posible dar un manejo adecuado y año tras año incurre en prácticas deficientes de manejo, que lo exponen a sufrir importantes pérdidas económicas. Por ejemplo, no hay conciencia de la importancia de usar semilla sana, certificada. En Costa Rica, solamente el 24% de los productores utilizan semilla certificada (ONS 97), y ese porcentaje se reduce si se consideran solo los pequeños productores. Esta práctica hace que al cabo de pocos años de siembra en el mismo lote, la población de patógenos transmitidos por semilla alcance niveles tan altos que resulta sumamente difícil producir plantas sanas. Además, el intercambio de se-

millas sin ningún control de su sanidad, aumenta las áreas sujetas a la siembra de material infectado.

Otro aspecto que en algunas regiones ha exacerbado el problema de las enfermedades es la susceptibilidad de los cultivares comerciales a la mayoría de los principales patógenos del frijol. Bajo estas circunstancias, enfatizar el manejo de las enfermedades únicamente con semilla certificada no es garantía de menor incidencia de patógenos. Para esto, es necesario la aplicación de otras prácticas de manejo con el fin de mejorar la sanidad del cultivo y de esa manera los rendimientos.

El manejo sostenible de enfermedades demanda el conocimiento de la agronomía del cultivo y de la biología de los patógenos. Las prácticas de control deben considerar el tipo de explotación, las condiciones ambientales, el historial del sitio de siembra y el destino del producto. El patosistema del frijol es muy variable por lo que su manejo requiere un seguimiento constante de los cambios a que se exponen los componentes. A continuación se describen las principales enfermedades del frijol en Costa Rica y se discuten las prácticas recomendadas para un manejo sostenible e integrado de las mismas.

Principales enfermedades

Sin evadir la importancia de las pudriciones radicales, en términos generales, la mustia hilachosa, la antracnosis y la mancha angular son las enfermedades fúngicas de mayor importancia en Costa Rica. Las tres se encuentran presentes en las zonas frijoleras del país, atacando en diferentes niveles de severidad, en función de las condiciones climáticas prevalecientes en cada zona y de la época de siembra. No obstante, la mancha angular ha aumentado su incidencia y severidad en los últimos años.

Mustia hilachosa o telaraña

La mustia hilachosa, conocida también como telaraña por los síntomas que produce, es una enfermedad seria en zonas cálidas y húmedas de los trópicos de América Latina y el Caribe. En algunas ocasiones, la enfermedad se presenta en zonas cercanas a los 1200 msnm, particularmente en época lluviosa. Ataca en cualquier estado de desarrollo de la planta y causa severa necrosis del follaje y las vainas (Gálvez *et al.* 1994). En Costa Rica, la enfermedad está presente en Guanacaste, Esparza, Puriscal, Pérez Zeledón, Buenos Aires y la región Huetar Brunca.

Las lesiones iniciales aparecen en las hojas primarias, como manchas necróticas de 5-10 mm, con cen-

tros pardos y bordes verde claro. En condiciones de alta humedad y temperatura cálida, estas lesiones crecen en forma irregular y rápidamente coalescen. Las lesiones pueden abarcar todo el follaje; las hojas infectadas se cubren de micelio y se producen pequeños esclerocios. Las condiciones secas detienen el desarrollo de la enfermedad (Gálvez *et al.* 1994).

La enfermedad es causada por el hongo *T. cucumeris*, cuyo estado anamórfico es *R. solani*. Este patógeno es un hongo del suelo con amplia distribución en el mundo y con una amplia gama de hospedantes. Su variabilidad de patogenicidad se ha clasificado en grupos de anastomosis - AG, por sus siglas en inglés. Hasta 1987 habían sido identificados 12 AG, los cuales no han mostrado especificidad en cuanto al hospedante (CIAT 94); sin embargo, AG1, AG2-1, AG2-2, AG3 y AG4 se han aislado de raíces y follaje de frijol (Mora y Gálvez 1986, Ogoshi 1987).

R. solani puede sobrevivir en forma de micelio o microesclerocios en residuos de cosecha o en hospedantes alternos y representa la principal fuente de inóculo. En la época lluviosa, el inóculo es depositado sobre el follaje de la planta por medio del salpique; así, la severidad del ataque está relacionado con el nivel de inóculo inicial y las condiciones ambientales favorables (temperatura > 25°C y humedad relativa superior a 80%). En Costa Rica se demostró que la infección de semilla por *R. solani* es de 1,5%, lo que sugiere que ésta también es una fuente de inóculo (Mora y Gálvez 1986).

Antracnosis

La antracnosis es la enfermedad más destructiva del frijol que se siembra en zonas a más de 1000 msnm, con temperaturas entre 13 y 26°C y alta humedad relativa, sobre todo en regiones con cortos períodos de neblina. No obstante, en Costa Rica se encuentra diseminada en casi todo el país. Es ocasionada por el hongo *C. lindemuthianum*. El patógeno tiene la capacidad de infectar desde que se inicia la germinación hasta el estado de madurez fisiológica e incluso a la semilla (Araya 1989).

C. lindemuthianum produce lesiones necróticas, húmedas y ligeramente hundidas en el tallo y los pecíolos. En las hojas se observa necrosis a lo largo de las venas primarias y secundarias. Los síntomas más evidentes se encuentran en las vainas, donde se producen lesiones necróticas, redondas y hundidas, desde donde el hongo puede alcanzar los tejidos de la semilla e infectarla, causándole deformaciones y decoloraciones al tegumento.

Las pérdidas ocasionadas por la antracnosis son elevadas, no sólo en plantaciones comerciales, sino también en lotes productores de semilla. En el primer caso si la infección ocurre durante la primera semana después de la emergencia las pérdidas pueden llegar a 95%. En lotes productores de semilla, la antracnosis ha sido históricamente una de las primeras causas de rechazo (Araya 1989, Pastor-Corrales y Tu 1994).

Las poblaciones de *C. lindemuthianum* presentan una amplia variación patogénica. Estudios realizados con aislamientos centroamericanos demostraron que la variación patogénica en esta región es totalmente diferente y mayor a la descrita previamente para otros países (Araya 1991). Además esta variabilidad es inestable; en los últimos 10 años ha aumentado y únicamente las razas 9, 73, 129, 457, 1033, 1417 y 1993, sobrevivieron en el campo durante la década (Araya y Cárdenas 1999).

La capacidad de sobrevivencia es otra característica que incide en el desarrollo de epifitias. El hongo puede sobrevivir en residuos de cosecha o en semilla. En el primer caso, lo hace en forma de esporas o de micelio en los restos de plantas u hojas infectadas que permanecen en el campo después de la cosecha. Actualmente, no se tiene información precisa del tiempo de sobrevivencia en condiciones tropicales, pero por no ser un habitante del suelo, su viabilidad está sujeta al tiempo de descomposición de los residuos de cosecha. La semilla representa el principal medio de diseminación a largas distancias y de sobrevivencia por largos períodos de tiempo (Araya 1989).

Mancha angular

En los últimos años esta enfermedad ha alcanzado niveles epifitóticos en las zona frijoleras de Costa Rica y en general, en la región centroamericana. Se presenta con mayor severidad en condiciones de temperatura entre 16 y 28°C. La planta es susceptible durante todo su período de crecimiento, pero en el campo se observan síntomas severos después de la sexta semana de la siembra. La vaina también es afectada y la semilla puede transmitir el patógeno (Correa *et al.* 1994).

P. griseola puede sobrevivir en residuos de cosecha y en semilla. La capacidad de transmisión por semilla es relativamente baja (menor de 2%) y su efecto como fuente de inóculo es reducido, sobre todo considerando que es un patógeno de follaje y que la planta no es susceptible en las primeras etapas de desarrollo. Esta enfermedad fue de importancia secundaria y se trabajó muy poco en mejoramiento para la incorporación de resistencia y en el seguimiento a sus

poblaciones naturales, lo que probablemente, influyó en su desarrollo violento y amplia distribución geográfica a partir de mediados de la década de los 90.

Las lesiones en el follaje son más abundantes durante y después de floración. Inicialmente, las lesiones son grises o pardas, con márgenes definidos; aproximadamente nueve días después de la infección las lesiones se tornan necróticas y bien definidas, con la forma angular típica. Más avanzado el ataque puede ocurrir coalescencia de lesiones, clorosis foliar y defoliación prematura.

P. griseola presenta amplia variabilidad patogénica. En América Central se han identificado 37 razas con base en el análisis de 70 aislamientos. La evaluación preliminar de su patogenicidad indicó que las poblaciones centroamericanas del patógeno son más agresivas que las de otras regiones (CIAT 1999).

Pudriciones radicales

Las pudriciones radicales son causadas por un complejo de hongos del suelo y aparecen distribuidas en parches en el campo. La siembra continua, la compactación del suelo y el manejo inadecuado del avenamiento, son algunos de los factores que han contribuido a la presencia de este problema. Las pérdidas que ocasionan pueden ser elevadas y variar de un lote a otro, o en el mismo lote de un año al otro. Es quizá por este comportamiento variable que no se cuenta con datos precisos de pérdidas en la población de plantas y en la producción.

Posibilidades de manejo integrado de las enfermedades

Las nuevas tendencias económicas mundiales, que abogan por la apertura de fronteras comerciales, eliminación de aranceles y liberación de precios, hacen que en el mercado exista una fuerte competencia regulada por la oferta y la demanda, en la que la calidad prima sobre otros factores. Esta situación pone al productor de frijol ante una disyuntiva: ser eficiente para competir con alguna ventaja comparativa o sucumbir ante los embates de los mercados internacionales y la poca protección estatal. La eficiencia en la producción reclama un manejo racional, sostenible y económico de las enfermedades.

El manejo integrado de las enfermedades en frijol requiere de un esfuerzo nacional, en el que se involucren activamente las universidades, el gobierno, las instituciones encargadas de la transferencia de tecnología y asistencia técnica, y los agricultores agrupados en organizaciones consolidadas y autofinanciadas, que

velen por la identificación oportuna de ventanas en el mercado nacional e internacional.

Las universidades y las instituciones encargadas de la investigación deben dirigir sus esfuerzos hacia la generación, evaluación e implementación de prácticas culturales que permitan un aumento en los rendimientos con un uso mínimo de plaguicidas. Se debe estimular la capacitación de grupos organizados de agricultores, especialmente sobre formas eficientes del manejo del inóculo primario y la reducción de la tasa de desarrollo de la enfermedad. Algunas de las prácticas culturales que están siendo utilizadas son rotación de cultivos, uso de tutores, variedades mejoradas adaptadas a la región, precocidad, asociación de cultivos y selección de épocas de siembra.

La rotación de cultivos es una práctica recomendada para reducir inóculo inicial, pero su efectividad está en función del tipo de patógeno a controlar. Esta actúa eficientemente contra patógenos que sobreviven en residuos de cosecha y el período de rotación dependerá del tiempo de degradación de los mismos. Sin embargo, esta práctica no tiene el efecto esperado en el combate de patógenos con alta capacidad de sobrevivencia en el suelo. Una variante de la práctica es la rotación de terrenos. El uso de tutores, la siembra en lomillos, o la asociación de cultivos, disminuye el ataque de patógenos porque favorece el escape.

Como se ha mencionado, las prácticas de cultivo tienen un objetivo y una función específica. Sin embargo, han sido aplicadas aisladamente, más por tradición que por razonamiento de su uso. Por tanto, es necesario capacitar a los agricultores en el uso de esas medidas en una secuencia lógica para que sean aplicadas, en el momento preciso y analizando las condiciones ambientales en que se desarrolla el cultivo, para maximizar su aporte al control de las enfermedades.

Los programas de mejoramiento han desarrollado actividades con el objetivo de incorporar resistencia a factores bióticos y abióticos de manera conjunta y no únicamente considerando factores limitantes aislados. En este sentido, existe suficiente información en cuanto a fuentes de resistencia a enfermedades y tolerancia a baja fertilidad (PITTA frijol 1999).

En cuanto a la labor del gobierno, éste debe dictar políticas sobre el estímulo para la siembra de frijol en zonas aptas, para aumentar los rendimientos, reducir los costos y disminuir los riesgos para el productor.

Esto conlleva un proceso gradual de regionalización, que en muchos casos el agricultor ya ha iniciado rústicamente al seleccionar los sitios y variedades con base en su adaptación, precocidad, rendimiento o tolerancia a enfermedades. Algunos ejemplos de esta actitud es la siembra de las variedades "Saca pobres", "Aguacatillo" o "Brunca" en la zona sur, o el uso extensivo de la variedad "Huasteco" en la región Huetar Norte; así como la siembra del cultivar "Purisice" en sitios favorables a antracnosis.

La regionalización del cultivo y las variedades implica nuevos sistemas de producción, manejo y distribución de semilla. Es preciso que el Ministerio de Agricultura, la Oficina de Semillas y el Consejo Nacional de Producción apoyen las asociaciones de agricultores en la producción artesanal o convencional de semilla, para ser luego utilizada por ellos mismos y para abastecer a productores independientes de la zona.

En Costa Rica se cuenta con otras opciones de manejo de enfermedades que aún no han recibido el impulso requerido, estas son el uso de inoculantes *Rhizobium* y las micorrizas. El aporte de las bacterias fijadoras de nitrógeno a la nutrición de las plantas de frijol se ha estudiado desde 1989. Actualmente, se cuenta con datos que confirman su efecto positivo en el rendimiento, aplicando solo la mitad de la dosis comercial de fertilizante nitrogenado (PITTA frijol 1999). Las micorrizas también juegan un papel importante; en este campo apenas se inicia la investigación en frijol sobre los especies micorrizantes nativas y su manejo en condiciones de plantaciones comerciales.

El logro de estas y otras metas en el cultivo del frijol se alcanzará solo con un trabajo en equipo, interinstitucional y multidisciplinario. En este sentido, se encuentra trabajando el Programa de Investigación y Transferencia de Tecnología (PITTA) en frijol, el cual está constituido por la Universidad de Costa Rica, la Universidad Nacional, el Ministerio de Agricultura, la Oficina de Semillas, el Consejo Nacional de Producción y el Instituto Tecnológico de Costa Rica. En el PITTA frijol se desarrollan proyectos de investigación conjuntos en las áreas de mejoramiento genético, variabilidad patogénica, combate de enfermedades, manejo de poblaciones de vectores de virus y producción de semilla, las que obedecen a un análisis de la problemática nacional y al establecimiento de prioridades de investigación.

Literatura citada

- ARAYA, C.M. 1989. La antracnosis del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) en Costa Rica. Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica) no. 13:83-91.
- ARAYA, C.M.; CÁRDENAS, C. 1999. Variabilidad patogénica y fuentes de resistencia a poblaciones de *Colletotrichum lindemuthianum* en Costa Rica. In Reunión Anual APS-CD (39, 1999, Puerto Rico). Resúmenes.
- ARAYA, C.M.; PASTOR-CORRALES, M.A.; OTOYA, M.M. 1991. Pathogenic diversity of *Colletotrichum lindemuthianum* in Central America. In Reunión Anual APS-CD (31, 1991, San José, Costa Rica). Resúmenes.
- CIAT. 1999. Informe técnico anual POA 1998-1999. Cali, Colombia. p.45-48.
- CONSEJO NACIONAL DE PRODUCCIÓN (CNP). 1988. Agrotécnico. 2. s.p.
- CORREA-VICTORIA, F.M.; PASTOR-CORRALES, M.A.; SAETTLER, A.W. 1994. Mancha angular de la hoja. In M.A. Pastor-Corrales; H.F. Schwartz (Ed.). Problemas de Producción de Frijol en los Trópicos. Cali, Colombia, CIAT. p.67-86.
- GALVEZ, G.E.; MORA, B.; PASTOR-CORRALES, M.A. 1994. Mustia hilachosa. In M.A. Pastor-Corrales; H.F. Schwartz (Ed.). Problemas de producción de frijol en los trópicos. Cali, Colombia, CIAT. p. 227-244.
- MORA, B.; GALVEZ, G.E. 1986. La mustia hilachosa del frijol. In Taller de mustia hilachosa (2, 1986, San José, Costa Rica). p.51-65.
- MORA, F.; ABDELNOUR, A.; HERRERA, F.; SALAZAR, J. 1999. El consorcio cooperativo de comercialización R.L. Costa Rica: frijol. Agronomía Mesoamericana 10:91-98.
- OFICINA NACIONAL DE SEMILLAS (ONS). 1997. Memoria 1997. San José, C.R., ONS. 80 p.
- OGOSHI, A. 1987. Ecology and pathogenicity of anastomosis and intraspecific groups of *Rhizoctonia solani* Kühn. Ann. Rev. Phytopathol. 25:125-143.
- PASTOR-CORRALES, M.A.; TU, J.C. 1994. Antracnosis. In M.A. Pastor-Corrales; H.F. Schwartz (Ed.). Problemas de producción de frijol en los trópicos. Cali, Colombia, CIAT. p.87-119.
- PITTA FRIJOL. 1999. Informe técnico anual POA 98-99. San José, Costa Rica. 53 p.
- SALAZAR, J.J. 1997. Caracterización de la producción de frijol en Costa Rica: propuesta ante la globalización de la comercialización. In Mesa Redonda de Pos-cosecha de Granos (8, 1997, Colombia). p.i.

Efecto de extractos vegetales sobre larvas de *Hypsipyla grandella**

Fernando Mancebo**

Luko Hilje***

Gerardo A. Mora****

Rodolfo Salazar*****

RESUMEN. En Turrialba, Costa Rica, se estudió el efecto de varios extractos vegetales sobre la alimentación y sobrevivencia de la larva del barrenador de las meliáceas, *H. grandella* (Zeller) (Lepidoptera: Pyralidae). Se realizó un tamizado general con 29 extractos, exponiendo larvas de instar III sobre discos foliares de cedro impregnados con una sola concentración (10%) de cada extracto; se utilizó un diseño completamente al azar. Del tamizado se seleccionaron seis extractos en los que se detectaron posibles efectos fagodisuasivos o inhibidores del desarrollo larval: extractos de madera y follaje de hombre grande (*Quassia amara*, Simaroubaceae), ruda (*Ruta graveolens*, Rutaceae), tacaco cimarrón (*Sechium pittieri*, Cucurbitaceae), y dos productos comerciales (Azatín y Nim 80) derivados del árbol de nim (*Azadirachta indica*, Meliaceae). Estas fueron evaluadas a esa misma concentración, en pruebas de invernadero, colocando tres larvas de instar I de *H. grandella* en brotes terminales de cedro previamente tratados con dichos extractos; las plantas se distribuyeron en un diseño completamente al azar, en un arreglo de campo de parcelas divididas en el tiempo, con diez plantas por cada tratamiento. Los resultados indicaron que el extracto de madera de *Q. amara* causó un efecto fagodisuasivo, mientras que el Azatín mató a las larvas. Estos hallazgos fueron confirmados mediante bioanálisis de laboratorio complementarios, los cuales también revelaron que el extracto de follaje de hombre grande y de ruda tienen efecto fagodisuasivo, el Nim 80 actúa como regulador de crecimiento, y el tacaco cimarrón mata a las larvas de *H. grandella*.

Palabras claves: *Hypsipyla grandella*, Meliaceae, Extractos vegetales, Fagodisuasión, Mortalidad.

ABSTRACT. Effect of plant extracts on *Hypsipyla grandella* larvae. The effect of some plant extracts on the feeding and survival of mahogany shoot borer *H. grandella* (Zeller) (Lepidoptera: Pyralidae) larvae was studied in Turrialba, Costa Rica. A general screening with 29 plant extracts, exposing *H. grandella* instar III larvae, on cedar leaf discs impregnated with only one concentration (10%) of each extract, was carried out; a completely randomized design was used. Six extracts were selected from the screening in which possible antifeeding or inhibition of larval growth effects were detected: bitterwood (*Quassia amara*, Simaroubaceae), common rue (*Ruta graveolens*, Rutaceae), "tacaco cimarrón" (*Sechium pittieri*, Cucurbitaceae), and two commercial products (Azatin and Nim 80) derived from neem tree (*Azadirachta indica*, Meliaceae). These were evaluated at the same concentration in greenhouse tests, placing three I instar *H. grandella* larvae on terminal shoots of cedar previously treated with the extracts; the plants were distributed in a completely randomized design, with a split plot arrangement through time, with 10 plants for each treatment. The results indicated that the wood extract of *Q. amara* caused an antifeeding effect, whilst Azatin killed the larvae. These findings were confirmed by complementary laboratory bioassays, which also revealed that the foliage extracts of bitterwood and of common rue have an antifeeding effect, Nim 80 acts as a growth-regulator and "tacaco cimarrón" kills *H. grandella* larvae.

Key words: *Hypsipyla grandella*, Meliaceae, Plant extracts, Antifeedants, Mortality.

Recibido: 22/02/99. Aprobado: 21/02/2000.

* Parte de la tesis de Mag. Sci. del primer autor. Escuela de Postgrado, CATIE. Turrialba, Costa Rica.

** Fertilizantes Químicos Dominicanos (FERQUIDO). Santo Domingo, República Dominicana.

*** Unidad de Fitoprotección, CATIE. Turrialba, Costa Rica.

**** Centro de Investigaciones en Productos Naturales (CIPRONA). Universidad de Costa Rica. San José, Costa Rica.

***** Proyecto de Semillas Forestales (PROSEFOR), CATIE. Turrialba, Costa Rica.

Introducción

Varias especies de caobas (*Swietenia* spp.) y cedros (*Cedrela* spp.) (Meliaceae) han representado la principal fuente de maderas preciosas provenientes de las regiones neotropicales, históricamente, por lo que se les ha explotado de manera extractiva e irracional; esto ha provocado no solamente la carencia de este recurso maderero, sino también la pérdida de valioso material genético (Patiño 1997).

Aunque una manera de suplir la madera proveniente de dichas especies, es el establecimiento de plantaciones comerciales en gran escala, en el continente americano estos esfuerzos por lo general han fracasado (Grijpma y Ramalho 1973, Patiño 1997), debido especialmente al ataque del gusano barrenador de las meliáceas, *Hypsipyla grandella* (Zeller) (Lepidoptera: Pyralidae), que es quizás la principal plaga forestal en América Latina y el Caribe. Su principal daño consiste en la perforación de los brotes nuevos, especialmente el brote terminal, el cual se deforma o ramifica, reduciendo de esta forma el valor comercial del árbol afectado (Grijpma y Ramalho 1973).

Se han investigado varias opciones para el control de esta plaga (Grijpma 1973, Whitmore 1976a, b, Newton *et al.* 1993), con resultados poco factibles operativa y económicamente. Dado el nivel de tolerancia tan bajo, de apenas una larva por árbol, se justificaría el empleo de un enfoque preventivo, basado en sustancias que afecten el comportamiento o la fisiología de *H. grandella*. En tal sentido, cabe la posibilidad de explorar el efecto inhibitorio de dichas sustancias sobre la alimentación o el desarrollo. Algunos de los efectos indicados se han observado en pruebas preliminares (Shannon *et al.* 1997), y eventualmente existiría la posibilidad de utilizar extractos vegetales en forma rústica o semi-rústica, como se hace con el nim (*Azadirachta indica*, Meliaceae) para otras plagas (Schmutterer *et al.* 1982).

El objetivo del trabajo fue evaluar el efecto de algunos extractos vegetales sobre la alimentación y la sobrevivencia de la larva de *H. grandella*. Se planteó la hipótesis de que algunas sustancias vegetales pueden actuar como fagodisuasivas, evitando el consumo o la ingestión de alimento, o impiden el desarrollo de la larva de *H. grandella*.

Materiales y métodos

Ubicación. Los experimentos se realizaron en el CATIE, en Turrialba, Costa Rica. Para el tamizado general de sustancias se utilizó una cámara bioclimática

(Percival I-35L), a 22°C, 80-90% HR y fotoperíodo de 12:12 (L:O), mientras que el experimento de invernadero se realizó a 18,5°C y 45°C (mínima y máxima) y 42%-98% HR.

Sustancias evaluadas. En el tamizado general se evaluó la actividad de los siguientes 29 extractos de origen vegetal, incluyendo extractos crudos y productos comerciales. La abreviatura de cada extracto aparece entre paréntesis.

1. Follaje de ruda (*Ruta graveolens*, Rutaceae)
2. Follaje de menta (*Satureja obovata*, Lamiaceae)
3. Follaje de sorosí (*Momordica charantia*, Cucurbitaceae)
4. Follaje de culantro de castilla (*Coriandrum sativum*, Apiaceae)
5. Follaje de culantro coyote (*Eryngium foetidum*, Apiaceae)
6. Follaje de madero negro (*Gliricidia sepium*, Leguminosae)
7. Follaje de apazote (*Chenopodium ambrosioides*, Chenopodiaceae)
8. Follaje de zacate limón (*Cymbopogon citratus*, Poaceae)
9. Follaje de eucalipto (*Eucalyptus deglupta*, Myrtaceae)
10. Follaje de gavilana (*Neurolaena lobata*, Asteraceae)
11. Follaje de orégano (*Lippia graveolens*, Lamiaceae)
12. Fruto de chile picante (*Capsicum frutescens*, Solanaceae)
13. Botones florales de clavo de olor (*Syzygium aromaticum*, Myrtaceae)
14. Madera de hombre grande (*Quassia amara*, Simaroubaceae)
15. Aceite esencial follaje chile muelo (*Drymis granadensis*, Winteraceae)
16. Bulbo de ajo (*Allium sativum*, Alliaceae)
17. Nim 80 (*Azadirachta indica*, Meliaceae)
18. Bio-Nim (*A. indica*, Meliaceae)
19. Margosán (*A. indica*, Meliaceae)
20. Azatín (*A. indica*, Meliaceae)
21. Extracto crudo de nim (*A. indica*, Meliaceae)
22. Follaje de flor de muerto (*Tagetes* sp., Asteraceae)
23. Liquefruta BP. (Jarabe de aceite natural de ajo)
24. Eugenol U.S.P. (Guayacolato de glicerilo)
25. Follaje de hombre grande (*Q. amara*, Simaroubaceae)
26. Nim 20 (*A. indica*, Meliaceae)
27. Fruto de tacaco cimarrón (*Sechium pittieri*, Cucurbitaceae)

28. Biomel (Aceites vegetales y extractos de plantas)

29. Detur (Aceite de semilla de jojoba)

Las casas manufactureras de los productos comerciales evaluados son: Nim 20 y Nim 80 (COPINIM, Nicaragua), Bio-Nim (Ringer Corp., Minneapolis), Margosan-O (W. R. Grace Co., Massachusetts), Azatín (AgriDyne Technologies, Utah), Liqufruta BP (LRC Products Ltd., Inglaterra), Eugenol U.S.P. (Rite-Dent Manufacturing Corp.), Biomel (Biomel Ltda., Medellín, Colombia) y Detur (AMVAC Chemical Corporation, Los Angeles, CA., USA).

Preparación de los extractos. La preparación se realizó en el Centro de Investigaciones en Productos Naturales (CIPRONA), de la Universidad de Costa Rica. Para los extractos vegetales crudos (Juan Carlos Brenes, 1997, CIPRONA, *com. pers.*), las muestras del material vegetal pertinente se secaron en un horno de convección (Mem Mert ®), a 40°C. Una muestra de 100 g del tejido seleccionado y molido se maceró en metanol al 70% por 24 h, a temperatura ambiente. La disolución obtenida se filtró y el material sólido se extrajo de nuevo con metanol al 70%, para aumentar el rendimiento de la extracción. La disolución obtenida se filtró a través de papel Whatman No. 4. Los extractos se mezclaron y concentraron al vacío, en un baño de agua a 40°C, utilizando un evaporador rotatorio. Posteriormente, el residuo se liofilizó, para eliminar el agua remanente.

Por su parte, el aceite esencial de chile muelo se extrajo por hidrodestilación (Ciccio 1996). Se colocaron 500-800 g de follaje en un balón, se agregó agua hasta un volumen de 3 L y se puso a hervir en un aparato tipo Clevenger. Se destiló por 2,5 h y se separó el aceite esencial del agua. El aceite extraído se secó sobre sulfato de sodio anhidro y se filtró a través de un trozo de algodón, para obtener la muestra del aceite. Esta se mantuvo refrigerada, a menos de 10°C, hasta su empleo.

Larvas. Los adultos de *H. grandella* se tomaron de colonias criadas rutinariamente, utilizando follaje de cedro (*Cedrela odorata*) y una dieta artificial (Vargas y Shannon, inédito). Las larvas seleccionadas se criaron desde el estadio de huevo en follaje tierno de cedro.

Tratamientos y diseño experimental. Se realizaron dos experimentos: tamizado de extractos (en el laboratorio) y aplicación de extractos en plantas (en el invernadero).

Tamizado de extractos. Por razones operativas, los 29 extractos citados previamente se evaluaron en tres experimentos, realizados en fechas diferentes. El primer

experimento incluyó los extractos 1 a 16 (30-XI - 97), el segundo los extractos 17 a 24 (3-XII - 97) y el tercero los extractos 25 a 29 (7-VII - 98). Todos se evaluaron a una concentración del 10%, debido al claro efecto fagodisuasivo de dicha concentración de *Q. amara* (Shannon *et al.* 1997). La preparación de las disoluciones en agua destilada se hizo el mismo día de su aplicación.

En ambos experimentos se utilizaron dos testigos. Uno fue agua destilada, y el otro el agente tensoactivo ("surfactante"), que fue Nu film 17 (96% de ingrediente activo) al 0,03%. Se empleó un diseño completamente al azar, con ocho larvas por cada tratamiento cada una de las cuales fue considerada como una repetición; en el testigo absoluto se utilizaron 16 larvas. Los extractos se aplicaron con el agente tensoactivo para favorecer su distribución sobre la superficie de la hoja.

Las larvas de instar III se colocaron individualmente en frascos de vidrio de 30 ml, sobre bandejas donde se mantuvieron en ayuno por 3 h. En cada frasco, encima de la larva, se colocó un disco de hoja de 2,5 cm de diámetro, cortado con un sacabocados, el cual se tomó de hojas de cedro frescas y tiernas, pero bien formadas y sin la nervadura central. Los discos se sumergieron por 10 seg en la solución del respectivo tratamiento y se dejaron secar por 30 min. Bajo la tapa de cada recipiente se sujetó un trozo de papel toalla, mojado levemente para mantener suficiente humedad.

Las larvas pertenecientes a cada tratamiento se colocaron juntas en una bandeja, y se aleatorizaron. Para esto se sortearon las tapas de cada recipiente, las cuales se rotularon previamente con un código que incluía el nombre de cada tratamiento y el número de cada repetición.

Después de 24 h de exposición a los respectivos extractos, en los discos impregnados con éstos, las larvas se separaron de los discos y se colocaron en frascos que contenían un volumen de 5,80 ml de la dieta artificial, hasta que el insecto completara su desarrollo. La dieta se reemplazó al cambiar de color o de apariencia para todas las larvas de un mismo tratamiento.

Aplicación de extractos en plantas. Se utilizaron plantas de cedro de casi seis meses de edad, procedentes de semillas recolectadas en Abangares, Guanacaste, Costa Rica (Código BL 072/97A, PROSEFOR, CATIE). Éstas se pusieron a germinar el 15 - IV - 98, las plántulas se transfirieron el 2 - VI - 98 a macetas No. 2800 (21 L de suelo, 27 cm de diámetro y 25 cm de profundidad), y el experimento se efectuó el 15 - X - 98.

Las plantas se trataron con Azatín, Nim 80, madera o follaje de *Q. amara*, follaje de ruda o fruto de tacaco cimarrón, a la misma concentración (10%). La preparación de las disoluciones en agua destilada se hizo el mismo día de su aplicación. Las macetas (tratamientos) se dispusieron en un diseño completamente al azar, con un arreglo en parcelas divididas en el tiempo, con diez plantas por cada tratamiento. Hubo dos testigos (agua destilada y el agente tensoactivo).

Las hojas compuestas ("ramas") inferiores de los arbolitos se podaron tres días antes de las aplicaciones, y se dejaron apenas las ocho "ramas" superiores en cada uno; éstas también se podaron después del tercer par de hojuelas, para evitar el traslape entre plantas contiguas.

La porción terminal de cada planta se asperjó con cada sustancia, con un atomizador DeVilbiss 15, de punta ajustable (The DeVilbiss, EE.UU.), conectado a una bomba de vacío marca GAST, modelo DOA-P104-AA (GAST Manufacturing Corp. Benton Harbor, Michigan), con una presión constante de 0,7 kg/cm². Cada brote se inoculó con tres larvas de instar I, colocadas con un pincel fino, a los 30 min de asperjada la sustancia.

Variables de respuesta. Para el tamizado de extractos, se registró el consumo del disco foliar y el número de larvas muertas.

Consumo del disco foliar. El porcentaje del área consumida en cada disco de follaje se calculó a las 24 h, según la escala visual del programa Distrain 1.0 (Tomerlin y Howell 1988), en el cual el evaluador se adiestró previamente.

Número de larvas muertas. Se evaluó en dicho intervalo y luego cada 24 h, determinando el instar en el cual ocurrió la muerte. En todas las evaluaciones, se tomó como criterio de mortalidad la ausencia de movimiento y, para asegurar esto, la larva fue suavemente movida con un pincel; el cambio de color a una tonalidad negruzca fue un criterio adicional. La larva muerta se colocó en un recipiente limpio, después de transcurrir por lo menos dos días de haber diagnosticado la muerte.

Para el experimento en el invernadero, se determinó el número de perforaciones en el brote terminal y en las axilas de las "ramas", causadas por la alimentación y penetración de la larva. Además, se contabilizó el número de montículos de aserrín, así como el de brotes cortados y "ramas" desprendidas, como resultado de la alimentación de la larva. Se realizaron cuatro evaluaciones, a los 2, 4, 8 y 16 días después de la aplicación de las sustancias (dda).

Análisis estadístico. Se realizaron análisis de varianza, mediante la prueba de F, y para comparar las medias de cada tratamiento se utilizó la prueba de jerarquización múltiple de Tukey, con un valor de significancia fijo ($\alpha = 0,05$). Se utilizó el paquete estadístico SAS (SAS Institute 1985).

Resultados

Tamizado de extractos

Consumo del disco foliar. Hubo diferencias significativas entre tratamientos en el porcentaje de consumo, para el primero ($F = 5,19$, g.l. = 18, 141, $p < 0,0001$), segundo ($F = 11,76$, g.l. = 9, 78, $p < 0,0001$) y tercer experimentos ($F = 9,06$, g.l. = 7, 64, $p < 0,0001$).

En el experimento I, con excepción de los dos extractos de *Q. amara*, no hubo diferencias entre las medias de los tratamientos. Los menores porcentajes de consumo correspondieron a los dos tratamientos de madera de *Q. amara*. Estos no difirieron entre sí, y tampoco difirieron de los tratamientos de ruda, madeiro negro, zacate limón, sorosí ni orégano (Cuadro 1). El extracto de *Q. amara*+agua tampoco difirió de los tratamientos de culantro de castilla y chile picante, mientras que la ruda solo difirió de los tratamientos de apazote, chile muelo y del agente tensoactivo, que fueron los tres tratamientos con los mayores valores de consumo.

En el experimento II los tratamientos de Eugenol, Azatín y Nim 80, cuyos porcentajes de daño fueron los más bajos, no difirieron entre sí, pero sí del testigo absoluto (Cuadro 1). Los demás tratamientos no difirieron del testigo. El Azatín y el Eugenol difirieron de todos los demás, mientras que el Nim 80 difirió de los tratamientos de agua y Liqufruta, cuyos porcentajes de daño fueron los más altos.

En el experimento III, los tratamientos de follaje de *Q. amara* y tacaco cimarrón tuvieron los valores más bajos de consumo y no difirieron entre sí, pero sí de los demás tratamientos, excepto del Nim 20 (Cuadro 1); éste no difirió de los demás. Los testigos (agua, agente tensoactivo y metanol) no difirieron entre sí.

Número de larvas muertas. Hubo grandes diferencias en la mortalidad de las larvas entre los tratamientos, para el primero ($F = 2,44$, g.l. = 18, 140, $p < 0,005$), segundo ($F = 7,48$, g.l. = 9, 76, $p < 0,0001$) y tercer experimento ($F = 13,99$, g.l. = 7, 64, $p < 0,0001$).

En el experimento I, el mayor número de larvas muertas correspondió al tratamiento de *Q. amara*+agua, donde solo una larva sobrevivió; éste difirió de los testigos y de otros tratamientos (Cuadro 2). Al día

Cuadro 1. Porcentaje promedio de consumo por larvas de tercer instar de *H. grandella* en discos foliares de cedro tratados con diferentes extractos vegetales, en tres experimentos.

| Tratamiento | N | X - E.E. | Ambito |
|------------------------------|----|--------------------|--------|
| Experimento I | | | |
| Agua | 16 | 36,31 ± 18,64 ab | 0-70 |
| A. tensoactivo | 8 | 42,12 ± 17,18 a | 16-68 |
| Apazote | 8 | 46,00 ± 15,68 a | 24-70 |
| Madero negro | 8 | 21,00 ± 16,57 abcd | 0-46 |
| Culantro Castilla | 8 | 30,25 ± 15,16 abc | 0-54 |
| Ajo | 8 | 34,88 ± 18,57 ab | 4-67 |
| Menta | 8 | 36,62 ± 19,94 ab | 12-66 |
| Zacate limón | 8 | 21,38 ± 15,16 abcd | 0-42 |
| Eucalipto | 8 | 37,25 ± 15,79 ab | 18-61 |
| Clavo | 8 | 34,75 ± 12,52 ab | 24-60 |
| Sorosí | 8 | 25,75 ± 16,85 abcd | 0-45 |
| Orégano | 8 | 29,00 ± 19,19 abcd | 0-51 |
| Chile picante | 8 | 31,12 ± 7,75 abc | 20-45 |
| Ruda | 8 | 12,25 ± 11,54 bcd | 0-32 |
| Culantro coyote | 8 | 37,62 ± 17,39 ab | 0-52 |
| Chile muelo | 8 | 44,62 ± 12,86 a | 32-64 |
| Gavilana | 8 | 34,12 ± 18,40 ab | 0-62 |
| <i>Quassia</i> madera | 8 | 2,00 ± 3,34 d | 0-9 |
| <i>Quassia</i> madera + agua | 8 | 4,88 ± 5,72 cd | 0-15 |
| Experimento II | | | |
| Agua | 16 | 33,12 ± 14,01 a | 0-62 |
| A. tensoactivo | 8 | 29,25 ± 6,43 ab | 20-36 |
| Nim 80 | 8 | 14,38 ± 7,63 bc | 5-23 |
| Bio-Nim | 8 | 21,75 ± 14,79 ab | 0-37 |
| Margosán | 8 | 19,62 ± 14,01 ab | 0-40 |
| Azatín | 8 | 2,88 ± 2,42 c | 0-7 |
| Nim-E | 8 | 25,75 ± 8,68 ab | 14-38 |
| Tagetes | 8 | 29,88 ± 11,17 ab | 15-48 |
| Liquifruta | 8 | 34,00 ± 8,14 a | 23-48 |
| Eugenol | 8 | 0,00 ± 0,00 c | 0-0 |
| Experimento III | | | |
| Agua | 16 | 43,81 ± 17,76 a | 0-70 |
| A. tensoactivo | 8 | 36,12 ± 24,73 a | 12-85 |
| Metanol | 8 | 43,38 ± 19,03 a | 32-90 |
| Nim 20 | 8 | 27,25 ± 11,89 ab | 8-42 |
| <i>Quassia</i> follaje | 8 | 5,62 ± 4,34 b | 0-12 |
| Tacaco cimarrón | 8 | 9,50 ± 7,91 b | 0-21 |
| Biomel | 8 | 45,25 ± 9,13 a | 30-63 |
| Detur | 8 | 39,50 ± 14,16 a | 20-57 |

Las medias con la misma letra no difieren ($P=0,05$) según la prueba de Tukey.

siguiente de las aplicaciones se habían registrado las dos primeras larvas muertas; además, al separar las larvas de los discos, se observó que ellas se encontraban en la tapa del frasco o se alejaban, evitando el contacto con el disco.

Dicho tratamiento no difirió de los de madera de *Quassia*, ruda, sorosí, orégano, clavo de olor, ajo, zacate limón ni gavilana, pero éstos no difirieron de los testigos ni de otros tratamientos. En el sorosí murieron dos larvas al día siguiente de las aplicaciones y otras dos a partir del sexto día, mientras que en los de madera de *Quassia* hubo muertes entre el primer y tercer días. En la ruda murieron tres larvas entre el primer y tercer días, y la otra larva murió al sexto día; cuatro de ellas se alejaron del disco impregnado con la sustancia, incluyendo a tres de las que murieron.

En el experimento II, con el Eugenol, el Azatín y el Bio-Nim se tuvo la mayor mortalidad y ellos difirieron del testigo absoluto (Cuadro 2). Aunque el Nim 80, Margosan y el extracto crudo de nim (Nim-E) no difirieron de éstos, tampoco lo hicieron con respecto al testigo absoluto. El agente tensoactivo y el agua fueron los que tuvieron los valores más bajos de mortalidad.

Con el Eugenol todas las larvas murieron al siguiente día de las aplicaciones. Con el Azatín tres larvas murieron al día siguiente y al final apenas una sobrevivió; al tercer día había más de un 50% de mortalidad. Con el Bio-Nim apenas dos larvas murieron hasta el tercer día, pero al final solamente una larva sobrevivió. Con el Nim 80, al día siguiente murieron dos larvas, y tres más hasta el cuarto día. Con el Margosan, apenas una larva murió hasta el tercer día. Con el Nim-E murieron tres larvas hasta el cuarto día. Con Tagetes y Liquifruta, apenas murieron dos larvas en cada uno de ellos, lo cual sucedió a partir del cuarto día de las aplicaciones.

En el experimento III, con el Nim 20 y el tacaco cimarrón se tuvo la mayor mortalidad y ellos no difirieron entre sí, pero lo hicieron con el testigo absoluto (Cuadro 2). El extracto de follaje de *Quassia* no difirió del tacaco cimarrón, pero tampoco del testigo absoluto. Los demás tratamientos no difirieron del testigo absoluto. La mortalidad en ambos testigos (agua y metanol) fue muy baja, mientras que con el Biomel y el Detur no hubo mortalidad.

Aunque en los tres experimentos hubo correlación entre el consumo de disco y la mortalidad de las larvas ($p < 0,0001$), su grado de asociación (R^2) fue bajo.

Aplicación de extractos en plantas

Para la última evaluación, que fue realizada a los 16 días de aplicados los extractos, hubo grandes diferencias con respecto al daño provocado por la larva de *H. grandella* ($F = 5,46$, g.l. = 7, 72, $p < 0,0001$). Los menores daños se presentaron en los tratamientos con Azatín y

Cuadro 2. Número total de larvas de tercer ínstar de *H. grandella* muertas con los diferentes extractos vegetales, en tres experimentos.

| Tratamiento | N | Mortalidad | |
|------------------------------|----|------------|--------|
| | | No. | % |
| Experimento I | | | |
| Agua | 16 | 1 a | 6,25 |
| A. tensoactivo | 8 | 1 a | 12,50 |
| Apazote | 8 | 1 a | 12,50 |
| Madero negro | 8 | 1 a | 12,50 |
| Culantro Castilla | 8 | 1 a | 12,50 |
| Ajo | 8 | 3 ab | 37,50 |
| Menta | 8 | 1 a | 12,50 |
| Zacate limón | 8 | 2 ab | 25,00 |
| Eucalipto | 8 | 1 a | 12,50 |
| Clavo | 8 | 3 ab | 37,50 |
| Sorosí | 8 | 4 ab | 50,00 |
| Orégano | 8 | 3 ab | 37,50 |
| Chile picante | 8 | 1 a | 12,50 |
| Ruda | 8 | 4 ab | 50,00 |
| Culantro coyote | 8 | 1 a | 12,50 |
| Chile muelo | 8 | 0 a | 0,0 |
| Gavillana | 8 | 2 ab | 25,00 |
| <i>Quassia</i> madera | 8 | 4 ab | 50,00 |
| <i>Quassia</i> madera + agua | 8 | 7 b | 87,50 |
| Experimento II | | | |
| Agua | 16 | 2 ab | 12,50 |
| A. tensoactivo | 8 | 1 a | 12,50 |
| Nim 80 | 8 | 6 bcd | 75,00 |
| Bio-Nim | 8 | 7 cd | 87,50 |
| Margosán | 8 | 6 bcd | 75,00 |
| Azatín | 8 | 7 cd | 87,50 |
| Nim-E | 8 | 5 abcd | 62,50 |
| Tagetese | 8 | 2 bcd | 25,00 |
| Liqufruta | 8 | 2 abc | 25,00 |
| Eugenol | 8 | 8 d | 100,00 |
| Experimento III | | | |
| Agua | 16 | 1 ab | 6,25 |
| A. tensoactivo | 8 | 2 ab | 25,00 |
| Metanol | 8 | 1 ab | 12,50 |
| Nim 20 | 8 | 8 d | 100,00 |
| <i>Quassia</i> follaje | 8 | 4 bc | 50,00 |
| Tacaco | 8 | 7 cd | 87,50 |
| Biomel | 8 | 0 a | 0,00 |
| Detur | 8 | 0 a | 0,00 |

Las medias con la misma letra no difieren ($P=0,05$) según la prueba de Tukey.

el extracto de madera de *Quassia*, en los cuales apenas una planta fue atacada; ellos no difirieron entre sí, pero sí de los demás tratamientos (Cuadro 3). Aunque la ruda no difirió de ellos, tampoco lo hizo de los demás

tratamientos. Los daños en las plantas tratadas con Azatín y madera de *Quassia* fueron atípicos, pues no se presentaron en el brote terminal, sino en la axila de una de las "ramas" inferiores y fueron muy pequeños; con el Azatín, el montículo se debió a un daño tardío, pues apareció hasta una semana después de las aplicaciones.

Cuadro 3. Proporción de plantas de cedro dañadas por larvas de primer instar de *H. grandella* tratadas con diferentes extractos vegetales, a los 16 días de las aplicaciones en el invernadero.

| Tratamiento | N | X - E.E. |
|------------------------|----|----------------|
| Agua | 10 | 0,80 ± 0,42 a |
| A. tensoactivo | 10 | 0,90 ± 0,32 a |
| <i>Quassia</i> madera | 10 | 0,10 ± 0,32 b |
| <i>Quassia</i> follaje | 10 | 0,90 ± 0,32 a |
| Azatín | 10 | 0,10 ± 0,32 b |
| Nim 80 | 10 | 0,80 ± 0,42 a |
| Ruda | 10 | 0,50 ± 0,53 ab |
| Tacaco cimarrón | 10 | 0,70 ± 0,48 a |

Las medidas con la misma letra no difieren ($P=0,05$) según la prueba de Tukey.

En relación con las perforaciones causadas en los brotes y axilas de las "ramas", hubo grandes diferencias en los efectos principales, tanto para los tratamientos ($F= 3,57$, g.l.= 7, 72, $p< 0,01$), como para las evaluaciones ($F= 23,84$, g.l.=3, 216, $p< 0,0001$). También las hubo entre las interacciones entre las evaluaciones y los extractos ($F= 2,14$, g.l.= 21, 216, $p< 0,01$). Los tratamientos con las menores cantidades de perforaciones fueron el Azatín y madera de *Quassia* (Fig. 1A y 1B), los cuales difirieron solamente del tratamiento con extracto de follaje de *Quassia*.

Para las interacciones entre las evaluaciones y los extractos, a los 2 dda no hubo diferencias entre madera de *Quassia*, Azatín, ruda y tacaco cimarrón, pero éstos difirieron de los testigos y de follaje de *Quassia* y Nim 80; éstos no difirieron entre sí. A los 4 dda, el menor número de perforaciones correspondió al Azatín, madera de *Quassia* y Nim 80, los cuales no difirieron entre sí, pero sí con los testigos y follaje de *Quassia*, ruda y tacaco cimarrón; los dos últimos difirieron del testigo absoluto, el cual no lo hizo con el follaje de *Quassia* ni con el agente tensoactivo. Sin embargo, tanto a los 8 dda y 16 dda no hubo perforaciones en ninguno de los tratamientos, excepto una en follaje de *Quassia*, y no hubo diferencias estadísticas entre ellas.

En cuanto a los montículos, hubo diferencias entre los tratamientos ($F= 4,44$, g.l.= 7, 72, $p< 0,001$), las evaluaciones ($F=13,41$, g.l.= 3, 216, $p< 0,0001$) y sus in-

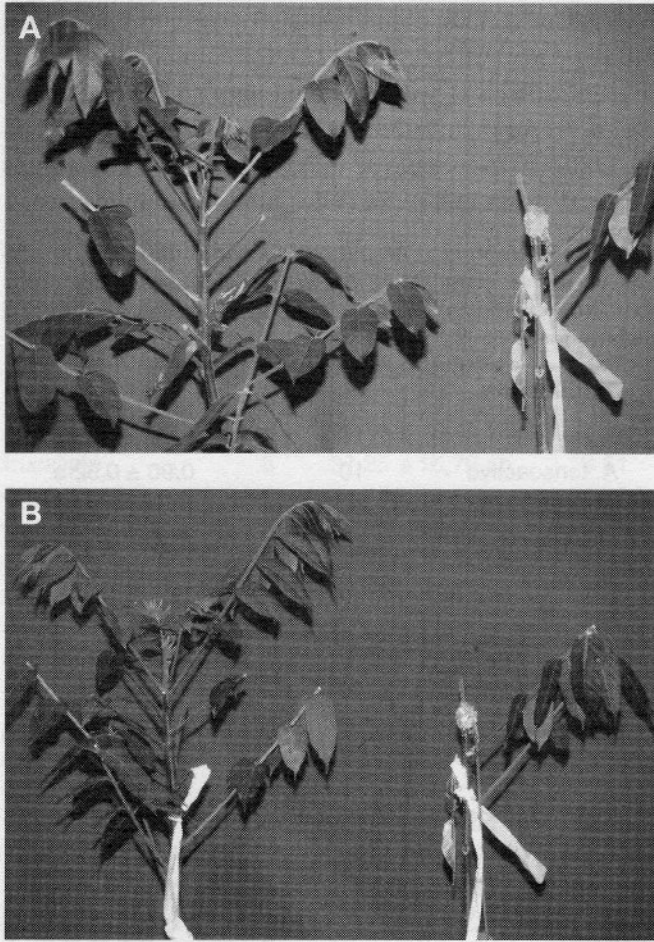


Figura. 1. Daño de la larva de *H. grandella* en los tratamientos testigos, en comparación con brotes de cedro sanos, tratados con Azatín (A) y con un extracto de madera de *Q. amara* (B), en el invernadero (Foto: Francisco Solano).

teracciones ($F= 1,68$, g.l.= 21, 216, $p< 0,05$). Los tratamientos con las menores cantidades de montículos fueron el Azatín y madera de *Quassia*, los cuales difirieron de los testigos y del follaje de *Quassia*. El Azatín y madera de *Quassia* no difirieron entre sí, y tampoco lo hicieron con Nim 80 ni ruda; estos dos últimos no difirieron de los restantes. Además, el tacaco cimarrón no difirió del de madera de *Quassia*.

A los 2 dda no hubo diferencias entre tratamientos, mientras que a los 4 dda el Azatín y la madera de *Quassia* tuvieron la menor cantidad por planta, difiriendo de los demás, excepto de la ruda. Esta no difirió de los testigos ni de Nim 80, pero sí del follaje de *Quassia* y tacaco cimarrón, en los cuales se observó la mayor cantidad; los dos últimos no difirieron de los testigos. A los 8 dda no hubo grandes diferencias entre las medias, en comparación con la evaluación anterior, con excepción de ruda y tacaco cimarrón; la ruda

difirió del Azatín y de la madera de *Quassia*, mientras que el tacaco cimarrón difirió solamente de estos dos últimos. A los 16 dda, el Azatín y la madera de *Quassia* mantuvieron los menores valores, los cuales difirieron de todos los demás; les siguió la ruda, que difirió del follaje de *Quassia* y del agente tensoactivo, pero no de los restantes tratamientos. Tampoco hubo diferencias entre los tratamientos de Nim 80, ruda, tacaco cimarrón y el testigo absoluto.

Con respecto a los brotes cortados, hubo grandes diferencias en los efectos principales, tanto para los tratamientos ($F= 3,32$, g.l.= 7, 72, $p< 0,01$) como para las evaluaciones ($F= 5,31$, g.l.= 3, 216, $p< 0,001$), así como para las interacciones entre las evaluaciones y los extractos ($F= 2,43$, g.l.= 21, 216, $p< 0,001$). Los menores valores, nulos, se presentaron en el Azatín, el cual difirió del testigo absoluto y del Nim 80. No hubo diferencias entre los demás tratamientos.

A los 2 dda no hubo diferencias entre el Azatín, ruda, tacaco cimarrón y los testigos, pero sí difirieron de los demás; sin embargo, no las hubo entre el Nim 80, es follaje de *Quassia* y el agente tensoactivo. A los 4 dda no hubo diferencias entre el agente tensoactivo, la madera de *Quassia* y Azatín. La ruda tuvo los mayores valores, difiriendo de los demás tratamientos; le siguieron el Nim 80 y el follaje de *Quassia*, los cuales no difirieron entre sí, ni del testigo absoluto. El tacaco cimarrón no difirió de la madera de *Quassia* ni de los testigos, pero sí de los demás tratamientos. A los 8 dda no hubo diferencias entre el Azatín, la madera de *Quassia* y ruda, las cuales no difirieron entre sí, pero sí del resto. A los 16 dda no hubo diferencias entre los tratamientos, excepto en el agente tensoactivo, que difirió del resto.

En el caso de las "ramas" desprendidas, hubo grandes diferencias en los efectos principales, tanto en los tratamientos ($F= 4,01$, g.l.= 7, 72, $p< 0,001$) como en las evaluaciones ($F= 8,46$, g.l.= 3, 216, $p< 0,0001$). También hubo diferencias en las interacciones entre las evaluaciones y los tratamientos ($F= 1,78$ g.l.= 21, 216, $p< 0,05$). En madera de *Quassia*, Azatín y Nim 80 no hubo "ramas" desprendidas, pero ellos no difirieron de los demás tratamientos, salvo de follaje de *Quassia*, que alcanzó los mayores valores y no difirió de los testigos. A los 2 y 4 dda no hubo diferencias entre los tratamientos, mientras que a los 8 dda solamente el follaje de *Quassia* difirió de los demás. A los 16 dda no hubo desprendimientos en la ruda, y ésta no difirió del tacaco cimarrón; el mayor valor lo alcanzó el follaje de *Quassia*, el cual no difirió del testigo absoluto. Los dos testigos no difirieron entre sí.

Discusión

Los 29 extractos evaluados en estos experimentos se seleccionaron según sus efectos demostrados y bien documentados contra otros insectos, como sucedió con los extractos de *Q. amara* (Metcalf y Flint 1965, Evans y Raj 1988, Ocampo 1995, Cubillo *et al.* 1997) y los derivados del nim (Schmutterer *et al.* 1982, Gruber y Méndez 1992, Mordue y Blackwell 1993), o por su disponibilidad, ya que habían sido preparados para realizar experimentos con otros insectos (Gómez *et al.* 1997).

Por tanto, aunque sus efectos sobre las larvas de *H. grandella* se desconocían *a priori*, salvo para *Q. amara* (Shannon *et al.* 1997), se pretendió discriminar entre dos tipos de efectos, que podrían manifestarse solos o combinados: fagodisuasión e inhibición del desarrollo. Un disuasivo o supresor es una sustancia que inhibe ciertas actividades, como la alimentación y la oviposición, una vez que el insecto hace contacto con la sustancia, en lo cual contrasta con un repelente, que actúa a distancia (Matthews y Matthews 1978, Warthen 1990). Un inhibidor del desarrollo puede actuar ya sea como hormona reguladora del desarrollo, o causando efectos subletales en las larvas, lo cual impide o dificulta su desarrollo pleno.

En el tamizado general la mayoría de las sustancias no mostraron claramente ninguno de tales efectos, pero no se puede descartar que los pudieran poseer. Por razones de tipo práctico dichas sustancias se evaluaron a una sola concentración, elegida con base en resultados previos en un experimento con *Q. amara* sobre *H. grandella* (Shannon *et al.* 1997). Si bien, por ejemplo, el Eugenol tuvo un efecto tóxico casi inmediato, no fue seleccionado para las evaluaciones posteriores, pues la prioridad era hallar sustancias que causaran fagodisuasión, al impedir el consumo o la ingestión de alimento, o la inhibición del crecimiento y el desarrollo del insecto. Por tanto, para la evaluación de invernadero se eligieron seis extractos que presuntamente causaban alguno de estos efectos a concentraciones iguales o menores del 10%: madera y follaje de hombre grande, dos derivados del nim (Azatín y Nim 80), follaje de ruda y fruto de tacaco cimarrón.

Los extractos de madera y follaje de *Q. amara* mostraron indicios de causar un efecto fagodisuasivo, pues las larvas tratadas con éstos consumieron muy poco tejido de los discos de cedro y, además, al ser colocadas después en la dieta artificial (sin dichas sustancias) la mortalidad fue muy baja. Estos hallazgos confirman los de Shannon *et al.* (1997), quienes deter-

minaron que un extracto de madera al 1% (v/v) disuadió la alimentación en larvas de instar III de *H. grandella*. Asimismo, fueron corroborados mediante bioanálisis realizados con larvas de instar III, en el laboratorio, en experimentos paralelos (Mancebo *et al.* 2000a).

En dichos experimentos, aunque con el extracto de madera la fagodisuasión se percibió a una concentración baja (0,32%), con el follaje se requirió una concentración mucho mayor (3,16%), lo cual posiblemente obedece al contenido diferencial de cuasinoides, entre los que predominan la cuasina y la neocuasina (Polonsky 1973), o de otros compuestos, en ambas estructuras vegetales. Por ejemplo, el contenido de ambos cuasinoides varía según el grosor de las ramas (Villalobos 1995) y en el follaje posiblemente es muy bajo; en el follaje, Evans y Raj (1988) hallaron sustancias con efecto insecticida, como se documentó en larvas del mosquito *Culex quinquefasciatus* (Culicidae). En cuanto al efecto fagodisuasivo, Leskinen *et al.* (1984) la demostraron para un tipo de cuasina de *Q. amara*, sobre el coleóptero *Epilachna varivestis* (Coccinellidae).

Otro extracto que mostró indicios de causar un efecto fagodisuasivo, análogo al de los extractos de *Q. amara*, fue la ruda, el cual también fue corroborado mediante bioanálisis de laboratorio (Mancebo *et al.* 2000b); dicha actividad fue más evidente a las mayores concentraciones. Este efecto también fue documentado para el instar larval IV y el adulto del coleóptero *Leptinotarsa decemlineata* (Chrysomelidae) (Hough-Goldstein 1990), mientras que Cox (1980) determinó que en la ruda hay sustancias que repelen a la pulga *Ctenocephalides canis* (Pulicidae). En las hojas de esta planta existen varios compuestos, como un fenilpropanoide (anetolglicol), un bencenoide (ácido anísico), un alcaloide (arborina) y un alcaloide quinolítico (arborinina) (Torres 1950, Vasudevan y Lukner 1968, Kong *et al.* 1984), pero se desconoce si alguno de ellos es el causante de los efectos fagodisuasivo o repelente. En cuanto a otros efectos, ninguna de las concentraciones de ruda afectó la duración de los estadios inmaduros ni el peso de la pupa, ni tampoco hubo evidencias de toxicidad (Mancebo *et al.* 2000b).

Con la inclusión de los derivados del nim en esta investigación, se pretendía determinar si algunas sustancias presentes en las semillas de una especie como *A. indica*, perteneciente a la familia Meliaceae, podrían disuadir o afectar el desarrollo de *H. grandella*, que es un herbívoro específico en plantas de dicha fa-

milia (Becker 1976). De haberlo, se esperaba que fuera sobre todo un efecto como reguladoras de crecimiento, lo cual ha sido ampliamente documentado para la azadiractina, que es la principal sustancia presente en la semilla de nim (Schmutterer *et al.* 1982, Gruber y Méndez 1992, Mordue y Blackwell 1993). No obstante, además podrían presentarse efectos fagodisuasivos, ya que en la semilla aparecen otros 16 limonoides, así como tri y tetrasulfitos (Koul *et al.* 1990).

Ambos derivados del nim causaron efectos muy evidentes en cuanto a toxicidad o regulación del crecimiento, lo cual fue claro en estos experimentos y en los bioanálisis paralelos (Mancebo *et al.* 2000c). Esto posiblemente se explica porque la larva de *H. grandella* no ha coevolucionado con *A. indica*, que es un árbol nativo de la región paleotropical; no obstante, dicha larva sí tiene la capacidad de alimentarse de las semillas de meliáceas neotropicales, como las caobas y los cedros (Becker 1976). Asimismo, se ha documentado que *H. grandella* no puede alimentarse del tallo de otras meliáceas paleotropicales, como el cedro australiano (*Toona ciliata*), el cual contiene sustancias adversas. Es probable que algunas de ellas sean sesquiterpenos, triterpenoides, limonoides y flavonoides (Paula *et al.* 1997).

En el caso del Nim 80 no hubo efecto fagodisuasivo, pero sí en el desarrollo larval, pues a las mayores concentraciones la exuvia queda adherida a las larvas, formando una especie de constricción, lo cual les impide mudar, causando su muerte (Mancebo *et al.* 2000c). Se desconoce cuál o cuáles de las sustancias presentes en el Nim 80, que son la azadiractina (1000 ppm) y varios de los otros compuestos de la semilla (Gruber y Méndez 1992), interfieren con la muda de *H. grandella*. Estos resultados en general concuerdan con los obtenidos al tratar larvas de otros insectos con extractos de semilla de nim, como el gusano cachón (*Manduca sexta*, Sphingidae) (Haasler 1984) y *E. varivestis* (Schlüter 1982).

En cambio, los resultados con el Azatín fueron sorprendentes, por su efecto tóxico directo. Si bien pareció haber efecto fagodisuasivo, en realidad no lo hubo, pues aunque en todas las concentraciones los valores de consumo foliar fueron muy bajos, éstos coincidieron con una mortalidad muy alta de las larvas en los días inmediatos a las aplicaciones. El efecto tóxico directo fue mayor conforme aumentó la concentración (Mancebo *et al.* 2000c). Además, tanto el patrón de consumo foliar como el nivel de mortalidad

de las larvas, así como el momento en que ésta ocurre, sugieren que la toxicidad del Azatín se presenta por contacto más que por ingestión (Mancebo *et al.* 2000c). Es claro que la toxicidad del producto se debe a la azadiractina, que es su ingrediente activo, y cuya concentración es alta (30.000 ppm), en comparación con otros derivados del nim, como el Nim 80. Si bien el Azatín es promocionado como un regulador de crecimiento, incluso para lepidópteros, también hay evidencias de que la azadiractina causa mortalidad directa (Mordue y Blackwell 1993), como se demostró para larvas de la mosca *Phormia terrae-novae* (Calliphoridae) (Wilps 1987) y la abeja *Apis mellifera* (Apidae) (Rembold *et al.* 1982).

Por su parte, el tacaco cimarrón mostró un claro efecto de toxicidad, el cual fue confirmado mediante los bioanálisis paralelos (Mancebo *et al.* 2000b). Las larvas mudan bien, pero mueren pocos días después; además, conforme aumenta la concentración del extracto, se incrementa la mortalidad. De los frutos y la parte aérea de esta planta se han aislado seis tacacósidos, que son compuestos químicos del grupo de las saponinas (Castro *et al.* 1997).

Los resultados del experimento en el invernadero confirmaron los efectos fagodisuasivo y de mortalidad del extracto de madera de *Q. amara* y del Azatín, respectivamente. En ambos casos, los daños se limitaron a apenas una planta atacada; en el caso de Azatín el ataque fue tardío, debido quizás a la llegada de una larva a través de las ramas de plantas adyacentes, mientras que en el extracto de *Q. amara* el único montículo encontrado era muy pequeño. Estos datos se obtuvieron para el primer instar de *H. grandella*, que es el que debería ser combatido en el campo, para evitar daños severos de esta plaga.

De los demás extractos, las plantas tratadas con la ruda tuvieron pocos ataques, pero se presentó cierta fitotoxicidad en el brote terminal, y hubo una subsecuente invasión de fumagina. Los extractos de follaje de *Q. amara* y de tacaco cimarrón, así como el Nim 80, no funcionaron como lo habían hecho en los bioanálisis de laboratorio (Mancebo *et al.* 2000a, 2000b, 2000c), debido posiblemente a que al estar en un espacio abierto hubo mayor volatilización de los posibles compuestos activos, así como por la oportunidad de las larvas de emigrar hacia otros puntos, no tratados, de las estructuras de las plantas; por el contrario, en los bioanálisis las larvas eran forzadas a alimentarse del disco tratado, pues estaban encerradas en los frascos de vidrio. Puesto que las condiciones del inverna-

dero son más cercanas a las del campo, es probable que dichas sustancias no sean eficaces en el campo, al menos a la concentración evaluada.

En síntesis, los resultados de estos experimentos, así como los de los bioanálisis complementarios (Mancebo *et al.* 2000a, 2000b, 2000c), indican claramente la presencia de principios activos con función fagodisuasiva, inhibidora del desarrollo o tóxica para un insecto tan específico como *H. grandella*, en diferentes familias botánicas (Simaroubaceae, Meliaceae, Rutaceae y Cucurbitaceae).

Para el manejo de *H. grandella* como plaga forestal, estas sustancias podrían tener un potencial importante, pero éste es mayor para las que causan fagodisuasión o inhibición del desarrollo. Esta situación obedece a que, debido al bajo nivel de tolerancia comercial (umbral económico), que es de apenas una larva por árbol, se debería dar prioridad a un enfoque preventivo para su manejo, en el que algunas de dichas sustancias se complementen con otras tácticas, como el mejoramiento genético, las prácticas silviculturales y el control biológico (Newton *et al.* 1993, Speight 1997).

La presencia de sustancias tóxicas sobre *H. grandella* podría representar una fuente valiosa de insecticidas con nuevos modos de acción, ya sea con el producto natural *per se* o mediante la síntesis y producción de moléculas análogas, como sucede con otros plaguicidas (Pillmoor *et al.* 1993). Sin embargo, la poca aceptación de los insecticidas como método de combate de *H. grandella* no se debe a que no existan productos eficaces, sino más bien a su alto costo y a factores operativos, como la rápida penetración de la larva en los brotes tras emerger del huevo, el lavado por las lluvias, y los métodos de aplicación (Newton *et al.* 1993).

Casi todos estos factores son comunes a la posible utilización de sustancias fagodisuasivas o inhibidoras del desarrollo. No obstante, su principal ventaja sería su carácter preventivo, para evitar la penetración en los brotes de la larva recién emergida. Los resultados de esta investigación, con larvas de los instares I y III, muestran que varias de las sustancias presentes en los extractos evaluados pueden actuar rápidamente, antes de que la larva cause daños de importancia económica.

Estos resultados son promisorios, pero deberían considerar la disponibilidad de estos extractos para los productores de caoba y cedro, su costo económico, y algunos aspectos operativos y de salud pública. Por ejemplo, productos como el Azatín y el Nim 80 están disponibles comercialmente, pero sus precios contras-

tan notablemente; en la actualidad, son de \$ 115/L y \$11/L, respectivamente. Por su parte, los extractos de *Q. amara*, ruda o tacaco cimarrón quizás podrían utilizarse de manera rústica o semi-rústica, como se ha hecho con el nim en varios países (Brechelt 1992, Gruber 1995), y buscando coadyuvantes que aumenten su persistencia en el campo.

Aunque los extractos crudos, así como algunos productos comerciales, podrían aplicarse directamente a la parte aérea del árbol, junto con un coadyuvante, sobre todo cuando *H. grandella* es más abundante, pareciera más conveniente incorporarlos al suelo en el momento de la siembra. Además, deseablemente deberían poder reincorporarse al suelo, ya que deberían funcionar durante todo el período crítico de protección, que es de 5-8 años, según la zona geográfica (Cibrián *et al.* 1995), para así obtener una troza de valor comercial.

Se conoce que algunos derivados del nim, como el Azatín se pueden transportar de manera sistémica (Ing. Juan Cubero 1998, AgroPro, Costa Rica, *com. pers.*), y hay evidencias preliminares de que el extracto de madera de *Q. amara* puede hacerlo en el cedro (Shannon *et al.* 1997). De ser así, cabría la posibilidad de formularlos como materiales de liberación controlada, para aumentar su vida media (Allan *et al.* 1976). Esto se ha documentado para algunos insecticidas sistémicos, como el metomil y el carbofurán, los cuales dieron protección completa contra *H. grandella* en árboles de cedro, por varios meses después de aplicados (Allan *et al.* 1973, Wilkins *et al.* 1976). Además, en la actualidad existen métodos semi-rústicos para formular sustancias de liberación controlada (Dr. Richard M. Wilkins 1998, Newcastle University, Inglaterra, *com. pers.*), lo cual podría facilitar su utilización por parte de pequeños productores.

Otra posibilidad, bastante polémica, sería la de identificar el gen o genes que median la producción del principio activo fagodisuasivo en *Q. amara*, y transferirlos a árboles de caobas y cedros, mediante ingeniería genética (Shannon *et al.* 1997). En la actualidad se dispone de técnicas de cultivos de tejido *in vitro*, los cuales se han probado en la caoba (Orellana 1997), que permiten la multiplicación de genotipos selectos, dentro de programas de mejoramiento genético.

Finalmente, un aspecto crítico de las sustancias de origen vegetal son los riesgos para la salud humana. Los extractos acuosos de la madera de *Q. amara*, en dosis de hasta 1000 mg/kg administradas oralmente, no causaron efectos tóxicos de tipo agudo en ratones

(García *et al.* 1996), lo cual indica que no implican riesgos si se ingieren. De hecho en la medicina tradicional estas sustancias se emplean como un agente digestivo (García *et al.* 1996).

Agradecimientos

Esta investigación fue realizada como parte de la tesis de Mag. Sci. del primer autor, en el CATIE, para lo cual recibió el apoyo de Fundatrópicos y el IICA. Se agradece al Dr. Bernal Valverde, M.Sc. Phil Shannon e

Ing. Carlos Vargas, sus valiosos aportes en la fase inicial de la investigación. A la Dra. Tania Ammour y M.Sc. Róger Villalobos (Proyecto Olafo, CATIE), el apoyo para el desarrollo de la investigación, así como el aporte de las muestras de *Q. amara*. Al Lic. Juan Carlos Brenes (CIPRONA) y Lic. Francisco López (CATIE), la preparación de los extractos vegetales. A Douglas Cubillo, Guido Sanabria, Arturo Ramírez, Claudio Arroyo, Alfonso González y Marvin Hernández, su apoyo logístico.

Literatura citada

- AGRIDYNE TECHNOLOGIES s.f. Hoja informativa. Salt Lake City, Utah. 35 p.
- ALLAN, G.G.; GARA, R.I.; WILKINS, R.M. 1973. The evaluation of some systemic insecticides for the control of larvae in *Cedrela odorata* L. In Grijpma, P. Ed.. Studies on the shootborer *Hypsipyla grandella* (Zeller). Lep. Pyralidae. Vol I. IICA Misc. Publ. No. 101. p. 40-48.
- ALLAN, G.G.; CHOPRA, C.S.; FRIEDHOFF, J.F.; GARA, R.I.; MAGGI, M.W.; NEOGI, A.N.; POWELL, J.C.; ROBERTS, S.C.; WILKINS, R.M. 1976. The concept of controlled release insecticides and the problem of shootborers of the Meliaceae. In Whitmore, J.L. Ed.. Studies on the shootborer *Hypsipyla grandella* (Zeller). Lep. Pyralidae. Vol II. CATIE Misc. Publ. No. 101. p. 110-115.
- BECKER, V.O. 1976. Microlepidópteros asociados con *Carapa*, *Cedrela* y *Swietenia* en Costa Rica. In Whitmore, J.L. Ed.. Studies on the shootborer *Hypsipyla grandella* (Zeller). Lep. Pyralidae. Vol II. IICA Misc. Publ. No. 101. p. 75-101.
- BRECHTEL, A. 1992. Aspectos económicos y aceptación del uso de nim por pequeños y medianos productores de vegetales en zonas áridas de República Dominicana. In Pitty, A. Ed.. Congreso Internacional de Manejo Integrado de Plagas. (4, 1992, Tegucigalpa, Honduras). [Memoria] Ceiba, Honduras. p. 245-248.
- CASTRO, V.; RAMIREZ, E.; MORA, G.; IWASE, Y.; NAGAO, T.; OKABE, H.; MATSUNAGA, H.; KATANO, M.; MORI, M. 1997. Structures and antiproliferative activity of saponins from *Sechium pittieri* and *S. talamancense*. Chem. Pharm. Bull 45(2):349-358.
- CIBRIAN, D.; MENDEZ, J.T.; CAMPOS, R.; YATES III, H.O.; FLORES, J.E. 1995. Insectos forestales de México. Universidad Autónoma de Chapingo- Comisión Forestal de América del Norte (COFAN). Publ. No. 6. 453 p.
- CICCIO, J.F. 1996. Constituyentes de los aceites esenciales de las hojas y espigas de *Piper bisasperatum* (Piperaceae). Revista de Biología Tropical. 44(3)/45(1):35-38.
- COX, N.D. 1980. Flea treatment composition for animals. Patent-US-4.193.986 (USA). 3 p.
- CUBILLO, D.; SANABRIA, G.; HILJE, L. 1997. Mortalidad de adultos de *Bemisia tabaci* con extractos de hombre grande (*Quassia amara*). Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica) 45:25-29.
- EVANS, D.A.; RAJ, R.K. 1988. Extracts of Indian plants as mosquito larvicides. Indian Journal of Medical Research 88:38-41.
- GARCIA, M.; GONZALEZ, S.M.; PAZOS, L. 1996. Actividad farmacológica del extracto acuoso de madera de *Quassia amara* (Simarubaceae) en ratas y ratones albinos. Rev. Biol. Trop. (Costa Rica) 44(3)/ 45(1):47-50.
- GOMEZ, P.; CUBILLO, D.; MORA, G.A.; HILJE, L. 1997. Evaluación de posibles repelentes de *Bemisia tabaci*: II. Extractos vegetales. Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica) 46:17-25.
- GRIJPMMA, P. (ed.). 1973. Studies on the shootborer *Hypsipyla grandella* (Zeller). Lep., Pyralidae. Vol. I. IICA Misc. Publ. No. 101. 91 p.
- GRIJPMMA, P.; RAMALHO, R. 1973. Toona spp., posibles alternativas para el problema del barrenador *Hypsipyla grandella* de las Meliaceae en América Latina. In Grijpma, P. (ed.). Studies on the shootborer *Hypsipyla grandella* (Zeller). Lep. Pyralidae. Vol I IICA Misc. Publ. No. 101 p. 3-17.
- GRUBER, A.K. 1995. Metodología para determinar la viabilidad del nim como fuente de insecticidas botánicos en Nicaragua. In Ocampo, R.A. Ed.. Potencial de *Quassia amara* como insecticida natural. Serie Técnica. Informe Técnico No. 267. CATIE. Turrialba, Costa Rica. p. 137-148.
- GRUBER, A.K.; MENDEZ, M. 1992. Arbol nim en Nicaragua. Cultivo y aprovechamiento como fuente de insecticidas botánicos. Hoja Técnica. Editorial Evangélica, CIEETS, Managua, Nicaragua. 19 p.
- HAASLER, C. 1984. Effects of neem seed extract on the post-embryonic development of the tobacco hornworm, *Manduca sexta*. In Schmutterer, H. and Ascher, K.R.S. Eds. Natural pesticides from the neem tree (*Azadirachta indica* A. Juss) and other tropical plants. (2.1983. Rauischholzhausen, Germany). [Proceedings] Eschborn, Germany. p. 321-330.
- HOUGH-GOLDSTEIN, J.A. 1990. Antifeedant effects of common herbs on the colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae). Environmental Entomology 19(2):234-238.
- KONG, Y.C.; LAU, C.; BUT, P.P.H.; CHENG, K.F.; CAMBIE, R.C. 1984. Quinoline alkaloids from *Ruta graveolens*. Fitoterapia 55(2):67-71.
- KOUL, O.; ISMAN, M.; KETKAR, C. 1990. Properties and uses of neem, *Azadirachta indica*. Canadian Journal of Botany 68:1-11.
- LESKINEN, V.; POLONSKY, J.; BHATNAGAR, S. 1984. Antifeedant activity of quassinoids. Journal of Chemical Ecology 10:1497-1507.
- MANCEBO, F.; HILJE, L.; MORA, G.A.; SALAZAR, R. 2000a. Antifeedant activity of *Quassia amara* (Simaroubaceae) extracts on *Hypsipyla grandella* (Lepidoptera: Pyralidae) larvae. Crop Protection. (Aceptado).

- MANCEBO, F.; HILJE, L.; MORA, G.A.; SALAZAR, R. 2000b. Biological activity of common rue (*Ruta graveolens*) and "tacaco cimarrón" (*Sechium pittieri*) on *Hypsipyla grandella* (Lepidoptera: Pyralidae) larvae. *Revista de Biología Tropical* (Costa Rica). (Presentado).
- MANCEBO, F.; HILJE, L.; MORA, G.A.; SALAZAR, R. 2000c. Biological activity of two neem (*Azadirachta indica*, Meliaceae) products on *Hypsipyla grandella* (Lepidoptera: Pyralidae) larvae. *Crop Protection* (Presentado).
- MATTHEWS, R.W.; MATTHEWS, J.R. 1978. *Insect behavior*. New York. John Wiley & Sons. 507 p.
- METCALF, C.L.; FLINT, W.P. 1965. *Insectos destructivos e insectos útiles*. 1 ed. español. CECSA, México D.F. 1208 p.
- MORDUE, A.J.; BLACKWELL, A. 1993. Azadirachtin: An update. *Journal of Insect Physiology* 39(11):903-924.
- NEWTON, A.C.; BAKER, P.; RAMNARINE, S.; MESEN, J.F.; LEAKEY, R.R.B. 1993. The mahogany shoot borer: Prospects for control. *Forest Ecology and Management* 57:301-328.
- OCAMPO, R.A. (ed.). 1995. Potencial de *Quassia amara* como insecticida natural. Serie Técnica. Informe Técnico No. 267. CATIE. Turrialba, Costa Rica. 185 p.
- ORELLANA, M.A. 1997. Desarrollo de un sistema de cultivo in vitro para los explantes nodales de caoba (*Swietenia macrophylla*, King). Tesis Mag. Sci., CATIE, Turrialba, Costa Rica. 94 p.
- PATIÑO, F. 1997. Recursos genéticos de *Swietenia* y *Cedrela* en los neotrópicos: Propuestas para acciones coordinadas. Dirección de Recursos Forestales, Departamento de Montes. FAO. Roma, Italia. 58 p.
- PAULA, J.R.; VIEIRA, J.C.; SILVA, M.F.; FO, E.; FERNANDES, J.; VIEIRA, P.; PINHEIRO, A.L.; VILELA, E.F. 1997. Sesquiterpenes, triterpenoids, limonoids and flavonoids of *Cedrela odorata* graft and speculations on the induced resistance against *Hypsipyla grandella*. *Phytochemistry* 44(8):1449-1454.
- PILLMOOR, J. B.; WRIGHT, K.; TERRY, A. S. 1993. Natural products as a source of agrochemicals and leads for chemical synthesis. *Pesticide Sciences*. 39 :131-140.
- POLONSKY, J. 1973. Quassinoid bitter principles. *Fortschritte der Chemie Organischer Naturstoffe* 30:101-150.
- REMBOLD, H.; SHARMA, G.K.; CZOPPELT, C. 1982. Growth-regulating activity of azadirachtin in two holometabolous insects. In Schmutterer, H., Ascher, K.R.S. and Rembold, H. Eds. *Natural pesticides from the neem tree (Azadirachta indica A. Juss)*. (1.1980. Rottachegern, Germany). [Proceedings] Eschborn, Germany. p. 121-128.
- SAS INSTITUTE. 1985. *SAS User Guide: Statistics, Version 5 ed.* SAS Institute Inc., Cary, North Carolina. 956 p.
- SCHLÜTER. 1982. Histological observations on the phenomenon of black legs and thoracic spots: Effects of pure fractions of neem kernel extracts on *Epilachna varivestis*. In Schmutterer, H., Ascher, K.R.S. and Rembold, H. Eds. *Natural pesticides from the neem tree (Azadirachta indica A. Juss)*. (1.1980. Rottachegern, Germany). [Proceedings] Eschborn, Germany. p. 97-104.
- SCHMUTTERER, H.; ASCHER, K. R. S.; REMBOLD, H. (eds.). 1982. *Natural pesticides from the neem tree (Azadirachta indica A. Juss)*. GTZ. Eschborn, Germany. 297 p.
- SHANNON, P.J.; VARGAS, C.; CUBILLO, D.; HILJE, L.; WAMASABO, M.A.; SANABRIA, G. 1997. Actividad biológica de hombre grande (*Quassia amara*) sobre *Hypsipyla grandella* (Lep.: Pyralidae). Informe de investigación. CATIE. Turrialba, Costa Rica. 8 p.
- SPEIGHT, M.R. 1997. Forest pests in the tropics: Current status and future threats. In Watt, A.D., Stork, N.E., and Hunter, M.D. Eds. *Forest and insects*. Chapman & Hall, London. p. 207-227.
- TOMERLIN, J.R.; HOWELL, T. 1988. DISTRAIN: A computer program for training people to estimate disease severity on cereal leaves. *Plant Disease* 72:455-459.
- TORRES, J.C. 1950. Pharmacognostic study of rue leaf- Its principle component rutoside and essence. *Farmacognosia* 10:275-361.
- VASUDEVAN, T.N.; LUKNER, M. 1968. Alkaloids from *Ruta angustifolia*, *Ruta chalepensis*, *Ruta graveolens* and *Ruta montana*. *Pharmazie* 23:520.
- VILLALOBOS, R. 1995. Distribución de *Quassia amara* L. ex Blom en Costa Rica, y su relación con los contenidos de cuasina y neocuasina (insecticidas naturales) en sus tejidos. Tesis Mag. Sci., CATIE, Turrialba, Costa Rica. 207 p.
- WARTHEN, J.D. 1990. Part A: Insect feeding deterrents (1976-1980). In Morgan, E.D. and Mandava, N.B. Eds. *CRC Handbook of natural pesticides, V. 6 : Insect attractants and repellents*. Boca Ratón, Florida, CRC Press. p. 23-134.
- WHITMORE, J. L. (ed.). 1976a. Studies on the shootborer *Hypsipyla grandella* (Zeller). Lep., Pyralidae. Vol. II. IICA Misc. Publ. No. 101. 139 p.
- WHITMORE, J. L. (ed.). 1976b. Studies on the shootborer *Hypsipyla grandella* (Zeller). Lep., Pyralidae. Vol. III. IICA Misc. Publ. No. 101. 116 p.
- WILKINS, R.M.; ALLAN, G.G.; GARA, R.I. 1976. Protection of spanish cedar with controlled release insecticides. In Whitmore, J.L. Ed. *Studies on the shootborer Hypsipyla grandella* (Zeller). Lep. Pyralidae. Vol III. CATIE Misc. Publ. No. 1. p. 63-70.
- WILPS H. 1987. Growth and adult molting of larvae and pupae of the blowfly *Phormia terraenovae* in relationship to azadirachtin concentrations. In Schmutterer, H. and Ascher, K.R.S. Eds. *Natural pesticides from the neem tree (Azadirachta indica A. Juss)* and other tropical plants. (3.1986. Nairobi, Kenya). [Proceedings] Eschborn, Germany. p. 299-314.

Sobrevivencia de una cepa de *Pseudomonas putida* antagonista a *Phoma medicaginis* var. *medicaginis* en hojas de alfalfa

Yolanda Guevar
Felix Lukezi

RESUMEN. La alfalfa (*Medicago sativa* L.) es uno de los cultivos forrajeros más importantes. Las enfermedades del follaje afectan su calidad y causan defoliación, reduciendo los rendimientos. El tallo negro y mancha foliar causada por *P. medicaginis* var. *medicaginis* causa grandes pérdidas, especialmente cuando las condiciones son favorables. El uso de plaguicidas es restringido debido a problemas residuales y a su elevado costo. Por tanto, el control biológico representa una estrategia que puede incorporarse en programas de manejo integrado de plagas. En este estudio se determinaron los sitios y estructuras favorables para la sobrevivencia de una cepa de *P. putida*, antagonista a *P. medicaginis* var. *medicaginis* en hojas de alfalfa, así como la sobrevivencia de esta bacteria en la superficie foliar y se evaluó el tamaño de la bacteria en relación al tiempo. Los estudios de microscopía electrónica de barrido mostraron que la bacteria sobrevive en ambas superficies de la hoja, siendo más numerosas en el envés, independientemente del cultivar. Las células bacterianas se encontraron con mayor frecuencia en la base y sobre los tricomas, a lo largo de las nervaduras y cerca de la superficie estomática. El tamaño de las bacterias disminuyó a través del tiempo, lo cual parece indicar que existe algún mecanismo de adaptación para la sobrevivencia.

Palabras claves: *Medicago sativa*, *Phoma medicaginis* var. *medicaginis*, *Pseudomonas putida*, Sobrevivencia, Bacterias antagonistas.

ABSTRACT. Survival of a *Pseudomonas putida* strain antagonistic to *Phoma medicaginis* var. *medicaginis* on leaves of alfalfa. Alfalfa (*Medicago sativa* L.) is one of the most important forage crops. Foliar diseases affect its quality and cause defoliation, reducing yields. Black stem and leaf spot caused by *P. medicaginis* var. *medicaginis* cause great losses, especially when conditions are favorable. The use of pesticides is restricted due to residual problems and their high cost. Therefore biological control represents a strategy that may be incorporated into programmes of integrated pest management. In this study, sites and structures favoring the survival of a strain of *P. putida*, antagonistic to *P. medicaginis* var. *medicaginis* on alfalfa leaves as well as survival of this bacteria on the leaf surface were determined and the size of the bacteria in relation to time was evaluated. Scanning electron microscopy studies showed that the bacteria survives on both surfaces of the leaf, being more numerous on the underside, independent of cultivar. Bacterial cells were found with greater frequency at the base of and on trichomas, along the veins and near stoma surfaces. The size of bacteria decreased over time, which may indicate that some adaptation mechanism for survival exists.

Key words: *Medicago sativa*, *Phoma medicaginis* var. *medicaginis*, *Pseudomonas putida*, Survival, Antagonistic bacteria.

Introducción

La alfalfa (*Medicago sativa* L.) es uno de los cultivos forrajeros más importantes a nivel mundial. Existen

varias enfermedades del follaje que afectan la calidad y desarrollo del cultivo. Una de las más importantes es el tallo negro y mancha foliar causada por el ho

Recibido: 20/04/99. Aprobado: 21/02/2000.

* Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias (CENIAP) Apdo 4653. Maracay 2101. Edo Aragua. Venezuela.

** The Pennsylvania State University. Dpt. of Plant Pathology. University Park. PA 16802. USA.

Phoma medicaginis Malbr. & Roum var. *medicaginis* Boerema (Jones 1989). La aplicación de fungicidas puede ser eficaz para reducir la severidad de los daños, pero no es una medida económicamente adecuada porque se requieren aspersiones frecuentes para controlar la enfermedad, además de los efectos residuales en el cultivo y en el ecosistema. Por tanto, el control biológico se ha recomendado como una estrategia a incorporar en programas de manejo integrado. La mayoría de las bacterias, sean patógenas o saprofitas, pueden multiplicarse en la superficie foliar mientras exista disponibilidad de nutrimentos, provenientes de la planta hospedante o del ambiente externo (Dickinson 1986, Mew y Veracruz 1986).

En investigaciones sobre patógenos de plantas se ha determinado la sobrevivencia de los microorganismos en los hidátodos, yemas, grietas de la corteza, vainas foliares y otros sitios protegidos de la planta, en cultivos anuales y perennes. Los organismos que ocupan esos sitios pueden ser relativamente inactivos o hipobiónticos, en cuyo estado sobreviven por largos períodos (Dickinson 1986). En la superficie foliar, las bacterias parecen predominar en ciertos sitios, tales como las nervaduras o las uniones de las células epidérmicas en el envés de las hojas. Aunque se presenta competencia para habitar dichos sitios, éstos no son colonizados en su totalidad por las bacterias en un momento dado (Bayot y Ries 1986, Leben y Whitmyer 1979, Leben 1988).

Se ha demostrado que la distribución de las poblaciones bacterianas en las hojas de una planta son normalizadas por la función logarítmica. Las hojas que son inoculadas uniformemente, primero muestran una distribución normal del tamaño de sus poblaciones, pero rápidamente desarrollan una distribución normal logarítmica (Hirano *et al.* 1982, Hirano y Upper 1986). El ambiente físico y químico en esos sitios localizados en la superficie foliar puede ser más adecuado para la sobrevivencia de las células bacterianas que en otros sitios. Por tanto, se espera que en esos lugares ocurra mayor competencia entre las células bacterianas. Los nutrimentos aplicados a sitios inhabitables en las hojas no llegan a estar disponibles para las bacterias residentes. En consecuencia, la falta de sitios habitables restringirá la población (Hirano *et al.* 1982, Lindow 1987).

La existencia de sitios de colonización específicos ha sido corroborada por estudios con bacterias con núcleos formadores de hielo (INA+) (Buttner y Amy 1989, Falk 1970, Lindow 1987). Muchos patovares de

Pseudomonas syringae van Hall poseen núcleos formadores de hielo (INA+), pudiendo causar daños por congelamiento en las plantas sensibles mediante la formación de cristales de hielo a temperaturas hasta de $-1,5^{\circ}\text{C}$, mientras que, en ausencia de bacterias con núcleos formadores de hielo, los tejidos herbáceos de las plantas pueden enfriarse a temperaturas menores de -5°C sin sufrir daños por congelamiento. El hielo en las células de la planta, se distribuye inter e intracelularmente, resultando en el rompimiento de las membranas celulares. La reducción de las poblaciones de bacterias INA+ en la superficie foliar disminuye el daño por congelamiento a una temperatura dada (Buttner y Amy 1989). En investigaciones con bacterias INA+ y cepas deficientes de esa propiedad (INA-) de *P. syringae* van Hall se determinó que la preinoculación con la cepa INA- prevenía el establecimiento de la cepa INA+. Lo contrario también resultó cierto, determinándose que bacterias INA+ establecidas en hojas de maíz no fueron desplazadas por inoculaciones posteriores de la cepa INA-. Una cepa de *P. syringae* INA- colonizó hojas, flores y frutos jóvenes de árboles de pera y redujo significativamente la colonización de esos tejidos por cepas INA+ de *P. syringae* y *E. amylovora*. Esto sugiere que el antagonismo intraespecífico e interespecífico de las bacterias en las hojas representa probablemente la exclusión competitiva de bacterias de un nicho ocupado previamente, más que el desplazamiento competitivo de tal nicho (Lindow 1987).

El patrón de distribución de nutrimentos en la superficie foliar no es uniforme, pero tiende a ser mayor a lo largo de las líneas de unión de las células epidérmicas y alrededor de la base de los tricomas. El incremento de nutrimentos y las diferencias en microclima son determinantes para el aumento del crecimiento de microorganismos en esas regiones (Blackeman 1985).

La información referente a los patrones de colonización de hojas de frijol francés, luego de inoculadas con bacterias en un cuarto de crecimiento, mostró que, inmediatamente después de la inoculación, las células se distribuyeron en forma uniforme sobre las paredes anticlinales de las células epidérmicas en el área de inoculación. Más tarde, se observó el crecimiento diferencial en áreas específicas, en las cuales ocurrió colonización alrededor y sobre las nervaduras, con las células bacterianas concentradas en los ángulos de las uniones de las nervaduras y alrededor de las bases de las glándulas foliares. Los poros estomatales también fueron colonizados (Lindeman *et al.* 1984).

En vista de la importancia de la alfalfa como planta forrajera, el objetivo de este estudio fue determinar los sitios y estructuras favorables para el establecimiento de una cepa de *P. putida* (Trevisan) Migula, antagonista a *P. medicaginis* var. *medicaginis* en hojas de alfalfa, con el fin de evaluar la sobrevivencia de la bacteria en la superficie foliar y el tamaño de la célula bacteriana en relación con el tiempo. Esto permitirá conocer mejor las condiciones que favorecen a las bacterias antagonistas con el propósito de lograr una mayor efectividad en las aplicaciones de campo y por consiguiente mejorar el control biológico de *P. medicaginis*, en este importante cultivo.

Materiales y métodos

Plantas hospedantes: Se utilizaron plantas de alfalfa, de los cultivares 154 y PI 430563. Las plantas crecieron en condiciones de invernadero y se colocaron en cámara de rocío durante 48 h después de aplicados los tratamientos y posteriormente se llevaron de nuevo al invernadero.

Preparación de la suspensión bacteriana. Se utilizó la cepa PSU831 de *P. putida*, previamente seleccionada por poseer propiedades antagonistas al hongo *P. medicaginis* var. *medicaginis*, causante del tallo negro y mancha foliar de la alfalfa (Jones 1989). La cepa utilizada se multiplicó en cajas de Petri que contenían el medio B de King. Se preparó la suspensión bacteriana con colonias de 48 h de crecimiento, usando agua bidestilada y Caldo B de King + 10 g dextrosa/L. La suspensión se llevó a una concentración de 0,5 de densidad óptica, medida en un espectrofotómetro a una longitud de onda de 460 nm. Se añadió Tween 20 en la proporción 0,1 ml/L como tensoactivo. La suspensión se aplicó a las plantas mediante el método de inmersión del follaje de plantas individuales en la suspensión bacteriana durante 30 minutos. En el tratamiento testigo se aplicó la suspensión bacteriana sin nutrientes.

Las plantas se dejaron secar a temperatura ambiente durante 1 ó 2 h y luego se pasaron a una cámara de rocío, a una temperatura de 20- 21°C y a 90% de HR, en la oscuridad por un período de 48 h; posteriormente se llevaron a condiciones de invernadero, con una temperatura media de 28°C y 77% de humedad relativa.

Observación con microscopio electrónico de barrido (MEB): Se colectaron muestras, de las hojas inoculadas, a diferentes intervalos de tiempo: 0, 1, 3 y 8 días después de la aplicación de los tratamientos. Peque-

ños trozos de tejido foliar (4-5 mm) se fijaron en glutaraldehído al 3% durante 2 h a temperatura ambiente y luego se pasaron al refrigerador por 24 h (Falk *et al.* 1970).

El fijador se removió del tejido mediante deshidratación con una serie de alcoholes al 10, 25, 40, 50, 70, 85, 95% y tres cambios de alcohol absoluto (etanol) durante 15 minutos para cada uno. Las muestras se dejaron hasta el día siguiente en alcohol absoluto y luego se secaron con el método de punto crítico en un secador Polaron E 3000 a 1100 PSI. Las secciones se montaron en tacos de aluminio usando tintura de plata. Posteriormente, fueron ionizadas en un Sputter Coater ISI PS-2 durante 6 minutos para ser recubiertas con 420 Å de oro en la superficie. La observación de las muestras se hizo en un MEB ISI - 60, utilizando una distancia de 8 mm y un potencial de aceleración de 10 KV. Las micrografías fueron tomadas con el sistema fotográfico instantáneo incorporado al MEB, usando film Polaroid 52 (ASA 400).

Sobrevivencia de la bacteria en la superficie foliar: La sobrevivencia de la bacteria se determinó tomando una hoja de cada planta tratada, a la cual se le había aplicado 24 h antes una suspensión de la cepa antagonista PSU831 en caldo B de King + 10 g de dextrosa/L. Las hojas se colocaron en tubos de ensayo que contenían 5 ml de solución amortiguadora; los tubos se agitaron durante 45 m y luego se tomó 0,1 ml de la suspensión que fue distribuida uniformemente en cajas de Petri conteniendo medio B de King. Las cajas se incubaron a 28°C durante 48 a 72 h, haciendo chequeos periódicos para observar la aparición de las colonias bacterianas. Se contó el número de células bacterianas en el haz y en el envés de las hojas, registrando el número real de bacterias presentes en 30 campos ópticos por muestra usando el MEB.

Para determinar variaciones del tamaño de la bacteria a través del tiempo, se recolectaron muestras y se procesaron según se describió para la observación en microscopía electrónica, y se tomó una serie de micrografías. Se hicieron mediciones del largo y ancho de las células bacterianas en las fotografías, utilizando el sistema computarizado MAC Measure (Hirano y Upper 1986). Se midieron 80 células de cada muestra proveniente de los diferentes intervalos de tiempo, después de la aplicación del tratamiento. Los datos se procesaron usando SAS (SAS 1985) para análisis de varianza. Se usó la mínima diferencia significativa para la comparación de medias.

Resultados y discusión

Observación con microscopio electrónico de barrido (MEB). Las observaciones revelaron los sitios y estructuras más favorables para el establecimiento y sobrevivencia de las bacterias en hojas de alfalfa. Estas se encontraron con frecuencia en los tricomas (glandulares y pilosos), a lo largo de las nervaduras en ambas superficies de la hoja (haz y envés) y en la base de los tricomas (Fig 1). Las bacterias también fueron observadas cerca del área de los estomas (Fig 2B) o en las depresiones o grietas entre dos células adyacentes. Algunas veces las bacterias aparecían embebidas en el tejido foliar.

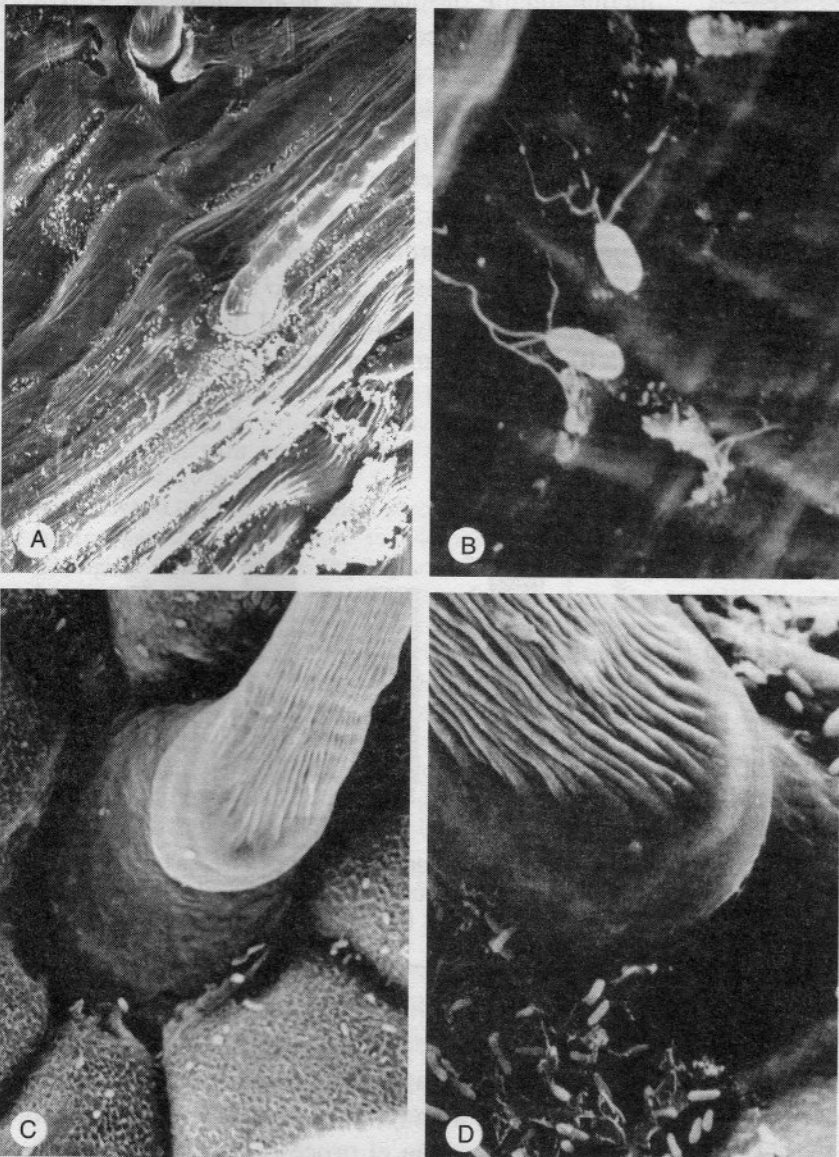


Figura 1. Estructuras y sitios de ubicación de la bacteria antagonista (PSU831) en hojas de alfalfa A) Bacterias en la nervadura principal en el envés (570 x). B) Bacterias en la misma nervadura (7700 X). C) Bacterias en las células basales del tricoma (1300 X). D) Bacterias localizadas en la base del tricoma (2500 X).

A las 24 h se observó que las bacterias antagonistas se encontraban distribuidas en forma uniforme y formaban una red o malla sobre la superficie foliar (Fig 2), lo cual facilitaría el ataque al hongo patógeno una vez que éste llega a la hoja. En el caso del tratamiento testigo, cuando se aplicó la suspensión del antagonista sin nutrientes adicionales, las células bacterianas se localizaban principalmente en las grietas o depresiones entre dos células de la epidermis foliar, ya que éstos son los sitios donde se conserva mejor la humedad.

Estos resultados corroboran estudios previos acerca de la influencia de la humedad relativa en la sobrevivencia de las bacterias epifíticas en plantas de pepino, donde la mayoría de las bacterias estaban localizadas cerca de las nervaduras o en las partes que retenían mejor el agua (Leben y Whitmoyer 1979, Leben 1988). La humedad relativa demostró tener un gran efecto en la sobrevivencia y la actividad de las bacterias epifíticas; la humedad relativa elevada resultó mas favorable que la humedad relativa baja para la actividad bacteriana. Dichos estudios sugieren que existe una influencia secuencial de la humedad relativa en la naturaleza, probablemente en muchas combinaciones de planta-bacteria, ya que los resultados fueron similares con dos patovares de *P. syringae* y con otras bacterias epifíticas no identificadas (Leben 1988). Los sitios favorecidos para sobrevivencia a corto plazo fueron las yemas terminales y axilares y cerca de la unión de la nervadura principal y el pecíolo en el envés de las hojas. Se observaron numerosas bacterias presentes en las depresiones entre las nervaduras y las células epidérmicas o entre las células basales de las nervaduras y los tricomas. En el haz de las hojas, las bacterias también se encontraron asociadas en forma irregular en las nervaduras, células epidérmicas y las células basales de los tricomas. También determinaron que la elevada humedad relativa favorece la colonización continua de las yemas terminales, la distribución de las células bacterianas en las partes extendidas de la planta y la sobrevivencia en

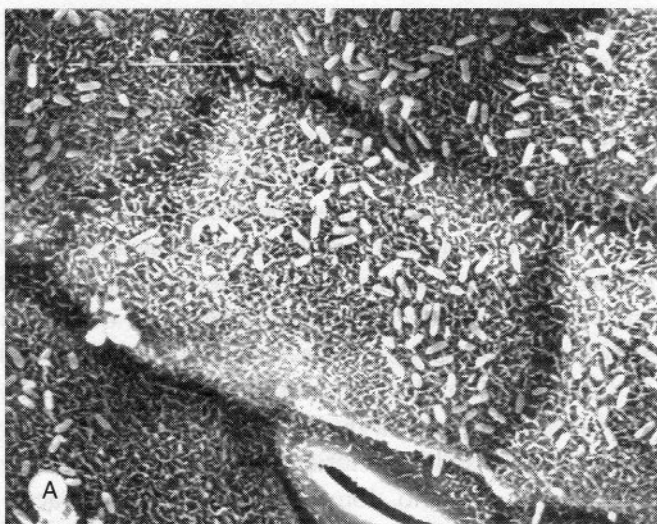


Figura 2. A) Superficie foliar de alfalfa colonizadas por bacterias antagonistas, 24 h después de ser aplicadas con BK+dextrosa (2000 X). B) Bacterias alrededor de la superficie estomatal (4400 X).

las partes expuestas (Hass y Rottem 1976, Leben 1988, Lewis y Gattie 1990, Shapiro 1991).

Sobrevivencia de la bacteria en la superficie foliar. El conteo del número real de bacterias presente en ambas superficies (haz y envés) de los cultivares 154 y PI 430563, reveló que aunque hubo mayor número de células bacterianas presentes en el cultivar 154, la diferencia no fue significativa. Sin embargo, el número de bacterias que sobrevivió en el envés de las hojas, fue significativamente mayor que el número de bacterias en el haz, independientemente del cultivar (Cuadro 1). Esto se debe probablemente a que en el envés las bacterias se encuentran protegidas contra la radiación solar, la cual afecta la multiplicación de éstas y además incide en la conservación de la humedad.

Las observaciones y mediciones realizadas, revelaron que el tamaño de la célula bacteriana se redujo considerablemente a través del tiempo durante el ex-

Cuadro 1. Población de células bacterianas en ambas superficies de la hoja de alfalfa de los cultivares 154 y PI430563, tratadas con la cepa antagonista PSU831.

| Cultivar | No. bacterias ¹ | |
|----------|----------------------------|---------|
| | Haz | Envés |
| 154 | 24,00 b ² | 40,50 a |
| | 17,23 b | 33,26 a |
| PI430563 | | |

¹ Promedio de células bacterianas en 30 campos por muestra.

² Las medias seguidas por la misma letra no tienen diferencia significativa a $P=0,05$ de acuerdo a la mínima diferencia significativa. $m_{SD} = 8,47$.

perimento. Los tamaños mayores se determinaron inmediatamente después de la aplicación de los tratamientos (hora 0) como se esperaba, ya que las bacterias estaban creciendo en un medio de cultivo experimental con todos los nutrientes disponibles y en medio acuoso 100%. El largo promedio de la célula se redujo drásticamente de 1,87 micrones (día 0) a 1,25 micrones (día 1), para luego aumentar a 1,47 micrones (día 3) y disminuir nuevamente a 1,22 micrones a los 8 días después de aplicado el tratamiento. El ancho se redujo en forma gradual desde 0,74 micrones (día 0) hasta 0,56 micrones en el último día de muestreo (día 8) (Fig.3).

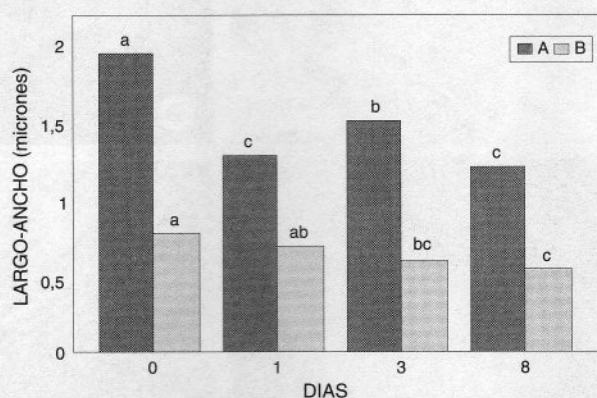


Figura 3. Variación en el tamaño de células bacterianas aplicadas en hojas de alfalfa a través del tiempo. (A = largo, B = ancho). Valores con la misma letra no tienen diferencia significativa ($P = 0,05$).

Estos resultados parecen indicar que las células bacterianas reducen su tamaño como un mecanismo de sobrevivencia ante la escasez de agua y especialmente cuando no hay suficientes nutrientes disponibles. Se conoce que el proceso de inanición-sobrevivencia ocurre en ausencia de sustratos proveedores de energía (Amy y Morita 1983). En estudios realizados con 16 aislamientos de bacterias marinas, la reducción

del tamaño de las células fue un fenómeno común durante el proceso de inanición-sobrevivencia y algunas cepas perdieron sus flagelos. La reducción de las células incrementó la proporción de superficie a volumen de esas células. Una mayor proporción de superficie a volumen puede ayudar a las células a obtener sustratos de un ambiente pobre en nutrientes. El proceso ayuda a asegurar que una especie bacteriana pueda sobrevivir largos períodos en condiciones de falta de fuentes de energía y esas células que sobreviven la inanición se pueden reactivar luego, cuando las condiciones sean nuevamente favorables (Amy y Morita 1983, Amy *et al.* 1983).

Conclusiones

El tamaño de la célula bacteriana se redujo a través del tiempo, a los 8 días después del tratamiento el largo de la célula disminuyó significativamente, con res-

pecto al determinado el día 0. El ancho también tuvo una reducción significativa. Esta reducción parece indicar que las células inician un estado de latencia o dormancia como un mecanismo de sobrevivencia ante la escasez de agua y nutrientes disponibles. Debido a que las bacterias en estado latente son incapaces de atacar las estructuras del hongo, el mejor tratamiento será el que no promueva la latencia durante el período crítico del cultivo de alfalfa. Las bacterias antagonistas sobrevivieron en mayor número en el envés de las hojas, por lo tanto las aspersiones dirigidas hacia esa área facilitarían el establecimiento en el follaje. Las aplicaciones frecuentes de nutrientes seleccionados y agentes protectores de luz ultravioleta o protectores osmóticos, pueden estimular la multiplicación y establecimiento de las bacterias antagonistas en la superficie foliar, logrando mayor efectividad en el control del hongo patógeno.

Literatura citada

- AMY, P.S.; MORITA R.Y. 1983. Starvation-survival patterns of sixteen freshly isolated open-ocean bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 45:1109-1115.
- AMY, P.S.; PAULING, C.; MORITA R.Y. 1983. Recovery from nutrient starvation by a marine *Vibrio* sp. *Appl. Environ. Microbiol.* 45: 1685- 1690.
- BAYOT, R.G.; RIES S.M. 1986. Role of motility in Apple Blossom infection by *Erwinia amylovora* and studies of Fire Blight control with attractant and repellent compounds. *Phytopathology* 76:441-445.
- BLAKEMAN, J.P. 1985. Ecological succession of leaf surface microorganisms in relation to biological control. *In* Biological Control on the Phylloplane. C.E. Windels; S.R. Lindow, Eds. St. Paul, Minnesota, APS. p. 6-30.
- BUTTNER, M.P.; AMY, P. 1989. Survival of Ice Nucleation-Active and Genetically Engineered Non-Ice-Nucleating *Pseudomonas syringae* Strains after Freezing. *Applied and Environmental Microbiology* 55(7):1690-1694.
- DICKINSON, C.H. 1986. Adaptations of microorganisms to climatic conditions affecting aerial plant surfaces. *Microbiology of the Phyllosphere*. N.J. Fokkema; J. van der Heuvel, Eds. Cambridge, Cambridge University Press. p. 77-100.
- FALK, R.H.; GIFFORD E.; CUTTER, E. 1970. Scanning Electron microscopy of developing plant organs. *Science* 168:1471-1472.
- HASS, J.H.; ROTTEM, J. 1976. *Pseudomonas lachrymans* adsorption, survival and infectivity following precision inoculation of leaves. *Phytopathology* 66:992-997.
- HIRANO, S.; NORDHEIM, E.V.; ARNY D. C.; UPPER, C.D. 1982. Lognormal distribution of epiphytic bacterial population on leaf surfaces. *Appl. Environ. Microbiol.* 44:695-700.
- HIRANO, S.; UPPER, C.D. 1986. Temporal, spatial and genetic variability of leaf-associated bacterial populations. *In* Microbiology of the Phyllosphere. Fokkema; van der Heuvel Eds. Cambridge, Cambridge University Press. p. 235- 250.
- HOOK, G.R.; RASBAND, W. 1987. Mac Measure: a low cost, easy-to-operate quantitative morphometrics system for the Macintosh Computer. *In* Annual Meeting of the Electron Microscopy Society of America (45, 1987, San Francisco). Proceedings. San Francisco 94101-6800.
- JONES, M. 1989. Potential use of bacteria for biological control of black stem and leaf spot of alfalfa. Thesis M.S. The Pennsylvania State University.
- LEBEN, C.; WHITMOYER, R.E. 1979. Adherence of bacteria to leaves. *Can. J. Microbiol* 25:869-901.
- LEBEN, C. 1988. Relative Humidity and the survival of epiphytic bacterium with buds and leaves of cucumber plants. *Phytopathology* 78:179-185.
- LEWIS, D.L.; GATTIE, D.K. 1990. Effects of cellular aggregation on the ecology of microorganisms. *ASM News* 56:263-268.
- LINDEMAN, J.; ARNY D.; UPPER C.D. 1984. Epiphytic populations of *P. syringae* on snap bean and nonhost plants and the incidence of bacterial brown spot disease in relation to cropping patterns. *Phytopathology* 74:1329-1333.
- LINDOW, S.E. 1986. Strategies and practices of biological control of INA bacteria on plants. *In* Microbiology of the Phyllosphere. Fokkema and van der Heuvel Eds. Cambridge, Cambridge University Press.
- LINDOW, S.E. 1987. Competitive exclusion of epiphytic bacteria by Ice - *Pseudomonas syringae* mutants. *Appl. Environ. Microbiol.* 53:2520.
- MEW, T.W.; VERA CRUZ, C.M. 1986. Epiphytic colonization of hosts and non-hosts plants by phytopathogenic bacteria. *In* Microbiology of the Phyllosphere. N.J. Fokkema and van der Heuvel, Eds. Cambridge, Cambridge. University Press. p. 269- 282.
- SAS Institute Inc. 1985. SAS User's Guide: Statistics, Version 5 ed. Cary, NC: SAS Institute Inc. p. 433-506.
- SHAPIRO, J.A. 1991. Multicellular behavior of bacteria. *ASM News* 57:247-253.

Actividad biológica de un Virus de la Poliedrosis Nuclear en *Heliothis armigera* y *Spodoptera exigua*

Patricio Borges Maracajá*
Enrique Vargas Osuna**
Cándido Santiago Álvarez**

RESUMEN. Se determinó la actividad biológica del inóculo y de los preparados obtenidos por multiplicación del Virus de la Poliedrosis Nuclear de *H. armigera* (VPNHa), en larvas de tercer instar de *H. armigera* y *S. exigua*, hospedante natural y alterno, respectivamente. Las pendientes de las respectivas rectas de regresión (log dosis-mortalidad) no difirieron significativamente, pero la DL_{50} del inóculo (3212 CI/larva) fue significativamente mayor que las de los productos obtenidos en *H. armigera* (48 CI/larva), o en *S. exigua* (24 CI/larva), sin diferencias significativas entre estas dos últimas. Al calcular las potencias relativas, los biopreparados obtenidos en larvas de *S. exigua* fueron significativamente más virulentos (36 veces) que el inóculo.

Palabras clave: *Heliothis armigera*, *Spodoptera exigua*, Virus de la poliedrosis nuclear, VPNHa, Virulencia, Control biológico.

ABSTRACT. Biological activity of Nuclear Polyhydrous Virus in *Heliothis armigera* and *Spodoptera exigua*. The biological activity of original inoculum and preparations obtained by multiplication of *H. armigera* Nuclear Polyhydrous Virus (NPVHa), in larvae of third instar *H. armigera* and *S. exigua*, the natural and alternate host respectively, was determined. There were no significant differences between the slopes of the regression lines (log dose-mortality) but the LD_{50} of the inoculum (3212 IB/larva) was significantly higher than that of the preparations obtained from *H. armigera* (48 IB/larva), or from *S. exigua* (24 IB/larva), with no significant differences between these last two. On calculating the relative potencies, the biopreparations obtained from larvae of *S. exigua* were significantly more virulent (36 times) than the inoculum.

Key words: *Heliothis armigera*, *Spodoptera exigua*, NPVHa, Virulence, Nuclear Polyhydrous virus, Biological control.

Introducción

Los baculovirus pertenecen a la Familia Baculoviridae, la cual está compuesta de tres subgrupos: A (virus de la poliedrosis nuclear, VPN), B (virus de la granulosis, VG) y C (virus nuclear no ocluido, VNO) (Franciki *et al.* 1991). Estos patógenos exclusivos de artrópodos, tienen la capacidad de infectar a numerosas especies de insectos, principalmente lepidópteros. Los dos primeros subgrupos se destacan por características de interés práctico (especificidad, seguridad de empleo, facilidad de aplicación y estabilidad) para su utilización como materias activas de insecticidas microbianos, que compiten favorablemente con los in-

secticidas sintéticos por el control selectivo de las especies de interés agrícola, sin causar daño a los insectos benéficos (Gröner 1986). Por el contrario, los virus del subgrupo C tienen una limitada acción microbiana, debido a su difícil identificación porque no presentan un cuerpo de inclusión (CI).

A pesar de que existen preparados comerciales con base en baculovirus para el control de plagas (Tanada y Kaya 1993), el impulso definitivo para la generalización de su uso está condicionado a la superación de algunos obstáculos, tales como su lenta acción letal y el alto costo de producción in vivo (Huber 1986).

El ámbito de hospedantes de un baculovirus suele

Recibido: 20/08/98. Aprobado: 21/02/2000.

*Prof. de la ESAM - Escola Superior de Agricultura de Mossoró, C. P. 137, CEP 59600970 - Mossoró-RN - Brasil. E-mail: fitossan@esam.br

**Prof. del DCRAF/ETSIAM/ Universidad de Córdoba 14080 Córdoba - España.

estar restringido al nivel de familia o género, aunque hay algunas excepciones, como el VPN de *Autographa californica* (Gröner 1986) y de *Anagrapha falcifera* (Hostetter y Putler 1991) que pueden presentar un amplio ámbito de actividad dentro del orden Lepidoptera. Las especies próximas taxonómicamente al hospedante original de un baculovirus y susceptibles al mismo, han sido propuestas como hospedantes alternos óptimos para su multiplicación a gran escala, con mejor rendimiento en la producción (Martignoni e Iwai 1986). Una misma especie puede ser seleccionada como hospedante para la multiplicación a gran escala de más de un baculovirus, con la consiguiente reducción en los costos.

La multiplicación de baculovirus en hospedantes, tanto naturales como alternos, produce modificaciones de su actividad biológica, como ha sido señalado con los VPN de *Choristoneura fumiferana* (Stairs *et al.* 1981) y de *A. californica* (Tompkins *et al.* 1981), lo cual aumenta la posibilidad de mejorar la virulencia de un inóculo.

El objetivo de este trabajo fue conocer la influencia de la especie hospedante utilizada en la multiplicación del VPNHa, sobre la producción y la actividad biológica de los biopreparados obtenidos.

Materiales y métodos

El baculovirus utilizado fue la cepa del VPN de *H. armigera* procedente de la colección de la Unidad de Entomología Agrícola y Forestal de la E.T.S.I.A.M. de Córdoba España, aislada en Badajoz. El inóculo fue obtenido como una suspensión acuosa de $4,18 \times 10^8$ CI/ml⁻¹, por multiplicación del virus en larvas de *H. armigera* y purificación por el método de Griffith (1972).

Las larvas de *H. armigera* procedían de la población mantenida en condiciones de insectario ($26 \pm 2^\circ\text{C}$; $70 \pm 5\%$ de humedad relativa; fotoperíodo de 16 h luz / 8 h oscuridad) con dieta artificial (Santiago-Alvarez 1977).

La multiplicación del VPNSI (VPN *Spodoptera littoralis*), en ambas especies hospedantes se realizó aplicando un volumen conocido de la suspensión viral sobre discos de alfalfa, según el método descrito por Santiago-Alvarez y Vargas-Osuna (1988). Las suspensiones virales se prepararon diluyendo el inóculo en agua destilada que contenía un adhesivo agrícola (Agral) al 0,1% y las concentraciones de las mismas fueron elegidas a partir de los resultados de bioensayos previos, con el objetivo de obtener alta mortalidad

larvaria. Los discos fueron ofrecidos a larvas recién mudadas en tercer instar (L₃) que fueron colocadas individualmente en cajas de plástico. Las larvas del tratamiento testigo fueron tratadas de manera idéntica y se les aplicó agua destilada provista del adhesivo.

Las larvas que en 48 h no consumieron completamente el disco fueron desechadas. A estas larvas se les suministró dieta artificial sin formaldehído y las tapas cerradas de las cajas fueron sustituidas por otras con malla de rejilla para la ventilación.

Conforme las larvas murieron fue diagnosticada la causa de su muerte por observación de la sintomatología externa de los cadáveres y en casos necesarios, mediante examen microscópico de una pequeña muestra de hemolinfa. Las larvas muertas a causa de poliedrosis se agruparon según la especie y el instar de desarrollo y se congelaron para proceder posteriormente a la extracción y purificación del virus, según el método descrito por Vargas Osuna *et al.* (1994).

La riqueza en CI de las suspensiones virales se calculó utilizando la cámara de Malassez, por conteo bajo microscopio óptico con contraste de fase.

La actividad biológica de los productos virales se determinó por bioensayo sobre larvas de tercer instar de *H. armigera*, siguiendo el método utilizado para la producción del VPNHa. Para todos los productos se empleó una serie idéntica de cuatro dosis, en progresión geométrica de razón 5. A las larvas se les ofreció discos de alfalfa de 5 mm de diámetro, sobre los que se depositaron 2 μl de la suspensión correspondiente. Se utilizan 30 larvas por repetición y se hicieron 4 repeticiones.

Con los resultados de la mortalidad larvaria se realizó el cálculo de las ecuaciones de las rectas de regresión log dosis-mortalidad Probit y de las dosis letales medias (DL₅₀) mediante el análisis de Finney (1971). Para la estimación y comparación de las rectas de regresión se utilizó el programa Polo (LeOra Software Inc. Berkeley, CA, USA) basado en el modelo de Finney (1971).

Los tiempos letales medios (TL₅₀) de cada dosis y repetición, se obtuvo según la fórmula de Biever y Hostetter (1971). Los valores se sometieron a un análisis de varianza. Cuando se hallaron diferencias significativas, las medias se compararon mediante la prueba de Diferencia Mínima Significante (DMS).

Resultados y discusión

En el Cuadro 1 se presentan las mortalidades de las larvas de *H. armigera* tratadas con dosis crecientes del

VPNHa original y de los productos de multiplicación en el hospedante natural (VPNHa-Ha) y en el alterno (VPNHa-Se). Los porcentajes de mortalidad corregidos estuvieron directamente relacionados con la dosis y para una misma dosis, los valores menores correspondieron al VPNHa original.

Cuadro 1. Número y porcentaje de larvas de *H. armigera* de tercer instar muertas por tres productos basados en VPNHa a cuatro dosis diferentes.

| Producto | Dosis CI/larva | Larvas tratadas (No.) | n | Mortalidad | |
|----------|----------------|-----------------------|----|------------|--------------|
| | | | | % | % Corregido* |
| Testigo | 0 | 86 | 4 | 4,65 | 0,00 |
| VPNHa | 8 | 86 | 13 | 15,12 | 10,91 |
| | 40 | 84 | 22 | 26,19 | 22,56 |
| | 200 | 87 | 30 | 34,48 | 31,27 |
| | 1000 | 87 | 37 | 42,53 | 39,66 |
| VPNHa-Ha | 8 | 86 | 24 | 27,91 | 24,34 |
| | 40 | 86 | 58 | 67,44 | 65,79 |
| | 200 | 87 | 75 | 86,21 | 85,52 |
| | 1000 | 84 | 82 | 97,62 | 97,48 |
| VPNHa-Se | 8 | 85 | 30 | 35,29 | 32,11 |
| | 40 | 84 | 41 | 48,81 | 46,27 |
| | 200 | 88 | 57 | 64,77 | 63,06 |
| | 1000 | 84 | 71 | 84,52 | 83,74 |

*: corrección de ABBOTT (1925).

n: número de larvas muertas por VPN

Las rectas de regresión estimadas, mediante el análisis de regresión Probit, para los productos del VPNHa en *H. armigera* tuvieron un ajuste estadísticamente aceptable (Cuadro 2). La mayor pendiente correspondió a la recta de regresión VPNHa-Ha de los

productos de multiplicación (Fig. 1) y difirió significativamente de la del VPNHa (χ^2 0,95 = 23,98; 2 g.l.). Mientras que la pendiente de VPNHa fue mayor que VPNHa-Ha (Cuadro 2).

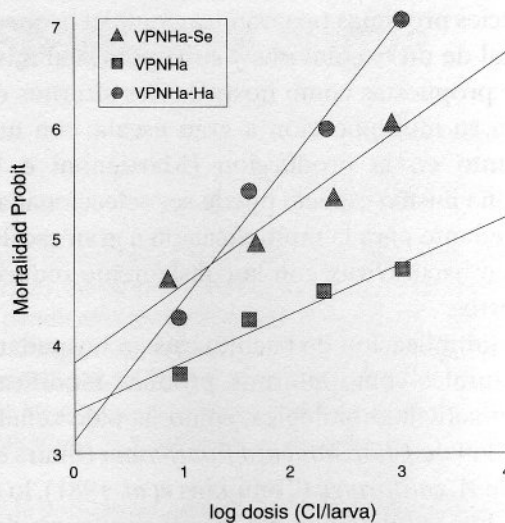


Figura 1. Rectas de regresión ajustadas independiente para larvas de *H. armigera* tratadas con VPN

Las DL_{50} de los virus producidos en el hospedante natural (VPNHa-Ha) y en el alterno (VPNHa-Se) fueron de 24 y 48 CI/larva, respectivamente. Según se desprende de la observación de los límites de confianza (Cuadro 2), la DL_{50} del VPNHa original fue mucho más elevada, siendo diferente significativamente a los productos de multiplicación, sin que entre éstos existieran diferencias significativas.

El cálculo de las potencias relativas se realizó para el VPNHa y el producto de multiplicación en *S. exigua*. A partir de un nuevo ajuste de las rectas de regresión con la condición de paralelismo (Fig. 2), se ob-

Cuadro 2. Rectas de regresión estimadas y DL_{50} del VPNHa en larvas de *H. armigera* y en *S. exigua* tratadas con dos productos de VPN.

| Producto | χ^2 2 gl | Ecuación recta de regresión | Error pte. | DL_{50} CI/larva | L mites Fiduciales 95% | |
|--------------------------------------|------------------|--------------------------------|------------|-----------------------|---------------------------|----------|
| | | | | | Inferior | Superior |
| VPNHa en <i>Heliothis armigera</i> . | | | | | | |
| VPNHa | 0,54 | $y=0,43x+3,48$ | 0,11 | 3212 | 880 | 82662 |
| VPNHa-Ha | 1,49 | $y=1,24x+3,28$ | 0,13 | 24 | 16 | 34 |
| VPNHa-Se | 0,91 | $y=0,68x+3,86$ | 0,10 | 48 | 25 | 83 |
| VPNHa en <i>Spodoptera exigua</i> | | | | | | |
| VPNHa | 0,50 | $y=0,96x+0,77$ | 0,11 | 23681 | 14640 | 35717 |
| VPNHa-Ha | 3,82 | $y=0,86x+0,37$ | 0,14 | 255240 | - | - |

tuvo que el VPNHa-Se fue 35,66 veces más virulento que el VPNHa, siendo diferente significativamente (Cuadro 3).

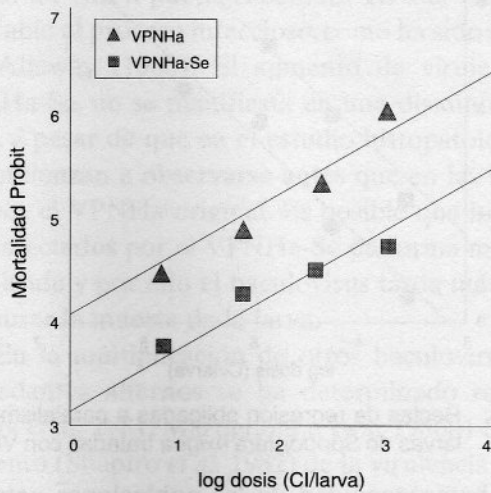


Figura 2. Rectas de regresión obligadas a paralelismo para larvas de *H. armigera* tratadas con VPNHa.

En el Cuadro 4 se presentan los tiempos letales medios para las dosis que alcanzaron el 50% de mortalidad larvaria. Se observó los TL_{50} del VPNHa-Ha y VPNHa-Se, los cuales disminuyeron con el aumento de la dosis. Asimismo, para cada dosis, el VPNHa multiplicado en el hospedante alterno, *S. exigua*, tuvo siempre valores de TL_{50} mayores que el VPNHa multiplicado en su hospedante primario, aunque las diferencias no fueron estadísticamente significativas.

La mortalidad de las larvas de *S. exigua* con los tratamientos con el VPNHa original y con los productos de multiplicación VPNHa-Ha (Cuadro 5) está en relacionada directamente con la dosis. El VPNHa multiplicado en *S. exigua* (VPNHa-Se), en las dosis

utilizadas, causó mortalidades que se aproximaron o alcanzaron el 100% de las larvas tratadas.

Las rectas de regresión estimadas para el VPNHa y el VPNHa-Ha (Fig. 3) se ajustaron bien a los datos y sus pendientes se aproximaron a 1. La DL_{50} del VPNHa-Ha fue bastante más alta que la del VPNHa (Cuadro 2).

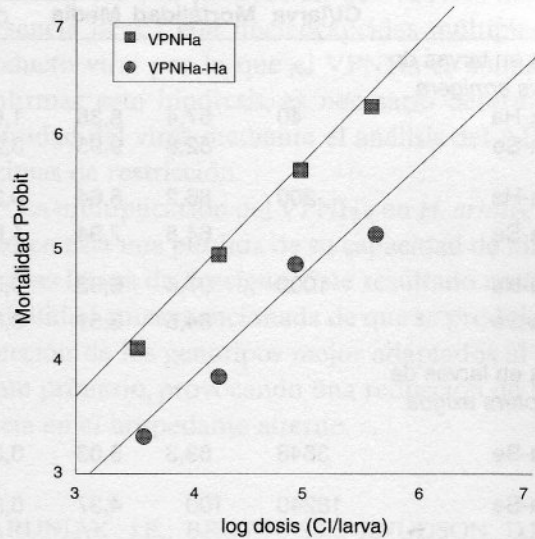


Figura 3. Rectas de regresión ajustadas independiente para larvas de *S. exigua* tratadas con VPNHa.

El test de paralelismo no fue significativo estadísticamente y la estimación de las nuevas rectas de regresión, con pendiente común (Fig. 4), permitió el cálculo de las potencias relativas. El VPNHa fue significativamente más activo (10 veces) que el VPNHa-Ha (Cuadro 3).

En general, se observó una disminución del TL_{50} con el aumento de la dosis del VPNHa y del VPNHa-Se. A igual dosis de inóculo, el producto de multiplicación del VPNHa en el hospedante alterno, *S. exigua*, pre-

Cuadro 3. Rectas de regresión obligadas a paralelismo y potencias relativas del VPNHa en larvas de *Heliothis armigera* y en *Spodoptera exigua*.

| Producto | Ecuación recta de regresión | DL_{50} CI/larva | Potencia relativa | Límites Fiduciales 95% | |
|------------------------------------|-----------------------------|--------------------|-------------------|------------------------|----------|
| | | | | Inferior | Superior |
| VPNHa en <i>Heliothis armigera</i> | | | | | |
| VPNHa | $y=0,57x+3,19$ | 1551 | 1 | | |
| VPNHa-Se | $y=0,57x+4,07$ | 43 | 35,66 | 12,95 | 148,85 |
| VPNHa en <i>Spodoptera exigua</i> | | | | | |
| VPNHa | $y=0,93x+0,94$ | 23303 | 1 | | |
| VPNHa-Ha | $y=0,93x+0,01$ | 235400 | 0,10 | 0,03 | 0,27 |

sentó menores TL_{50} que el VPNHa y el VPNHa-Ha, con diferencias significativas respecto al VPNHa-Ha a la dosis más alta (Cuadro 4).

Cuadro 4. Tiempos letales medios (TL_{50}) del VPNHa en larvas de *H. armigera* y *S. exigua* de acuerdo a diferentes dosis.

| Producto | Dosis CI/larva | % Mortalidad | TL_{50} (d as) | |
|--|-------------------|-----------------|------------------|----------|
| | | | Media | σ |
| VPNHa en larvas de <i>Heliothis armigera</i> | | | | |
| VPNHa-Ha | 40 | 67,4 | 8,38 | 1,63 |
| VPNHa-Se | | 52,8 | 9,95 | 3,26 |
| VPNHa-Ha | 200 | 86,2 | 6,64 | 0,29 |
| VPNHa-Se | | 64,8 | 7,94 | 1,09 |
| VPNHa-Ha | 1000 | 97,6 | 6,03 | 0,57 |
| VPNHa-Se | | 84,5 | 6,51 | 0,35 |
| VPNHa en larvas de <i>Spodoptera exigua</i> | | | | |
| VPNHa-Se | 3648 | 83,3 | 5,03 | 0,36 |
| VPNHa-Se | 18240 | 100 | 4,37 | 0,25 |
| VPNHa | 91200 | 73,3 | 7,28 | 2,10 |
| VPNHa-Se | | 100 | 4,16 | 0,43 |
| VPNHa | 456000 | 89,4 | 6,19 ab | 2,17 |
| VPNHa-Ha | | 56,2 | 7,71 a | 2,03 |
| VPNHa-Se | | 98,9 | 4,17 b | 0,36 |

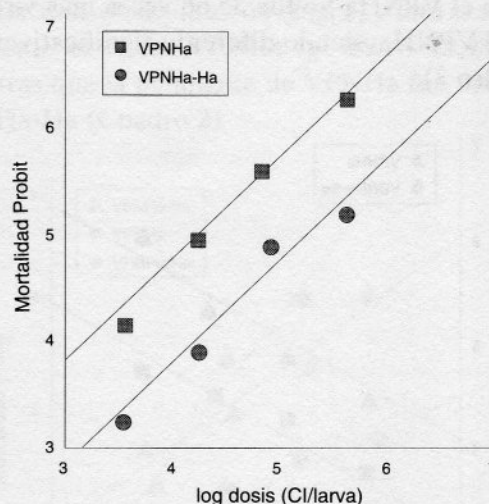


Figura 4. Rectas de regresión obligadas a paralelismo para larvas de *Spodoptera exigua* tratadas con VPNHa.

La heterogeneidad de las poblaciones naturales de baculovirus ha sido demostrada por la identificación y aislamiento de variantes genotípicas (Lee y Miller 1978, Smith y Summers, 1978, Maruniak *et al.* 1984). Las pendientes más elevadas de las rectas de regresión y la DL_{50} de los productos de multiplicación del VPNHa más baja tendió a una disminución de la heterogeneidad del inóculo como consecuencia de una selección de los genotipos más activos. La selección de genotipos más virulentos constituye una alternativa para obtener mejor inóculo para la multiplicación a escala comercial de los baculovirus.

Cuadro 5. Mortalidad de larvas de *S. exigua* tratadas en tercer instar con los VPNHa

| Producto | Dosis CI/larva | Larvas tratadas | | Mortalidad | |
|----------|-------------------|-----------------|----|------------|--------------|
| | | No. | n | % | % Corregido* |
| Testigo | 0 | 59 | 3 | 5,08 | 0,00 |
| VPNHa | 3648 | 88 | 22 | 25,00 | 20,97 |
| | 18240 | 90 | 44 | 48,89 | 46,15 |
| | 91200 | 90 | 66 | 73,33 | 71,87 |
| | 456000 | 85 | 76 | 89,41 | 88,83 |
| VPNHa-Ha | 3648 | 88 | 8 | 9,09 | 4,21 |
| | 18240 | 89 | 15 | 16,85 | 12,43 |
| | 91200 | 89 | 41 | 46,07 | 43,20 |
| | 456000 | 89 | 50 | 56,18 | 53,85 |
| VPNHa-Se | 3648 | 90 | 75 | 83,33 | 82,40 |
| | 18240 | 87 | 87 | 100 | 100 |
| | 91200 | 89 | 89 | 100 | 100 |
| | 456000 | 90 | 89 | 98,89 | 98,84 |

n: número de larvas muertas por el VPN.

*: corrección de ABBOTT (1925)

La mayor virulencia del VPNH_a multiplicado en *S. exigua* podría deberse al cambio morfológico a nucleocápsidas múltiples. La asociación de nucleocápsidas en un virión puede repercutir en una interacción favorable al proceso infeccioso, como ha sido sugerido por Allaway (1983). El aumento de virulencia del VPNH_a-Se, no se manifiesta en una disminución del TL₅₀, a pesar de que en el estudio histopatológico los CI comienzan a observarse antes que en las infecciones por el VPNH_a original. Es posible que los tejidos sean afectados por el VPNH_a-Se de forma menos generalizada y por ello el baculovirus tarda más tiempo en causar la muerte de la larva.

En la multiplicación de otros baculovirus sobre hospedantes alternos se ha determinado reducción (Stairs *et al.* 1981, Martignoni e Iwai 1986b) o mantenimiento (Shapiro *et al.* 1982) de la virulencia sobre el hospedante primario.

Las larvas de *S. exigua* fueron especialmente sus-

ceptibles al VPNH_a multiplicado en el hospedante alterno (VPNH_a-Se), tanto en términos de DL₅₀ como de TL₅₀. Este resultado apoya la hipótesis de la activación de una infección latente por un VPN presente en estado oculto en la población larvaria. La infección puede haber sido inducida en las larvas hospedantes utilizadas para la producción del VPNH_a-Se, por la presencia de CI con nucleocápsidas múltiples en el producto viral por lo que el VPNH_a es simple. Para confirmar esta hipótesis, es necesario determinar la identidad del virus mediante el análisis del ADN con enzimas de restricción.

La multiplicación del VPNH_a en *H. armigera* provocó en éste una pérdida de su capacidad de infección para las larvas de *S. exigua*. Este resultado reafirma la posibilidad antes mencionada de que se produjera una selección de los genotipos mejor adaptados al hospedante primario, provocando una reducción de la virulencia en el hospedante alterno.

Literatura citada

- ALLAWAY, G.P.; PAYNE, C.C. 1983: A biochemical and biological comparison of three european isolates of nuclear polyhedrosis viruses from *Agrotis segetum* Arch. of Virology 75:43-54.
- BIEVER, K.D.; HOSTETTER, D.L. 1971. Activity of the nuclear polyhedrosis virus of the cabbage looper evaluated at programmed temperatures regimens. J. Invertebr. Pathol. 18:81-84.
- FINNEY, D.J. 1971. Probit analysis. Cambridge Univ. Press. 333 p.
- FRANCKI, R.I.B.; FAUQUET, C.M.; KNUDSON, D.L.; BROWN, F. 1991. Classification and Nomenclature of Viruses. Arch. Virol. Suppl. 2. s.p.
- GRIFFITH, I.P. 1982. A new approach to the problem of identifying baculoviruses. In Microbial and viral pesticides. E. Kurstak, Ed. New York, Marcel Dekker. p. 507-531.
- GRÖNER, A. 1986. Specificity and safety of Baculovirus. In The biology of baculoviruses. Biological properties and molecular biology. R.R. Granados; B.A. Federici, Eds. Boca Raton, Florida, CRC Press. Vol. 1. p. 177-202.
- HOSTETTER, D.L.; PUTTLER, B. 1991. A new broad host spectrum nuclear polyhedrosis virus isolated from a celery looper, *Anagrapha falcifera* (Kirby) (Lepidoptera: Noctuidae). Environ. Entomol. 20:1480-1488.
- HUBER, J. 1986. Use of baculoviruses in pest management programs. In The biology of baculoviruses. Practical application for insect control. R.R. Granados; B.A. Federici, Eds. Boca Raton, Florida, CRC Press. Vo. 2. p. 181-202.
- LEE, H.H.; MILLER, L.K. 1978. Isolation of genotypic variants of *Autographa californica* nuclear polyhedrosis virus. J. Virol. 27:754-767.
- MARTIGNONI, M.E.; IWAI, P.J. 1986. Propagation of multicapsid nuclear polyhedrosis virus of *Orgyia pseudotsugata* in larvae of *Trichoplusia ni*. J. Invertebr. Pathol. 47:32-41.
- MARUNIAK, J.E.; BROWN, S.E.; KNUDSON, D.L. 1984. Physical maps of SfMNPV baculovirus DNA and its genomic variants. Virology 136:221-234.
- SANTIAGO-ALVAREZ, C. 1977. Virus de insectos: multiplicación, aislamiento y bioensayo de Baculovirus. Fundación Juan March. Serie Universitaria No. 43. 99 p.
- SANTIAGO-ALVAREZ, C.; VARGAS-OSUNA, E. 1988. Reduction of reproductive capacity of *Spodoptera littoralis* males by a nuclear polyhedrosis virus (NPV). J. Invertebr. Pathol. 52:142-146.
- SHAPIRO, M.; MARTIGNONI, M.E.; CUNNINGHAM, J.C.; GOODWIN, R.H. 1982. Potential use of the saltmarsh caterpillar as a production host for nuclear polyhedrosis virus. J. Econ. Entomol. 75:69-71.
- SMITH, G.E.; SUMMERS, M.D. 1978. Analysis of baculovirus genomes with restriction endonucleases. Virology 89:517-527.
- STAIRS, G.R.; FRASER, T.; FRASER, M. 1981. Changes in growth and virulence of a nuclear polyhedrosis virus from *Choristoneura fumiferana* after passage in *Trichoplusia ni* and *Galleria mellonella*. J. Invertebr. Pathol. 38:230-235.
- TANADA, Y.; KAYA H.K. 1993. Insect Pathology. San Diego, Academic Press. 666 p.
- TOMPKINS, G.J.; VAUGHN, J.L.; ADAMS, J.R.; REICHELDERFER, C.F. 1981. Effects of propagating *Autographa californica* nuclear polyhedrosis virus and its *Trichoplusia ni* variant in different hosts. Environ. Entomol. 10:801-806.
- VARGAS-OSUNA, E.; ALDEBIS, H.K.; CABALLERO, P.; LIPA J.J.; SANTIAGO-ALVAREZ, C. 1994. A newly described Baculovirus (Subgroup B) from *Ocnogyna baetica* (Rambur) (Lepidoptera: Arctiidae) in Southern Spain. J. Invertebr. Pathol. 63:31-36.

Caracterización de aislamientos de *Phytophthora infestans* nativos de Costa Rica*

Vera Sánchez-Garita**
Richard C. Shattock***
Elkin Bustamante**

RESUMEN. Se recolectaron hojas de tomate y papa con síntomas típicos de tizón causado por *P. infestans*, a partir de las cuales se obtuvo el cultivo *in vitro* de 18 aislamientos (en medio de cultivo a base de arveja, con sucrosa, benomil, rifampicina y ampicilina, procedentes de cinco sitios localizados a diferentes altitudes en Costa Rica. Todos los aislamientos fueron del grupo de cruzamiento A1, dos fueron resistentes a metalaxil y algunos mostraron evidencia de especialización hacia tomate o papa. El ADN mitocondrial y nuclear fue extraído y caracterizado con base en el análisis de polimorfismo. Todos los aislamientos correspondieron al halotipo Ia. Cinco aislamientos presentaron igual patrón de ADN del núcleo en todos los locus, uno mostró una banda en la posición 9 y el otro no mostró bandas claras. Los aislamientos analizados corresponden a una población no descrita antes en Costa Rica.

Palabras clave: *Phytophthora infestans*, Tomate, Papa, Caracterización, Aislamientos, Costa Rica, Cultivo *in vitro*.

ABSTRACT. Characterisation of native *Phytophthora infestans* isolates of Costa Rica. Leaves of tomato and potato with typical symptoms of late-blight caused by *P. infestans* were collected and from which 18 isolates *in vitro* culture were obtained (on pea agar with sucrose, benomyl, rifampicin and ampicillin) coming from five sites located at different altitudes in Costa Rica. All the isolates were of the A1 mating type group, two were resistant to metalaxyl and some showed evidence of specialisation towards tomato or potato. The mitochondrial and nuclear DNA was extracted and characterised according to an analysis of polymorphisms. All the isolates corresponded to halotype Ia. Five isolates showed the same pattern of nuclear DNA at all loci, one showed a band in position 9 and another did not show clear bands. The isolates analysed correspond to a new population not previously described in Costa Rica.

Key words: *Phytophthora infestans*, Tomato, Potato, Characterisation, Isolates, Costa Rica, *In vitro* culture.

Introducción

El tizón tardío causado por *Phytophthora infestans* (Mont.) De Bary, es la enfermedad fungosa más importante en los cultivos de tomate y papa. En Costa Rica, el Valle Central es la principal área de producción de estos cultivos. El cultivo de papa se ubica en las laderas del Volcán Irazú, provincia de Cartago a 1200 – 3000 msnm. Mientras que el tomate se cultiva en un número mayor de localidades, entre 1200 y 1500 msnm. *P. infestans* es difícil de manejar, principalmente porque estos cultivos se siembran durante todo el

año, lo cual permite al hongo mantener una alta cantidad de inóculo, además las condiciones de clima en el Valle Central son favorables al patógeno. En los últimos años, el manejo de esta enfermedad se ha complicado por el desarrollo de resistencia de *P. infestans* a fungicidas como el metalaxil.

Este patógeno tiene entre sus hospedantes a varias especies de plantas silvestres como *Lycopersicon pimpinellifolium*, común en las áreas productoras. En Costa Rica, no se han determinado diferencias en la patogenicidad de este hongo hacia los hospedantes

Recibido: 09/06/99. Aprobado: 21/02/2000.

* Parte de la tesis de Doctorado del primer autor. University of Wales, Bangor, U.K.

** CATIE, Área de Agricultura Ecológica. 7170 Turrialba, Costa Rica.

*** School of Biological Sciences, University of Wales, Bangor, Gwynedd, U.K. LL57 2UW.

principales. Sin embargo, es posible que al igual que en otros países (Roberson 1991, Legard *et al.* 1995) existan sub-poblaciones con especificidad hacia alguno de los hospedantes.

La mayoría de las especies de *Phytophthora* son consideradas saprófitos poco eficientes pero patógenos muy agresivos (Brasier y Hansen 1992). Particularmente, la especie *P. infestans* presenta más características de parásito obligado que saprófito facultativo. Por lo tanto, su aislamiento en medio de cultivo, directamente desde el tejido de plantas contaminadas puede resultar difícil (Tsao 1970, Hohl 1991). No obstante, con los recientes avances en técnicas bioquímicas y moleculares (Goodwin *et al.* 1996) la caracterización de este patógeno puede realizarse en un medio artificial (Carter *et al.* 1990).

En Costa Rica, experiencias anteriores han demostrado la dificultad de aislar y mantener *P. infestans in vitro*. Se han realizado muy pocos trabajos de caracterización molecular de este patógeno. La colección *in vitro* y caracterización de aislamientos de *P. infestans* de este país se limita a los aislamientos caracterizados por Hohl y Iselin (1984) y Hohl (1991), todos dentro del grupo de cruzamiento A1. Algunos de ellos se han caracterizado por aloenzimas y se observó un genotipo único con el alelo 94 en el locus L peptidasa, no detectado anteriormente (Goodwin *et al.* 1994, Goodwin 1996).

El objetivo de esta investigación fue desarrollar una metodología para el aislamiento y establecimiento *in vitro* de *P. infestans* obtenidos en Costa Rica, así como su caracterización de acuerdo con el grupo de cruzamientos, resistencia a metalaxil, especialización en cuanto al hospedante y polimorfismo a nivel de ADN mitocondrial y nuclear.

Materiales y métodos

El trabajo se realizó en el Laboratorio de diagnóstico de la Unidad de Fitoprotección del CATIE y el Laboratorio de Fitopatología de la Escuela de Ciencias Biológicas de la Universidad de Gales, UK. Las muestras de hojas de tomate con síntomas típicos de tizón tardío se colectaron en las áreas más importantes del cultivo en Costa Rica, tales como Grecia (Gre), Turrialba (Chitaría (Chi), Cimarrones (Cim), San Ramón (SRa), Guayabo (Gua)), Cervantes (Cer) y Paraíso (Par). Se tomaron muestras de hojas de plantas de papa, que mostraban síntomas de la enfermedad, en plantaciones ubicadas en las faldas del Volcán Irazú (SDu) y Cervantes (Cer). Los sitios muestreados

más distantes fueron Turrialba y Grecia aproximadamente 110 km entre sí. Todas las plantaciones muestreadas se encuentran entre 625 msnm (Turrialba) y 3000 msnm (Sanatorio Durán).

Aislamiento del patógeno. Se evaluaron dos métodos para aislar *P. infestans* de tejido enfermo: 1) Pequeñas secciones de tejido enfermo se colocaron directamente en medio de cultivo, 2) Las hojas infectadas, previamente lavadas durante 30 minutos para eliminar los residuos de fungicida y suelo, se incubaron durante 24 horas en una cámara húmeda a 22°C para estimular la esporulación. Con la esporulación se preparó una suspensión de esporangios (aproximadamente 1×10^4 ml⁻¹) con la cual se inocularon plantas de tomate y papa, de 4-6 semanas de crecimiento bajo techo. Las plantas se inocularon utilizando motitas de algodón impregnadas con aproximadamente 60 µl de la suspensión (Guzmán *et al.* 1966) y se colocaron en una cámara de rocío durante 18 h a 22°C, para favorecer la penetración del patógeno. Al observar los primeros síntomas de la enfermedad se colocaron porciones de tejido enfermo en medio de cultivo.

En ambos casos, se evaluó el efecto de la esterilización del tejido enfermo sobre el crecimiento del patógeno, utilizando 0,5 y 1,0% de hipoclorito de sodio durante 30 o 60 segundos.

Evaluación en medio de cultivo. Se cultivó el patógeno en un medio de cultivo a base de frijol lima (Thurston 1957), jugo V8, "cornmeal", arveja, centeno (Caten y Jinks, 1968, Hohl 1991) maíz dulce y tomate verde. Se evaluó el crecimiento del patógeno cuando se adicionó al medio de cultivo: benomil (100 µg ml⁻¹), paracloronitro-benzeno (PCNB) (100 µg ml⁻¹); nystatin (100 µg ml⁻¹); ampicilina (25 µg ml⁻¹) y rifampicina (50 mg µl⁻¹), en todas las combinaciones posibles; así como de sucrosa en dos concentraciones: 3,5 o 7 g L⁻¹, todo esto se conoce como BRAS por sus siglas. Las cajas de Petri, conteniendo el medio de cultivo, fueron incubadas a 18°C. El crecimiento radial (mm) del hongo se midió cada dos días.

Caracterización de los aislamientos

Grupo de cruzamiento. Inicialmente, en el CATIE se determinó el grupo de cruzamiento según el método descrito por Shattock *et al.* (1990). Se cultivó cada aislamiento en medio de cultivo a base de arveja + BRAS, junto a los aislamientos NR 142 y NR 160, conocidos como del grupo de cruzamiento A1. No obstante, estos aislamientos fueron recolectados en Costa Rica pero forman parte de la colección de Gran Bre-

taña (Hohl y Iselin 1984, Hohl 1991). Posteriormente, la prueba se repitió en Bangor, Universidad de Gales, con cepas conocidas del grupo de cruzamiento A2. En ambos casos se evaluó la presencia o ausencia de oosporas cuando los micelios entraron en contacto

Patogenicidad y especialización hacia el hospedante. Se evaluó la patogenicidad de cuatro aislamientos, tres obtenidos en tomate (Chi001t, Cer002t, Cer004t) y uno en papa (Cer006p). Se inocularon foliolos desprendidos de tres cultivares de tomate (Hayslip, Dina y Catalina), dos cultivares de papa (Atzimba y Segura) y dos accesiones de *L. pimpinellifolium* (47 y 70) de la colección de germoplasma del CATIE. Para la inoculación se usaron motitas de algodón impregnadas con 60 ml de suspensión de esporangios $1 \times 10^4 \text{ ml}^{-1}$ de *P. infestans* (Guzmán *et al.* 1966). En cada hospedante se inocularon 10 foliolos de la tercera y cuarta hojas más joven de plantas de tomate de 6-8 semanas de edad; los foliolos inoculados se incubaron en cámaras húmedas a 18°C antes de ser transferidas a un cuarto de crecimiento a 22°C. La enfermedad fue evaluada 5 días después de la inoculación, como tamaño de la lesión (mm^2) por foliolo, como lo describe Tooley *et al.* (1986).

En Bangor se evaluó la patogenicidad de otros seis aislamientos (LaM003t, Cer005t, SDu009p, SRA010t, LaM030t y Par031t) obtenidos en tomate y el aislamiento de papa (Cer006p) incluido en la prueba anterior. Se inocularon foliolos de los cultivares de tomate: FMX-93A, Perialbo, Perialine y New Yorker y el cultivar de papa Home Guard, siguiendo el procedimiento antes descrito.

Resistencia a metalaxil. Para todos los aislamientos se evaluó el efecto del fungicida sobre el crecimiento de *P. infestans*, se preparó el medio de cultivo con 10 o 20 mg ml^{-1} de metalaxil y se midió el crecimiento radial después de 5 días de cultivo, a 18°C, el cual se comparó con el crecimiento de una cepa resistente a metalaxil (Caten y Jinks 1968).

Extracción y análisis de ADN. Se extrajo el ADN de los siete aislamientos (LaM003t, Cer005t, Cer006p, SDu009p, SRA010t, LaM030t y Par031t) que lograron crecer en Bangor, después de ser transportados desde Costa Rica. Estos aislamientos se cultivaron durante dos semanas en medio líquido a base de arveja; en 1 L se adicionaron 20 mg de ampicilina, 25 mg de rifampicina y 50 mg de nystatin. El micelio fue congelado en nitrógeno líquido y posteriormente molido antes de almacenarlo a -20°C. Se extrajo el ADN del hongo molido según el método de A. Drenth, que es una adaptación del método de Pieterse *et al.* (1991).

Amplificación del ADN mitocondrial (ADNmt). Todas las muestras se sometieron a una amplificación mediante la técnica conocida como PCR, se usaron dos iniciadores específicos P2 y P4 (G. W. Griffith y D. S. Shaw, sin publicar). El P2 produce una banda 1070 bp cuando corta el ADN mt con la enzima de restricción *Msp I*, patrón característico para tres de los genotipos de ADN mt: Ia, Ib, y IIa descritos por Carter *et al.* (1990). P4 produce una banda 957 bp cuando se corta el ADN mt con la enzima *EcoRI* lo que permite separar el polimorfismo con el tipo II, designado como tipo IIb (Carter *et al.* 1990). El ciclo térmico usado fue: 1 ciclo de 94°C durante 90 segundos; 40 ciclos de 94°C durante 40 segundos; 55°C durante 60 segundos y 72°C durante 90 segundos; 5 ml del producto amplificado se digirió con 20 ml de enzima *Msp I* o *EcoRI*. Posteriormente, el ADN se separó con electroforesis en un gel (2% agarosa), la separación tardó dos horas.

Polimorfismo del ADN del núcleo (ADNn). Para todas las muestras se utilizó el método conocido como RG57 (Goodwin *et al.* 1992). Aproximadamente 10 ml de ADN fue digerido con la enzima de restricción *EcoRI*, y se separó en un gel (0,8% agarosa), la separación tardó 18 horas a 35 V. Posteriormente, fue transferido a una membrana (Hybond N+), la hibridación se realizó con ^{32}P y el polimorfismo se detectó con autoradiografía.

Resultados y discusión

Aislamiento del patógeno. El aislamiento del patógeno realizado directamente de las muestras traídas del campo, no fue exitoso porque el crecimiento de *P. infestans* fue muy lento, lo cual facilitó el crecimiento de agentes contaminantes. Además, es posible que el uso excesivo de fungicidas limitara el crecimiento del patógeno. Únicamente se logró el cultivo *in vitro* de *P. infestans* mediante el método indirecto, a partir de plantas cultivadas bajo techo, previamente inoculadas con el patógeno obtenido en el campo. No obstante, únicamente se logró el establecimiento *in vitro* de 18 aislamientos de un total de 72 muestras recolectadas en tomate y papa. El mejor método de esterilización del tejido antes de colocarlo en medio artificial fue su inmersión en hipoclorito de sodio 0,5% durante 60 segundos. El medio de cultivo que permitió mejor crecimiento fue el que se preparó con 300 g de arveja (la arveja se hirvió durante 10 minutos y se usó solo el caldo), 12 g de agar, benomil ($100 \mu\text{g ml}^{-1}$); rifampicina ($50 \mu\text{g ml}^{-1}$); ampicilina ($25 \mu\text{g ml}^{-1}$) y 7 g de sucrosa L^{-1} (arveja + BRAS).

En los otros medios de cultivo, el crecimiento fue nulo o muy poco. Algunos investigadores han informado la dificultad de establecer *P. infestans* en medio artificial (Tsaio 1970). Shaw (1991) señaló que algunos aislamientos de papa crecen en medios a base de centeno, pero no pueden hacerlo en medio de avena y sugiere que ésto podría deberse a la presencia de sustancias inhibitorias o a la ausencia de los nutrientes requeridos. Algunos aislamientos han sido descritos como V8-tímidos (Shattock *et al.* 1990) porque no crecen en el medio conocido como Campbells V-8. Por su parte Hohl (1991) indica que en algunos casos el patógeno no puede hacer la conexión fisiológica del tejido vivo al medio artificial y continuar creciendo.

El crecimiento radial de los aislamientos después de 14 días en medio de cultivo de arveja + BRAS varió entre 5 y 35 mm (Cuadro 1). Este crecimiento coincide con el informado por Hohl (1991), para dos aislamientos costarricenses, siendo de 1,3 y 1,8 mm por día. Sin embargo, se observó una disminución en el crecimiento del patógeno después de varias transferencias a medio fresco; no obstante, no presentaban contaminación aparente. Algunos aislamientos como Chi001t y Gre007t dejaron de crecer después de dos o más transferencias a cajas de Petri con el mismo medio. Por esta razón fue necesario realizar la caracterización únicamente de los aislamientos que continuaron creciendo.

Grupo de cruzamiento. Todos los aislamientos obtenidos fueron del grupo de cruzamiento A1. Este resultado coincide con los trabajos de Holh (1989) en el cual analizaron dos aislamientos costarricenses del mismo grupo de cruzamiento A1, el cual tiene la mayor distribución en el mundo. Sin embargo, de acuerdo al análisis del ADN mitocondrial, seis de estos aislamientos corresponden al halotipo Ia, lo cual los hace diferentes al linaje clonal conocido como viejo, que corresponde al grupo de cruce A1 y al halotipo Ib (Goodwin *et al.* 1994).

Resistencia a metalaxil. Dos aislamientos, SDu009p y SRa010t, obtenidos de papa y tomate, respectivamente, fueron resistentes a metalaxil, inclusive a la concentración más alta evaluada 20 $\mu\text{g ml}^{-1}$. El aislamiento de papa fue obtenido en la estación experimental del Ministerio de Agricultura y Ganadería de Costa Rica, dedicada exclusivamente a la reproducción de este cultivo. El aislamiento resistente de tomate se obtuvo en una localidad de Turrialba donde se produce una pequeña cantidad de tomate.

Cuadro 1. Crecimiento radial de aislamientos de *P. infestans*, después de 14 días en medio de arveja + BRAS a 18°C.

| Lugar | Aislamiento | Crecimiento radial (mm)1 |
|--------------|-------------|--------------------------|
| Turrialba | Chi001t | 5 |
| | LaM003t | 15 |
| | SRa010t | 35 |
| | Cim011t | 20 |
| | Gua012t | 8 |
| | Gua013t | 6 |
| | SRa016t | 5 |
| | LaM030t | 25 |
| Cervantes | Cer002t | 5 |
| | Cer004t | 5 |
| | Cer005t | 33 |
| | Cer006p | 16 |
| | Cer018t | 5 |
| | Cer019t | 20 |
| Grecia | Gre007t | 5 |
| | Gre008t | 6 |
| Volcán Irazú | SD009p | 16 |
| Paraíso | Par031t | 35 |
| Colección | NR 142 | 24 |
| | NR 160 | 23 |

NR (Hohl y Iselin, 1984), colección de Bangor.
Procedencia del aislamiento t= tomate, p= papa.

Otros dos aislamientos (Gre007t y Gre008t) presentaron resistencia intermedia a 10 $\mu\text{g ml}^{-1}$ del fungicida (Cuadro 2). Estos aislamientos se colectaron en Grecia que es una de las zonas productoras de tomate más importante de Costa Rica. Estos resultados coinciden con investigaciones realizadas en otros países y con experiencias de los productores en esta localidad, quienes han observado una reducción importante del control de tizón tardío en esta hortaliza.

Patogenicidad y especialización hacia el hospedante. Se observaron diferencias con respecto a la patogenicidad y severidad entre los aislamientos evaluados en Costa Rica en cinco genotipos. El cuadro 3, muestra que los tres aislamientos obtenidos en tomate (Chi001t, Cer002t y Cer004t) mostraron una severidad muy alta en papa, pero cierta especificidad en tomate, particularmente el aislamiento Cer002t que una corriente causó daño a un cultivar de tomate (Catalina). El aislamiento obtenido en papa (Cer009p) presentó las lesiones más pequeñas en tomate y papa, pero no fue patogénico en *L. pimpinellifolium*. Todos los aislamientos presentaron la menor severidad en el tomate silvestre.

En la segunda prueba de patogenicidad, realizada en Bangor con siete aislamientos (LaM003t, Cer005t,

Cuadro 2. Efecto de metalaxil (10 y 20 µg ml⁻¹) sobre 11 aislamientos de *P. infestans* en Costa Rica, después de 7 días de crecimiento en medio de cultivo de arveja + BRAS a 18°C.

| Aislamiento | Crecimiento (%) ^a | |
|---------------------|------------------------------|-----------------------|
| | 10 g ml ⁻¹ | 20 g ml ⁻¹ |
| Cer002t | 0 s | 0 s |
| LaM003t | 10 s | 0 s |
| Cer004t | 0 s | 0 s |
| Cer005t | 0 s | 0 s |
| Cer006p | 3 s | 0 s |
| Gre007t | 20 i | 0 s |
| Gre008t | 60 i | 15 i |
| SDu009p | 92 r | 79 r |
| SRa010t | 100 r | 80 r |
| Cim011t | 0 s | 0 s |
| LaM030t | 0 s | 0 s |
| Par031t | 0 s | 0 s |
| 88/1/1 ^b | 100 r | 92 r |

a= porcentaje de crecimiento en medio de cultivo con metalaxil, con respecto al crecimiento en el testigo (medio libre de fungicida, promedio de dos repeticiones). b= testigo resistente de la colección de Bangor, UK.

s= sensitivo < 10%, i= intermedio 10-60%, r= resistente > 60%. Procedencia del aislamiento: t = tomate, p = papa.

Cer006p, SDu009p, SRa010t, LaM030t y Par031t) se observó evidencia de especialización de algunos aislamientos a genotipos de tomate o papa (Cuadro 4). Dos aislamientos obtenidos en plantas de tomate (LaM003t y LaM030t) fueron menos severos en el cultivar Home Guard de papa, presentando pequeñas lesiones (40-10 mm²). Los dos aislamientos obtenidos en papa (Cer006p y SDu009p) produjeron menor severidad en genotipos de tomate (lesiones entre 0 y 150 mm²). Legard *et al.* (1995) obtuvieron resultados semejantes, informando especialización de *P. infestans* hacia papa o tomate, al encontrar aislamientos que produjeron lesiones mucho más grandes y con mayor esporulación en papa que en tomate; los cuales son conocidos como no agresivos en tomate. Sin embargo, al igual que Legard *et al.* (1995) en esta investigación se observaron aislamientos que producen igual severidad en tomate y papa como el SRa010t y Par031t, ambos obtenidos en tomate, los cuales presentaron un genotipo típico agresivo en tomate y papa.

ADN mitocondrial y nuclear

Se realizó la extracción y análisis del ADN mitocondrial y nuclear de los siete aislamientos que crecieron en medio artificial, cuando se cultivaron en Bangor. Sin embargo, un error en el proceso hizo que no se lo-

Cuadro 3. Tamaño de lesión (mm²) causado por cuatro aislamientos de *Phytophthora infestans* en foliolo desprendidos de dos cultivares de papa, tres de tomate comercial y dos accesiones de tomate silvestre (*L. pimpinellifolium*), después de 5 días de inoculación a 22°C.

| Hospedante | Aislamiento y tamaño de la lesión (mm ²) | | | |
|------------------|--|---------|---------|---------|
| | Chi001t | Cer002t | Cer004t | Cer006p |
| Papa | | | | |
| Atzimba | 1020 ab | 285 cd | 1080 a | 31 b |
| Segura | 1035 a | 900 a | 1050 a | 68 a |
| Tomate comercial | | | | |
| Catalina | 565 bc | 475 b | 640 b | 41 b |
| Dina | 175 de | 0 d | 0 c | 30 b |
| Hayslip | 615 bc | 0 d | 615 b | 0 c |
| Tomate silvestre | | | | |
| 47 | 140 cd | 72 cd | 0 c | 0c |
| 70 | 0 e | 0 d | 70 c | 0c |

Separación de medias de acuerdo a la Prueba de Rango Múltiple de Duncan, igual letra en la misma columna indica no diferencia entre hospedantes (alfa= 0,05).

Procedencia de aislamiento t = tomate, p = papa.

grara la amplificación del ADN de un aislamiento (Par031t). Por lo tanto, se caracterizaron seis aislamientos: LaM003t, Cer005t, Cer006p, SDu009p, SRa010t y LaM030t.

Todos los aislamientos costarricenses evaluados presentaron ADN mitocondrial de halotipo Ia (Carter *et al.* 1990). En otros países los genotipos Ia, IIa y IIb (conocidos como nuevos) se han asociado con los genotipos que llegaron a Europa provenientes de México en 1976, que actualmente se conocen como el genotipo viejo, ADNmt halotipo Ib (Carter *et al.* 1991) (Fig. 1).

El análisis de ADN nuclear no mostró polimorfismo, todos los aislamientos presentaron el mismo patrón de banda: 000000001001101000110011, donde 1 significa presencia y 0 ausencia de banda ubicadas en la posición de 1-25 (de izquierda a derecha). Excepto por una banda extra que presentó el aislamiento LaM003t, en la posición 9. Este aislamiento fue obtenido en 1993 en el mismo sitio que el aislamiento LaM030t recolectado en 1995, y corresponden al mismo tipo de cruzamiento, ADNmt y presentan sensibilidad al metalaxil; sin embargo, el aislamiento LaM030t no presentó banda en la posición 9 (Fig. 2).

El genotipo determinado en esta investigación no corresponde a ninguno de los clones descritos por Fray y Goodwin (1995), a pesar de que el patrón de ADN coincide con el genotipo BC-1 (Goodwin *et al.* 1996) aislado en papa en 1992 en British Columbia, el genotipo BC-1 corresponde al grupo de cruzamiento

A2, al genotipo glucosafosfato isomerasa 100/111 y presenta resistencia a metalaxil.

El ADN mitocondrial no es afectado por recombinación y pasa sin modificación a la progenie, por lo tanto, el análisis de ADN mitocondrial es muy impor-

Cuadro 4. Severidad y tamaño de la lesión (AL) en foliolos de tomate (FMX-93, Dieralbo, New Yorker y Perialine) y papa (Home Guard) inoculados con siete aislamientos de *P. infestans* procedentes de Costa Rica, después de 5 días de incubación a 18°C.

| Aislamientos | Hospedante | Tamaño de la lesión (mm ²) |
|--------------|---------------------|--|
| LaM003t | FMX-93 ^a | 400 a |
| | Pieralbo | 210 ab |
| | New Yorker | 190 ab |
| | Pieraline | 150 bc |
| | Home Guard | 40 c |
| Cer005t | FMX-93 ^a | 680 a |
| | Pieraline | 400 a |
| | New Yorker | 390 a |
| | Pieralbo | 290 ab |
| | Home Guard | 240 b |
| Cer006p | Home Guard | 290 a |
| | FMX-93 ^a | 150 b |
| | Pieralbo | 100 c |
| | Pieraline | 80 c |
| | New Yorker | 0 d |
| SDu009p | Home Guard | 480 a |
| | Pieraline | 110 b |
| | Pieralbo | 80 b |
| | FMX-93 ^a | 80 b |
| | New Yorker | 20 b |
| SRa010t | Pieralbo | 710 a |
| | New Yorker | 710 a |
| | Pieraline | 550 ab |
| | FMX-93 ^a | 420 b |
| | Home Guard | 340 b |
| LaM030t | New Yorker | 500 a |
| | FMX-93 ^a | 440 a |
| | Pieralbo | 280 ab |
| | Pieraline | 110 b |
| | Home Guard | 10 c |
| Par031t | Pieralbo | 820 a |
| | FMX-93 ^a | 680 a |
| | Home Guard | 520 ab |
| | Pieraline | 420 b |
| | New Yorker | 420 b |

Separación de medias (cinco foliolos) por medio de la pruebas de Rango Múltiple de Duncan, igual letra indica no diferencia significativa entre genotipos (alfa= 0,05). Procedencia del aislamiento t = tomate, p = papa.

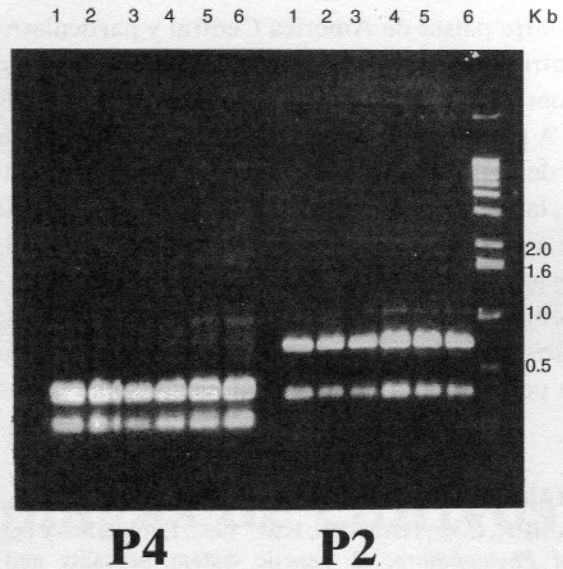


Figura 1. Amplificación del ADN mitocondrial de aislamientos de *P. infestans* de Costa Rica, a través de PCR. Se usó los iniciadores P4 y P2, se digirió con las enzimas MspI y EcoRI, respectivamente. Se usó como referencia una escalera de 1 kb. 1= LaM003t, 2= Cer005t, 3= Cer006p, 4= SDu009p, 5= SRa010t y 6= LaM030t

tante para establecer eventos migratorios (Goodwin 1991). El estudio de polimorfismo del ADN nuclear mediante RG 57 (Goodwin *et al.* 1992) permite obtener información más detallada entre aislamientos, porque hibridiza fragmentos diferentes de ADN (Drenth *et al.* 1993). Por lo limitado de los datos no es posible determinar la ruta cronológica seguida por *P. infestans* desde su centro de origen hasta Costa Rica. No obstante, es conocido el comercio de ambos culti-

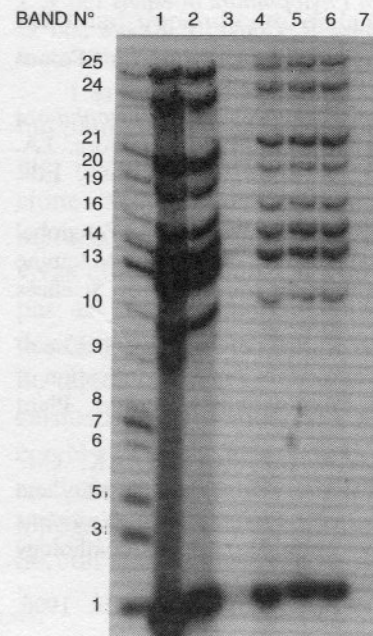


Figura 2. Polimorfismo del ADN nuclear de aislamientos de *P. infestans* de Costa Rica, a través de RG-57. El ADN fue digerido con la enzima EcoRI y se rotuló con ³²P. Se usó como referencia una escalera de 1 kb. 1= LaM003t, 2= Cer005t, 3= Cer006p, 4= SDu009p, 5= SRa010t, 6= LaM030t and 7= Par031t.

vos entre países de América Central y particularmente entre México, Guatemala y Costa Rica, por lo cual se considera factible la migración de este patógeno.

A pesar de que no se conoce el patrón aloenzimático de los aislamientos analizados en esta investigación, la presencia del halotipo Ia de ADNmt, resistencia a metalaxil, y la presencia de un alelo único (94) en el locus de peptidasa (Goodwin *et al.* 1994) indica claramente la existencia de una población de *P. infestans* en Costa Rica, producto de una migración particular. Esta población no pertenece al linaje clonal conocido

como viejo, que se ha distribuido universalmente y que actualmente está siendo desplazado por clones nuevos. Este resultado coincide con investigaciones en otras latitudes, donde se han determinado poblaciones nuevas, producto de recientes migraciones de México, insensibilidad a metalaxil, aloenzimas nuevas y genotipos con diferente ADN nuclear (Goodwin *et al.* 1996). Sin embargo, es necesario realizar más muestreos en Costa Rica y América Central para determinar el origen de las poblaciones de *P. infestans*, así como completar la caracterización e incluir análisis de aloenzimas.

Literatura citada

- BRASIER, C.M.; HANSEN, E.M. 1992. Evolutionary biology of *Phytophthora*. I: genetic system, sexuality and the generation of variation. Annual Review of Phytopathology 30:153-171.
- CARTER, D.A.; ARCHER, S.A.; BUCK, K.W.; SHAW, D.S.; SHATTOCK, R.C. 1990. Restriction fragment length polymorphism of mitochondrial DNA of *Phytophthora infestans*. Mycological Research 94:1123-1128.
- CARTER, D.A.; ARCHER, S.A.; BUCK, K.W.; SHAW, D.S.; SHATTOCK, R.C. 1991. DNA polymorphism in *Phytophthora infestans*: The UK experience. In *Phytophthora*. J.A. Lucas; R.C. Shattock; D.S. Shaw; L.R. Cooke, Eds. Cambridge, Cambridge University Press. p. 272-292.
- CATEN, C.E.; JINKS, J.L. 1968. Spontaneous variability of single isolates of *Phytophthora infestans*. I Cultural variation. Canadian Journal of Botany 46: 329-348.
- DRENTH, A.; GOODWIN, S.B.; FRY, W.E.; DAVIDSE, L.C. 1993. Genotypic diversity of *Phytophthora infestans* in the Netherlands revealed by DNA polymorphism. Phytopathology 83:1087-1092.
- FRY, W.E.; GOODWIN, S.B. 1995. Recent migrations of *Phytophthora infestans*. In *Phytophthora infestans* 150. L. J. Dowley; E. Bannion; Louise R. Cooke; T. Keane and E. O'Sullivan, Eds. European Association for Potato Research. Ireland. Boole Press. p. 85-95.
- GOODWIN, S.B. 1991. DNA polymorphism in *Phytophthora infestans*: the Cornell experience. In *Phytophthora*. J.A. Lucas; R.C. Shattock; D.S. Shaw; L.R. Cooke, Eds. Cambridge, Cambridge University Press. p.256-271.
- GOODWIN, S.B.; COHEN, B.A.; FRY, W.E. 1994. Panglobal distribution of a single clonal lineage of Irish potato famine fungus. Proceedings of National Academy of Sciences 91:11591-11595.
- GOODWIN, S.B.; SCHNEIDER, R.E.; FRY, W. 1995. Use of cellulose-acetate electrophoresis for rapid identification of allozyme genotypes of *Phytophthora infestans*. Plant Disease 79:1181-1185.
- GOODWIN, S.B.; SPIELMAN, L.J.; MATUSZAK, J.M.; BERGERON, S.N.; FRY, W.E. 1992. Clonal diversity and genetic differentiation of *Phytophthora infestans* populations in Northern y Central Mexico. Phytopathology 82:955-961.
- GOODWIN, S.B.; SUJKOWSKI, L.S.; FRY, W.E. 1996. Widespread distribution and probable origin of resistance to metalaxyl in clonal genotypes of *Phytophthora infestans* in the United States and Western Canada. Phytopathology 86:793-800.
- GUZMÁN, J.; THURSTON, H.D.; HENDRICK, L.E. 1966. Métodos de selección por resistencia parcial a *Phytophthora infestans* en el invernadero. American Potato Journal 43:35-43.
- HOHL, H.R. 1989. The A2 mating type of *P. infestans* outside of Mexico-the present situation. Phytophthora Newsletter 15:3-4.
- HOHL, H.R. 1991. Nutrition. In *Phytophthora infestans*: the Cause of Late Blight of Potato. Advances in Plant Pathology. Vol. 7. D. S. Ingram; P.H. Williams, Eds. San Diego, Academic Press. p. 53-83.
- HOHL, H.R.; ISELIN, K. 1984. Strains of *Phytophthora infestans* with A2 mating type behaviour. Transactions of British Mycological Society 83:529-530.
- LEGARD, D.E.; LEE, T.Y.; FRY, W.E. 1995. Pathogenic specialization in *Phytophthora infestans*: aggressiveness on tomato. Phytopathology 85:1356-1361.
- PIETERSE, C.M.J.; RISSEUW, E.P.; DAVIDSE, L.C. 1991. An in planta induced gene of *Phytophthora infestans* codes for ubiquitin. Plant Molecular Biology 17:799-811.
- ROBERTSON, N.F. 1991. The challenge of *Phytophthora infestans*. In *Phytophthora infestans*: the Cause of Late Blight of Potato. Advances in Plant Pathology. D. S. Ingram; P.H. Williams, Eds. San Diego, Academic Press. p. 1-30.
- SHATTOCK, R.C.; SHAW, D.S.; FYEE, A. M.; DUNN, J.R.; LONEY, K.H.; SHATTOCK, J.A. 1990. Phenotypes of *Phytophthora infestans* collected in England and Wales from 1985 to 1988: mating type, response to metalaxyl and isoenzyme analysis. Plant Pathology 39:242-248.
- SHAW, D.S. 1991. Genetics. In *Phytophthora infestans*: the Cause of Late Blight of Potato. Advances in Plant Pathology. D. S. Ingram; P.H. Williams, Eds. San Diego, Academic Press. Vol. 7. p. 131-170.
- THURSTON, H.D. 1957. A phytopathology note. Phytopathology 47:186
- TOOLEY, P.W.; SWEIGARD, J.A.; FRY, W.E. 1986. Fitness and virulence of *Phytophthora infestans* isolates from sexual and asexual populations. Phytopathology 76:1209-1212.
- TSAO, P.H. 1970. Selective media for isolation of pathogenic fungi. Annual Review of Phytopathology 8:157-186.

Variación estacional de la mosca blanca *Aleurodicus dispersus* y sus parasitoides en plantaciones de banano, en Matina, Costa Rica

Helga Blanco-Metzler*
Sergio Laprade**

RESUMEN. Se estudió la variación estacional de la mosca blanca de espiral *A. dispersus* y sus parasitoides en diez fincas productoras de banano en Matina, Limón, Costa Rica, durante 1997 y 1998. Se registró el número de ninfas de tercer y cuarto estadio (parasitadas y no parasitadas) en el envés de la octava hoja de banano. Se detectaron diferencias significativas en las poblaciones de la mosca blanca y de sus parasitoides entre y dentro de las fincas. Se encontró que los parasitoides eran dependientes de la densidad poblacional de la plaga. Los parasitoides de *A. dispersus* tuvieron un efecto importante en la regulación de la plaga. La apreciación de la temperatura y humedad, realizada en forma cualitativa, no mostró un efecto en la fluctuación poblacional de la plaga y sus parasitoides.

Palabras clave: *Aleurodicus dispersus*, Parasitoides, Banano, Variación geográfica, Mosca blanca de espiral.

ABSTRACT. Seasonal variation of the spiralling whitefly *Aleurodicus dispersus* and its parasitoids in banana plantations, in Matina, Costa Rica. The seasonal variation of the spiralling whitefly, *A. dispersus* and its parasitoids was studied in ten commercial banana farms in Matina, Limón, Costa Rica, during 1997 and 1998. The number of third and fourth instar nymphs (parasitised and nonparasitised) on the underside of the eighth leaf of banana plants were recorded. Significant differences were observed in the whitefly and its parasitoids populations between and within the farms. The parasitoids were found to be density dependent on the population of the pest. The parasitoids of *A. dispersus* had an important effect on the regulation of the pest. A qualitative analysis of temperature and humidity data indicated no effect on the population fluctuation of the pest and its parasitoids.

Key words: *Aleurodicus dispersus*, Parasitoids, Banana, Geographic variation, Spiralling whitefly.

Introducción

La mosca blanca de espiral (Fig. 1) *Aleurodicus dispersus* Russell (Homoptera: Aleyrodidae), es autóctona de la región del Caribe y América Central (Russell 1965). En Asia y en otras regiones del Pacífico ha sido reportada como una plaga de hortalizas, árboles frutales, forestales, ornamentales y de sombra (Waterhouse y Norris 1989, Russell 1965). En Costa Rica, Blanco-Metzler y Laprade (1999) encontraron que *A. dispersus* tiene entre sus hospedantes a plantas de al menos 17 familias en el área bananera de Matina, Limón donde las plantas de hoja ancha fueron los hospedantes preferidos.

Esta especie posee características que la convierten en una plaga potencial de numerosos cultivos, como son su capacidad de alimentarse y reproducirse en gran cantidad de hospedantes, así como de rápida dispersión y crecimiento poblacional (Waterhouse y Norris 1989, Russell 1965).

En Costa Rica el cultivo de banano se ha desarrollado relativamente libre de plagas de insectos. Sin embargo, en 1995 se detectó una explosión de *A. dispersus* en dos fincas de la zona de Matina, (Fig. 2) llegando las poblaciones hasta 7000 ninfas por hoja. Los exudados de los insectos ocasionaron la presencia de fuma-

Recibido: 13-01-99. Aprobado: 21/02/2000.

* CIPROC-EEFBM, Universidad de Costa Rica, Facultad de Agronomía. San José, Costa Rica. E-mail: hblanco@cariari.ucr.ac.cr

** Dirección de Investigaciones, CORBANA. Apdo 6504-1000 San José, Costa Rica. E-mail: slaprade@corbana.com

gina sobre el haz de las hojas y en ocasiones sobre la fruta, lo cual provocó un aumento en los costos de producción y de rechazo de la fruta (Laprade y Blanco-Metzler 1998). Blanco-Metzler y Laprade (1998b) realizaron varios estudios sobre la biología y ecología de esta plaga para determinar la causa del aumento acelerado de la población de insectos y buscar alternativas de manejo de las mismas.

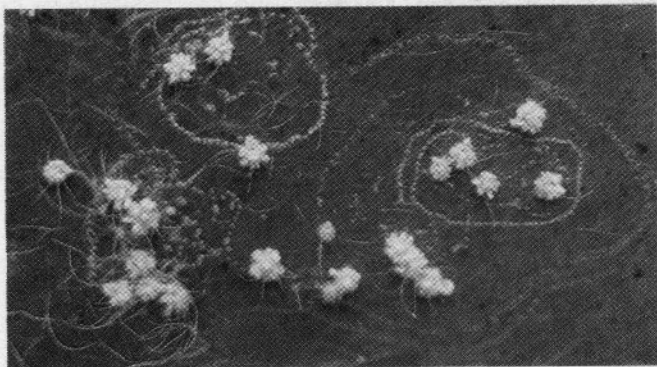


Figura 1. Espiral típica del patrón de oviposición de *A. dispersus* mostrando ninfas de 3 y 4 estadio.

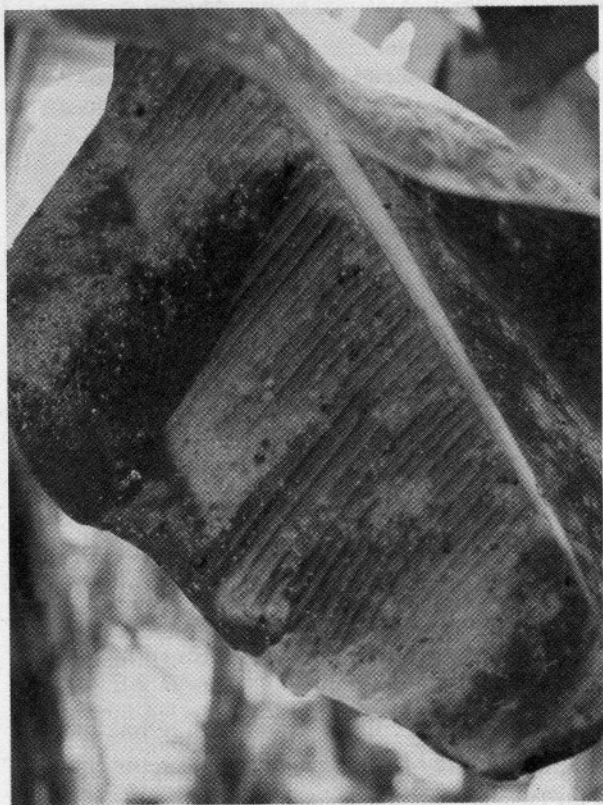


Figura 2. Hoja de banano fuertemente atacada por *A. dispersus* en fincas de Matina, Costa Rica.

Las poblaciones de insectos son parte de los ecosistemas y las interacciones que determinan su distribución y abundancia en el campo son muy complejas, ya que sus poblaciones y el ambiente cambian cons-

tantemente. En muchos casos, estos cambios son el resultado de la acción del hombre. Además la densidad poblacional de insectos fluctúa en respuesta a factores intrínsecos y extrínsecos (Horn 1988).

Los factores que afectan la dinámica poblacional de los insectos son diversos, variando en intensidad entre períodos de recolección de datos y entre sitios. Algunos de estos factores son la fecundidad de las hembras, los enemigos naturales, la competencia, condiciones climáticas, enfermedades, dispersión y migración y calidad del alimento (Varley *et al.* 1973, Southwood 1978, Horn 1988). Por lo tanto, la clave para el manejo de plagas de insectos es el análisis y uso de los factores que afectan la dinámica poblacional de los insectos.

Blanco-Metzler y Laprade (1998a) en estudios sobre la diversidad y abundancia de los enemigos naturales de *A. dispersus* en Matina, encontraron cuatro especies de parasitoides de ninfas de mosca blanca *Encarsia noyesi* Hayat, *E. aleurodici* (Girault), *Encarsiella* sp. nsp. y *Encarsia guadeloupae* Viggiani. Los depredadores de huevos y ninfas de primer y segundo estadio instar más comunes fueron dos especies de ácaros pertenecientes a la familia Phytoseiidae, los coleópteros *Nephaspis* sp. (Coccinellidae) y *Scymnus* sp. (Coccinellidae), y las arañas *Plesiometa argyra* (Araneidae), *Gasteracantha cancriformis* (Araneidae) y *Chryso* sp. (Araneidae).

El objetivo de este estudio fue documentar la variación estacional de *A. dispersus* y sus parasitoides en fincas de banano de Matina, Costa Rica.

Materiales y métodos

El trabajo de campo se realizó en diez fincas productoras de banano del cantón de Matina, Limón, Costa Rica desde mayo 1997 a mayo 1998. Las fincas seleccionadas fueron: Anabel, AGRODISA, Zent, Hacienda Río Palacios, PROBANA, Rinos, SEMDEL, Lagartos, El Esfuerzo y La Flor, situadas a 20 msnm (Fig. 1).

Los datos climáticos fueron tomados de la estación meteorológica en el Centro de Investigaciones CORBANA en 28 Millas, Limón (Fig. 4). Las apreciaciones del efecto de la temperatura y humedad se realizaron de forma cualitativa ya que existe muy poca variación en la primera variable y para la segunda puede establecer una relación por finca debido a que existe una estación meteorológica en cada una de ellas.

En cada finca se seleccionaron tres sitios de muestreo. Durante las cuatro primeras evaluaciones se muestrearon al azar tres plantas por sitio. En ocho evaluaciones posteriores se aumentó a cinco

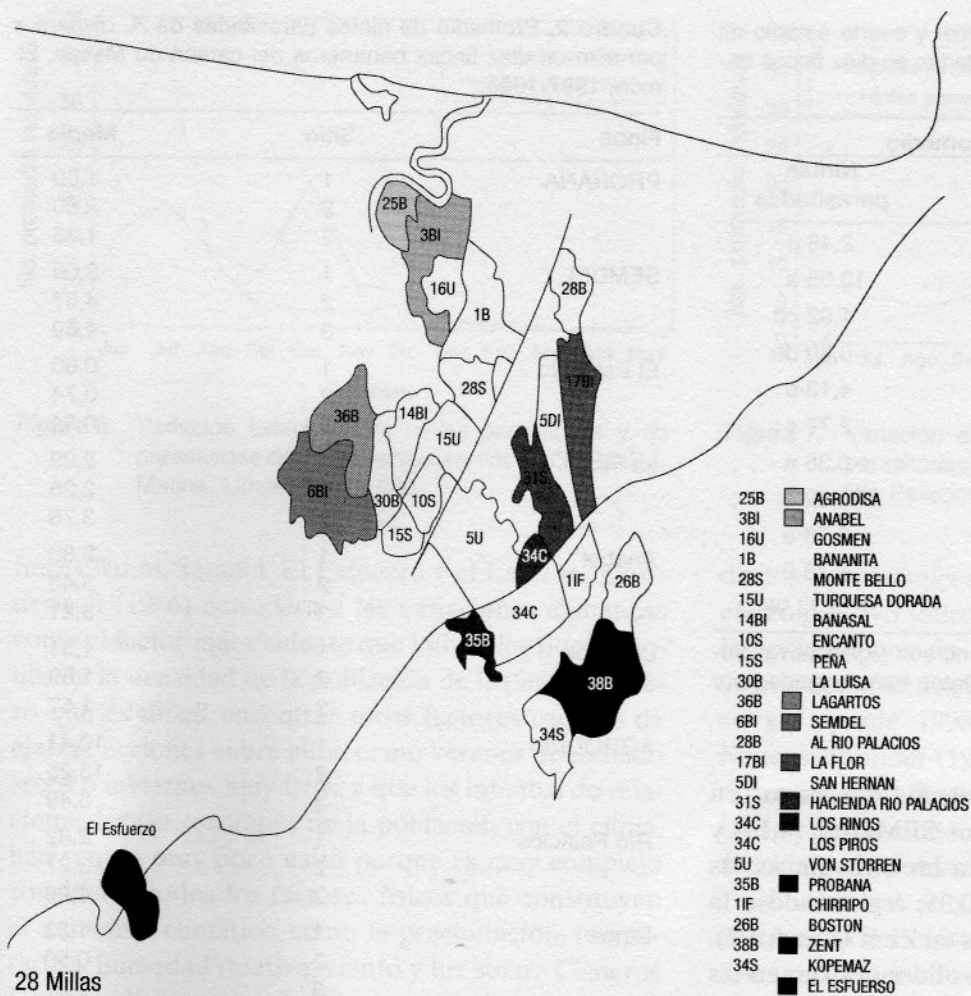


Figura 3. Fincas bananeras muestreadas en el cantón de Matina, Limón.

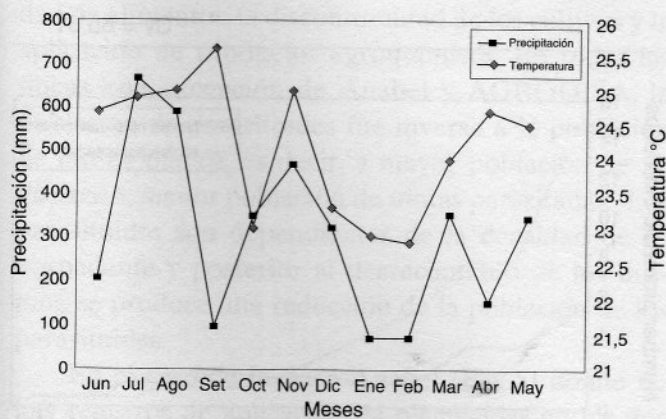


Figura 4. Precipitación (mm) y temperatura (°C) de la zona de Matina, Limón, 1997-1998.

plantas con el fin de aumentar la representatividad de la muestra; con un total de 155 plantas revisadas por finca. El muestreo se realizó en la sección izquierda del envés de la octava hoja, sitio de muestreo sugerido por Wielemaker (1981) para *Antichloris viridis* Druce.

(Lepidoptera). Se registró el número de ninfas vivas de tercer y cuarto estadio, así como el número de ninfas parasitadas, obteniéndose un promedio por planta. El reconocimiento de las ninfas parasitadas se realizó según la técnica sugerida por Lambkin (1996), la cual consiste en la remoción de la cera de las ninfas con un pincel fino, donde las ninfas que presentan un color oscuro, se consideran parasitadas. Los muestreos se realizaron mensualmente, durante un año.

El diseño experimental utilizado fue un irrestricto al azar con diez fincas, tres sitios y cinco repeticiones. La separación de medias se realizó por medio de la prueba de Duncan, utilizando el Programa SAS. Debido a la repetida presencia de ceros en los muestreos, los datos se transformaron por la fórmula $\sqrt{X + 0,5}$.

Resultados y discusión

Se encontraron diferencias altamente significativas para el número de ninfas de tercer y cuarto estadio entre fincas ($F = 37,32$; $gl = 9$; $P < 0,0001$) y para el número de ninfas parasitadas ($F = 39,42$; $gl = 9$; $P < 0,0001$) entre fincas. La población total de ninfas difirió significativamente ($F = 2,93$; $gl = 2$; $P < 0,053$) entre sitios, mientras que el número de ninfas parasitadas por sitio no presentó diferencias ($F = 2,26$; $gl = 2$; $P < 0,105$). El promedio de ninfas de mosca blanca durante las 12 evaluaciones fue mayor en la finca Hacienda Río Palacios (11,52), seguida por AGRODISA (9,70) y PROBANA (9,33). Se encontraron poblaciones similares en Rinos (4,20), SEMDEL (3,44) y La Flor (3,04). La prueba de separación de medias no detectó diferencia entre los promedios poblacionales de La Flor (3,04), Zent (2,52), Lagartos (2,05), El Esfuerzo (1,72), y Anabel (1,62) (Cuadros 1 y 2).

Cuadro 1. Promedio de ninfas de tercer y cuarto estadio de *A. dispersus*, parasitadas y no parasitadas en diez fincas bananeras. Matina, Limón, 1997-1998.

| Finca | Promedio | |
|-------------------|-----------------------|--------------------|
| | Ninfas no parasitadas | Ninfas parasitadas |
| Hda. Río Palacios | 11,52 a | 2,46 c |
| AGRODISA | 9,70 b | 10,05 a |
| PROBANA | 9,33 b | 1,92 cd |
| Rinos | 4,20 c | 0,80 de |
| SEMDEL | 3,44 c | 4,13 b |
| La Flor | 3,04 cd | 2,77 c |
| Zent | 2,52 d | 0,35 e |
| Lagartos | 2,05 d | 1,52 d |
| El Esfuerzo | 1,72 d | 0,76 e |
| Anabel | 1,62 d | 3,48 b |
| | Cv = 65,6 | cv = 73,96 |

*Medias seguidas por la misma letra no son significativas según la prueba de Duncan al 0,05. Datos transformados por $\sqrt{X + 0,5}$.

Muestra de 155 plantas por finca.

El número de ninfas parasitadas fue mayor en AGRODISA (10,05), seguida por SEMDEL (4,13) y Anabel (3,48) mientras que para las otras fincas, las medias oscilaron entre 2,77 y 0,35, registrándose la menor población de parasitoides en Zent (Cuadro 2).

La comparación de los sitios de muestreo en las fincas, Anabel, Lagartos y El Esfuerzo demuestra que las poblaciones de mosca blanca fueron más homogéneas; mientras que en las fincas AGRODISA, Hacienda Río Palacios, PROBANA, Rinos y Zent las poblaciones de mosca blanca se duplican de un sitio a otro. Las variaciones entre sitios pueden deberse a factores extrínsecos como: manejo del cultivo, por ejemplo en algunas fincas las aplicaciones de productos agroquímicos se realizan por cables de acuerdo a la población de nematodos; al microclima, el cual se ve afectado por factores edáficos, de drenaje, densidad poblacional de las plantas de banano, y el movimiento de material vegetativo. No fue posible relacionar las poblaciones de mosca blanca con las prácticas de manejo en cada finca, ya que dicha información no está disponible al público.

La variación estacional de la mosca blanca y sus parasitoides, para las fincas Anabel, AGRODISA, Hacienda Río Palacios y PROBANA se presenta en las figs. 5-8. La población más alta de mosca blanca se presentó en AGRODISA, con un pico promedio de infestación de 63 ninfas, a finales de julio de 1997. En las fincas Hacienda Río Palacios y PROBANA, los pi-

Cuadro 2. Promedio de ninfas parasitadas de *A. dispersus* por sitio en diez fincas bananeras del cantón de Matina, Limón, 1997-1998.

| Finca | Sitio | Media |
|--------------|-------|------------|
| PROBANA | 1 | 1,60 |
| | 2 | 2,80 |
| | 3 | 1,35 |
| SEMDEL | 1 | 3,06 |
| | 2 | 4,67 |
| | 3 | 4,69 |
| El Esfuerzo | 1 | 0,60 |
| | 2 | 0,74 |
| | 3 | 0,94 |
| La Flor | 1 | 2,29 |
| | 2 | 2,25 |
| | 3 | 3,76 |
| Anabel | 1 | 3,80 |
| | 2 | 3,43 |
| | 3 | 3,21 |
| Lagartos | 1 | 1,31 |
| | 2 | 1,69 |
| | 3 | 1,57 |
| AGRODISA | 1 | 10,41 |
| | 2 | 13,25 |
| | 3 | 6,49 |
| Río Palacios | 1 | 2,82 |
| | 2 | 3,27 |
| | 3 | 1,29 |
| Rinos | 1 | 1,33 |
| | 2 | 0,50 |
| | 3 | 0,57 |
| Zent | 1 | 0,20 |
| | 2 | 0,45 |
| | 3 | 0,41 |
| | | Cv = 65,61 |

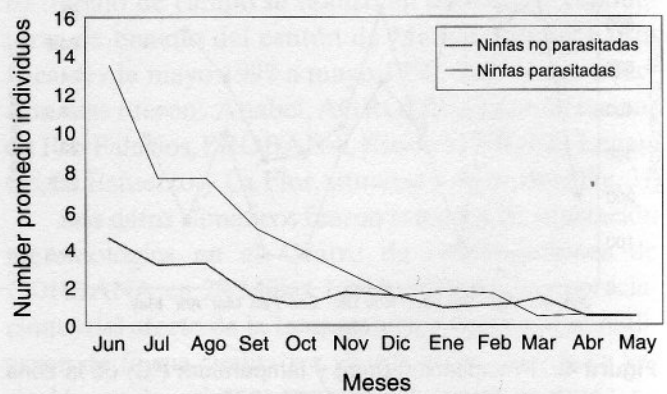


Figura 5. Variación estacional de ninfas parasitadas y no parasitadas de *A. dispersus* en finca Anabel, Matina, Limón, 1997-1998.

cos poblacionales de *A. dispersus* se presentaron en diciembre y febrero, coincidiendo con la época seca. Una fluctuación poblacional similar se presentó en las

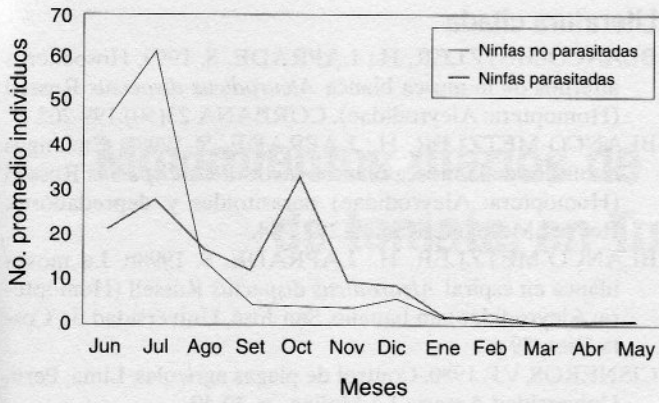


Figura 6. Variación estacional de ninfas parasitadas y no parasitadas de *A. dispersus* en finca AGRODISA, Matina, Limón, 1997-1998.

fincas Rinos, Semdel, El Esfuerzo y el La Flor. Dowdeswell (1966) considera a las variaciones climáticas como el factor más evidente que induce las fluctuaciones de la densidad de la población de los insectos, pero que es difícil encontrar otros factores capaces de ejercer acciones sobre ellos, como veranos demasiado secos o inviernos muy fríos; y que los intentos de relacionar las fluctuaciones de la población con el clima, han tenido muy poco éxito porque es muy complejo considerar todos los factores físicos que constituyen el ambiente climático, como la precipitación, temperatura, humedad relativa, viento y luz solar. Cisneros (1980) indicó que las fluctuaciones de las plagas suelen estar asociadas con las variaciones estacionales, la acción de enemigos naturales, la relativa disponibilidad de alimentos, la discontinuidad de los cultivos y la aplicación de productos agroquímicos. En todas las fincas, con excepción de Anabel y AGRODISA, la población de parasitoides fue inversa a la población de mosca blanca, es decir, a mayor población de *A. dispersus*, menor población de ninfas parasitadas. Los parasitoides son dependientes de la densidad de su hospedante y posterior al decrecimiento de los mismos, se produce una reducción de la población de los parasitoides.

En el caso de la finca Anabel (Fig. 5) donde no hay registros de aplicación de plaguicidas en los dos últimos años (Lambkin, 1996 b), el número de ninfas parasitadas fue mayor que el de ninfas no parasitadas. Esto indica que en ausencia de plaguicidas, los parasitoides tienen un efecto directo sobre la plaga, disminuyendo su población a niveles no importantes económicamente. De diciembre a abril se observó el balance establecido entre la plaga y sus controladores biológicos. Es importante resaltar, que la ausencia de pro-

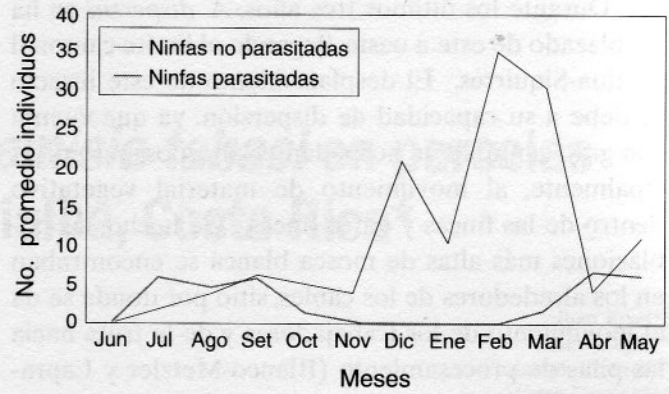


Figura 7. Variación estacional de ninfas parasitadas y no parasitadas de *A. dispersus* en finca Hacienda Río Palacios, Matina, Limón, 1997-1998.

ductos agroquímicos en esta finca no sólo tiene un efecto positivo sobre los parasitoides, sino también en las poblaciones de otros enemigos naturales como ácaros, coccinélidos, arañas, avispa, entre otras (Blanco y Laprade 1998a). D'Almeida *et al.* (1998) y Neuenschwander (1996) encontraron que la introducción accidental de dos especies de *Encarsia* en Africa Occidental, fue uno de los principales factores de reducción de la población de la mosca de espiral

Por el contrario, la finca AGRODISA (Fig. 6) es un ejemplo del efecto de los plaguicidas en el agroecosistema, causando desbalance entre una plaga y sus enemigos naturales. Con el incremento acelerado de la población de *A. dispersus* en 1995-1996, se utilizó gran variedad de insecticidas para su combate sin obtener los resultados deseados. En un diagnóstico de la finca (Lambkin *Com. Pers.* 1996) se determinó la presencia del parasitoide *Encarsiella* spp., por lo cual se recomendó eliminar el control químico para permitir a los parasitoides restablecer el balance ecológico.

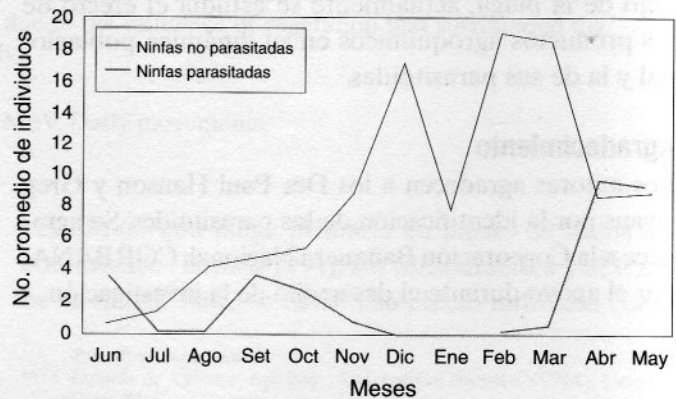


Figura 8. Variación estacional de ninfas parasitadas y no parasitadas de *A. dispersus* en finca PROBANA, Matina, Limón, 1997-1998.

Durante los últimos tres años, *A. dispersus* se ha desplazado de este a oeste, llegando al límite cantonal Matina-Siquirres. El desplazamiento de este insecto se debe a su capacidad de dispersión, ya que cuenta con gran cantidad de hospedantes alternos, pero principalmente, al movimiento de material vegetativo dentro de las fincas y entre fincas. De hecho, las poblaciones más altas de mosca blanca se encontraban en los alrededores de los cables, sitio por donde se da el movimiento de los trabajadores y de la fruta hacia las pilas de procesamiento (Blanco-Metzler y Laprade, *Obs. Pers.*). Resultados similares fueron presentados por D'Almeida *et al.* (1998) quienes estudiaron la dispersión y distribución de *A. dispersus* en Africa Occidental, concluyendo que la dispersión del insecto está fuertemente ligada a las actividades de las personas y a los caminos

El efecto de la temperatura y la precipitación (Fig. 4) en la fluctuación poblacional de *A. dispersus* y sus parasitoides no es claro, quizás porque la apreciación del efecto fue realizado en forma cualitativa. Sin embargo, varios factores pudieron incidir en los resultados, por ejemplo todos los estados de la mosca blanca se encontraron en el envés de la hoja, la planta de banano posee hojas de lámina foliar grande, lo cual produce un microclima y los datos de precipitación son mensuales, pero en ocasiones la lluvia se concentró en un corto período.

Los resultados de este estudio muestran que los parasitoides de *A. dispersus* juegan un papel importante en la regulación poblacional de este insecto en Matina, Limón. Pero además es importante que en la zona de Matina se utilicen prácticas agronómicas tendientes a disminuir la dispersión de la mosca blanca a otras zonas bananeras. Con el propósito de obtener información que permita establecer medidas de manejo de la plaga, actualmente se estudia el efecto de los productos agroquímicos en su dinámica poblacional y la de sus parasitoides.

Agradecimiento

Los autores agradecen a los Drs. Paul Hanson y Greg Evans por la identificación de los parasitoides. Se agradece a la Corporación Bananera Nacional, CORBANA, por el apoyo durante el desarrollo de la investigación.

Literatura citada

- BLANCO-METZLER, H.; LAPRADE, S. 1999. Hospederos alternos de la mosca blanca *Aleurodicus dispersus* Russell (Homoptera: Aleyrodidae). CORBANA 23(50):199-205.
- BLANCO-METZLER, H.; LAPRADE, S. 1998a. Enemigos naturales de la mosca blanca *Aleurodicus dispersus* Russell (Homoptera: Aleyrodidae) parasitoides y depredadores. Revista Mesoamericana 9(2):41-44.
- BLANCO-METZLER, H.; LAPRADE, S. 1998b. La mosca blanca en espiral *Aleurodicus dispersus* Russell (Homoptera: Aleyrodidae) en banano. San José, Universidad de Costa Rica. 59 p.
- CISNEROS, V.F. 1980. Control de plagas agrícolas. Lima, Perú, Universidad Agraria La Molina. p. 39-40.
- D'ALMEIDA, Y.A.; LYS, J.A.; NEUENSCHWANDER, P.; AJUONU, O. 1998. Impact of two accidentally introduced *Encarsia* species (Hym: Aphelinidae) and other biotic and abiotic factors on the spiralling whitefly *Aleurodicus dispersus* Russell (Hom:Aleyrodidae), in Benin, West Africa. Biocontrol Science and Technology 8:163-173.
- DOWDESWELL, W.H. 1966. Ecología animal. Madrid, España, Editorial Alhambra. p. 33-87.
- HORN, D.J. 1988. Ecological approach to pest management. New York, Guilford Press. 285 p.
- LAMBKIN, T.A. 1996a. Pest status and control of spiralling whitefly *Aleurodicus dispersus* Russell (Homoptera: Aleyrodidae) in Queensland, Australia. Queensland, Australia, Department of Primary Industries. 58 p.
- LAMBKIN, T.A. 1996b. Status and control of spiralling whitefly *Aleurodicus dispersus* Russell in bananas in Costa Rica, Central America. Queensland, Australia, Department of Primary Industries. 16 p.
- LAPRADE, S.; BLANCO-METZLER, H. 1998. Efecto de la fumagina (*Capnodium* sp.) sobre la producción, en el cultivo del banano cv. 'Gran Enano' (Musa AAA). CORBANA 23(50):207-214.
- NEUENSCHWANDER, P. 1996. Evaluating the efficacy of biological control of three exotic homopteran pests in tropical Africa. Entomophaga 41(3/4):405-424.
- RUSSELL, L.M. 1965. A new species of *Aleurodicus* Douglas and two close relatives. The Florida Entomologist 48:47-55.
- SOUTHWOOD, T.R.E. 1978. Ecological methods with particular references to the study of insect populations. 2 ed. London, Chapman and Hall. 524 p.
- Van EMDEN, H.F. 1965. The role of uncultivated land in the biology of crop pests and beneficial insects. Scientific Horticulture 17:121-136.
- VARLEY, G.C.; GRADWELL, G.R.; HASSELL, M.P. 1973. Insect population ecology: an analytical approach. Oxford, Blackwell Scientific Publications. 212 p.
- WATERHOUSE, D.F.; NORRIS, K.R. 1989. Biological control: Pacific Prospects. Supplement 1. ACIAR Monograph No. 12. p. 12-23.
- WIELEMAKER, F. 1981. The leaf eating caterpillar *Anticloris viridis* Druce (formely *Ceramidia* spp.) banana pests. BAN-DECO vol 1.

Movimientos diarios de *Bemisia tabaci* en parcelas de tomate, en Turrialba, Costa Rica*

Juan Jovel**
Luko Hilje***
Christoph Kleinn***
Víctor Cartín****
Bernal Valverde*****

RESUMEN. El conocimiento de los movimientos de *B. tabaci* es importante, no solo porque este insecto es vector de enfermedades virales, sino también para valorar la eficacia de algunos métodos de manejo del vector, que se basan en la alteración de dichos movimientos. Por tanto, se estudiaron los patrones diarios de movimiento de *B. tabaci*, tanto hacia parcelas de tomate como dentro de ellas, y su relación con algunas variables climáticas. El estudio se efectuó en tres parcelas de tomate, en fincas de agricultores, en Guayabo de Turrialba, Costa Rica. Durante 26 días, entre las 6-18 h, se determinó la inmigración de adultos (mediante trampas amarillas adhesivas colocadas fuera del perímetro de cada parcela) y los movimientos entre plantas (mediante el recuento, cada 2 h, del total de adultos presentes en plantas marcadas), y se correlacionaron con la velocidad y dirección del viento, la temperatura y la humedad relativa. Tanto la inmigración como la repoblación de las plantas fueron continuos durante el día, con mayor actividad por la mañana, y la repoblación dependió apenas parcialmente de la inmigración. Además, en general no se observó un efecto claro de las variables climáticas sobre los patrones de movimiento de *B. tabaci*, lo cual posiblemente se debió a la influencia de la vegetación que rodeaba las parcelas y a las bajas densidades del insecto durante el estudio.

Palabras claves: *Bemisia tabaci*, Mosca blanca, Geminivirus, ToYMoV, Movimientos diarios.

ABSTRACT. Daily movements of *Bemisia tabaci* in tomato plots in Turrialba, Costa Rica. Knowledge of *B. tabaci* movements is important, not only because this insect is a vector of viral diseases, but also to assess the efficacy of some methods of vector management, which are based on the disturbance of these movements. Therefore the daily patterns of movement of *B. tabaci*, both towards and within tomato plots, and their relationship with some climatic variables, were studied. The investigation was carried out in three tomato plots, in farmers fields in Guayabo, Turrialba, Costa Rica. During 26 days, between 0600-1800 h, the immigration of adults (by means of yellow sticky traps placed outside the perimeter of each plot) and movements between plants (by counting the total number of adults present on marked plants every 2 h) were determined and correlated with the speed and direction of the wind, temperature and relative humidity. Both immigration and re-population of the plants were continuous throughout the day, with greatest activity in the morning, and the re-population depended only partially on immigration. In general, no clear effect of climatic variables on the movement patterns of *B. tabaci* was observed, possibly due to the influence of vegetation that surrounded the plots and the low densities of the insect during the study.

Keywords: *Bemisia tabaci*, Whiteflies, Geminivirus, ToYMoV, Daily movements.

Introducción

En el último decenio, la mosca blanca, *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Homoptera: Aleyrodidae), se ha con-

vertido en una plaga primaria en países de todos los continentes (Brown 1994). En Mesoamérica y el Caribe su mayor daño se debe a su efecto indirecto como

Recibido: 22/02/99. Aprobado: 21/02/2000.

* Parte de la tesis de Mag. Sci. del primer autor. Escuela de Postgrado, CATIE, Turrialba, Costa Rica.

** Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua. Dirección actual: Dept. of Molecular Biology and Virology of Plants. Stuttgart University. E-mail: juanjovel@po.uni-stuttgart.de

*** Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE).

Turrialba, Costa Rica.

**** Escuela de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional (UNA). Heredia, Costa Rica.

***** Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE). Turrialba, Costa Rica. Dirección actual: The Royal Veterinary and Agricultural University, Thorvaldsensvej 40, DK-1871 Frederiksberg C, Copenhagen, Denmark. E-mail: bev@kvl.dk.

vector de geminivirus (Brown y Bird 1992), como sucede con el ToYMoV, que causa el moteado amarillo del tomate en Costa Rica (Polston y Anderson 1997).

Uno de los factores más determinantes en las epidemias virales son los patrones de movimiento del vector, tanto entre parcelas, como dentro de éstas (Anderson 1993). Sin embargo, la valiosa información que existe sobre dichos movimientos (Bellows *et al.* 1988, Blackmer y Byrne 1993a, 1993b, Byrne y von Bretzel 1987, Byrne y Houck 1990, Byrne y Blackmer 1996, Byrne *et al.* 1996) proviene de regiones extra-tropicales, donde predominan los monocultivos extensos y prevalece el biotipo **B** de *B. tabaci* (Brown 1990). En Costa Rica, en las parcelas de tomate solo se ha informado del biotipo **C**, el cual es vector del ToYMoV, pero no se reproduce en el tomate (Brown *et al.* 1995), aunque sí lo hace masivamente en el chile dulce (Hilje *et al.* 1993). Además, por lo general el tomate se siembra en parcelas pequeñas, dentro de "mosaicos" de producción que también involucran al chile dulce (*Capsicum annuum*), vainica (*Phaseolus vulgaris*) y algunas cucurbitáceas, todos ellos hospedantes de *B. tabaci*.

El conocimiento de los movimientos de *B. tabaci* en estos sistemas tan complejos es apenas incipiente (Arias y Hilje 1993) y amerita ser profundizado, no solo para comprender mejor las epidemias virales, sino también para valorar la eficacia de algunos métodos de manejo que se fundamentan en la alteración de los movimientos normales del vector, como son las coberturas al suelo, los cultivos trampa y las sustancias repelentes (Hilje 1993). Por tanto, en esta investigación se estudiaron los patrones diarios de movimiento de *B. tabaci*, tanto hacia parcelas de tomate como dentro de ellas, y su relación con algunas variables climáticas, en una zona hortícola de Costa Rica.

Materiales y métodos

Parcelas. La investigación se realizó en dos fincas de la Colonia Agrícola Guayabo, en Turrialba, Costa Rica. Se ubican entre 09°58'37"N y 83°38'45"O, a 840 msnm, dentro de la zona de vida del bosque lluvioso premontano (Tosi 1969); los valores anuales promedio de las variables climáticas son 21°C, 2762 mm y 87% HR.

Se establecieron tres parcelas de tomate (var. Hayslip) por trasplante, de aproximadamente 400 m². Los semilleros se hicieron en cartuchos de papel de periódico (Cubillo *et al.* 1994), que se mantuvieron dentro de túneles cubiertos con malla fina (Tildenet IN50). Dos parcelas (**I** y **II**), se trasplantaron el 27 - V

- 97 y el 29 - V - 97, respectivamente, y la otra (**III**) el 16 - IX - 97, a 1,2 m entre surcos y 40 cm entre plantas. El manejo del cultivo fue el convencional para la zona, pero no se aplicaron insecticidas, para evitar que afectaran las poblaciones naturales de *B. tabaci* en el campo.

La **parcela I** tenía plantaciones de café con macadamia (*Macadamia integrifolia*, Proteaceae) en los costados NE y SE, una franja de yuca (*Manihot esculenta*, Euphorbiaceae) en el NO, y una parcela de chile dulce en el SO; en el S había una parcela comercial de tomate de la misma edad. La **parcela II** se estableció en un terreno más expuesto al viento, con poca vegetación alta alrededor. En el costado S había dos parcelas de tomate en producción, de diferentes edades, y en el N y E había plantaciones de café con poró (*Erythrina poeppigiana*, Leguminosae), en el fondo de una hondonada profunda; en el O había café y poró, separados de la parcela por un camino de 5 m de ancho. La **parcela III** se estableció en el costado SO de la parcela I (cuando ésta se encontraba en senescencia), y al E tenía una parcela senescente de tomate, al SE y SO una plantación de café y macadamia, separada por una franja de malezas de hoja ancha, y al NO no había vegetación.

Inmigración diaria. La inmigración se determinó mediante trampas amarillas adhesivas (Palumbo *et al.* 1995), de 25 X 15 cm, las cuales se hicieron de lámina plástica, y se impregnaron en la cara externa con grasa para automotores (Pennzoil 707L). Las láminas se pegaron en estacas de madera, a 35 cm del suelo, las cuales se colocaron a 1,5 m fuera del perímetro de la parcela; hubo cuatro trampas en cada costado, espaciadas 5 m entre sí.

Se registró el número de adultos de *B. tabaci* capturados en cada trampa, a intervalos de 2 h, entre las 6-18 h. Esto se hizo una vez por semana, por 8, 6 y 12 semanas (parcelas I, II y III, respectivamente), a partir de la fecha en que las plantas de tomate tenían cuatro hojas verdaderas. En la parcela III, durante cuatro semanas los muestreos se intensificaron, realizándose tres veces por semana, en días alternos; esto se hizo para aprovechar que las poblaciones del insecto eran relativamente altas. Los muestreos se interrumpieron cuando se colocaron los tutores en cada parcela, pues éstos lo dificultaban mucho.

Movimientos entre plantas. Para determinar la influencia del viento en la inmigración y en la distribución espacial de *B. tabaci* dentro de cada parcela, éstas se dividieron en cuatro cuadrantes, y dentro de cada

uno se eligieron 10 plantas, las cuales se marcaron con cintas de color; esto se hizo en forma aleatoria, en cada fecha de muestreo. Se revisó con cuidado cada planta y se anotó el número de adultos presentes en toda la planta (en lo sucesivo denominados adultos repobladores), a intervalos de 2 h, entre las 6-18 h; después los adultos fueron ahuyentados de la planta inmediatamente, mediante la agitación de las plantas muestreadas, para evitar que sesgaran los muestreos subsecuentes. Originalmente se planeó matarlos, pero esta idea se descartó, debido a las bajas poblaciones de *B. tabaci* presentes en el campo. La frecuencia de los muestreos fue idéntica a la descrita en la sección previa.

Variables climáticas. La dirección y velocidad del viento se registró mediante un anemógrafo portátil Woelfle (Wilh. Lambrecht, Alemania), que se colocó en el centro de la parcela en cada fecha de muestreo. La temperatura y la humedad relativa se determinaron mediante un higrotermógrafo bimetalico (Wilh. Lambrecht, Alemania), ubicado en uno de los bordes de la parcela. Todas las variables se determinaron cada 2 h, entre las 6-18 h.

Análisis. Se realizaron análisis de varianza paramétricos para los promedios de adultos inmigrantes y de adultos repoblando las plantas (datos transformados a raíz cuadrada), en las diferentes fechas de muestreo, para saber si había variación temporal en ambas variables. Como no la hubo, se hizo un consolidado de ambas variables, para todas las fechas de muestreo, y se efectuaron análisis de correlación entre las variables climáticas y los totales de adultos inmigrantes en la parcela (suma de las capturas en todas las trampas) y de adultos repoblando las plantas de tomate (suma en las 40 plantas muestreadas), por fecha y por hora.

El efecto de la dirección del viento se determinó mediante un análisis de correlación de Spearman entre su dirección prevaleciente y la orientación del conjunto de trampas que tuvieron las mayores capturas de adultos.

Además, se efectuaron correlaciones entre el total de adultos inmigrantes y el total de adultos repoblando, por parcela y por cuadrante; en ambos casos se omitieron los datos de las 6 h, ya que no representaban el efecto de la repoblación, sino más bien la cantidad acumulada de adultos de *B. tabaci* entre dos fechas de muestreo consecutivas.

Resultados

El número de adultos inmigrantes no difirió a través del tiempo en ninguna de las parcelas ($P > 0,05$), ni tam-

poco lo hizo el número de adultos que repoblaron las plantas muestreadas, excepto en la parcela I ($P < 0,01$).

El patrón diurno de inmigración de adultos, en general fue análogo en las tres parcelas (Fig. 1). Temprano por la mañana la actividad fue baja, pero se incrementó en forma progresiva hasta alcanzar el máximo a las 8 h en la parcela II y a las 10 h en las parcelas I y III; después declinó hasta alcanzar un mínimo entre las 12-14 h, según la parcela, y por la tarde se incrementó de nuevo, para finalmente decrecer. Por su parte, las tendencias en la repoblación de las plantas de tomate fueron muy coincidentes entre las parcelas, con actividad durante todo el período diurno (Fig. 2). El máximo de adultos posados se observó a las 8 h, después de lo cual hubo una declinación progresiva hasta cerca del mediodía, seguida por un leve incremento durante la tarde, y un decrecimiento final.

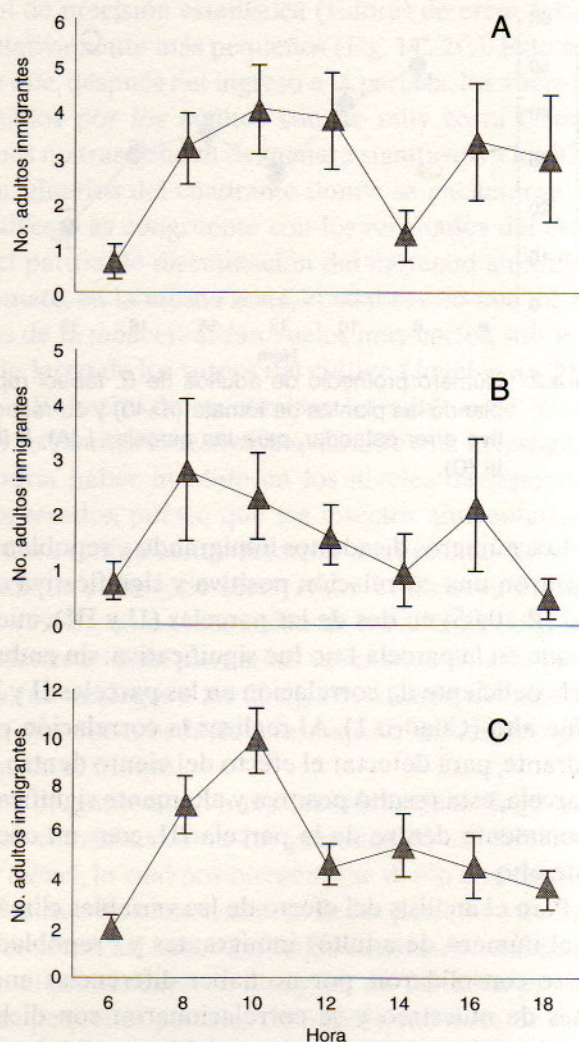


Figura 1. Número promedio de adultos de *B. tabaci* inmigrando hacia las parcelas de tomate y su respectivo error estándar, para las parcelas I (A), II (B), III (C).

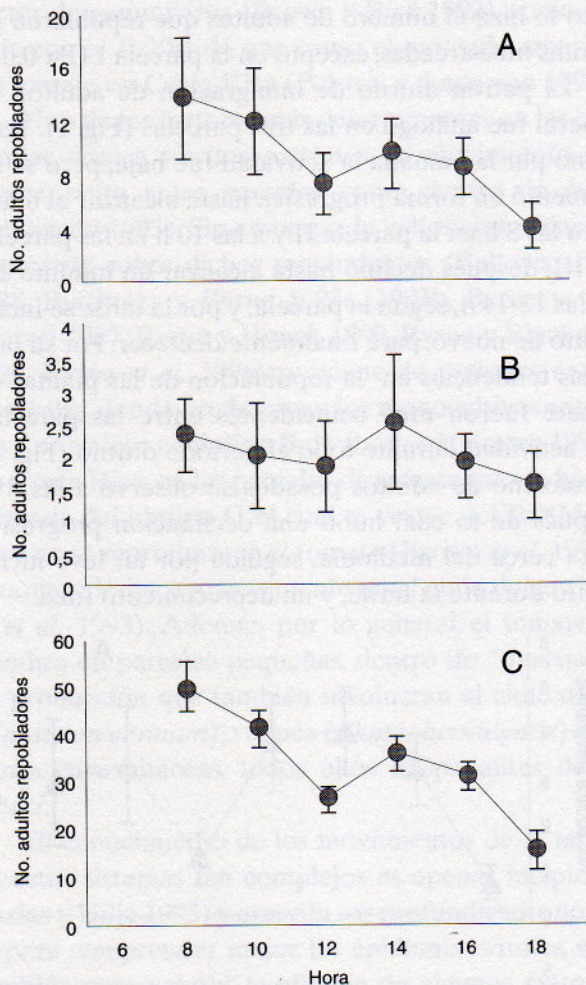


Figura 2. Número promedio de adultos de *B. tabaci* reemplando las plantas de tomate ($n=40$) y su respectivo error estándar, para las parcelas I (A), II (B), III (C).

Los números de adultos inmigrando y reemplando mostraron una correlación positiva y significativa entre sí ($P < 0,05$) en dos de las parcelas (II y III), mientras que en la parcela I no fue significativa; sin embargo, el coeficiente de correlación en las parcelas II y III no fue alto (Cuadro 1). Al realizar la correlación por cuadrante, para detectar el efecto del viento dentro de la parcela, ésta resultó positiva y altamente significativa solamente dentro de la parcela III, con un coeficiente alto.

Para el análisis del efecto de las variables climáticas, el número de adultos inmigrantes y "reempladores" se consolidaron, por no haber diferencias entre fechas de muestreo y se correlacionaron con dichas variables. Ninguna de las tres variables analizadas influyó en forma definida sobre los patrones de movimiento de los adultos de *B. tabaci* (Cuadro 2).

La velocidad del viento se relacionó inversamen-

Cuadro 1. Coeficientes de correlación de Pearson entre los totales de adultos de *B. tabaci* inmigrantes y los "reempladores", por parcela de tomate y por cuadrante.

| | Parcela | Cuadrante |
|-------------|-----------|------------|
| Parcela I | 0,06 n.s. | 0,06 n.s. |
| Parcela II | 0,35 * | -0,32 n.s. |
| Parcela III | 0,30 * | 0,64 ** |

n.s.= no significativo ($P \geq 0,05$); * = significativo ($P \leq 0,05$); ** = altamente significativo ($P \leq 0,01$)

te con el número de adultos "reempladores" únicamente en la parcela III ($P < 0,01$). Al analizar la dirección del viento, se observó que las mayores capturas de adultos no se obtuvieron en las trampas ubicadas en la dirección prevaleciente del viento, excepto en la parcela II ($P < 0,05$; $r = 0,42$).

En general, hubo una relación positiva entre los totales de adultos inmigrantes y "reempladores" y la temperatura, la cual fue altamente significativa únicamente en la parcela III ($P < 0,01$), para los adultos inmigrantes (Cuadro 2). La humedad relativa sólo se relacionó de forma significativa con el total de adultos inmigrantes en la parcela III ($P < 0,01$), y lo hizo de forma inversa (Cuadro 2).

Cuadro 2. Coeficientes de correlación de Pearson entre las variables climáticas analizadas y los totales de adultos de *B. tabaci* inmigrantes y reemplando las plantas de tomate, para cada parcela.

| | Adultos inmigrantes | Adultos reemplando |
|----------------------|---------------------|--------------------|
| Parcela I | | |
| Velocidad del viento | -0,10 n.s. | -0,25 n.s. |
| Temperatura | 0,12 n.s. | 0,12 n.s. |
| Humedad relativa | 0,02 n.s. | 0,24 n.s. |
| Parcela II | | |
| Velocidad del viento | -0,11 n.s. | -0,25 n.s. |
| Temperatura | 0,15 n.s. | 0,18 n.s. |
| Humedad relativa | -0,08 n.s. | 0,19 n.s. |
| Parcela III | | |
| Velocidad del viento | -0,20 n.s. | -0,35 ** |
| Temperatura | 0,40 ** | -0,10 n.s. |
| Humedad relativa | -0,36 ** | 0,01 n.s. |

n.s.= no significativo ($P \geq 0,05$); * = significativo ($P \leq 0,05$); ** = altamente significativo ($P \leq 0,01$)

Discusión

Aunque la inmigración de adultos de *B. tabaci* fue continua durante el día en las parcelas de tomate, varió según la hora, y alcanzó el pico máximo a media mañana y un pico menor por la tarde. Este patrón bimodal, con una reducción cerca del mediodía, también

se ha observado en campos de tomate en Nicaragua y Costa Rica (Alvarenga y Anderson 1992, Arias y Hilje 1993) y en yuca en Costa de Marfil (Colvin *et al.* 1998).

Se desconoce la hora exacta del pico mayor de vuelo, pues varía según los intervalos de muestreo elegidos por cada autor, y posiblemente por las diferencias en los métodos de captura, la densidad poblacional, el tipo de cultivo y el biotipo de *B. tabaci*. Hay registros de que se presenta antes de las 8,30 h (Arias y Hilje 1993), entre 8-9 h (Alvarenga y Anderson 1992), entre 7-9 h (Salas *et al.* 1997) y entre 6-8 h (Colvin *et al.* 1998). Estos resultados se refuerzan con hallazgos de laboratorio, que indican que los adultos tienen vuelos de mayor duración entre 6-10 h (Blackmer y Byrne 1993a).

Estos datos, de zonas tropicales, discrepan de los obtenidos en el Valle Imperial, California, donde el pico mayor se observó cerca del mediodía (Bellows *et al.* 1988). Sin embargo, en la presente investigación a esas horas se obtuvo el valor mínimo de inmigración, lo cual coincide con el mínimo de actividad de vuelo detectado por Arias y Hilje (1993) en Grecia, Costa Rica. Es posible que tales discrepancias se deban a diferencias en el fotoperíodo, pues la cantidad de horas de luz aumenta mucho durante el verano en California, mientras que a la latitud de Costa Rica (ca. 10°N) es casi constante durante el año.

Por su parte, la repoblación de las plantas de tomate también fue continua durante el día (Fig. 2). Su mayor valor se obtuvo a las 8 h, posiblemente como reflejo del pico de vuelo que ocurre dentro de la parcela; aunque el número de adultos posados a las 6 h siempre fue superior a dicho valor, no se debería considerar como un indicador de repoblación, pues en realidad representa el total de adultos acumulados entre dos fechas de muestreo, y por tal razón fueron excluidos de la Fig. 2. Se ha documentado que en las poblaciones de *B. tabaci* normalmente existen dos morfos (Byrne y Houck 1990, Byrne *et al.* 1996), uno migratorio y otro que efectúa vuelos de corta distancia. Por tanto, quizás la actividad de repoblación tan temprana se explicaría porque, a la vez que el morfo migratorio emprende el vuelo hacia fuera de la parcela, el otro morfo incrementa su actividad dentro de ésta.

Las correlaciones entre los números de adultos inmigrantes y "re pobladores" indican que la repoblación de las plantas de tomate no se debió tanto a los adultos inmigrantes, sino más bien a los movimientos de adultos dentro de la parcela, como lo revela el coe-

ficiente de correlación, que no fue muy alto (parcelas II y III) (Cuadro 1). Este resultado sugiere que los adultos del biotipo C de *B. tabaci*, debido a sus continuos movimientos dentro de las parcelas de tomate, pueden diseminar el ToYMoV con gran rapidez. En Costa Rica es común observar parcelas con el 100% de plantas infectadas, a pesar de las bajas densidades del vector, y se ha documentado que valores de apenas 0,3 adultos/planta, en promedio, pueden causar este nivel de incidencia (Cubillo *et al.* 1999).

Al segregar los datos por cuadrantes y efectuar las correlaciones pertinentes se detectó que el número de adultos que ingresaban en cada cuadrante fue proporcional al de los "re pobladores" en dicho cuadrante, al menos para la parcela III (Cuadro 2), en la que el tamaño de la muestra fue muy superior a las otras dos parcelas, y además se alcanzó un más alto nivel de precisión estadística (valores de error estándar relativamente más pequeños (Fig. 1C, 2C). Esto sugiere que, después del ingreso a la parcela, los vuelos realizados por los adultos son de muy corta distancia, pues no trascienden de manera significativa los límites imaginarios del cuadrante donde se encuentran. Este hallazgo es congruente con los resultados del estudio del patrón de diseminación del moteado amarillo del tomate, en la misma zona, el cual reveló que los adultos de *B. tabaci* realizan vuelos muy cortos, sobre todo a lo largo de los surcos del cultivo (Jovel *et al.* 2000).

El hecho de no eliminar los adultos de *B. tabaci* en las plantas muestreadas, durante esta investigación, podría haber incidido en los niveles de repoblación observados, puesto que los insectos ahuyentados podrían eventualmente retornar a las plantas de origen. Aunque el método ideal, como lo hicieron Espino *et al.* (1993), es la eliminación de los adultos después de muestrear cada planta, los resultados de este estudio fueron análogos a los de dichos autores; la decisión de no matarlos obedeció a las bajas densidades registradas en el campo.

En general, no hubo un efecto claro de las variables climáticas sobre los patrones de movimiento de *B. tabaci*, lo cual posiblemente se debió a varios factores, como las características de las parcelas y de sus alrededores, así como las bajas densidades del insecto. En el primer caso, en Guayabo de Turrialba predominan pequeñas parcelas de tomate, menores de 0,5 ha, y es frecuente que estén rodeadas por café, en "mosaicos" de cultivos con otras hortalizas (chile dulce y algunas cucurbitáceas) y vainica, lo cual contrasta mucho con los extensos monocultivos de melón y algodón

de los EE.UU, donde se ha generado la mayoría de la información sobre la actividad de vuelo de *B. tabaci* (Bellows *et al.* 1988, Blackmer y Byrne 1993a, 1993b, Byrne y von Bretzel 1987, Byrne y Houck 1990, Byrne y Blackmer 1996, Byrne *et al.* 1996). En el segundo caso, las densidades del insecto fueron bajas durante la primera etapa del estudio (parcelas I y II), lo cual posiblemente dificultó la detección de tendencias que sí se observaron a mayores densidades (parcela III).

Tanto la literatura universal (Cohen 1990, Byrne y Blackmer 1996, Byrne *et al.* 1996, Colvin *et al.* 1998), como la regional (Arias y Hilje 1993, Dubón *et al.* 1993, Espino *et al.* 1993) coinciden en que hay una clara relación entre los movimientos del insecto y la dirección prevaleciente del viento. Sin embargo, en esta investigación no se pudo detectar este efecto, quizás debido al pequeño tamaño de las parcelas de tomate, así como a la altura y fisonomía de la vegetación circundante.

Al evaluar el efecto de la dirección del viento sobre los movimientos de *B. tabaci*, se asumió que las trampas con mayores capturas eran un indicador de los desplazamientos del insecto entre campos cultivados y plantas silvestres. No obstante, la correlación fue positiva solamente para la parcela II, en cuyo costado NE había una hondonada, de frente a la dirección prevaleciente del viento, lo cual expuso la parcela directamente a éste; en cambio, en las parcelas I y III, que se establecieron en un mismo terreno, pero en fechas diferentes, frente a la dirección prevaleciente del viento (NE) había plantaciones de café con macadamia, que posiblemente minimizaron su influencia.

Por su parte, la velocidad del viento no afectó el total de adultos inmigrantes en ninguna de las parcelas, quizás porque por lo general fue muy baja (ca. $0,8 \pm 0,48$ m/seg) y, además, porque las densidades de adultos casi siempre fueron bajas. En cuanto a los "re pobladores", conforme se incrementó la velocidad del viento, el nivel de repoblación disminuyó, al menos en la parcela III; puesto que no hubo correlación entre la inmigración y dicha velocidad, no es lógico pensar que el viento hubiera arrastrado a los adultos fuera de la parcela, sino más bien que éstos tendieran a refugiarse bajo el dosel del cultivo cuando el viento era más fuerte. Arias y Hilje (1993) observaron que la actividad de vuelo de *B. tabaci* disminuye drásticamente cuando hay fuertes vientos.

En cuanto a la temperatura, aunque mostró relaciones positivas con los totales de adultos inmigrantes y "re pobladores", éstas fueron significativas única-

mente en la parcela III y para los adultos inmigrantes, pero no para los "re pobladores" (Cuadro 2); con la humedad relativa hubo una relación inversa para la primera de estas variables. Bellows *et al.* (1988) detectaron una fuerte relación positiva entre la temperatura y el número de adultos capturados en trampas, pero no la hubo con la humedad relativa. Por su parte, aunque Arias y Hilje (1993) hallaron una fuerte relación negativa entre la temperatura y la actividad de vuelo, indicaron que sus resultados podrían haber sido afectados por un efecto combinado del viento y la temperatura a ciertas horas.

Es difícil establecer conclusiones con tan pocos datos, aunque es evidente que ésta y las otras dos investigaciones (Bellows *et al.* 1988, Arias y Hilje 1993) se realizaron bajo climas muy contrastantes, que podrían afectar de diferentes maneras a *B. tabaci*. En Turrialba (Costa Rica), ubicada en la vertiente del Caribe, casi no hay estacionalidad durante el año y son frecuentes los episodios de lluvia, durante los cuales la humedad sube y la temperatura baja, lo que reduciría la inmigración de adultos. Por su parte, Grecia (Costa Rica) es estacional, pero durante el estudio la variación térmica diaria rara vez excedió los 10°C , y en el Valle Imperial (California) las diferencias fueron de hasta 20°C .

Desde la perspectiva del manejo de *B. tabaci* como vector de geminivirus en tomate, los resultados de esta investigación sustentan la práctica de utilizar semilleros protegidos con malla fina (Cubillo *et al.* 1994, Berlinger y Lebiush-Mordechi 1996) durante la primera etapa del cultivo, para minimizar el riesgo de que se establezcan focos de la enfermedad viral dentro de las parcelas. Además, en etapas posteriores, ciertas prácticas que alteren los movimientos normales del vector, mediante su repelencia, disuasión, confusión o retención, podrían ser eficaces, como se ha demostrado con las coberturas al suelo, ya sean inertes o vivas (Cohen 1982, Cszinsky *et al.* 1995, Cubillo *et al.* 1999).

Agradecimientos

Al Servicio Alemán de Intercambio Académico (DAAD), el financiamiento otorgado al primer autor para la realización de esta investigación. A Douglas Cubillo, M.Sc. y Guido Sanabria (CATIE), su apoyo logístico. A los hermanos Víctor y Fernando Céspedes, el préstamo de los terrenos en que se realizaron los experimentos.

Literatura citada

- ALVARENGA, D.M.; ANDERSON, P. 1992. La biología y comportamiento de la mosca blanca *Bemisia tabaci* (Gennadius). In Memoria Jornada Científico-Técnica sobre el Cultivo de Tomate. Managua, Nicaragua. p. 3-4.
- ANDERSON, P.K. 1993. Un modelo para la investigación en mosca blanca, *Bemisia tabaci* (Gennadius). In Las moscas blancas (Homoptera: Aleyrodidae) en América Central y el Caribe. L. Hilje y O. Arboleda (eds.). CATIE. Serie Técnica. Informe Técnico No. 205. 66 p.
- ARIAS, R.; HILJE, L. 1993. Actividad diaria de los adultos de *Bemisia tabaci* (Gennadius) en el tomate y hospedantes alternos del insecto. Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica) 28:20-25.
- BELLOWS, T.; PERRING, T.; ARAKAWA, K.; FARRAR, C. 1988. Patterns in diel flight activity of *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) in cropping systems in Southern California. Environmental Entomology 17(2):225-228.
- BERLINGER, M.J.; LEBIUSH-MORDECHI, S. 1996. Physical methods for the control of *Bemisia*. In *Bemisia* 1995: Taxonomy, biology, damage, control and management. D. Gerling & R.T. Mayer (eds.). United Kingdom. Intercept. p. 617-634.
- BLACKMER, J.L.; BYRNE, D.N. 1993a. Flight of *Bemisia tabaci* in a vertical flight chamber: Effect of time of day, sex, age and host quality. Physiological Entomology 18:223-232.
- BLACKMER, J.L.; BYRNE, D.N. 1993b. Environmental and physiological factors influencing phototactic flight of *Bemisia tabaci*. Physiological Entomology 18: 336-342.
- BROWN, J.K. 1990. An update on the whitefly-transmitted geminiviruses in the Americas and the Caribbean Basin. FAO Plant Protection Bulletin 39(1): 5-23.
- BROWN, J.K. 1994. Current status of *Bemisia tabaci* as a plant pest and virus vector in agroecosystems worldwide. FAO Plant Protection Bulletin 42(1-2): 3-32.
- BROWN, J.K.; BIRD, J. 1992. Whitefly-transmitted geminiviruses in the Americas and the Caribbean Basin: Past and present. Plant Disease 76: 220-225.
- BROWN, J.K.; BEDFORD, I.D.; BIRD, J.; COSTA, H.S.; FROHLICH, D.R.; MARKHAM, P.G. 1995. Characterization and distribution of esterase electromorphs in the whitefly, *Bemisia tabaci* (Genn.) (Homoptera: Aleyrodidae). Biochemical Genetics 33:205-213.
- BYRNE, D.N.; BLACKMER, J.L. 1996. Examination of short-range migration by *Bemisia tabaci*. In *Bemisia* 1995: Taxonomy, biology, damage, control and management. D. Gerling & R.T. Mayer (eds.). Intercept, United Kingdom. p. 17-28.
- BYRNE, D.N.; HOUCK, M.A. 1990. Morphometric identification of wing polymorphism in *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae). Annals of the Entomological Society of America 83: 487-493.
- BYRNE, D.N.; VON BRETZEL, P.K. 1987. Similarity in flight activity rhythms in coexisting species of Aleyrodidae, *Bemisia tabaci* (Gennadius) and *Trialeurodes abutilonea* (Haldeman). Entomologia Experimentalis et Applicata 43: 215-219.
- BYRNE, D.N.; RATHMAN, R.J.; ORUM, T.V.; PALUMBO, J.C. 1996. Localized migration and dispersal by the sweet potato whitefly, *Bemisia tabaci*. Oecologia 105: 320-328.
- COHEN, S. 1982. Control of whitefly vectors of viruses by color mulches. In Pathogens, vectors, and plant diseases: Approaches to control. K.F. Harris y K. Maramorosch (eds.). New York, Academic Press. p. 45-56.
- COHEN, S. 1990. Epidemiology of whitefly-transmitted viruses. In Whiteflies: Their bionomics, pest status and management. D. Gerling (ed.). New Castle, UK. Atheneum Press. p. 227-261.
- COLVIN, J.; FISHPOOL, L.D.C.; FARGETTE, D.; SHERINGTON, J.; FAUQUET, C. 1998. *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) trap catches in a cassava field in Côte d'Ivoire in relation to environmental factors and the distribution of African cassava mosaic disease. Bulletin of Entomological Research 88: 369-378.
- CSIZINSZKY, A.A.; SCHUSTER, D.J.; KRING, J.B. 1995. Color mulches influence yield and insect pest populations in tomatoes. Journal of the American Society of Horticultural Science 120(5): 778-784.
- CUBILLO, D.; CHACON, A.; HILJE, L. 1994. Producción de plántulas de tomate sin geminivirus transmitidos por la mosca blanca (*Bemisia tabaci*). Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica) no.34:23-27.
- CUBILLO, D.; SANABRIA, G.; HILJE, L. 1999. Eficacia de coberturas vivas para el manejo de *Bemisia tabaci* como vector de geminivirus, en tomate. Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica) 51:10-20.
- DUBON, R.; SALGUERO, V.; PAREJA, G. 1993. Metodología para muestrear mosca blanca en tomate. In V. Salguero, D. Dardón y R. Fischer (eds.). Manejo Integrado de Plagas en Tomate. Fase: 1991-1992. Guatemala. Proyecto MIP-ICTA-CATIE-ARF. p. 53-74.
- ESPINO, C.; RIVAS, I.; GOMEZ, D.; GUHARAY, F. 1993. Movimiento local de mosca blanca *Bemisia tabaci* (Gennadius) en el campo de tomate, en el Valle de Sébaco. In Taller Interno sobre el Cultivo de Tomate. Grupo Interinstitucional de Tomate (1993, Managua, Nicaragua). Memoria. p. 11-12.
- HILJE, L. 1993. Un esquema conceptual para el manejo integrado de la mosca blanca (*Bemisia tabaci*) en el cultivo del tomate. Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica) no.29:51-57.
- HILJE, L.; CUBILLO, D.; SEGURA, L. 1993. Observaciones ecológicas sobre la mosca blanca *Bemisia tabaci* (Gennadius) en Costa Rica. Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica) 30: 24-30.
- JOVEL, J.; KLEINN, C.; RAMIREZ, P.; HILJE, L. 2000. Diseminación local del moteado amarillo (ToYMoV) en parcelas de tomate, en Turrialba, Costa Rica. Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica). (Aceptado).
- PALUMBO, J.C.; TONHASCA, A.; BYRNE, D.N. 1995. Evaluation of three sampling methods for estimating adult sweetpotato whitefly (Homoptera:Aleyrodidae) abundances on cantaloupes. J. Econ. Entomol. 88(5):1393-1400.
- POLSTON, J.E.; ANDERSON, P.K. 1997. The emergence of whitefly-transmitted geminiviruses in tomato in the Western Hemisphere. Plant Disease 81(12): 1358-1369.
- SALAS, J.; HEREDIA, A.; MENDOZA, O. 1997. Caracterización del vuelo de adultos de la mosca blanca *Bemisia tabaci* Genn. en campos sin siembra y dentro de siembra de tomate. In Taller Latinoamericano y del Caribe sobre Moscas Blancas y Geminivirus (6, 1997, Santo Domingo, República Dominicana). Memoria. p. 22.
- TOSI, J.A. 1989. Mapa ecológico de la República de Costa Rica, según la clasificación de zonas de vida del mundo de L. R. Holdridge. San José, Costa Rica, Centro Científico Tropical.

Control biológico de *Brevipalpus* spp. en *Citrus aurantifolia* en Guerrero, México

José Luis Rosas Acevedo*
Laura Sampetro Rosas**

RESUMEN. Se estudió la fluctuación poblacional del complejo de ácaros *Brevipalpus* spp. (*B. phoenecis* y *B. obovatus*) en árboles de limón ácido (*Citrus aurantifolia*), evaluando tres tratamientos: control biológico, utilizando suspensiones de micelio (50 g/L) y conidios (1×10^6 c/ml) de *Hirsutella thompsonii*; manejo convencional del agricultor, que es el manejo fitosanitario utilizado por los agricultores de la región y el testigo sin ninguna aplicación. El mayor número de individuos fue observado entre los meses de marzo y junio, a temperaturas de entre 15°C y 20°C. Se observaron diferencias significativas en la disminución de las poblaciones y el daño al fruto con el tratamiento de control biológico con respecto a los tratamientos de manejo convencional del agricultor y testigo, que presentaron picos máximos de hasta 650 y 350 ácaros/hoja, respectivamente. Después de tres aplicaciones foliares, el hongo persistió en las plantas tratadas hasta siete meses, lo que demuestra su potencial para regular a los brevipalpidos de los cítricos; y lo convierte en una opción más a considerar dentro de un programa de manejo integrado de plagas.

Palabras Clave: Tenuipalpidae, Control biológico, *Hirsutella thompsonii*, *Brevipalpus* spp., Limón ácido, *Citrus aurantifolia*, Acaros.

ABSTRACT. Biological control of *Brevipalpus* spp. on *Citrus aurantifolia* in Guerrero, Mexico. Population fluctuations of the mite complex *Brevipalpus* spp. (*B. phoenecis* y *B. obovatus*) in acidic lemon trees (*C. aurantifolia*) was studied and three treatments were evaluated: Biological control, using suspensions of mycelia (50 g/l) and conidia (1×10^6 c/ml) of *Hirsutella thompsonii*; conventional farmer management, employing the phytosanitary management used by farmers of the region, and a control, to which nothing was applied. The greatest number of individuals was observed between the months of March and June, at temperatures of between 15°C and 20°C. Significant differences were observed in the decrease of the populations and damage to the fruit in the biological control treatment with respect to the conventional management treatment and the control, where there were maximum peaks of up to 650 and 350 mites/leaf respectively. After three foliar applications, the fungus persisted on the treated plants for up to seven months, demonstrating its potential to regulate brevipalpidos in citrus; and making it one more option to be considered within an integrated pest management programme.

Key words: Tenuipalpidae, Biological control, *Hirsutella thompsonii*, *Brevipalpus* spp., Acidic lemon, *Citrus aurantifolia*, Mites.

Introducción

Los factores que ejercen mayor influencia en el aspecto externo y la calidad interna de los frutos de los cítricos y otros cultivos son el clima, las enfermedades y las plagas. Entre las plagas de este cultivo está el complejo de ácaros *Brevipalpus* spp. que son especies relativamente poco estudiadas, a pesar de que bajo determinadas condiciones, sus poblaciones alcanzan niveles

económicos de daño (Goes *et al.* 1985, García-Mari *et al.* 1986). En Venezuela, por ejemplo, *B. obovatus* y *B. phoenecis* se han asociado con un halo costroso en los cítricos, producido por el hongo *Elsinoe fawcettii*, lo que provoca severas defoliaciones que llegan a causar la muerte de la planta (Knorr y Denmark 1970). El 60% de la destrucción de las plántulas en viveros es ocasionada por las agallas nodales, las cuales impiden

Recibido: 30/07/97. Aprobado: 21/02/2000.

* Programa de Doctorado en Biotecnología. Fac. de Ciencias Biológicas y Agropecuarias. Universidad de Colima. Apdo. Postal 10. Tecoman, Col. Mex. Email: jlrosas71@hotmail.com

** Unidad de Estudios de Posgrado e Investigación de Acapulco. Universidad Autónoma de Guerrero. Apartado Postal 441. Acapulco, Gro. México. 39301. E.Mail: uepiuag@mpsnet.com.mx

el desarrollo del follaje (Knorr y Malaguti 1960). En Argentina, el daño causado por *B. obovatus* es conocido como lepra explosiva y es producida por las toxinas que inyecta el ácaro a la planta cuando se alimenta, ocasionando daños considerables (Jeppson 1977). Según las observaciones de Muma (1958) las infestaciones de *B. phoenicis* están sujetas a períodos cíclicos de alta y baja intensidad, además por la forma de su cuerpo y su mayor abundancia sobre las ramas y frutos donde, a causa de los pliegues y surcos, tienen más posibilidades de mantenerse sobre la planta, los ácaros de esta especie resisten mejor la acción de las lluvias (Natchev y Batista 1971). Kitajima y Muller (1972) señalan que el principal daño de *B. phoenicis* consiste en manchas semejantes a costras de textura parecida al corcho (Ochoa *et al.* 1991). Carmona (1981) señaló que en cítricos y en otras plantas hospedantes, los daños inicialmente se aprecian como pequeñas manchas cloróticas en ramas, hojas, peciolo y frutos, y posteriormente adquieren un tono bronceado, causando la defoliación de la planta, y cuando el ataque es intenso, provocan la caída de los frutos Herrera (1989). El control químico de los ácaros ha resultado caro y poco eficiente debido al mal uso de los plaguicidas; por tanto, la presencia de hongos como *Hirsutella thompsonii* señalado en Cuba como enemigo natural de *B. phoenicis* (Cabrera 1978) amplían en México la posibilidad de su utilización como alternativa de control biológico de ácaros, dentro de un programa de manejo integrado de plagas.

El objetivo de este trabajo fue conocer la fluctuación poblacional de estos ácaros en árboles de limón, evaluando el control biológico y el manejo tradicional dado por los agricultores para conocer el efecto del hongo en las poblaciones de ácaros y su persistencia en condiciones de campo, así como su efecto en la producción.

Materiales y métodos

La investigación se realizó en un huerto de limón ácido (*Citrus aurantifolia*) localizada en Tixtla, Guerrero, México. Se utilizó un diseño experimental de bloques al azar, cada bloque estaba compuesto de 10 plantas por tratamiento. En el tratamiento testigo (T) se aplicó agua filtrada. El tratamiento de control biológico (CB) consistió de la aspersión de 500 ml/árbol, de una suspensión de micelio (50 g/L) y conidios (1×10^6 c/ml) de la cepa HtMOR de *Hirsutella thompsonii* var. *thompsonii*. Esta creció durante 4 días en medio líquido "H" (Rosas *et al.* 1993, 1994) a 100 rpm de agitación constante y $26 \pm 1^\circ\text{C}$ de temperatura, este inóculo se

pasó a recipientes de 2 L que contenían medio semisólido de papa-zanahoria, donde se dejó crecer 8 días más. A los 12 días de desarrollo, el hongo junto con el medio de cultivo se homogenizaron en una licuadora formando una suspensión (micelio y conidios), la cual se aplicó los primeros días de abril y de mayo y a mediados de junio. El tratamiento llamado manejo convencional del agricultor (MC), consistió en el manejo utilizado por los agricultores, que incluye control químico con los productos y dosis comúnmente utilizados. En este caso, consistió de malatión (3 ml/L) a mediados de marzo y cuatro aplicaciones de diazinon (3 ml/L) a finales de marzo, y a mediados y finales de mayo, en dosis de 3 L/árbol. La recolección de los ácaros se realizó cada 8 días, en cada árbol se tomaron 4 hojas por punto cardinal y al centro (en total 20 hojas por planta) que fueron colocadas sobre tiras de papel absorbente para atenuar el desarrollo de otros hongos que dificulte la localización del hongo inoculado (Cabrera 1980). Las hojas fueron observadas bajo el estereoscopio (45X) y se contaron los ácaros vivos y micosados, de éstos últimos se aisló el hongo con la técnica de Rosas y Sampedro (1991) para corroborar su viabilidad. Para la evaluación de la producción, en cada una de las tres cosechas realizadas durante el estudio, se pesó y se midió el perímetro de 50 frutos de 6 árboles por bloque. Los datos se sometieron a un análisis de varianza y la prueba de Tukey.

Resultados y discusión

Se identificaron dos especies en el complejo *Brevipalpus* spp. (*B. phoenicis* y *B. obovatus*) (Acari: Tenuipalpidae), de los cuales estuvieron presentes todos los instares en los muestreos efectuados entre marzo de 1994 y enero de 1995. La fluctuación poblacional de los ácaros adultos no fue diferente ($P > 0,05\%$) entre los tratamientos de manejo convencional del agricultor y el testigo, excepto en el mes de mayo donde los valores poblacionales promedio fueron de hasta 650 ácaros por hoja y en el testigo de 350 (Fig. 1), lo cual coincide con lo señalado por Natchev y Batista (1971) en Cuba, donde las poblaciones se mantienen elevadas desde febrero y hasta finales de mayo; mientras que Muma (1958) en Florida, Dean (1964) en Texas y Zuluaga (1968) en Colombia informaron de picos máximos de ésta plaga de junio a agosto; y Chapot y Delucchi (1964) en Marruecos, llegaron a registrar hasta 100 individuos/cm² en setiembre. En el resto del año la plaga en ambos tratamientos se comportó de manera similar. En el tratamiento

de manejo convencional del agricultor, se observaron también descensos bruscos después de las aplicaciones de los plaguicidas (Fig.1), con un consecuente resurgimiento posterior de la plaga, para alcanzar niveles más altos que rebasaron los del testigo y del control biológico (donde no se aplicaron productos químicos), como consecuencia del uso de productos organofosforados que no han sido efectivos contra los brevipalpidos (Jeppson 1977, McCoy 1977). El control biológico presentó diferencia significativa ($P < 0,05$) con respecto a los tratamientos de manejo convencional del agricultor y testigo, y su promedio poblacional fue de 15 ácaros/hoja y un sólo máximo de 63 ácaros/hoja en abril, que es menor al umbral económico recomendado por Netto (1987) de 30 ácaros/cm². Los meses con mayor incidencia de esta plaga fueron marzo, abril, mayo y junio, época donde la temperatura fluctuó entre 15°C y 20±1°C, lo cual es esperado porque el ciclo reproductivo de estos ácaros se acorta a estas temperaturas, incrementándose la densidad poblacional por hoja (Moutia 1958, Banerjee 1976, Natchev y Batista 1971). Al final de este período se inició la mayor actividad pluvial, lo que ayudó a disminuir la densidad de la población, como ha sido señalado por Haramoto (1969), Bustillo y Saldarriaga (1970) y Natchev y Batista (1971).

El comportamiento del hongo en el tratamiento de manejo convencional del agricultor fue significativo, ya que el porcentaje de infección con *H. thompsonii* en el tratamiento de control biológico, fue inversamente proporcional a la densidad de la población del hospedante (Fig.2). A medida que el promedio mensual de ácaros/hoja descendió, el porcentaje de infección se incrementó (Figs. 1 y 2), con un promedio máximo de ácaros micosados de 25 ácaros/hoja, manteniéndose enzootias de ca. 5-12 ácaros micosados/hoja durante 7 meses después de asperjado el entomopatógeno. Esto ocurre probablemente por la acción sincronizada

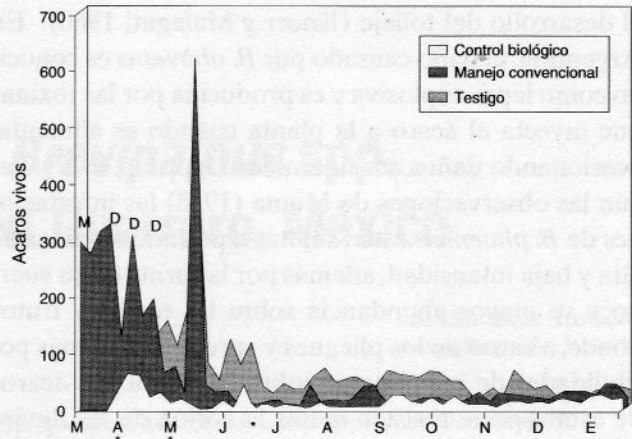


Figura 1. Fluctuación poblacional de individuos vivos (adultos) del complejo *Brevipalpus* spp., en árboles de limón ácido de marzo de 1994 a enero de 1995 de acuerdo a los tratamientos, en Tixtla, Guerrero, México.

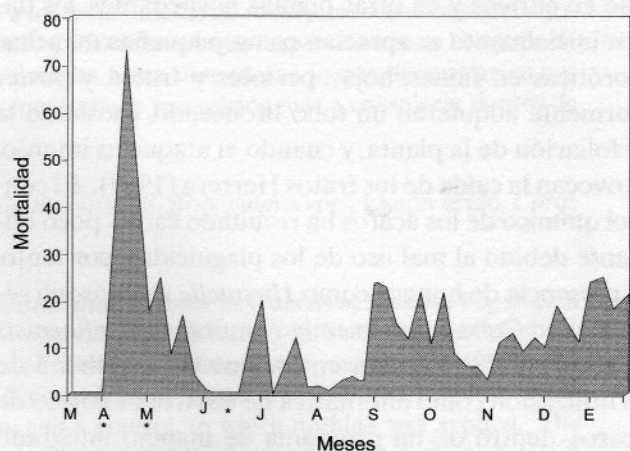


Figura 2. Número de ácaros por hoja muertos por el hongo, antes y después de las aplicaciones de micelio y conidios de *H. thompsonii* sobre el follaje de árboles de limón ácido, en Tixtla, Guerrero, México.

de los patrones requeridos para que ocurran las epizootias (Steinhaus 1954, Fuxa y Tanada 1987), como son el inóculo aplicado, la susceptibilidad de la plaga y las condiciones ambientales favorables para la esporulación del hongo y la germinación de las esporas.

Cuadro 1. Tamaño (cm) y peso (gr) de los frutos de limón ácido (*Citrus aurantifolia*) en tres cosechas con tres tratamientos, Guerrero, México.*

| Tratamiento | | Cosecha | | | Total |
|------------------------------------|--------|---------|----------|---------|----------|
| | | I | II | III | |
| Testigo | tamaño | 15,89Aa | 15,80Aa | 15,87Aa | 15,85 Aa |
| | peso | 14,12Ba | 12,60 Aa | 11,45Aa | 13,39 Aa |
| Control Biológico | tamaño | 17,28Bb | 17,21Bb | 17,38Bb | 17,29 Bb |
| | peso | 14,12Ba | 13,95Bb | 14,86Bb | 14,31 Bb |
| Manejo convencional del agricultor | tamaño | 16,25Aa | 16,54Aa | 16,21Aa | 16,33 Aa |
| | peso | 14,27Ba | 12,73Aa | 11,52Aa | 12,84 Aa |

*Promedio de 50 frutos por bloque; los números seguidos por la misma letra (mayúsculas en sentido horizontal y minúsculas en sentido vertical) no son significativamente diferentes al 5% según la prueba de Tukey.

Los árboles de los tratamientos manejo convencional del agricultor y testigo no presentaron ácaros micosados; probablemente debido a la poca capacidad de dispersión del hongo cuando las corrientes de aire no son favorables.

Con respecto a la cosecha (Cuadro 1), hubo diferencia significativa ($P < 0,05$) entre el tamaño y peso de los frutos del tratamiento de control biológico con los tratamientos de manejo convencional del agricultor (donde se realizaron cinco aplicaciones de plaguicidas, con el consecuente costo y problemas ambientales y resurgimiento de la plaga) y el testigo, lo cual demostró la eficacia de *H. thompsonii* para el control del complejo *Brevipalpus* spp., por lo cual puede conside-

rarse una opción más en programas de manejo integrado de plagas en este cultivo.

Conclusiones

H. thompsonii disminuyó significativamente las poblaciones y los daños ocasionados por *B. phoenecis* y *B. obovatus* en los cítricos. La persistencia de *H. thompsonii* durante 7 meses y después de tres aplicaciones, lo convierte en una alternativa potencial para su evaluación en programas de manejo integrado de plagas.

Los productos químicos organofosforados no mostraron efecto alguno en el control y la reducción del daño que provoca el complejo *Brevipalpus* spp., en limón ácido.

Literatura citada

- BANERJEE, B. 1976. Development of the red crevice mite *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes) on coffee and tea (Acarina: Tenuipalpidae). Z. Ang. Entomol 80:342-346.
- BUSTILLO, A.E.; SALDARRIAGA, A. 1970. Evaluación de nueve acaricidas en el control químico de *Lorrya turrialbensis* B., *Brevipalpus phoenicis* (G.) y *Phyllocoptruta oleivora* (Ash.) en cítricos del Valle del Cauca. Acta Agron. 20(3-4):113-141.
- CABRERA, R.I. 1978. Presencia de *Hirsutella thompsonii* sobre *Brevipalpus phoenicis*. Cienc. Téc. Agric., Protección de Plantas. 1(3):36-38.
- CABRERA, R.I. 1980. Estudio de la distribución geográfica del hongo *Hirsutella thompsonii* en las diferentes zonas citrícolas del país. Cienc. Téc. Agric., Cítricos y otros frutales. 3(2):19-31.
- CARMONA, M.M. 1981. Dois ácaros fitófagos dos Acores. Agron. Lusit. 41(2):139-147.
- CHAPOT, H.; DELUCCHI, V.L. 1964. Maladies, troubles et ravageurs des agrumes au Maroc. Rabat. Inst. Nal. de la Recherche Agron. 339 p.
- DEAN, H.A. 1959. Seasonal distribution of mites on Texas grapefruit. J. Econ. Entomol. 52(2):228-232.
- FUXA, J.R.; TANADA, Y. 1987. Epizootiology of insect diseases. John Wiley & Sons.
- GARCIA-MARI, F.; FERRAGUT, F.; MARZAL, C.; COSTA-COMELLES, J.; LABORDA, R. 1986. Acaros que viven en las hojas de los cítricos españoles. Investigación Agraria. Producción y Protección Vegetal 2:219-250.
- GOES, A.; DE BARROS, M.; DA SILVA, J.C.; PEREIRA-ALVES, R.C. 1985. A leprose dos citros: o acaro e seu controle. Comunicado técnico PESAGRO-RIO. 148: 1-2.
- HARAMOTO, F.H. 1969. Biology and control of *Brevipalpus phoenicis* (G.) (Arach., Acari, Tenuipalpidae). Tech. Bull. Hawaii Agric. Exp. Stn. 68:5-63.
- HERRERA, M.O. 1989. Factores que influyen en la calidad de los cítricos. Boletín de reseñas. Cítricos y otros frutales. 37-38.
- JEPPSON, L.R. 1977. Bionomics and control of mites attacking citrus. Proc. Int. Soc. Citriculture. 2:445-451.
- KITAJIMA, E.W.; MULLER, G.W. 1972. Short, rod-like particles associated with citrus leprosis. Virology 50(1):254-258.
- KNORR, L.C.; MALAGUTI, G. 1960. Halo scab- result of an association of *Elsinoe faucei* and *Brevipalpus phoenicis* destructive to sour-orange seedlings. Plant. Dis. Rep. 44:662-663.
- KNORR, L.C.; DENMARK, H.A. 1970. Injury to citrus by the mite *Brevipalpus phoenicis*. Journal of Economic Entomol. 63(6):1996-1998.
- McCOY, C.W. 1977. Horticultural practices affecting phytophagous mite populations on citrus. Proc. Int. Soc. Citriculture. 2:459-462.
- MOUTIA, L.A. 1958. Contribution to the study of some phytophagous Acarina and their predators in Mauritius. Bull. Entomol. Res. 49(1):59-75.
- MUMA, M.H. 1958. Predators and parasites of citrus mites in Florida. In International Congress Entomology (10, 1958). Proceedings. 4:633,647.
- NATCHEV, P.D.; BATISTA, O.R. 1971. Trabajo realizado durante un año sobre los ácaros que se encuentran en los cítricos. La Habana. Ed. Ciencia y Técnica. 13-37.
- NETTO, A.V. 1987. Causas do insucesso no controle do acaros dos pomares de cítricos. Review of Appl. Entomol. Series A. 1(8):51-59.
- OCHOA, R.; AGUILAR, H.; VARGAS, C. 1991. Acaros fitófagos de América Central: guía ilustrada. Turrialba, C.R. CATIE.
- ROSAS ACEVEDO, J.L.; SAMPEDRO, L. 1991. Parasitismo de *Hirsutella thompsonii* Fisher sobre *Phyllocoptruta oleivora* (Ashm) y *Aceria guerreronis* Keifer. Boletín. Soc. Mex. Entomol. 9:42-45.
- ROSAS ACEVEDO, J.L.; ALATORRE ROSAS, R.; VALDEZ CARRAZCO, J. 1993. Conservación de siete cepas de *Hirsutella thompsonii* (Deuteromycetes-Moniliales), a tres temperaturas de almacenamiento. Agrociencia. Protección Vegetal 4(1):93-102.
- ROSAS ACEVEDO, J.L.; ALATORRE ROSAS, R.; VALDEZ CARRAZCO, J.; SAMPEDRO ROSAS, L. 1994. Crecimiento micelial y esporulación de siete cepas de *Hirsutella thompsonii* y una cepa de *H. nodulosa* en seis medios líquidos. Protección Vegetal 5(1):91-100.
- STEINHAUS, E.A. 1954. The effects of disease on insect populations. Hilgardia 23:197-261.
- ZULUAGA, C.I. 1968. Reconocimiento, identificación y algunas observaciones sobre dinámica de poblaciones de ácaros en cítricos del valle del Cauca, Colombia. Tesis. Ing. Agr. Palmira, Colombia. 53 p.

Nuevo Proyecto CATIE-GTZ sobre alternativas al uso de plaguicidas sintéticos

La Agencia Alemana de Desarrollo Internacional (Deutsche Gesellschaft fuer Technische Zusammenarbeit-GTZ) y el Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE) iniciaron en enero pasado el proyecto de cooperación "Fomento de la difusión de métodos de protección vegetal no químicos, en el sector privado". El objetivo de proyecto es apoyar a pequeñas empresas comerciales en todas aquellas actividades que permitan fomentar el uso de productos fitosanitarios alternativos a los plaguicidas sintéticos, en el sector agrícola en América Central.

El proyecto ofrecerá a estas empresas capacitación sobre producción, control de calidad y comercialización de estos productos. También contribuirá con los servicios de extensión estatales y privados, con el propósito de mejorar los conocimientos de los productores y las productoras y sus familias sobre el uso de estos productos.

Además el proyecto apoyará al sector gubernamental en el proceso de normalización y registro de los plaguicidas no sintéticos. El proyecto cooperará con instituciones regionales para mejorar el intercambio de información sobre esta temática.

La sede de este proyecto está en CATIE, Turrialba, Costa Rica y está integrado a la Unidad de Fitoprotección del Área de Agricultura Ecológica. La primera fase del proyecto tiene una duración de tres años.

Para más información contactar a

Dr. Ulrich Roettger
 Convenio CATIE / GTZ
 Promoción de productos no-químicos
 EMail: roettger@catie.ac.cr

Nuevas Publicaciones



El repollo es una hortaliza de gran consumo en Nicaragua y otros países de América Latina y El Caribe. Este cultivo es afectado por varias plagas que reducen significativamente su producción. Desde hace varios años, especialistas en manejo integrado de plagas de la Universidad Nacional Agraria (UNA), del Instituto Nicaragüense de Tecnología Agropecuaria (INTA) y del Centro Agronómico Tropical

de Investigación y Enseñanza

(CATIE) han desarrollado diversas investigaciones sobre el manejo de las principales plagas del repollo en Nicaragua.

Los resultados de estos trabajos son presentados en el manual "Manejo integrado de plagas en el cultivo del repollo". Esta publicación está dirigida a extensionistas, investigadores, profesores, promotores, extensionistas y productores. La publicación incluye secciones sobre el manejo del cultivo, de los insectos plagas más importantes del cultivo como: palomilla de dorso de diamante (*Plutella xylostella*), gallina ciega (*Plyllophaga* sp., gusanos (*Aeollus* sp., *Ascia monuste* y *Leptofobia aripa*) y áfidos (*Hyadaphis erysimi* o *Lipaphis erysimi* y *Myzus persicae*). Así como de las enfermedades tales como: mal del talluelo (*Rhizoctonia solani*, *Fusarium* spp., *Phytium* spp., *Phytophthora* spp. y *Thielaviopsis basicola*) pudrición blanca (*Sclerotinia scleroriorum*) y quema (*Xanthomonas campestris* pv. *campestris*) y malezas como el coyolillo (*Cyperus rotundus*), bledo (*Amaranthus hybridus*), cardo santo (*Argemone mexicana*). La última sección presenta el manejo de las plagas según la etapa del cultivo.

El manual está ampliamente ilustrado con fotos a color e incluye un anexo de una libreta de apuntes para diagnóstico de las plagas y enfermedades.

Este documento está a la venta y su precio es US\$ 10.

Para mayor información contactar a:

CATIE
 Programa Regional
 CATIE/MIP/AF
 Apto. Postal P-116,
 Managua, Nicaragua
 Tel (505) 265-7268
 Fax (505)265-7114

Biblioteca
 Conmemorativa Orton
 Apdo. 7170 Turrialba,
 Costa Rica
 Tel (506) 556 -0501
 Fax(506)556-0858

Tesis de Postgrado

FUENMAYOR, M.M. 1999. Evaluación de formulaciones y métodos de almacenamiento de aislamientos de *Beauveria bassiana* promisorias para el control de broca del café. Tesis de M.Sc. CATIE. Turrialba, Costa Rica. 82 p.

Los hongos entomopatógenos usados para el control de la broca de café, son una opción fundamental en el desarrollo de un programa de manejo integrado, con el fin de preservar el ambiente y lograr un uso racional de insecticidas sintéticos. Los hongos conforman el grupo más grande de microorganismos registrados como patógenos de insectos; sin embargo, parece existir cierto rechazo en su uso como agentes de control exitoso en el campo, debido a las limitaciones ambientales que podrían observarse mediante el uso de formulaciones adecuadas. Se considera que *B. bassiana*, puede jugar un papel importante en el control de la broca, en condiciones de los ecosistemas cafetaleros. *B. bassiana* parasita a *Hypothenemus hampei* en todos los estados de desarrollo, especialmente en épocas de alta humedad. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de las formulaciones y diferentes condiciones de almacenamiento sobre algunas características de dos aislamientos de *B. bassiana* y determinar el grado de compatibilidad con diferentes fungicidas.

Se evaluaron cuatro formulaciones como tratamiento principal: *B. bassiana* en aceite Agrol 971, *B. bassiana* en Agrol 851, *B. bassiana* liofilizada y *B. bassiana* en polvo. Se utilizaron dos cepas (RL-9 y 9205), dos temperaturas de almacenamiento (0°C y 22°C) y dos tratamientos de secado (con y sin sílica, la cual se agregó dentro de la formulación del hongo). Las

variables evaluadas fueron: viabilidad de los conidios, crecimiento diamétrico y esporulación, en cada una de las formulaciones. Los resultados indicaron que la formulación liofilizada permitió el 100% de germinación a través del tiempo, mientras que las formulaciones en polvo, aceite agrol 971 y agro 851 disminuyeron la viabilidad de los conidios en ambas cepas durante el período experimental. Para la cepa RL-9, la sílica tuvo un efecto benéfico en conservar la viabilidad para la formulación en polvo, mientras que la formulación de Agrol 851 fue la que permitió mayor nivel de viabilidad durante los 9 meses. El efecto de la temperatura tuvo interacción con la sílica para la cepa 9205, donde la formulación en polvo con sílica almacenada a 0°C mostró la viabilidad de los conidios a niveles mayores que la almacenada a 22°C. En cuanto a la variable crecimiento en ambas cepas del hongo a través del tiempo, las formulaciones no tuvieron efecto, por lo que al final del período experimental las cuatro formulaciones se comportaron igual. Finalmente, la esporulación de ambas cepas fue favorecida con la formulación en polvo, presentando los valores más altos.

También se evaluó el efecto de diferentes dosis de fungicidas sobre el crecimiento y esporulación de dos cepas del hongo *B. bassiana* (RL-9 y 9205). Se utilizaron los fungicidas Kocide, Atemi, Cupravit, Silvacur y Daconil, a las concentraciones 5, 10, 100, 500, 1000 p.p.m. y los respectivos testigos.

El estudio de la compatibilidad de los fungicidas demostró inhibición en el crecimiento y esporulación cuando fue expuesto a los fungicidas Silvacur, Atemi y Daconil en todas las concentraciones

evaluadas. Los fungicidas Kocide y Cupravit no afectaron significativamente el crecimiento y la esporulación. La utilización de hongos entomopatógenos simultáneamente con fungicidas en áreas donde se usan frecuentemente fungicidas para el manejo de enfermedades, debe tomar en cuenta su compatibilidad con estos productos para mejorar su acción sobre la broca del café.

SALAZAR C., E. 1999. Calidad de *Coffea arabica* bajo sombra de *Erythrina poeppigiana* a diferentes elevaciones en Costa Rica. Tesis M.Sc. CATIE. Turrialba, Costa Rica. 82 p.

En Costa Rica, el café se cultiva principalmente a plena exposición solar y bajo sombra regulada (dos podas/árbol/año). Un árbol frecuentemente utilizado es *Erythrina poeppigiana* (poró gigante). El objetivo del estudio fue determinar el efecto de diferentes densidades de sombra y de elevación sobre la calidad de grano y la incidencia de enfermedades del fruto. Las cuatro densidades de sombra evaluadas fueron: sombra densa, sombra intermedia, sombra variable e intermedia en var. Caturra de "La Esmeralda" (1041 m.s.n.m., Turrialba, Cartago) y de "Birrisito" (1300 m.s.n.m., Paraíso, Cartago) y sombra variable y sin sombra en var. Caturra de "La Pastura" (1650 m.s.n.m., San Marcos de Tarrazú, San José).

La calidad del café mejoró conforme aumentó la sombra en "El Cañal". Los principales beneficios de la sombra intermedia y densa fueron el aumento de peso fresco y tamaño del fruto, y menores porcentajes de fruto vano, y de fruto afectado por los hongos chasparria (*Cercospora coffeicola*) o antrac-

nosis (*Colletotrichum* sp.). Bajo sombra las características físicas y organolépticas del grano fueron mejores para color, uniformidad y acidez en var. Caturra y en color, ranura, dureza y cuerpo para var. Catimor 5175. En "La Esmeralda" la sombra intermedia disminuyó la producción de café y la incidencia de chasparria y antracnosis. Las cualidades físicas de uniformidad, ranura y dureza del grano, así como la acidez, aroma y cuerpo fueron mejores bajo sombra intermedia en "La Esmeralda" y "Birisito". En "La Pastora" solo se mejoró la dureza y el cuerpo con la utilización de sombra.

La producción en "El Cañal" y "Birisito" no difirió entre densidades de sombra. La incidencia del ojo de gallo (*Mycena citricolor*) en los frutos aumentó con la utilización de sombra intermedia y densa comparado con sombra variable y sin sombra en "El Cañal" resultando más afectados los frutos de var. Catimor 5175. Las cualidades físicas y organolépticas no difirieron entre fechas de catación para var. Caturra y Catimor en "El Cañal".

CASTELLON, J.U. 1999. Uso de abonos orgánicos y sombra para almácigos de café orgánico. Tesis M.Sc. CATIE. Turrialba, Costa Rica. 69 p.

El estudio consistió de dos experimentos para evaluar el efecto de abonos orgánicos en un almácigo orgánico de *Coffea arabica* L. en función del procesamiento, la composición y cantidad de sustrato utilizada bajo dos niveles de sombra y dos elevaciones. En el primero, se evaluaron dos niveles de iluminación (0% y 50%) y 20 sustratos. Los sustratos consistieron en la aplicación de pulpa de café procesado con y sin lombrices ("lombricompost LC" y "pulpa descompuesta"), en proporciones

(% Vol/Vol) de abono/suelo: 25:75, 50:50 y 75:25. En otros tratamientos, en la proporción 25:75, se adicionaron elementos deficientes en el suelo (Ca, Mg, Zn) y micorrizas (*Entrophospora colombiana*). También se evaluaron, abono bocashi en (proporción 25:75) y la hojarasca de *Erythrina poeppigiana* a tres niveles equivalentes a 200, 400 y 600 kg N/ha incorporado como abono verde. Los testigos fueron la fertilización química con y sin fungicidas, y un testigo absoluto solo suelo. El experimento se estableció en un diseño de bloques completos al azar en parcelas divididas, con la iluminación como parcela grande y los tratamientos (sustratos) en las subparcelas.

Los efectos de los factores sombra y sustratos, así como su interacción presentaron diferencias altamente significativas para las variables sobrevivencia a los dos meses después del trasplante (2 mdt), altura y materia seca a los 6 mdt. Para las variables defoliación, incidencia de *Cercospora coffeicola* y vigor, sólo la interacción fue significativa. La sombra incrementó la sobrevivencia, altura, materia seca y vigor, pero no afectó la incidencia de *C. coffeicola* y la defoliación. El índice de agallamiento producido por nematodos fue bajo en todos los tratamientos. Las concentraciones foliares de macronutrientes presentadas por los sustratos pulpa y LC en proporción 25:75 fueron óptimas y equilibradas. De los 20 sustratos evaluados, los mayores valores de sobrevivencia, altura, materia seca y vigor fueron obtenidos en LC 25%, LC 25% + Mic, LC 25% + Ca y Mg, LC 25% + Zn, Pulpa 25% + Ca y Mg, Pulpa 25% + Zn, bocashi 25% y fertilización química con y sin fungicidas. Estos tratamientos también presentaron los más bajos porcentajes de incidencia de *C. coffeicola*

y defoliación. La alta correlación entre el índice de vigor y altura, defoliación, incidencia de *C. coffeicola* y materia seca sustentan que la medición del vigor es una forma fácil y no destructiva de evaluar el crecimiento de las plántulas de café.

En el segundo experimento se evaluó el efecto de nueve sustratos, otra vez bajo 0 y 50% de sombra, a dos elevaciones (602 y 1325 msnm). En cada sitio, los tratamientos fueron: LC, pulpa y bocashi en proporción 25:75, suelo + micorrizas, los tres niveles de *E. poeppigiana*, fertilización + fungicidas y testigo absoluto. A los seis mdt, las plántulas a 602 msnm presentaron los mayores valores de altura y materia seca, pero también de defoliación e incidencia de *C. coffeicola*. En ambos sitios, el crecimiento de las plantulas fue superior bajo sombra. En ambas elevaciones, los mejores tratamientos fueron LC 25%, pulpa 25%, bocashi 25% y fertilización más fungicidas. En contraste, los tratamientos de abono verde de *E. poeppigiana*, suelo + micorrizas y testigo absoluto presentaron los menores valores de materia seca y vigor, y al mismo tiempo la mayor defoliación e incidencia de *C. coffeicola*.

Ambos experimentos demostraron que el uso de sombra y la pulpa de café (procesada con o sin lombrices) en la proporción 25:75 favoreció el crecimiento de plántulas de café sanas y vigorosas. La alta elevación disminuyó el crecimiento de las plántulas, pero también disminuyó la incidencia de *C. coffeicola* y la defoliación. El estudio demostró que los abonos orgánicos pueden favorecer el crecimiento de plántulas de café igual o mejor que la fertilización química y convencional.

Futuros Eventos

17 – 19 Mayo, 2000

IV Encuentro Nacional de Agricultura Orgánica

Información: Ing. Marta Pérez Pérez
Secretaria Ejecutiva
Grupos de Agricultura Orgánica – ACTAF
Apartado Postal 4029 C.P. 10400
Ciudad de La Habana, Cuba
Tel/Fax: (537)84 5387
EMail: actaf@minag.gov.cu

19 - 21 Mayo, 2000

World Neem Conference

Información: M.B. Isman
Dept. of Plant Science
University of British Columbia
Vancouver, B.C. V6T 1Z4, Canadá
Fax: 1-604-822-8640

19 Mayo – 1 Julio, 2000

Curso Internacional de Manejo Integrado de Plagas

Información: H.A.I. Stotzer
P.O. Box 88 6700 AB Wageningen, The Netherlands
Fax: 31-317-418552
EMail: iac@iac.agro.nl

03 – 11 Junio, 2000

Brazilian Weed Science Congress and 3^o. International Weed Science Congress

Información: B.N. Rodrigues
J.B. da Silva
EMail: baptista@estaminas.com.br
sbcpd@cnpsa.embrapa.br

06 – 11 June, 2000

3rd. International Weed Science Congress Iguassu, Brasil

Información: J.B. da Silva
EMail: baptista@estaminas.com.br

12 – 16 Junio, 2000

International Conference on Science and Technology for Managing Plant Genetic Diversity in the First Century.

Información: Via delle Sette Chiese
142 00145 Rome, Italy
EMail: p.sands@cgiar.org
Fax: (39)0657-50309

24 – 28 Junio, 2000

Society of Nematologists Annual Meeting

Información: G. Belair
Hort. Resch. And Development
430 Gwin Blvd, Saint-Jean-Sur-Richelieu
QC J3B 3E6, Canadá
EMail: belairg@em.agr.ca

23 – 27 Julio, 2000

10th Internacional Conference on Plant Pathogenic Bacteria

Información: S.H. de Boer
EMail: deboers@em.agr.ca
Charlottetown, PEI, Canada

12 – 16 August, 2000

The American Phytopathology Society (APS). Annual Meeting Hyatt Regency

Información: New Orleans, LA, USA
EMail: aps@scisoc.org / <http://www.scisoc.org>
Tel.: 651 454 7250
Fax: 651 454 0766

20 - 26 Agosto, 2000

21st International Congress of Entomology

Información: D.L. Gazzoni
Iguassu Falls, Brazil.
EMail: francovi@sercomtel.com.br
Web site: www.embrapa.br/ice

23 – 30 September, 2000

Sorghum and Pearl Millet Diseases Guanajuato, México

Información: M. Clark
Dept. of Plant Pathology and Microbial
Texas A&M Univ. College Station, Texas
77843-2132 USA
EMail: mclark@ppserver.tamu.edu

02 – 05 Agosto, 2001

Symposium on the Practice of Biological Control Importation and Management of Natural Enemies in the New Millennium Bozeman, Montana, USA

Información: T. Kring
Dept. of Entomology
University of Arkansas, Fayetteville
AR 72701, USA
EMail: tkring@comp.uark.edu

MOSCA BLANCA AL DÍA



Coordinador: Luko Hilje
(lhilje@catie.ac.cr)

No. 30

Marzo, 2000



Nota editorial

Deseamos aprovechar este número para expresar a los lectores nuestros parabienes en este nuevo año y nuevo siglo. Asimismo, para manifestar nuestra satisfacción por los logros alcanzados hasta ahora, mundialmente, en el manejo de los problemas causados por el complejo mosca blanca-geminivirus. Ello, sin duda, es el producto de la rica y permanente interacción de un amplio contingente de científicos, técnicos y agricultores, de lo cual este número de **MBDía** es un fiel reflejo: próximas reuniones en EE.UU., Brasil e Italia; una valiosa experiencia práctica en Honduras; y nuevos aportes en Brasil y México. En síntesis, mayor cantidad y calidad de información científico-técnica, disponible mediante eficaces redes colaborativas, para enfrentar mejor los actuales retos. Es decir, buenas razones para mirar con optimismo y confianza hacia el futuro.



Reunión Europea

Del 28 de febrero al 3 de marzo del 2001 se realizará en Ragusa (Sicilia, Italia), el **European Whitefly Symposium**, organizado por la **Red Europea para el Estudio de las Moscas Blancas (EWSN)**. Para mayor información, contactar la EWSN Office: John Innes Centre, Norwich Research Park, Colney Lane, Norwich NR4 7 UH United Kingdom. Tel. +44(0) 1603 452571, Fax +44(0) 1603 456844, network.ewsn@bbsrc.ac.uk y <http://www.jic.bbsrc.ac.uk/hosting/eu/ewsn>



Plan EE.UU.

Del 6 al 8 de febrero del 2000 se efectuó en San Diego, California, la reunión anual sobre mosca blanca (1997-2001: **Third Annual Review of the Second 5-Year Silverleaf Whitefly Research, Action and Technology Transfer Plan**). En el próximo número de **MBDía** se informará con mayor amplitud acerca de sus resultados.



Aceites vegetales

Los agricultores de San Matías, en el Oriente de Honduras, cultivan frijol para el consumo familiar, así como para el mercado local. Sin embargo, en los últimos años han enfrentado serios problemas con *Bemisia tabaci* y geminivirus. Probaron muchos insecticidas, con poco éxito, pues la producción de frijol se mantuvo baja, los costos de producción se incrementaron mucho y se agudizaron algunos problemas de salud (dolores de cabeza, mareos y hasta vómito). Por tanto, en 1997-1998 decidieron experimentar, con ideas provenientes del personal de COSECHA y SAVE-GTZ. Probaron barreras vivas (de maíz, sorgo y pastos); mezclas de chile picante, ajo, cebolla, jabón y otras plantas locales; y extractos de la semilla de nim. Algunas de estas prácticas no funcionaron bien, y otras no eran fácilmente asequibles, por lo que intentaron usar aceite vegetal (de cocina), con éxito.



Congreso Mundial

Tal y como se informó en **MBDía** previos, del 20 al 26 de agosto del 2000 se realizará en Iguazú, Brasil, el simposio **Challenges and opportunities for pest management of Bemisia in the new century**, como parte del **XXI International Congress of Entomology**. Es organizado por los doctores Steve Naranjo, Regina Vilarinho, Peter Ellsworth y Odair Fernandes. **Contacto: Dr. Décio Gazzoni** (EMBRAPA/CNPSo). Caixa Postal 231. CEP 86001-970 Londrina, Paraná, Brasil. Tel (043) 371-6213, Fax: (042) 371-6100 o 371-6213, gazzoni@cnpso.embrapa.br y <http://www.embrapa.br/ice>

Actualmente se usan seis copas de 25 ml de aceite (150 ml) por bomba de 4 gal de agua. Se debe agregar una copa de 25 ml de jabón en polvo o líquido, para que el aceite se mezcle bien con el agua; además, se debe agitar a menudo la bomba durante la aplicación, para que el aceite se mantenga mezclado. Se recomienda atomizar cada 15 días, empezando dos semanas después de germinadas las plantitas, para un total de tres aspersiones durante el ciclo del cultivo; si el problema es muy fuerte, entonces se sugiere aplicar cada 10 días. Las aplicaciones se deben concentrar en el envés de las

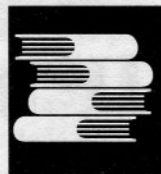
hojas, y efectuarse por la mañana, debido a la actividad de vuelo del insecto.

Los resultados obtenidos han motivado mucho a los agricultores de la zona, por lo que se logró que en apenas un año 75 agricultores de seis comunidades adoptaran esta práctica, la cual no daña la salud ni al ambiente, y es económica; ellos la aplicaron en parcelas de frijol que varían entre 0,25 y 3 Mz (0,2-2 ha). Asimismo, otros 30 agricultores que no participaban en el programa de experimentación utilizaron el aceite, con la asesoría de sus vecinos. Debido al éxito con esta tecnología, se espera su aceptación se amplíe cada vez más. (Colaboración del Ing. Gabino López. COSECHA. Valle de Angeles, Francisco Morazán, Honduras. rolando@cosecha.sdnhon.org.hn).



Mosca blanca en café

Aunque, por fortuna, no se trata de la destructiva *Bemisia tabaci*, recientemente se han registrado altas poblaciones de *Tetraleurodes* sp. en café, en Paracatú (Minas Gerais), Brasil. Se documentaron infestaciones y daños significativos en unas 300 mil arbustos adultos (var. Catuaí). El problema se manifestó desde junio de 1999 y se ha incrementado progresivamente. Aún no ha habido tiempo de observar su efecto sobre la producción, pero la enorme cantidad de mielcilla excretada por el insecto dificultó la recolección manual y hubo abundante fumagina; al agitar las ramas, las cerezas se desprenden fácilmente. Además, es frecuente observar "nubes" de adultos volando cerca de los arbustos. Se desconocen las causas del problema, pero se cree que ha sido favorecido por el clima caliente y seco en dicha región. Aunque se recurrió al combate mediante insecticidas, los resultados no han sido satisfactorios. (Para mayor información, contactar al Dr. Geraldo Papa: Dpto. de Biología, UNESP, Campus de Ilha Solteira, Av. Brasil 56, CEP: 15.385-000, Ilha Solteira, Sao Paulo, gpapa@bio.feis.unesp.br).



Nuevas publicaciones

Souza, Solange Sao Paulo de. 1998. *Ocorrencia e bioecologia de aleirodideos (Homoptera; Aleyrodidae) em plantas cítricas no Estado do Rio Grande do Sul. Tese de Doutorado. Universidade Federal de Rio Grande do Sul. Porto Alegre. 165 p.* Tesis de doctorado, que incluye información obtenida durante dos años y medio, sobre el crecimiento poblacional y la distribución espacial de cuatro especies presentes en cítricos: *Aleurothrixus floccosus*, *Aleurotrachelus cruzi*, *Dialeurodes citrifolii*, y *Paraleyrodes bondari*.

Pacheco Covarrubias, J.J.; Pacheco Mendivil, F. (Comp.). 1998. *Temas selectos para el manejo integrado de la mosquita blanca. INIFAP. México. 155 p.* Tiene un formato de libro y contiene aspectos básicos sobre geminivirus y moscas blancas. Además, incluye valiosa información sobre la ecología de la mosca blanca (crecimiento poblacional y distribución espacial), así como sobre criterios de decisión (métodos de muestreo y umbrales económicos), combate químico racional (combate *per se* y manejo de la resistencia), y aspectos cuarentenarios (campañas fitosanitarias).

Pacheco Covarrubias, J.J.; Pacheco Mendivil, F. (Comp.). 1998. *Mosquita blanca en el noroeste de México 1997. INIFAP. México. 98 p.* Es una memoria de los trabajos realizados durante 1997 en dicha zona, e incluye casi 40 resúmenes ampliados sobre crecimiento poblacional, distribución espacial, daños, muestreo, umbrales económicos, combate fitogenético, control biológico, eficacia de insecticidas, manejo de resistencia y validación de tecnologías.

En la Biblioteca Conmemorativa Orton (CATIE) están las tres. Las dos últimas se pueden comprar, consultando con el Dr. José Luis Martínez Carrillo (Instituto Nacional de Investigación Forestal y Agropecuaria, INIFAP). Ciudad Obregón, Sonora, México. Tel (64) 14-12-85, Fax (64) 14-59-14, jlmc@cirno.inifap.conacyt.mx

ESTE BOLETIN ESTA DISPONIBLE POR CORREO ELECTRONICO,
DENTRO DE LA REVISTA MANEJO INTEGRADO DE PLAGAS,
EN LA SIGUIENTE DIRECCION: <http://www.catie.ac.cr.80/~cicmip/>

POR FAVOR, FOTOCOPIE EL BOLETIN Y ENVIÉLO RAPIDAMENTE
A TODOS LOS INTERESADOS QUE CONOZCA

Este boletín es
copatrocinado por:

CATIE





Acciones MIP en hortalizas

Evaluación de agentes biológicos para el control de *Heliothis zea* en tomate en el Valle de Guatemala

Alvaro Hernández Dávila
Fernando Rodríguez
José Domingo Mendoza

Introducción

Una de las principales limitantes del cultivo del tomate (*Lycopersicon esculentum* Miller) en Guatemala son los insectos que dañan el fruto, lo cual puede disminuir el rendimiento hasta en un 40% (CATIE 1990), y la calidad del producto. Los más importantes son el gusano barrenador *Heliothis zea* Boddie y el gusano negro o prodenia *Spodoptera sunia* (Hubn), los cuales se alimentan de varios frutos, hasta completar su desarrollo (Bran-Shaw 1983). Las perforaciones causadas por estos insectos permiten la entrada de hongos, especialmente *Botrytis* sp., que causa la pudrición del fruto, ocasionando considerables pérdidas económicas al productor.

H. zea es la principal especie de gusanos del fruto en Guatemala (ICTA 1990). El estado larval perfora de 5 a 6 frutos durante su desarrollo, además daña botones florales. Wilson *et al.* (1983) señalan que los frutos verdes de diámetros menores de 2,5 cm pueden ser dañados tempranamente pues por lo general están asociados con flores que atraen a las hembras para ovipositar y al eclosionar las larvas penetrar los frutos más cercanos.

En Guatemala, tradicionalmente, el control de estas plagas

se ha realizado mediante insecticidas sintéticos, lo cual afecta el ambiente y la salud de los productores y consumidores, además de aumentar los costos de producción. Por tanto, es necesario buscar alternativas de manejo más sostenible. El objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto de *Bacillus thuringiensis*, el virus de la Poliedrosis Nuclear (VPN), y el parasitoide *Trichogramma pretiosum*, solos y en combinación, y el Neem (*Azadirachta indica*) sobre la población de *H. zea* y el rendimiento del cultivo del tomate.

Materiales y métodos

La investigación se realizó en el Centro Experimental de Agronomía (CEDA), de la Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos de Guatemala, en el Valle de Guatemala, ubicado en la zona de vida bosque húmedo subtropical templado (Cruz 1986) a 14°35' latitud norte y 90°31' longitud oeste y a 1052 msnm. La precipitación media anual es de 1150 mm, temperatura media anual de 19°C y humedad relativa de 81%. El suelo es de textura arcillosa y drenaje lento.

Se utilizó el híbrido de tomate "Elios", el cual tiene uso industrial

y para consumo como fruto fresco. Este material posee resistencia a *Verticillium* sp., *Fusarium* raza 1 y 2, *Meloidogyne* sp., *Alternaria* sp. y *Stemphylium* sp.

El manejo del experimento incluyó la aplicación de fungicidas al momento de la preparación del suelo, al trasplante y durante el ciclo de cultivo cuando fue requerido, especialmente por las condiciones causadas por el Huracán Mitch. Los productos utilizados fueron PCNB (85 gr/m) Mancozeb (3 kg/ha) Timidazol (1,4 kg/ha). También se aplicó en total Imidacloprid (900 gr/ha) a los 15, 25 y 35 días después del trasplante para el control de la mosca blanca.

El diseño experimental utilizado fue de bloques completos al azar con ocho tratamientos y cuatro repeticiones. La unidad experimental estaba constituida por parcelas de 30 m² (parcela útil de 12 m²) y 36 plantas por parcela útil. Las plántulas de tomate fueron trasplantadas el 6 de octubre de 1988, a una distancia de 1 m entre surcos y 0,40 m entre plantas.

Los tratamientos evaluados fueron: **T1:** *B. thuringiensis* var. kurstaki (Javelin) en dosis de 1 kg/ha, equivalente eg ingrediente activo a 53 000 ui/mg del serotipo 3a y 3b.

*Instituto de Investigaciones Agronómicas, Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala.

T2: Virus de la poliedrosis nuclear (VPN-Ultra 1,6 WP) en dosis de 1,4 kg/ha, equivalente a 1,2x10 de cuerpo poliédricos/kg.

T3: *Trichogramma*, liberación de 30 000 avispa/ha.

T4: *B. thuringiensis* (Javelin) + VPN-Ultra (1,6 WP).

T5: *B. thuringiensis* (Javelin) + *T. pretiosum*.

T6: VPN-ultra + *Trichogramma*.

T7: *A. indica* (Neem o Act botánico) + Carbonato de sodio en dosis de 10 ml/L, de 1-2L/ha.

T8: Testigo permetrina (Ambush10), en dosis de 1,5 L/ha.

La aplicación de los productos biológicos se inició a los 10 días después de la floración (45 días después del trasplante). Las aplicaciones se hicieron cuando se superó el umbral señalado por CATIE (CATIE 1990) para esta plaga que consiste de 7 o más huevos o larvas de *H. zea* en 50 plantas muestreadas. El manejo de estos productos consideró su transporte a la temperatura adecuada, aplicación en las primeras horas de la mañana y de la tarde para evitar el efecto de la luz solar. El pH de la mezcla de los productos biológicos estuvo entre 6 y 7.

Las variables evaluadas fueron: **Producción de fruto (kg/ha):** Al inicio del proceso de maduración de los frutos en cada parcela se realizó la cosecha, registrándose el peso de frutos sanos y **el de fruto rechazados por daño de *H. zea* (kg/ha).** Se consideraron los frutos menores y mayores a 2,5 cm. Se realizaron cinco cosechas con intervalos de 7 días. **Número de frutos afectados por *H. zea*:** Semanalmente se registró el número de frutos con perforaciones iniciales o avanzadas en cada parcela. **Número de huevos** Al inicio de la floración se comenzó con los muestreos

para lo cual se revisaron 15 plantas por semana. Se seleccionó la flor más alta de cada planta y se examinó el haz y el envés de la hoja compuesta inferior, registrando el número de huevos. **Número de larvas L1 y L2:** Los muestreos comenzaron al inicio de la floración, se revisaron 15 plantas por semana, seleccionándose la flor más alta de cada planta y se examinó la hoja compuesta inferior, por el haz y envés, registrándose el número de larvas de los instares L1 y L2.

También se realizó un análisis económico para encontrar la tasa de retorno marginal de los tratamientos utilizados.

Se realizó un análisis de varianza y la comparación de las medias se hizo mediante la prueba de Tukey (5%). También se efectuó un análisis de contrastes entre los tratamientos (*B. thuringiensis*, VPN, *Trichogramma* y Neem) y entre cada uno de ellos y el testigo (permetrina).

Resultados y discusión

Producción de fruto sano

El tratamiento que registró el mayor rendimiento ($P<0,05$) de frutos sanos fue el testigo (permetrina) con 45 193 kg/ha (Cuadro 1). *B. thuringiensis* obtuvo el segundo rendimiento (42 000 kg/ha) pero no

fue diferente a los otros tratamientos biológicos, excepto al Neem.

Los contrastes entre los tratamientos biológicos no fueron significativos ($P<0,01$), pero si ($P<0,01$) entre los tratamientos y el testigo (permetrina).

Producción de fruto dañado (kg/ha) por *H. zea*

La mayor cantidad de frutos dañados se obtuvo con el tratamiento Neem (9029 kg/ha), siendo diferente estadísticamente a todos los demás tratamientos ($P<0,05$) (Cuadro 2). Los tratamientos VPN + *Trichogramma*, VPN y *Trichogramma* mostraron una alta proporción de frutos dañados, sin ser diferentes estadísticamente entre ellos, pero si con los otros tratamientos. *B. thuringiensis* sólo y en combinación con VPN y *Trichogramma* redujo la cantidad de frutos dañados con respecto a los otros tratamientos, excepto con el testigo, con el cual fue diferente estadísticamente (Cuadro 2). Los resultados pueden deberse a que el VPN y *Trichogramma* requieren más tiempo para lograr controlar la plaga, en el caso de VPN es necesario que se den los procesos de ingestión, incubación y muerte de las larvas de *H. zea*. El mejor tratamiento fue el testigo (permetrina) que obtuvo la menor producción

Cuadro 1. Producción de frutos sanos de tomate (kg/ha) en ocho tratamientos para el control de *H. zea*. Guatemala 1999.

| Tratamiento | Rendimiento (kg/ha) |
|---|---------------------|
| Permetrina | 45 193,8 a |
| <i>B. thuringiensis</i> | 42 000,0 b |
| <i>B. thuringiensis</i> + <i>Trichogramma</i> | 41 950,0 b |
| VPN | 41 808,3 b |
| <i>B. thuringiensis</i> + VPN | 41 722,9 b |
| <i>Trichogramma</i> | 40 041,7 bc |
| VPN + <i>Trichogramma</i> | 39 747,9 bc |
| Neem | 38 425,0 c |

DMS = Diferencia Mínima Significativa 2441,8

Valores con la misma letra no son estadísticamente diferentes, según Prueba de Tukey al 0,05.

Cuadro 2. Producción de frutos de tomate (kg/ha) con daño causado por *H. zea*, Guatemala 1999.

| Tratamiento | Rendimiento (kg/ha) |
|---|---------------------|
| Neem | 9 029,21 a |
| VPN + <i>Trichogramma</i> | 6 200,0 b |
| VPN | 6 095,8 b |
| <i>Trichogramma</i> | 6 014,6 b |
| <i>B. thuringiensis</i> + VPN | 4 239,6 c |
| <i>B. thuringiensis</i> + <i>Trichogramma</i> | 3 768,7 c |
| <i>B. thuringiensis</i> | 3 231,3 c |
| Permetrina | 1 127,1 d |

Valores con la misma letra no son estadísticamente diferentes, según Prueba de Tukey al 0,05.

de fruto dañado (1127 kg/ha), siendo diferente estadísticamente a todos los otros tratamientos ($P < 0,05$). Sin embargo, el *B. thuringiensis* podría ser una alternativa para el control de esta plaga en tomate, ya que aunque no difirió de las mezclas con VPN y *Trichogramma*, presentó tendencia a tener mejor control de la plaga.

Frutos dañados por *H. zea*

El número de frutos de tomate dañados por *H. zea* varió según los tratamientos (Cuadro 3). El testigo (permetrina) fue el tratamiento que obtuvo el menor número de frutos dañados durante todo el ciclo, seguido por *B. thuringiensis* + *Trichogramma* que fue el tratamiento biológico con mejor comportamiento. También los tratamientos *B. thuringiensis* y *B. thuringiensis* + VPN fueron eficientes, sin ser diferente entre ellos. Esto puede deberse a la acción de los cristales parasporales o delta endotoxina, productores de la parálisis del intestino, lo cual reduce en pocos minutos la capacidad de las larvas de *H. zea* de causar daño y les causa la muerte.

Número de huevos de *H. zea*

El promedio de huevos de *H. zea*, durante todo el ciclo del cultivo de tomate fue menor en los trata-

mientos donde se liberaron *Trichogramma* (Cuadro 4). Con el tratamiento de *Trichogramma* el número de huevos fue diferente ($P < 0,05$) a todos los otros tratamientos, inclusive al testigo. El Neem fue el tratamiento que presentó mayor número de huevos (169) siendo diferente ($P < 0,05$) todos los tratamientos (Cuadro 4).

Cuadro 3. Número de frutos dañados por *H. zea* según evaluaciones semanales, Guatemala 1999.

| Tratamiento | Media |
|---|-----------|
| Neem | 187,292 a |
| <i>Trichogramma</i> | 116,125 b |
| VPN | 112,708 b |
| VPN + <i>Trichogramma</i> | 104,583 b |
| <i>B. thuringiensis</i> | 51,667 c |
| <i>B. thuringiensis</i> + VPN | 50,833 c |
| <i>B. thuringiensis</i> + <i>Trichogramma</i> | 47,917 c |
| Permetrina | 26,458 d |

Valores con la misma letra no son estadísticamente diferentes, según Prueba de Tukey al 0,05.

Cuadro 4. Número de huevos de *H. zea* en 15 plantas durante el ciclo de desarrollo del cultivo de tomate. Guatemala, 1999.

| Tratamiento | No. de huevos |
|---|---------------|
| Neem | 169 a |
| <i>B. thuringiensis</i> + VPN | 153 b |
| VPN | 144 bc |
| <i>B. thuringiensis</i> | 135 cd |
| Permetrina | 131 cd |
| <i>B. thuringiensis</i> + <i>Trichogramma</i> | 122 cd |
| VPN + <i>Trichogramma</i> | 109 ef |
| <i>Trichogramma</i> | 101 f |

Valores con la misma letra no son estadísticamente diferentes, según Prueba de Tukey al 0,05.

Número de larvas de instares L1 y L2

No se determinaron diferencias estadísticas para esta variable, entre el testigo (9 larvas) y los tratamientos de *Bacillus* solo, (15 larvas) o en combinación con *Trichogramma* y VPN (15 y 17 larvas respectivamente) (Cuadro 5).

Esto puede explicarse porque *B. thuringiensis* ataca las larvas de los primeros instares, pero no a las larvas más grandes.

El Neem obtuvo la mayor cantidad de larvas (55) siendo diferente ($P < 0,05$) a todos los otros tratamientos. Los tratamientos VPN + *Trichogramma* y *Trichogramma* obtuvieron una cantidad de larvas considerable (42 y 39, respectivamente), esto puede explicarse porque a pesar de que estas avispa parasitaron gran cantidad de huevos, los otros eclosionaron y las larvas ocasionaron daños.

Análisis económico

La tasa marginal de retorno para las condiciones no dominadas (que son aquellas opciones para las cuales el

costo variable hacen que ninguna otra opción produzca mayor beneficio neto). La tasa más alta fue la del testigo 355 (Cuadro 6), lo cual indi-

ca que por cada quetzal que se invirtió con el tratamiento de permetrina se espera recobrar ese mismo quetzal y adicionalmente 3,55.

Cuadro 5. Número de larvas L1 y L2 de *H. zea* en 15 plantas, durante el desarrollo del cultivo de tomate. Guatemala, 1999.

| Tratamiento | No. de larvas |
|---|---------------|
| Neem | 55 a |
| VPN + <i>Trichogramma</i> | 42 b |
| <i>Trichogramma</i> | 39 b |
| VPN | 38 b |
| <i>B. thuringiensis</i> + VPN | 17 c |
| <i>B. thuringiensis</i> | 15 c |
| <i>B. thuringiensis</i> + <i>Trichogramma</i> | 15 c |
| Permetrina | 9 c |

Valores con la misma letra no son estadísticamente diferentes, según Prueba de Tukey al 0,05

Cuadro 6. Tasa marginal de retorno, (TMR) para las condiciones no dominadas respecto a los tratamientos para el control de *H. zea*. Guatemala, 1999.

| Tratamiento | Beneficio Neto | Costo Variable | Cambio en BN | Cambio en CV | TMR |
|-------------------------|----------------|----------------|--------------|--------------|-------|
| Permetrina | 64170 | 2100 | 3652 | 1027 | 3,55% |
| <i>B. thuringiensis</i> | 60518 | 1073 | --- | --- | |

US\$ 1 = 5,4 quetzales.

Literatura citada

- BRAN SHAW, E.R. 1983. Estudio del ciclo biológico, comportamiento y dinámica de la población del gusano barrenador del fruto *Heliothis* sp. en tomate *Lycopersicon esculentum* en el valle de La Fragua, Zacapa. Tesis Ing. Agr. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Agronomía. p. 2-7.
- CATIE. 1990. Guía para el manejo integrado de plagas en el cultivo del tomate. Turrialba, Costa Rica. 138 p.
- GUATEMALA. 1990. INSTITUTO DE CIENCIA Y TECNOLOGIA AGRICOLA. Gusano del tomate; prevenga su daño en forma segura y económica. Guatemala. p. 8.
- WILSON, L.T.; ZALOM, F.G.; SMITH, R.; HOFFMAN, M.P. 1983. Monitoring for fruit damage in processing tomatoes: use of a dynamic sequential, sampling plan. Environmental Entomol 12:835-839.

INFORME ANUAL DE REDCAHOR

En diciembre de 1999 se publicó el Informe Anual de REDCAHOR, el cual incluye los resultados de las investigaciones realizadas por la Red durante el ciclo agronómico 1998-1999. El objetivo de estos trabajos fue la búsqueda de soluciones a algunos de los problemas más importantes en cultivos como tomate, chile, cebolla, ayote y repollo. Las temáticas en las que se desarrollaron las investigaciones fueron: **selección de recursos genéticos, validación de cultivares promisorios y manejo integrado de plagas.**

En recursos genéticos se destaca la variabilidad genética encontrada en los cultivares introducidos del AVRDC, los cuales pueden ser usados por los países en sus programas de fitomejoramiento.

En las investigaciones de validación de cultivares comerciales, se encontraron materiales de tomate, chile y cebolla que pueden producir entre 30 y 50% más que los utilizados por los productores.

En manejo integrado de plagas se estudian tres parasitoides introducidos para el combate de *Plutella xylostela* en repollo. Los primeros resultados demuestran que estos ejercen un buen control de la plaga. También se evaluaron prácticas para el manejo del picudo del chile (*Anthonomus eugenii*) como el uso de productos biológicos y la siembra de cultivos intercalados, con lo cual se puede disminuir el daño de los frutos.

Este material está disponible en la Oficina de la Red en el IICA, San José, Costa Rica.

REDCAHOR en INTERNET

Visite el sitio de REDCAHOR en la Web y podrá consultar los Boletines con la información más actualizada sobre hortalizas, como resultados de investigación, avances y logros de la Red, reseñas de publicaciones, etc. así como las Memorias de Cursos y Talleres sobre diferentes aspectos como comercialización y mercadeo, MIP, recursos fitogenéticos, cultivares comerciales. También está disponible la información sobre los Servicios ofrecidos por la Red, y Futuros eventos.

La dirección de la página es: www.iica.ac.cr/redcahor <<http://www.iica.ac.cr/redcahor>>



Utilización de plaguicidas sintéticos, un problema a resolver en el nuevo milenio

Samuel Henao*

Introducción

La crisis para la vida en el planeta, como consecuencia de la degradación ambiental, es uno de los fenómenos sociales más importantes de fin de siglo que caracterizan, asombran y en algunos casos, abruman a la humanidad.

Uno de los hechos más trascendentales y significativos de la historia de la humanidad ha sido el desarrollo científico y tecnológico alcanzado por el ser humano, en su lucha por dominar la materia y los fenómenos físicos del universo, que han puesto por primera vez en sus manos la posibilidad de alterar los equilibrios ecológicos del planeta de manera global.

Se han descubierto técnicas para producir incontables moléculas extrañas en la naturaleza y al terminar el siglo, se encontraban en el mercado más de 70 000 sustancias químicas. Tal como ha venido sucediendo, cada año se seguirán incorporando muchas nuevas a la larga lista.

De ellas, y sin lugar a duda, uno de los problemas más grandes generado durante el presente siglo, han sido los plaguicidas sintéticos, los cuales, a partir del desarrollo de su industria en la década de 1940, han representado durante 60 años la base fundamental del combate de las plagas.

Durante este período, los promedios mundiales de producción y uso de plaguicidas se incrementaron aceleradamente, lo cual unido al empleo de productos de reconocida peligrosidad, han ocasionado serios problemas que comprometen la sostenibilidad de los agroecosistemas, la biodiversidad, el bienestar y calidad de vida de los seres humanos.

Para citar solo un ejemplo, las propiedades insecticidas del DDT se descubrieron en los años 40 y durante los años siguientes, esta sustancia fue ampliamente utilizada tanto a nivel del agro como en la lucha contra las enfermedades transmitidas por vectores. Al comercializarse se consideró que una de sus principales ventajas era su persistencia en el medio ambiente durante mucho tiempo. Lo anterior significó que el DDT se fuera acumulando en cadenas alimenticias y que incluso con el tiempo apareciera en la leche humana. Además de los efectos neurológicos en el ser humano, este producto fue el responsable de una drástica reducción del número de aves rapaces pues producía fragilidad en las cáscaras de sus huevos, lo cual dificultaba el nacimiento de los polluelos.

Diagnóstico de la situación

La producción de plaguicidas de 1970 se duplicó en 1985 y las ventas, que en 1970 fueron de US \$2700 millones, alcanzaron al finalizar el siglo los US \$ 40 000 millones anuales.

En la actualidad, la producción y venta mundial de plaguicidas es de aproximadamente 2800 millones de kilos, representadas en 900 ingredientes activos y más de 50 000 formulaciones comerciales. De ellos, el porcentaje utilizado en países en desarrollo ha ascendido en las últimas tres décadas del 20% a cerca del 40%.

Efectos en los humanos. Se estima que el 3% de los trabajadores agrícolas sufren cada año una intoxicación aguda por plaguicidas. En los países en desarrollo, actualmente se presentaron más del 50% de las intoxicaciones, a pesar de

*Coordinador Subregional proyecto Plagsalud/OPS. San José, Costa Rica. EMail: henaosam@cor.ops-oms.org

que se utiliza menor cantidad de estos productos que en los países desarrollados.

La exposición a bajos niveles de plaguicidas durante períodos prolongados puede producir además efectos crónicos en los humanos. Los efectos comprobados más importantes son: daños en el sistema nervioso, malformaciones congénitas; efectos mutagénicos y cáncer; daños en piel, pulmones, ojos y sistema inmunológico y esterilidad masculina.

Además de los efectos nocivos en los humanos, los plaguicidas ocasionan daños al ambiente, animales y alimentos. Algunos de los problemas generados por el uso desmedido de plaguicidas son:

- La contaminación de cursos y masas de agua por descarga de residuos industriales, lavado de equipos, aplicaciones cercanas a ríos y lagos, entre otras.
- La destrucción de enemigos naturales benéficos que ayudan en el control de las plagas.
- La intoxicación y muerte de animales domésticos
- Intoxicación de abejas (que polinizan algunos cultivos)
- Muerte de peces
- Aumento de la resistencia: la aplicación de plaguicidas en forma repetida o dosis inadecuada propicia la aparición de mayor tolerancia a ellos, requiriéndose dosis más altas para controlarlos.
- Contaminación de los alimentos: proveniente de la acumulación de plaguicidas a través de las cadenas alimenticias debido al uso excesivo en la agricultura, la violación de los intervalos de seguridad en la recolección de los alimentos y la contaminación durante el almacenamiento y transporte.

Subregión de América Central. En los siete países de América Central se ha producido un incremento constante en el empleo de plaguicidas, alcanzando en los últimos años aproximadamente 40 millones de kilos anuales, importados o formulados en 38 plantas ubicadas en estos países.

Respecto a las intoxicaciones agudas, su número ha superado los 8000 casos anuales, de los cuales aproximadamente 60% son de origen laboral y el resto accidentales o por intentos de suicidio. No obstante, esta cifra dista mucho de la realidad ya que persiste aún un subregistro superior al 50%, ocasionados por la dificultad de los trabajadores del campo para llegar a los servicios de salud, diagnósticos erróneos y malos registros. En la actualidad, los doce plaguicidas responsables del mayor número de intoxicaciones son: paraquat, fosfato de aluminio, metil paratión, metamidofós, monocrotofós, clorpirifós, terbufós, etoprofós, endosulfán, carbofurán, metomil y aldicarb.

Aún no se dispone de registros confiables sobre efectos crónicos producidos por los plaguicidas. Quizás uno de los datos más llamativos al respecto es el originado por las demandas de 25 000 trabajadores que hace algunos años quedaron estériles por la exposición al dibromocloropropano (DBCP) en América Central, y de los cuales muchos aún continúan esperando al menos las indemnizaciones correspondientes.

Los problemas causados por los plaguicidas no solo tienen raíces técnicas, sino también económicas y sociales. El empleo desmedido de plaguicidas ha representado para la humanidad un alto costo social, ocasionando muertes y efectos agudos y crónicos en seres humanos, tratamientos, incapacidades temporales y permanentes, muertes de animales, contaminación de suelos, aguas superficiales y subterráneas y perturbaciones en los sistemas agrícolas.

Retos en el nuevo milenio

La humanidad y su ambiente no pueden continuar con los problemas causados por el empleo desmedido de plaguicidas. Es necesario enfrentar el problema con una gran decisión, aunando esfuerzos de gobiernos, organismos internacionales, industria, trabajadores, ONGs, universidades y comunidad en general.

Los grandes desafíos y esfuerzos en el nuevo milenio, con respecto a esta materia, deberán estar encaminados al desarrollo e implementación de estrategias que conduzcan a una drástica reducción del uso de plaguicidas sintéticos y por consiguiente a proteger la salud humana y el ambiente.

Dentro de los grandes retos que tienen los países de América Central están:

- Desarrollar alternativas al empleo de plaguicidas, como son el manejo integrado de plagas (MIP) y la agricultura orgánica, que constituyen un sistema de producción basado en prácticas de manejo que consideran y toman en cuenta las leyes de la naturaleza, proporcionando condiciones apropiadas para que las actividades biológicas en los agroecosistemas se desarrollen óptimamente. Tanto el MIP como la agricultura orgánica representan métodos de producción menos dependientes, contaminantes y peligrosos.
- Fomentar y consolidar la participación ciudadana y de manera especial, la de trabajadores y de la comunidad más expuesta, permitiendo su involucramiento continuo en todas las etapas de los procesos de toma de decisiones. Para lo anterior deberá garantizarse el acceso a la información completa, ac-

tualizada y comprensible en materia de plaguicidas.

- Establecer controles a los plaguicidas de mayor riesgo para la salud humana y el ambiente a través de:
 - La prohibición de los plaguicidas no permitidos en sus países de origen.
 - La prohibición de las sustancias pertenecientes a los contaminantes orgánicos persistentes (COPS) y del listado del Informe de Consentimiento Previo (PIC).
 - La homologación de plaguicidas prohibidos en todos los países de la subregión.
 - El establecimiento de controles más estrictos para la venta y uso de los 12 plaguicidas que producen mayor número de intoxicaciones agudas.
 - La eliminación adecuada, no solo de los plaguicidas anacrónicos, sino de envases y remanentes de los productos formulados.
 - La prohibición de su aplicación por mujeres y niños.
 - La selección de plaguicidas con base en moléculas encontradas en hongos, bacterias y plantas que actúan sobre el organismo plaga o inducen resistencia de éste.
- Mejorar la fiscalización sobre el cumplimiento de la legislación existente en esta materia.
- Mejorar las condiciones de higiene y seguridad para los trabajadores del campo y sus familias que representan la población sujeta a una mayor exposición a estas sustancias.

Perspectivas en el desarrollo de plaguicidas más benignos.

Las condiciones de un plaguicida hoy deben satisfacer las expectativas del agricultor, del consumidor y de las autoridades de regulación, además de otros grupos interesados en reducir o eliminar los impactos causados por plaguicidas en el ambiente y los usuarios.

Anteriormente el criterio de costo-eficiencia era lo más importante, pero hoy la decisión para la comercialización de estos productos se fundamenta en diferentes campos de la seguridad para el ambiente, el operario y el consumidor de alimentos.

Por esto en la actualidad, los estudios de baja toxicidad en mamíferos e impacto ambiental, bajos niveles de residuos en alimentos y su compatibilidad con el manejo integrado de plagas, son de primordial importancia. En consecuencia, la selección de las moléculas para el desarrollo de un fungicida no se orientan al producto análogo más potente, sino a aquellos que nos ofrecen la mayor seguridad.

En cuanto a propiedades ambientales, las investigaciones se orientan al estudio de persistencia y el potencial de dispersión en el suelo y a la seguridad para la vida silvestre, organismos benéficos y organismos acuáticos.

En el desarrollo de los nuevos plaguicidas, en especial fungicidas, se buscan las características de mayor compatibilidad con otras estrategias de manejo, como son los microorganismos antagonistas y las moléculas que promueven el incremento en la resistencia de las plantas, lo cual permitirá hacer un uso más racional de estos productos, con bajo impacto negativo para los usuarios y el ambiente.

Ante los problemas originados por el uso intensivo de plaguicidas en América Central, la Organización Panamericana de la Salud, a través de la División de Salud y Ambiente en el contexto del Programa Medio Ambiente y Salud en el Istmo Centroamericano (MASICA), formuló el Proyecto Aspectos Ocupacionales y Ambientales de la Exposición a Plaguicidas en el Istmo Centroamericano (PLAGSALUD). Este proyecto, financiado por la Agencia Danesa para el Desarrollo Internacional (DANIDA), apoyará decididamente estas iniciativas en su nueva fase.

Solo uniendo voluntades y compromisos enfrentaremos los retos que tenemos por delante, alcanzaremos los objetivos deseados y contribuiremos a asegurar un desarrollo humano sostenible en el nuevo siglo.

Literatura citada

- BAKER, S.R. *et al.* 1990. The Effects of Pesticides on Human Health. New Jersey.
- HAYES, W. Jr. 1982. Pesticide Studies in Man. The Wilkin and Wilkins Co. Baltimore.
- HENAO, S. *et al.* 1993. Pesticides and Health in the Americas. Panamerican Health Organization. Washington.
- HENAO, S. *et al.* Plaguicidas y Salud en el Istmo Centroamericano. OPS/OMS. San Jose Costa Rica. 2000 (En imprenta).
- HENAO, S. ET COREY G. 1991. Plaguicidas Inhibidores de las Colinesterasas. OPS/OMS. Mexico.
- KNIGHT, S.C.; ANTHONY, V.M.; BRADY, A.M.; GREENLAND, A.J.; HEANEY, S.P.; MURRAY, D.C.; POWELL, K.A.; SCHULTZ, M.A.; SPINKS, C.A.; WORTHINGTON, P.A.; YOULE, D. 1997. Rationale and perspectives on the development of fungicides. Annu. Rev. Phytopathol. 35:349-372.
- MCCONNELL R., HENAO, S. *et al.* 1993. Pesticides in: Environmental Epidemiology :A Project for Latin America and the Caribbean. PAHO/ILO/EPA. Washington.
- U.S. Environmental Protection Agency. Recognition and Management of Pesticides Poisonings: Fifth Edition, 1999.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. 1990. Public Health Impact of Pesticides used in Agriculture. Geneva.

Hoja TECNICA

No. 32

CATIE



Gallinas ciegas como plagas de cultivos anuales y perennes

Daniel Coto*

Entre los insectos plaga del suelo que se alimentan de raíces y tubérculos, las larvas del género *Phyllophaga* (Fig. 1), conocidos como gallinas ciegas o jogotos fitófagos, son los más importantes. Otros géneros de la misma familia atacan ocasionalmente las plantas.

Phyllophaga spp. son insectos polívoros de importancia en cultivos como maíz, frijol, café, trigo, caña de azúcar, flores, frutales, papa, camote, hortalizas, arroz, pastos y en viveros forestales. En ocasiones, las larvas pueden matar en algunos casos hasta 50% de las plántulas, con la consecuente disminución en el rendimiento de las cosechas (Morón 1984).

La amplia diversidad de hospedantes, su ciclo de vida, sus hábitats edáficos, lo convierten en un problema difícil de manejar. Sin embargo, se han señalado características comunes de comportamiento: la emergencia sincronizada de adultos después de las primeras lluvias estacionales (Trias y Capriles 1959, King 1979), y la preferencia de la hembra de ovipositar en suelos ricos en humus y bajo malezas gramíneas (Hecht 1954, Santoro 1960, Morales 1966).

En América Central los jogotos constituyen una plaga importante de los cultivos alimenticios (King 1984). Aunque su amplio ámbito de hospedantes incluye tanto cultivos como malezas. En esta región hay varias especies asociadas a los cultivos. Las especies de mayor importancia son: *P. menetriesi*, *P. vicina*, *P. parvisetis*, *P. elenans*; otras especies de importancia se-

cundaria son: *P. obsoleta* y *P. hondura*; y hay otras especies de importancia menor o local como: *P. dasypoda*, *P. valeriana*, *P. chiriquina*, *P. caraga*, *P. yucateca*, *P. fulviventris*, *P. aequata*, *P. latipes*, *P. tumulosa*, *P. solanophaga*.

Biología y comportamiento

Los huevos eclosionan entre los 10 y 14 días; recién depositados son elongados, blancos y opacos, después de 7 días los huevos fértiles son ovalados, a casi esféricos y se tornan blanco translúcidos, casi perlados. Son depositados individualmente, entre 2 y 10 cm de profundidad, dependiendo de la suavidad del terreno. Generalmente, están muy cerca unos de otros.

Las larvas de primer y segundo instar se alimentan de materia orgánica y raíces pequeñas. Las de primer instar son extremadamente vulnerables a condiciones ambientales desfavorables, como a la falta de materia orgánica adecuada y la presencia de raicillas vivas que alimenten a las larvas en sus primeras etapas; así como encharcamiento del suelo y enfermedades fungosas, que podrían causar su muerte. Las larvas de tercer instar (Fig. 1) son gusanos blancos, gordos, carnosos y arrugados, de color blancuzco o crema y con el cuerpo en forma de C. Las patas son bien desarrolladas y a menudo velludas. La cabeza es grande, hipognata y densamente esclerotizada, amarillo-pardo, con mandíbulas grandes. Pueden alcanzar tamaños

*CATIE. Unidad de Fitoprotección. 7170 Turrialba, Costa Rica. EMail: dcoto@catie.ac.cr

hasta de 50 mm de largo, según la especie.

De sus tres instares larvales, sólo el tercero tiene importancia económica. Todas las etapas larvales viven en el suelo y en el caso de las especies fitófagas, los dos primeros instares se alimentan de pequeñas raíces de plantas vivas e ingieren cantidades de suelo y materia orgánica; las de tercer instar son estrictamente rizófagas. Las plantas jóvenes, cuyas raíces han sido dañadas no crecen bien, muestran síntomas de deficiencia de agua y nutrimentos, las hojas muestran una coloración púrpura y los tallos una coloración morada (Fig. 2). Las plantas adultas se marchitan y se acaman por la pérdida de raíces que las hace muy susceptibles al acame. Los daños se caracterizan por su desigualdad y aparición esporádica, de manera que su presencia difícilmente se aprecia hasta que se ha producido el daño. Las especies no fitófagas viven casi completamente sobre material vegetativo decadente y en otros residuos orgánicos.

Las raíces vivas y un suelo ligeramente ácido, suelto y bien drenado parece ser crucial para la supervivencia de la mayoría de las larvas jóvenes (Wolcott 1936, Girault y Dodd 1915, Shorey *et al.* 1960, Gyrisco *et al.* 1954). En América Central, las pasturas y las plantaciones de café son fuentes de infestación para tierras de cultivos adyacentes. Además de las condiciones favorables del suelo, la proximidad de plantas alimenticias en callejones y árboles de sombra en plantaciones, aseguran que los escarabajos ovipositen frecuentemente en esos sitios.

Al término del desarrollo, las larvas construyen una celda en el suelo donde experimentan un período de descanso antes de convertirse en pupa (Fig. 3). La emergencia de los adultos (que depende de las condiciones ambientales como humedad y temperatura), el comportamiento del apareo, vuelo y oviposición es similar para la mayoría de especies de *Phyllophaga* (Gaylor y Frankie 1979).

Los adultos (Fig. 4) miden de 9-21 mm de largo según la especie; son pardo oscuro a naranja-pardo, algunos son brillantes y presentan pelos sobre el cuerpo. Emergen y vuelan poco después de las primeras lluvias del año. Los vuelos y el apareamiento se dan al atardecer; ambos sexos son atraídos hacia las plantas y los árboles de hoja ancha, en los cuales se alimentan.

Algunas especies centroamericanas de *Phyllophaga* tienen un ciclo de vida de uno o dos años en los extremos de sus ámbitos de distribución. Las especies con ciclo de vida de un año aparecen, principalmente, en

alturas entre moderadas y altas y en las zonas más húmedas, con una corta estación seca (2-3 meses). Las especies con ciclos de vida de dos años tienden a confinarse en tierras más bajas, con temperaturas medias más elevadas y baja pluviosidad, con largas estaciones secas (4-6 meses), además de la presencia de una canícula o veranillo bien definido.

En las especies con ciclo de vida de un año, los adultos emergen del suelo cuando inician las lluvias, se alimentan del follaje de arbustos y árboles como *Erythrina* spp., *Hibiscus esculentus*, *Anona* sp., *Ceiba* sp., *Sida* sp., *Guazuma ulmifolia*, *Gliricidia sepium*, *Spondias* sp., y plantas anuales. Estas pueden producir defoliación en ciertas plantas. Las hojas dañadas tienen márgenes irregulares debido a su tipo de vida gregario. La plaga copula en estas plantas durante las primeras horas de la noche; los adultos regresan al suelo durante el día donde las hembras ovipositan. Las larvas eclosionan del huevo blancuzco en unas 2 semanas, los dos primeros instares se alimentan de materia orgánica y raíces tiernas por 4 a 6 semanas, el tercer instar dura de 6-8 semanas y es durante este período (finales de junio a octubre) que ocasiona los mayores daños alimentándose vorazmente de las raíces. La prepupa forma una celda en el suelo a una profundidad de 6-20 cm, donde permanece hasta diciembre o enero. El período pupal tarda unas 2 o 3 semanas. Los adultos que emergen hasta enero o febrero permanecen en la celda hasta que las lluvias de mayo y junio penetran en el suelo y deshacen la pelota de tierra que los envuelve. En ocasiones se pueden observar pequeños vuelos de adultos entre enero y abril, esto debido a la caída de algunas lluvias repentinas.

En las especies con ciclo de vida de dos años, el ciclo inicial es similar, pero al terminar el segundo instar, la larva entra en una fase de latencia en una celda en el suelo; al iniciar las lluvias de nuevo, muda al tercer instar el cual se alimenta de las raíces desde mayo hasta setiembre. El período pupal termina en febrero o marzo.

Los ataques de la plaga normalmente son esporádicos, localizados y difíciles de predecir. El control de las larvas grandes que se encuentran en el suelo, es difícil y costoso; por tanto, es más viable la aplicación de medidas preventivas. Por tanto, es muy útil disponer de un método de muestreo que permita predecir las áreas de mayor riesgo y lograr la identificación a nivel de género y si es posible a nivel de especie.

La mayoría de las especies se distingue con exac-



Figura 1. Larvas de *Phyllophaga menestriesi*.

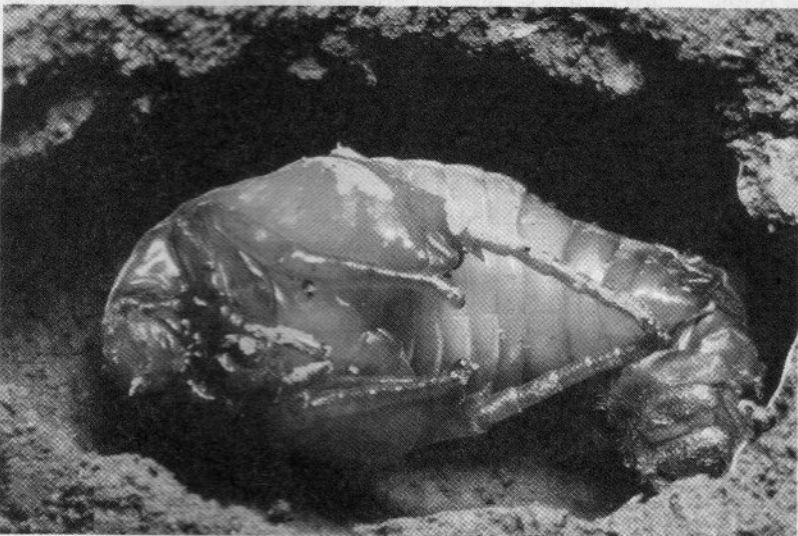


Figura 3. Pupa de *Phyllophaga menestriesi*.

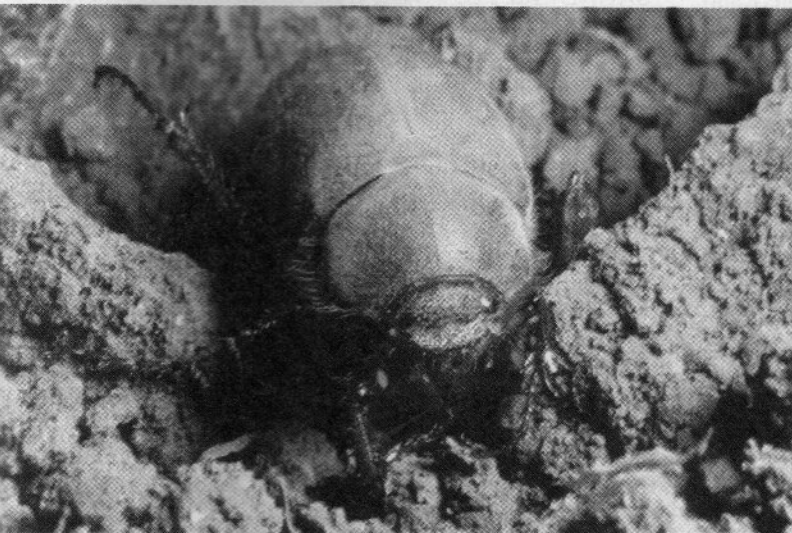


Figura 4. Adulto de *Phyllophaga menestriesi*.



Figura 2. Daño en plantas jóvenes causado por larvas de *Phyllophaga*.

titud por los genitales del macho; sin embargo, con el arreglo de las setas en el raster (último segmento abdominal ventralmente) de las larvas se puede tener una aproximación de la especie.

Muestreo y niveles críticos

En áreas con un historial de daño, en las cuales durante la preparación del terreno se encuentra un promedio de cuatro ó más larvas grandes u ocho o más larvas pequeñas por m^2 se debe controlar la plaga. En cultivos de tipo extensivo, después de la preparación del suelo se muestrea un área de $30 \times 30 \times 20$ cm de profundidad repitiéndose el muestreo 5 veces en cada microambiente; el nivel crítico general es un promedio de 0,25 larvas grandes o 0,50 pequeñas por muestra.

Prácticas de manejo

Control cultural. La buena preparación del terreno antes de la siembra elimina muchas larvas y huevos directamente y expone otros a la acción de enemigos naturales, en

especial las aves. Por su parte, los rayos solares pueden causarles la muerte por desecación. La preparación del terreno antes de las lluvias no controla especies con ciclo de vida de un año, pero puede ser de mucha utilidad en el manejo de especies con ciclo de vida de dos años. La destrucción de plantas preferidas (*Erythrina* spp., *H. esculentus*, *Anona* sp., *Ceiba* sp., *G. ulmifolia*, *G. sepium*, *Spondias* sp.) por los adultos para su alimentación podría reducir su abundancia. Pero también se pueden aprovechar estas plantas como cultivos trampas para atraer a los adultos y eliminarlos, manualmente, con trampas de luz o mediante control químico. La destrucción de malezas y la permanencia del terreno sin vegetación durante un período antes de la siembra eliminaría las larvas jóvenes.

Control físico-mecánico. En la época de vuelo de los adultos, la instalación de trampas de luz blanca o negra permite la recolección de miles de adultos durante la noche.

Literatura citada

- ANDREWS, K.L. 1984. El Manejo Integrado de Plagas Invertebradas en cultivos agronómicos, hortícolas y frutales en la Escuela Agrícola Panamericana. Tegucigalpa, Honduras, E.A.P. 85 p.
- GIRAULT, A.A.; DODD, A.P. 1915. The cane grubs of Australia. Bureau of Sugar Experiment Stations, Queensland, Division of Entomology, Bulletin No.1.p.11.
- GYRISCO, G.G.; WHITCOMB, W.H.; BURRAGE, R.H.; LOGOTHETIS, C.; SCHAWARDT, H.H. 1954. Biology of the European chafer *Amphimallon majalis* Razoumowsky (Scarabaeidae). Memoirs. Cornell University Agricultural Experiment Station 228:1-35.
- HANSON, P. 1994. Control biológico de *Phyllophaga*: depredadores y parasitoides. In Seminario-taller Centroamericano sobre la Biología y Control de *Phyllophaga* spp. Turrialba, Costa Rica. Biología y Control de *Phyllophaga* spp. Memoria. CATIE: PRIAG-ALA 88/23. 1996. Serie técnica. Informe técnico/CATIE; No. 277.
- HECHT, O. 1954. Plagas agrícolas. México, D.F., ECLAL. p.199.
- KING, A.B.S. 1984. Biology and identification of white grubs (*Phyllophaga*) of economic importance in Central America. Tropical Pest Management 30:36-50.
- KING, A.B.S. 1985. Factors affecting infestation by larvae of *Phyllophaga* spp. (Coleoptera: Scarabaeidae) in Costa Rica. Bulletin of Entomological Research 75:417-427.
- KING, A.B.S. 1994. Biología, identificación y distribución de especies económicas de *Phyllophaga* en América Central. In Seminario-taller Centroamericano sobre la Biología y Control de *Phyllophaga* spp. Turrialba, Costa Rica. Biología y Control de *Phyllophaga* spp. Memoria. CATIE: PRIAG-ALA 88/23. 1996. Serie técnica. Informe técnico/CATIE. No. 277.
- KING, A.B.S.; SAUNDERS, J.L. 1979. El control de la gallina ciega (*Phyllophaga* sp.) en maíz con insecticidas aplicados por métodos sencillos. Turrialba (Costa Rica) 29:17-19.
- MORALES, M.E. 1966. Combate de plagas en café. Ministerio de Agricultura y Ganadería, Boletín Divulgativo (Costa Rica) No.41. p.16.
- MORÓN, M.A. 1986. El género *Phyllophaga* en México. Morfología, distribución y sistemática supraespecífica (Insecta: Coleoptera). México, D.F. Instituto de Ecología. Publ. No. 19.344 p.
- SANTORO, R. 1960. Notas de entomología agrícola Dominicana. Secretaria de Estado de Agricultura y Comercio, República Dominicana.
- SAUNDERS, J.L.; COTO, T. D., KING, A.B.S. 1998. Plagas invertebradas de cultivos anuales alimenticios en América Central. 2 ed. Turrialba, Costa Rica: CATIE. Programa de investigación. Serie técnica. Manual técnico/CATIE; No. 29.
- SHANNON P.J.; CARBALLO, M. Eds. 1994. Seminario-taller Centroamericano sobre la Biología y Control de *Phyllophaga* spp. Turrialba, Costa Rica. Biología y Control de *Phyllophaga* spp. Memoria. CATIE: PRIAG-ALA 88/23. 1996. Serie técnica. Informe técnico/CATIE. No. 277.
- SHOREY, H.H.; BURRAGE, R.H.; GYRISCO, G.G. 1960. The relationship between several environmental factors and the density of european chafer larvae in permanent pasture sod. Ecology 41:253-258.
- TRIAS, F.M.; CAPRILES, J.M. 1959. Insectos perjudiciales de la caña de azúcar y su combate. Revista de Agricultura de Puerto Rico. 46:67-74.
- WOLCOTT, G.N. 1936. The white grub problem in Puerto Rico. Proceedings. International Society of Sugar Cane Technologists 5:445-456.

Patrocinadores

La Revista Manejo Integrado de Plagas se complace en anunciar que como parte de las actividades para generar ingresos que aseguren su sostenibilidad, ha iniciado la vinculación de "Patrocinadores" los cuales serán anunciados en este espacio.



**Autoridad Sueca
para el Desarrollo
Internacional (ASDI)**
(Contribución vía Presupuesto
Básico de CATIE)



REDCAHOR

**Red Colaborativa de Investigación y
Desarrollo de Hortalizas para
América Central, Panamá y
Republica Dominicana**

IICA San José, Costa Rica
Tel: (506) 216-0258 /59/60/61
Fax: (506) 216-0258
Email: jechever@iica.ac.cr



La mejor opción para cultivos sanos

Cyanamid de Costa Rica.

Tel: (506) 253-8066

Fax: (506) 234-2449

E-Mail: cyanamid@sol.racsa.co.cr

Cyanamid de Guatemala.

Tel: (502) 369-2043

Fax: (502) 369-1282



EMPRESA LIDER EN EL
CONTROL DE
MICROORGANISMOS
FITOPAGENOS

**Buckman
Laboratories**

Costa Rica (506) 278-1881/
573-7041

Nicaragua (505) 311-6003

Panamá (507) 269-0944

El Salvador (503) 260-6152

Honduras (504) 552-2508

México (73) 21-31-31 al 37

Venezuela (031) 948707

Programa de Educación para el Desarrollo y la Conservación

Escuela de Posgrado

Más de medio siglo al servicio del desarrollo agrícola,
de los recursos naturales y el bienestar rural de América Latina y el Caribe

Doctorado conjunto (Ph.D.) en:

- I. Ciencias Forestales Tropicales
- II. Agroforestería Tropical

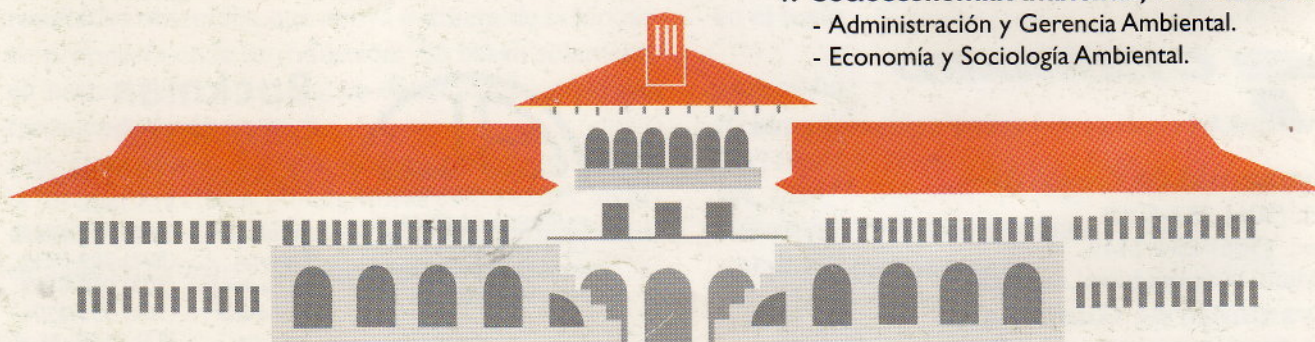
Universidades asociadas al CATIE:

- Universidad Estatal de Colorado (Fort Collins-EUA)
- Universidad Estatal de Louisiana (EUA)
- Universidad Texas A & M (EUA)
- Universidad de Florida (Gainesville - Florida - EUA)
- Universidad de Freiburg (Alemania)
- Universidad de Gottingen (Alemania)
- Universidad de Gales (Reino Unido)

Maestría (M.Sc.) en:

- I. **Agricultura Ecológica, con énfasis en:**
 - Recursos Fitogenéticos y Biotecnología.
 - Manejo Integrado de Plagas.
- II. **Agroforestería Tropical, ofrece oportunidad para profundizar en:**
 - Sistemas agroforestales con cultivos perennes;
 - Sistemas agroforestales con cultivos anuales y
 - Sistemas silvopastoriles para pasturas degradados
- III. **Manejo y Conservación de Bosques Tropicales y Biodiversidad, con énfasis en:**
 - Manejo y Silvicultura de Bosques.
 - Conservación de la Biodiversidad.
- IV. **Manejo de Cuencas Hidrográficas.**

Proporciona conocimientos y metodologías para la gestión de los recursos hídricos, con un enfoque integrado de los factores biofísicos, socioeconómicos y ambientales.
- V. **Socioeconomía Ambiental, con énfasis en:**
 - Administración y Gerencia Ambiental.
 - Economía y Sociología Ambiental.



Producir conservando, conservar produciendo®

Solicite información a:

Escuela de Posgrado / CATIE, 7170, Turrialba, Costa Rica Tel: (506) 556 1016/6431 Fax: (506) 556 0914/1533
E-mail: posgrado@catie.ac.cr <http://www.catie.ac.cr>