

Integrado de Plagas

ISSN 1016-0469

# Manejo Integrado de Plagas

Junio 2001

No. 60



Manejo Integrado de Plagas

CATIE

CATIE

CATIE

CATIE

## Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza, CATIE

El Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza, 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 científica y la enseñanza de posgrado al desarrollo, conservación y uso sostenible de los recursos naturales. El Centro está integrado por miembros regulares y miembros adherentes. Entre estos miembros se encuentran: Belice, Colombia, Costa Rica, El Salvador, Guatemala, Honduras, México, Nicaragua, Panamá, República Dominicana, Venezuela, el Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA), el Instituto Costarricense de Electricidad (ICE) Costa Rica, el Departamento de Recursos Naturales y Ambientales (DRNA) de Puerto Rico y PALMAVEN de Venezuela.

### Director General

Pedro Ferreira Rossi

### Programa de Enseñanza

Al Moslemi

### Programa de Investigación

Markku Kanninen

### Programa de Proyección Externa

Alan González

### Planificación Estratégica y

### Relaciones Externas

Tannia Ammour

### Administración y Finanzas

Luis Enrique Ortiz

**Portada:** La Revista Manejo Integrado de Plagas cumple 15 años de difundir trimestralmente información sobre fitoprotección y otras alternativas de producción sostenible. Mediante los 60 números publicados, el CATIE apoyo a los países, ofreciendo información técnico-científica que responde a las necesidades más importantes en agricultura tropical sostenible.

**Foto:** Unidad de Comunicación, CATIE.

## 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 Area de Comunicación e Informática. Unidad de Comunicación CATIE

### 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

EMail: lrodrigu@catie.ac.cr ó

cicmip@catie.ac.cr

# Manejo Integrado de Plagas

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



## CONTENIDO

### EDITORIAL

Revista Manejo Integrado de Plagas: 15 años al servicio de la Agricultura Tropical Sostenible Pedro Ferreira Rossi ..... I

### BIOGRAFIA

Luis De Santis: Taxónomo del control biológico Marta S. Loiácono ..... 1-2

### FORO

En búsqueda de un sistema de resistencia estable en plantas cultivadas ..... 3-14  
Elkin Bustamante Rojas, Luis Fernando Patiño H.

### REVISIONES

Interacciones químicas entre *Hypsipyla grandella* y sus plantas hospedantes ..... 15-21

Jorge E. Macías-Sámamo

Manejo de insectos plaga mediante sustancias semioquímicas de origen vegetal ..... 22-30

Graciela Mareggiani

### INFORMES DE INVESTIGACION

Incremento de la patogenicidad de *Beauveria bassiana* sobre *Hypothenemus hampei*, utilizando integumento del insecto en el medio de cultivo ..... 31-35

María Teresa González García, Arnubio Valencia Jiménez, Alex Enrique Bustillo Pardey

Comparación de la incidencia de enfermedades del fruto en sistemas de producción de café orgánico y convencional. Jorge Omar Samayoa-Juárez, Vera Sánchez-Garita ..... 36-42

Actividad enzimática de hongos y su patogenicidad sobre *Hypothenemus hampei* ..... 43-49

Fernando Delgado Blandón, Yamel López Forero, Elsa María Giraldo Cardozo

Evaluación del efecto insecticida de extractos de plantas sobre *Leptophobia aripa elodia* ..... 50-56

Luis A. Ramírez-Moreno, Luis E. García-Barrios, Cesáreo Rodríguez Hernández,

Helda E. Morales, Adriana E. Castro Ramírez

### NOTA TECNICA

La electroterapia como alternativa para la eliminación del virus DMV en malanga ..... 57-60

Janet Igarza Castro, Ricardo Hernández Pérez, Beatriz Cruz Castellanos

### EXPERIENCIAS DE MANEJO DE PLAGAS

*Brevipalpus* como vectores de la leprosis de los cítricos ..... 61-65

*Brevipalpus* mites on citrus and their status as vectors of citrus leprosis ..... 66-70

Carl C. Childers, Elliot W. Kitajima, W. Calvin Welbourn, Carmen Rivera, Ronald Ochoa

Estrategia de manejo para romper el ciclo del vector *Brevipalpus* spp. - Rhabdovirus, causante de la leprosis de los cítricos ..... 71-75

A control strategy for breaking the virus-vector cycle of *Brevipalpus* spp. and the Rhabdovirus disease, citrus leprosis. Carl C. Childers, Jose Carlos Rodrigues, ..... 76-79

Elliot W. Kitajima, Kenneth S. Derrick, Carmen Rivera, W. Calvin Welbourn

### HOJA TECNICA

Uso de microorganismos para el control de *Phyllophaga* spp. Eduardo Hidalgo ..... i-iv

### SECCION INFORMATIVA

Tesis de Posgrado ..... 80-82

Futuros eventos ..... 83

Mosca Blanca al Día ..... 84-85

Plagas Forestales Neotropicales ..... 86-87

### Agromedicina

Indicadores agro sanitarios de la exposición laboral agrícola a plaguicidas en Nicaragua ..... 88-92

Marianela Corriols

### Avances en el Fomento de Productos Fitosanitarios No-Sintéticos

Cría masiva de *Trichogramma pretiosum*, *Sitotroga cerealella* y *Chrysoperla externa* ..... 93-96

Enilda Cano Vásquez

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

# Manejo Integrado Plagas

- Esta Revista es un instrumento de comunicación, foro de discusión y medio de difusión de los resultados de investigación y experimentación sobre fitoprotección para la producción agrícola sostenible, la conservación de los recursos naturales y la protección de la salud de los agricultores y consumidores.
- Selecciona y difunde material de apoyo a la investigación, la enseñanza, la cooperación técnica y el desarrollo en Latinoamérica y el Caribe.
- Los trabajos son seleccionados y revisados por un grupo asesor editorial y evaluados por el Comité Editorial de la Revista.
- Las ideas y opiniones contenidas en los artículos publicados son responsabilidad de los autores y no reflejan necesariamente las del CATIE o de los patrocinadores de la Revista. El contenido de la Revista puede ser citado o reproducido mencionando la fuente.
- Los costos de producción de la revista son cubiertos con aportes del presupuesto central del CATIE, de la Autoridad Sueca para el Desarrollo Internacional (ASDI), de los suscriptores y patrocinadores comerciales o filantrópicos de la Revista e, indirectamente, por quienes apoyan el trabajo de los autores en las correspondientes instituciones y organizaciones de investigación, enseñanza y desarrollo.
- Los trabajos para publicación deben ser sometidos en versión impresa y electrónica

## Fecha de iniciación y periodicidad:

No.1, setiembre, 1986.

Trimestral (marzo, junio, setiembre, diciembre).

## La suscripción anual es de:

US\$20 América Central.

US\$25.00 resto América Latina, el Caribe, Asia y Africa.

US\$35 Otros países Estudiantes

US\$12.00 (incluye costo de envío por impreso aéreo).

Versión Electrónica (INTERNET)

US\$10.00.

## Esta Revista es indizada en Bases de

**Datos como:** CAB, AGRIS y AGROAMBIENTE (CAB/NAL) y en foros electrónicos especializados.

# COORDINADORES TECNICOS NACIONALES EN LOS PAISES Y OFICINAS DE IICA

(Para mayor información de CATIE, así como para suscribir la Revista puede contactar al Coordinador Técnico de su país)

## BELICE

Dr. Jaime Mauricio Salazar  
Representante IICA  
Apartado Postal #448,  
Belmopán, Belice  
Tel.: (00501-8) 20-222  
Fax: (00501-8) 20-286  
Correo electrónico:  
iica@btl.net

## COLOMBIA

MSc. John Mario Rodríguez  
Asesor de Relaciones  
Externas del CATIE  
Convenio Universidad  
Tecnológica de Pereira-  
CATIE  
Apartado Postal 097  
Pereira, Colombia  
Telefax: (57) 63212443  
Correo electrónico:  
engjde@utp.edu.co  
jrodrigu@telesat.com.co

## COSTA RICA

Ing. Manfred Peters  
Ministerio de Agricultura.  
Edificio Principal.  
50m este de la Pops Sabana  
Sur, San José, Costa Rica  
Telefax: (506) 232 0735  
Email: manfred@catie.ac.cr

## GUATEMALA

Dr. David Monterroso  
Apartado Postal 76-A,  
15 calle y 1a. Ave.  
Esquina Zona 10.  
Edificio Céntrica  
Plaza, 4 nivel, Of. 401.  
Guatemala, Guatemala  
Fax: (502) 366-2643  
Tel: (502) 366-2648/366-2649

Correo electrónico:  
dmonterros@guate.net

## EL SALVADOR

Apartado Postal 1-96  
1a. Calle Poniente y 61 Ave.  
Norte. Edif. Bukele, Planta  
baja, San Salvador,  
El Salvador  
Tel.: (503) 261-2036/2037  
Fax: (503) 261-2039  
Correo electrónico:  
catie@navegante.com.sv

## HONDURAS

Lic. María Eugenia Pineda  
Apartado Postal #2088  
Secretaría de Recursos  
Naturales. 1ª Planta,  
Edificio Principal,  
Boulevard Miraflores  
Tegucigalpa, Honduras.  
Tel.: (504) 235-6609/235-6773  
Fax: (504) 235-6610  
Correo electrónico:  
catiehon@gbm.hn

## MEXICO

Dr. Miguel Caballero  
Calzada del Ejército  
Nacional. 311 Primer Piso  
Colonia El Tecolote  
Tepic, Nayarit, México  
Tel: (52) 32 100807/149967  
Faj: (52) 32 148850  
Correo electrónico:  
catie@tepic.megared.net.mx

## NICARAGUA

MSc. Jorge Jiménez  
Apartado Postal #4830  
Km 8 1/2 Carretera a Masaya  
Ministerio de Agricultura,

Managua, Nicaragua  
Tel.: (505) 276-1026/1109  
Fax: (505) 276-1108  
Correo electrónico:  
catiecot@tmx.com.ni

## PANAMA

Edificio 95  
Ciudad del Saber.  
Apartado Postal #5388  
Clayton, Panamá  
Tel.: (507) 317-0197/0198  
Fax: (507) 317-0199  
Correo electrónico:  
catiepanama@cwpanama.net

## REPUBLICA DOMINICANA

Dr. Rafael Marte  
Representante IICA  
Fray Cipriano de Utrera.  
Esquina Avenida República  
del Líbano. Centro de los  
Héroes, Santo Domingo,  
República Dominicana  
Apartado Postal #711  
Tel.: (1 809) 533-7522/2797  
Fax: (1 809) 532-5312  
Correo electrónico:  
rmarte@iicard.org

## VENEZUELA

Dr. Mariano Mujica  
Asesor de Relaciones  
Externas del CATIE,  
Universidad de Yacambú,  
Calle 41 entre carreteras 15  
y 16, Barquisimeto, Estado  
de Lara 3001, Venezuela.  
Telefax: (5851) 464447  
Correo electrónico:  
marianopaez@icnet.com.ve

## GRUPO ASESOR DE REVISION

### CENIBANANO

Juan Gonzalo Morales

### CATIE

María Elena Aguilar  
Elkin Bustamante  
Manuel Carballo  
Daniel Coto  
Jorge Echeverri  
Eduardo Hidalgo  
Luko Hilje

Ulrike Krauss

Vera Sánchez

Joseph Saunders

Galileo Rivas

Alba Stella Riveros

**CATIE. Proyecto MIP,  
Nicaragua**

Falguny Guharay

**CATIE. Representación  
Guatemala**

David Monterroso

**Colegio de Posgraduados  
(México)**

Cesáreo Rodríguez

**Ministerio de  
Agricultura y Ganadería**

Jorge Araya

**Universidad de**

**Costa Rica**

Alice Pérez

Gerardo Mora

EDITORIAL

## REVISTA MANEJO INTEGRADO DE PLAGAS

### 15 años al servicio de la agricultura tropical sostenible

**L**a Revista Manejo Integrado de Plagas del CATIE cumple 15 años de apoyar a los países de América Latina y el Caribe en sus esfuerzos en agricultura tropical sostenible. Durante estos años se ha puesto a disposición de los técnicos e instituciones 60 números de la revista con más de 600 artículos, además de hojas técnicas y boletines especializados. Esta Revista nació como respuesta a la necesidad de la Región Centroamericana de disponer de un foro para la difusión de resultados de investigación y experiencias exitosas de manejo integrado de plagas agrícolas y forestales en los países, para evitar la duplicidad de esfuerzos y potenciar el uso de los recursos invertidos en investigación y transferencia de alternativas al uso excesivo de plaguicidas sintéticos. Esta publicación fue parte del Proyecto MIP desarrollado por el CATIE con el apoyo financiero de USAID/ROCAP y ha servido como vehículo principal para comunicar la visión estratégica de la Institución y del grupo de Fitoprotección, que fue liderado por el Dr. Joseph Saunders.

La Revista MIP como mecanismo de difusión técnico-científico contribuye a la conservación de los recursos naturales, la protección de la salud de productores y consumidores y la producción agrícola sostenible. Ello le ha permitido ampliar su cobertura a América Latina y el Caribe, siendo actualmente la única en su temática en idioma español.

El CATIE, mediante esta Revista difunde de manera impresa y electrónica, los trabajos más significativos en fitoprotección, agricultura orgánica, control biológico, resistencia, uso de coberturas, micorrizas y otras alternativas de producción ecológica realizados en América Latina y el Caribe. También incluye temas como género y equidad, aspectos socioeconómicos, investigación participativa, y en convenio con instituciones como la Organización Panamericana de la Salud, mediante el Proyecto Plagsalud ofrece una sección sobre Agromedicina. Esta información es de interés para la enseñanza, la investigación, la extensión, la toma de decisiones y planificación de políticas nacionales y regionales.

La Revista MIP llega a gran cantidad de personas del sector público, privado y ONG's de más de 35 países y está en las bibliotecas más importantes de instituciones del sector agrícola, forestal y de protección ambiental. Los artículos publicados están incluidos en las bases de datos en agricultura y ambiente más importantes a nivel mundial, así como en foros electrónicos en Internet, lo cual le permite aumentar su impacto.

Esta publicación demuestra el compromiso del CATIE en la difusión de tecnologías en agricultura ecológica, especialmente adaptadas a las condiciones de los países del trópico americano, acorde a su lema "Producir conservando, Conservar produciendo".



Dr. Pedro Ferreira Rossi  
Director General CATIE

## Guía para los autores de trabajos a ser publicados en la Revista "MANEJO INTEGRADO DE PLAGAS"

**Naturaleza de los trabajos.** "Manejo Integrado de Plagas" es una publicación abierta a las contribuciones de los autores de regiones tropicales con énfasis en América Latina. Se consideran para su publicación trabajos en áreas de fitoprotección tales como: acarología, fitopatología, entomología, ciencias de las malezas, agromedicina, aspectos socioeconómicos, transferencia de tecnología y enfoque de género relacionados con el manejo integrado de plagas, así como artículos sobre otras alternativas de agricultura tropical sostenible tales como agricultura orgánica, uso de coberturas y micorrizas.

Además de los trabajos de investigación convencionales se publicarán revisiones bibliográficas, experiencias, foros y ensayos críticos que aporten una visión general o actualizada del tópico tratado; notas o comunicaciones técnicas sobre aspectos que no requieren un tratamiento exhaustivo como avances de investigación, trabajos metodológicos; guías técnicas; adaptaciones de tesis; ponencias o informes técnicos presentados a reuniones y talleres de trabajo; normas y materiales de apoyo a la enseñanza y la investigación; síntesis de observaciones debidamente documentadas que permitan difundir con prontitud la descripción de una nueva plaga, su expansión o su control; informes de consultorías y estudios de diagnóstico.

**Presentación de los escritos.** Se aceptan procesados con cualquier programa para manejo de texto acompañado de la versión impresa. Deben incluirse también los archivos de las figuras. En el caso de fotos, estas pueden enviarse en papel o diapositiva, o bien escaneadas a 225 dpi como mínimo. Esto agilizará el proceso de revisión y edición y facilitará la adopción del formato ya establecido por la Revista.

La extensión del original podrá tener un máximo de 25 páginas impresas a doble espacio, incluidas las ilustraciones. Se podrán considerar volúmenes superiores si el caso es plenamente justificado.

El texto debe ser en español o portugués, en un estilo directo, con párrafos cortos, con criterio de exactitud y brevedad. Los artículos pueden ser enviados por correo electrónico o por correo convencional.

**Revisión y edición.** Cada original será revisado en su formato y presentación por el editor y sometido a, por lo menos, dos expertos en la materia quienes harán los comentarios y sugerencias antes de ser sometido al Comité Editorial de la Revista para su consideración final. El editor mantendrá informados a los autores sobre los resultados, a fin de que aporten oportunamente las aclaraciones del caso o realicen los ajustes correspondientes.

### Elementos de identificación y organización

**Título.** Debe ser claro y reflejar, en un máximo de 15 palabras, el contenido del artículo.

**Autores.** Congruencia en el uso de los nombres y apellidos. su presentación debe ser igual en todas sus publicaciones, ya sea que use nombres y apellidos completos o sólo iniciales. Esto facilitará las búsquedas en las bases de datos y evitará en lo posible la proliferación de homónimos o la confusión con trabajos de otros autores.

**Filiación/Dirección.** Identificación plena de la institución donde trabaja cada autor o, en su defecto, su dirección permanente, que permita comunicaciones posteriores con colegas interesados en sus trabajos e investigaciones.

**Resúmenes.** Se requiere resúmenes en inglés y español con un máximo de 200 palabras. Su objetivo principal es el de facilitar la difusión del contenido del trabajo a través de los servicios bibliográficos internacionales y ampliar las posibilidades de intercambio de experiencias entre especialistas de diferentes partes del mundo. El resumen debe elaborarse como si fuera a sustituir el trabajo completo. Es una síntesis que el autor prepara de los aspectos más relevantes, extraídos básicamente de las secciones "Materiales y Métodos" y "Resultados".

**Organización del texto (\*).** El material científico y técnico por lo general destaca las siguientes secciones: introducción, materiales y métodos, resultados, discusión, conclusiones, agradecimientos y literatura citada. En algunos casos los resultados y la discusión pueden integrar una so-

la sección para facilitar la presentación y el análisis. La naturaleza y amplitud de la revista permite incluir además, material educativo, técnico y la difusión de datos, avances e información selecta relevante para la región. Por esta razón se aceptan contribuciones que no siguen la estructura de los artículos que son resultado de la investigación. En muchos casos se deja libertad a los autores para que adopten la estructura que mejor se adapte a la metodología y objetivos que pretende su trabajo, siempre en consulta con los revisores y el Comité Editorial de la Revista.

**Introducción.** Sección que presenta los antecedentes, su importancia y su relación con trabajos similares, alcance del tema, el propósito de la investigación, sus objetivos y limitaciones, breve revisión de la literatura consultada sobre el tema.

**Materiales y Métodos.** Descripción concisa de los materiales, metodología y técnicas empleadas, que permita entender el experimento, interpretar los resultados de la investigación y juzgar su validez.

**Resultados.** Datos generados en las observaciones experimentales, a ser analizados para conocer su precisión y confiabilidad. Presenta los hechos negativos y positivos, siempre que sean relevantes y se hayan analizado correctamente.

**Discusión.** Análisis e interpretación de los resultados. El investigador relaciona los hechos experimentales y llega a conclusiones en consonancia con la hipótesis que motivó la investigación.

**Conclusiones.** Recapitulación en forma lógica de los resultados obtenidos, que apoya o difiere de la hipótesis propuesta en la introducción. Se basan solamente en hechos comprobados y no deben confundirse con recomendaciones.

**Literatura citada.** Al final de cada trabajo se incluirá la lista de las fuentes bibliográficas consultadas, en orden alfabético de autores. Todas deben haberse mencionado en el texto y son aquellas que complementan, aclaran o amplían los conceptos tratados. Evitar la mención de referencias bibliográficas que sólo tienen el mérito de pertenecer a un autor reconocido como autoridad en la materia, pero que no tiene relación directa con la presente investigación. Es esencial dar crédito a otros autores que han trabajado sobre el mismo tema y cuya contribución es relevante en el proceso de realización del trabajo.

Los datos esenciales de una cita bibliográfica son: autor (personal o corporativo); año de publicación, título del trabajo; lugar de publicación (ciudad y país); institución o casa editora; páginas que cubre el trabajo (indica al lector la extensión del documento y le facilita estimar el costo de fotocopias). Las diferentes modalidades de citas bibliográficas según el tipo de documento, pueden observarse en las bibliografías de la presente revista o de números anteriores.

**Ilustraciones.** Las ilustraciones o figuras se ubican en el texto con numeración consecutiva, precedida de la abreviatura Fig. La leyenda al pie de las ilustraciones debe ser autoexplicativa de tal manera que el usuario no tenga que recurrir al texto para su interpretación.

Cuando el trabajo lo amerite, se incluirán fotos a color. Sin embargo, deben enviar la "separación de colores" lista para su impresión. Si esto no es posible, se requiere el envío de US\$40.00 por cada fotografía para cubrir el costo de la separación de colores.

Los cuadros son complemento importante del texto en algunos trabajos, sin embargo se debe evitar que sean muy complicados, con demasiadas columnas y exceso de información. Es preferible confeccionar varios cuadros más simples, pero reducirlos a la cantidad mínima necesaria. Un número excesivo de cuadros tiende a confundir, más bien que aclarar lo expresado en el texto.

### Dirección:

Revista Técnica "Manejo Integrado de Plagas"

CATIE, 7170 Turrialba, Costa Rica

Tel.: (506) 556 6784 ó 556 1632

Fax. (506) 556 6784 ó 556 0606

E-Mail: [ciemip@catie.ac.cr](mailto:ciemip@catie.ac.cr)

(\*). Para mayor instrucción sobre redacción de las diferentes secciones de un trabajo científico consultar: SAMPER, A. 1984. Estructura lógica del artículo científico agrícola. In Fundamentos de Redacción Técnica. San José, IICA. Materiales de Enseñanza en Comunicación No.14 24 p. También en: IICA. 1988. Colección Libros y Materiales Educativos No.88 p. 49-70. (Con gusto enviaremos copia de este trabajo a solicitud).



## Luis De Santis: Taxónomo del control biológico

Marta S. Loiácono\*

Nació en Berisso, Provincia de Buenos Aires, Argentina el 16 de mayo de 1914; hijo de Pedro De Santis y Teresa Natale. Su infancia transcurrió en su ciudad natal. Cursó sus estudios primarios en Berisso; la secundaria la realizó en el histórico Colegio Nacional de La Plata. Estudió en la Facultad de Agronomía de La Plata, donde se graduó de Ingeniero Agrónomo en 1937, dedicándose al estudio de los insectos, una actividad poco conocida, lo cual demuestra su vocación. Posteriormente, con la finalidad de completar sus conocimientos en Zoología, cursó el doctorado en Ciencias Naturales, del cual se graduó en 1946, en el entonces Instituto Superior del Museo de La Plata. El Dr. De Santis ocupó numerosos cargos de investigación, docencia y extensión en la Universidad Nacional de La Plata y en el gobierno de la provincia de Buenos Aires. En su carrera como docente se puede destacar su trayectoria en la Facultad de Ciencias Naturales, como profesor de Zoología General, Biología Animal, Biología y Biometría; Entomología; Zoología de Invertebrados II (Artrópodos). También fue profesor de Zoología Agrícola en la Facultad de Agronomía. En 1979 fue designado Profesor extraordinario en la categoría de Emérito, de la Universidad Nacional de La Plata, en la cual desarrolló sus actividades científicas en la Facultad de Ciencias Naturales y Museo, hasta el momento de su muerte el 1 de agosto del 2000.

Entre los cargos ejercidos en el gobierno de la

provincia de Buenos Aires están: Encargado del Laboratorio de Patología Vegetal y Entomología de la Dirección de Agricultura, Ganadería e Industrias (1940-1946); Jefe de la División de Laboratorios e Investigaciones especiales de la Dirección de Agricultura, Ganadería e Industrias (1946-1947); Subdirector de Agropecuaria de la Provincia de Buenos Aires (1948-1949) y Subdirector de Política Forestal de la mencionada provincia (1949).

En la Facultad de Ciencias Naturales y Museo fue consejero académico durante varios períodos y posteriormente Vicedecano y Decano. Asimismo se desempeñó como Miembro del Consejo Superior de la Universidad Nacional de La Plata (1957-1958). Fue Jefe de la División de Entomología (1966-1983) y durante el período 1979 a 1983 fungió como Director del Museo. Actuó como Miembro del directorio del Instituto de Biología Marina de Mar del Plata, como representante por la Universidad Nacional de La Plata, Miembro del Consejo Asesor del Centro de Investigaciones en Ciencias Agropecuarias del INTA, Investigador Superior del CONICET, y participó en gran cantidad de comisiones.

Fue Miembro de Número de las Academias Nacionales de Ciencias de Buenos Aires (desde 1963) y de Agronomía y Veterinaria, Miembro Activo de la Academia de Ciencias de Nueva York, Miembro Activo de la Asociación Americana para el Progreso de las Ciencias de Washington, Miembro de Honor de la

\* Depto. Científico de Entomología, Museo de La Plata, Argentina. Correo electrónico: loiacono@museo.fcnym.unlp.edu.ar

Fundación Miguel Lillo de San Miguel de Tucumán, Investigador Asociado del Department of Agriculture and Consumer Services of Gainesville (Florida, Estados Unidos). Además fue Investigador del CONICET, Socio Paul Harris de la Fundación Rotaria Internacional; Socio correspondiente de la Sociedad Uruguaya de Entomología; Miembro correspondiente de la Sociedad Chilena de Entomología y Presidente Honorario de la Sociedad Entomológica Argentina (1983).

El Dr. De Santis demostraba una profunda vocación docente y gran generosidad para compartir sus conocimientos y experiencias, no sólo con sus discípulos, sino con toda persona que se acercara a su despacho con alguna inquietud.

Dedicó su vida a la entomología, especializándose en el estudio de los microhimenópteros parasitoides y de los tisanópteros, sobre los cuales publicó más de 270 trabajos científicos en revistas de prestigio nacional e internacional. Sus obras sobre Chalcidoidea (especialmente Aphelinidae y Encyrtidae), insectos de gran valor como agentes de control biológico y sus catálogos de los himenópteros parasitoides de América al Sur de los Estados Unidos, le han dado renombre mundial. Publicó 80 trabajos de divulgación.

Su relevante trayectoria lo hicieron merecedor de premios y distinciones científicas y académicas, nacionales y extranjeras, entre las que están: Premio Irineo Cucullú otorgado por la Institución Mitre (1935-36),

Premio Nacional de Ciencias Naturales y Biológicas (1946-48), la Medalla de Oro otorgada por la Fundación Filippo Silvestre de la Universidad de Nápoles (1964), el Premio Angel Gallardo (1973-74), el Diploma al Mérito y Konex de Platino (1983), Galvano Recordatorio otorgado por el Insectario de La Cruz (Chile) por su colaboración por espacio de 50 años (1989), y el Premio Homero Manzi (1998).

El Dr. De Santis recibía estas distinciones siempre acompañado de sus seres queridos, en especial su esposa la Dra. Eulalia Millán y su hijo José Luis.

Fue querido y respetado por colegas y numerosos especialistas nacionales y extranjeros, quienes le han dedicado varios géneros y numerosas especies.

Su integridad humana y su extensa trayectoria científica lo convirtieron en consejero y consultor permanente de alumnos, investigadores e instituciones nacionales e internacionales. Era el referente en lo que concierne a la investigación sobre control biológico en el país. Nunca se retiró de las actividades y ya jubilado continuó colaborando con los investigadores de instituciones nacionales e internacionales.

Como ser humano y como profesional el Dr. De Santis deja una huella imborrable y su nombre seguirá vigente en el tiempo, no sólo entre sus numerosos discípulos, sino en la comunidad científica en general. Quienes tuvimos el privilegio de formarnos a su lado lo recordaremos entrañablemente.

FORO

## En búsqueda de un sistema de resistencia estable en plantas cultivadas

Elkin Bustamante Rojas\*  
Luis Fernando Patiño H.\*\*

**RESUMEN.** En el proceso de selección de plantas, para la alimentación y otros usos, al priorizar mayor producción y características agronómicas favorables, éstas perdieron muchas de sus defensas naturales de coevolución y parte de su capacidad de adaptación. La tecnología a través de plaguicidas y el uso de genes mayores de resistencia han reemplazado dichas defensas. Sin embargo, la corta vida de muchos de estos productos más el riesgo ambiental hace necesario buscar otras alternativas de manejo. Este foro propone un enfoque sostenible, con base en el análisis de la capacidad energética de la planta y los limitantes a la expresión de su resistencia. Se consideran algunos factores ambientales y tecnológicos de estrés que drenan energía en la planta, y el conocimiento de prácticas que la fortalecen. Se sugiere un programa de actividades, con base en facilitadores que eliminen los primeros y utilicen los últimos. La investigación y tecnología futura debería orientarse a cerrar la brechas de información en la selección, fisiología y bioquímica de la resistencia.

**Palabras clave:** Coevolución, Energía, Facilitadores, Inducción, Predisposición, Resistencia.

**ABSTRACT.** In search of a system for stable resistance in cultivated plants. In the selection of plants for food and for other uses, to obtain greater production and favorable agronomic characteristics, many of the natural defences from coevolution and part of the adaptation capacity have been lost. Technology, through pesticides and the use of major resistance genes has replaced these defences. However the short life of many of these products plus the environmental risks has made it necessary to look for management alternatives. This paper proposes a sustainable approach based on an analysis of the energetic capacity of the plant and the limits to the expression of its resistance. Some environmental and technological stress factors that drain the plant of energy and the knowledge of practices that strengthen it are considered. A plan of activities, in the agricultural production, which eliminate the first and make use of the second is suggested. The gaps in information about the selection, physiology and biochemistry of the resistance should become a structural part of future investigation and technology.

**Key words:** Coevolution, Energy, Facilitator, Induction, Predisposition, Resistance.

### Introducción

Las plantas expresan su resistencia de diferentes maneras, unas en forma más estable que otras. Entre las primeras están las estructuras anatómicas, morfológicas y químicas preformadas que impiden a los microorganismos y artrópodos establecerse en la planta. Además disponen de la resistencia de genes complementarios y de genes menores, que impiden el establecimiento y el avance de las plagas. El otro tipo de defensa se mani-

fiesta con la presencia de fitoalexinas y otras sustancias que le permiten a la célula evitar el daño que causa el patógeno. Esta protección es generalmente inducida por agentes biológicos, físicos o químicos y su efecto es en muchos casos de corta duración.

Dada la importancia de la resistencia en el MIP, y el futuro de su inducción, es necesario conocer el papel de la energía y su uso para que los mecanismos de de-

\* Consultor en Manejo Integrado de Plagas. Turrialba, Costa Rica. Correo electrónico: elkinbustamante@hotmail.com

\*\* AUGURA, CENIBANANO. Urabá, Colombia. Dirección actual: Escuela de Posgrado. CATIE. Turrialba, Costa Rica. CATIE. Correo electrónico: lpatino@catie.ac.cr

fensa sean más estables. En la medida en que el conocimiento actual tenga mayor divulgación y la investigación aporte nuevos avances sobre este tema, se podrá implementar una producción agrícola más sostenible.

En este foro se presenta y discute información e ideas pertinentes al tema, como la coevolución de las plantas y sus plagas de acuerdo a la selección y uso de cultivares por mayor rendimiento, la predisposición de la planta al ataque de patógenos por el efecto del ambiente, la fisiología de la planta, o la tecnología, el mecanismo de inducción de resistencia, y finalmente como podría visualizarse en la planta una disponibilidad de energía a través de facilitadores que permitan el uso óptimo de inductores de resistencia.

### **Coevolución y selección por resistencia**

Los ecosistemas complejos, como es el caso de la selva tropical, disponen de una elevada capacidad de equilibrio biológico y energético y los problemas fitosanitarios en general no se presentan, o no son fácilmente detectables. Sin embargo, tan pronto como se inicia un proceso de degradación del ecosistema natural, empiezan a aparecer e incrementarse las alteraciones sanitarias ante la uniformidad del ecosistema agrícola, y la ausencia de barreras de espacio, tiempo o asociación biológica.

Es en este gradiente de lo complejo a lo simple, cuando a los artrópodos y microorganismos se les facilitan sus relaciones con las especies vegetales cultivadas, causando en éstas daño y pérdida de energía. Esta situación permite cambios en la población o en la evolución genética de los organismos plagas en respuesta a las presiones de selección que impone el hombre.

De acuerdo con suposiciones de aceptación general en fitopatología, Browning (1980) presenta cinco axiomas sobre la resistencia:

**Axioma 1:** La mayoría de las plantas son inmunes o altamente resistentes a la mayoría de patógenos. La susceptibilidad es una rara excepción.

**Axioma 2:** La mayoría de los patógenos son avirulentos a la mayoría de plantas. La virulencia es una rara excepción.

**Axioma 3:** La inmunidad es absoluta

**Axioma 4:** La resistencia y la susceptibilidad son extremos opuestos de un continuo.

**Axioma 5:** Resistencia oligogénica (de pocos genes) -susceptibilidad y avirulencia- virulencia son controladas por genes complementarios en el hospedante y el patógeno.

Estos axiomas se dan con base en la coevolución de los organismos en los ecosistemas naturales, en los cuales se consideran avirulentos aquellos patógenos que en su interacción con las plantas producen un tipo de infección bajo y en el caso de los virulentos, se presentan tipos de infección altos, fundamentales en el desarrollo de una epidemia en condiciones de producción agrícola.

Los mecanismos de resistencia que se observan en las poblaciones de plantas en el campo pertenecen a tres clases:

- Barreras físicas: corresponden a las estructuras de las plantas que impiden la entrada a patógenos (Agrios 1988). Por ejemplo, en variedades de cebada las estructuras florales impiden la entrada del hongo *Ustilago nuda*, causante del carbón volador de este cultivo.
- Barreras químicas: se presentan en plantas que producen exudados o sustancias que las protegen de la acción de patógenos, como es el caso de los polifenoles, sustancias preformadas de amplia coevolución con las plantas. Un ejemplo de éste mecanismo lo constituyen las cebollas de colores diferentes al blanco, las cuales pueden producir ácido protocatélico que cubre la superficie del bulbo, protegiéndolo del ataque del hongo *Colletotrichum circinans*. También se incluye en esta categoría las fitoalexinas, enzimas relacionadas con la patogenicidad y sustancias resistentes a las enzimas del patógeno (Weinhold y Hancock 1980).
- Genes complementarios: es el mecanismo presente en la interacción del sistema hospedante-patógeno. Esta hipótesis fue establecida por Flor (1971), con base en sus trabajos de investigación en el cultivo de lino y la roya del lino causada por el hongo *Melampsora lini*.

La hipótesis de Flor considera que “una simple explicación para el alto grado de especialización fisiológica del hongo de la roya es que durante su evolución paralela, el hospedante y el parásito desarrollaron un sistema genético complementario. Por cada gen condicionando una reacción a la roya en el hospedante hay un gen condicionando la patogenicidad en el parásito. El tipo de infección, criterio de la reacción del hospedante y de la patogenicidad en el parásito, está determinado por genes complementarios en las dos partes”.

La hipótesis que originalmente se estudió en el sistema *Linum: Melampsora* actualmente se ha expandido a otros sistemas como *Solanum: Phytophthora*;

*Triticum: Puccinia, Malus: Venturia y Coffea: Hemileia* (Flor 1971).

En la actualidad la hipótesis de gen por gen indica que la resistencia se da cuando el producto del gen de avirulencia del patógeno interactúa con el producto de un gen de resistencia de la planta (Baker *et al.* 1997). Por su parte Keen *et al.* (2000) señalan los factores en común que tienen la defensa inducida usado por plantas y animales, lo cual en el caso de la reacción de hipersensibilidad siguen el modelo de la hipótesis de Flor. Estos investigadores consideran que este comportamiento se daría en la mayoría de eucariontes.

En la coevolución, de acuerdo al modelo de cereales menores y sus royas, observaciones *in-situ* del comportamiento de los materiales indicaron que en el ecosistema natural de las poblaciones nativas de avena, cebada y trigo se encuentran componentes resistentes, susceptibles y tolerantes en una mezcla natural, con un equilibrio dinámico tal, que no se observan epidemias, ni el desgaste energético propio de un monocultivo en presencia de una raza compatible (Browning 1974).

A través de la selección y los sistemas de producción agrícola el presupuesto energético de la planta ha sufrido cambios drásticos, algunos de los cuales han afectado la estabilidad de la resistencia y el desgaste de energía. Dos de los factores más importantes a considerar son el estrés de las plantas con su consecuente predisposición a enfermedades y la necesidad de disponer de energía suficiente para la inducción de resistencia a patógenos.

### **Predisposición de la planta a patógenos**

La importancia de un patógeno que ataca una planta en su ambiente natural es muy poca, pero conforme la agricultura tiende al monocultivismo y a la implementación de diversas técnicas agronómicas, además de presentarse un desequilibrio en el ecosistema y favorecerse la proliferación de plagas, también se coloca a las especies cultivadas en un estado de predisposición, de naturaleza no genética (Mussel y Malone 1979).

La predisposición es definida como la tendencia o condición previa a la inoculación o introducción del inductante que afecta la susceptibilidad del cultivo a agentes patogénicos bióticos o abióticos. Esta condición incrementa la vulnerabilidad de las plantas debido a causas externas, lo cual se traduce en una reducción de la resistencia a las enfermedades (Yarwood 1976).

El concepto no debe confundirse. Si un factor biótico o abiótico incrementa la susceptibilidad de la planta a las enfermedades, es predisposición. Si afecta

positiva o negativamente al patógeno, esto puede ser protección, terapia, erradicación o activación, pero no predisposición.

En este sentido, al presentarse desviaciones de las **condiciones ambientales** requeridas por la planta, los procesos fisiológicos funcionan en forma inadecuada, lo cual se traduce, normalmente en fallas generales de los mecanismos de defensa (Levitt 1980, Schoeneweiss 1983).

Bajo estas condiciones de estrés, en especial exceso de humedad o sequía un organismo sin mayor importancia fitopatológica puede adquirir características de alta virulencia y causar daños que posiblemente no serían significativos en condiciones normales de cultivo. Esta es la característica del ataque de los patógenos oportunistas.

Tácticas efectivas de control como el biológico, el químico, el fitogenético, entre otros, pueden verse mermadas o anuladas en su funcionalidad cuando el cultivo se encuentra en un estado de predisposición, en especial por condiciones agroclimáticas. La expresión de resistencia de un híbrido o una variedad mejorada puede no manifestarse bajo estas condiciones. Una situación similar puede ocurrir al utilizar algún plaguicida de origen biológico, si el patógeno encuentra una planta con sus mecanismos de defensa diezmados y fácilmente vulnerables.

La **fisiología** misma de una especie puede constituirse en un factor de estrés e inducir predisposición por diferentes motivos:

- (a) la planta se encuentra en un etapa determinada de su desarrollo en la cual es más susceptible a ciertos patógenos, como es el caso del tomate, en el cual el tizón temprano causado por *Alternaria solani* puede ser más severo cuando la planta entra en su período de floración y fructificación (Rotem 1994).
- (b) sus tejidos se encuentran blandos y no lignificados, o la planta llega a la senescencia (Farkas 1979).
- (c) se encuentra utilizando sus reservas en la producción de estructuras reproductivas o vegetativas y sus mecanismos de defensa no disponen de los elementos necesarios para su funcionamiento normal. La defoliación que sufren las especies caducifolias es una etapa en la cual se ha comprobado que las plantas se predisponen a las enfermedades. En este sentido, Schoeneweiss (1983) indica que varios investigadores han obtenido este tipo de resultados al evaluar el estrés por defoliación y que el efecto es más significativo conforme se incrementa el periodo de exposición de las plantas defoliadas al patógeno.

La continua búsqueda del incremento en la productividad provoca muchas veces la adopción de técnicas que pueden causar un estrés severo, tales como altas densidades de siembra, uso excesivo de plaguicidas, especialmente herbicidas, especies de sombra cultivadas a plena exposición solar, dosis inadecuadas de fertilización, etc. (Huber 1980, Lavesque y Rahe 1992, Russell *et al.* 1989). Este es denominado **estrés tecnológico** y es inducido por un manejo inapropiado de la plantación y tiene gran importancia en todo tipo de cultivos.

La productividad agrícola y la sostenibilidad son objetivos que el técnico persigue y en muchos casos parecen antagonizar cuando se trata del manejo de plagas. Se considera que el evitar exponer a la plantación a condiciones de estrés que lleven el cultivo a la predisposición, contribuye significativamente al posterior manejo que se realice de una enfermedad, haciendo uso de tácticas compatibles con el concepto de sostenibilidad.

Las distintas especies de plantas varían en su susceptibilidad a condiciones de estrés y el conocimiento de éstas proporciona información esencial para el manejo de enfermedades, incluyendo medidas para evitar la predisposición. A manera de ejemplo se puede analizar el caso del café, cuya tecnología de cultivo ha sufrido una serie de transformaciones a través del tiempo.

En relación con este tema varios investigadores coinciden que cuando una planta no recibe la cantidad de luz adecuada para sus requerimientos, se producen trastornos en su funcionamiento normal, lo que provoca estrés e incrementa la susceptibilidad del vegetal al ataque de patógenos (Bustamante 1979, Greer 1990, Jones *et al.* 1985, Schoeneweiss 1983).

Así por ejemplo, los resultados obtenidos por Pandey y Wilcoxson (1970) y Jones *et al.* (1985) coinciden en que la alta intensidad lumínica incrementa la severidad e incidencia de *Leptosphaerulina* y *Pseudomonas* sobre alfalfa y crisantemo, respectivamente, existiendo además una elevada correlación entre la alta intensidad de la luz y los bajos niveles de nutrición.

En el sistema Avena: *Puccinia* se han identificado genes de resistencia fotosensibles que no actuaban bajo condiciones de alta intensidad lumínica o contenido de CO<sub>2</sub>, presentándose, como consecuencia, en la planta susceptibilidad al patógeno (Bustamante 1979). Este comportamiento puede explicarse por la hipótesis de Rowell convertida en teoría por Horsfall y Dimond (1957) para expresar que las enfermedades

se pueden clasificar como de alto y bajo contenido de azúcares, cuando la planta es baja en estos compuestos es resistente a patógenos biotróficos como las royas. Por su parte, los organismos necrotrofos son severos en tejidos con bajo contenido de azúcares.

La alta intensidad lumínica provoca destrucción de la clorofila, daños en la membrana celular y el aparato fotosintético, produciéndose fotoinhibición; los tejidos externos se desarrollan pobremente y hay ausencia de ceras. También se inhibe al IAA, se producen disturbios en el balance de reguladores del crecimiento y alteración de las fases de la mitosis. Sin embargo, los efectos metabólicos más importantes son la inhibición de la respiración por destrucción de los citocromos, fotooxidación de la clorofila, ácido ascórbico y alteración de muchas enzimas y coenzimas (Levitt 1980).

Lobos (1993) evaluó el efecto de tres porcentajes de sombra (0, 25 y 50%) sobre la severidad e incidencia de *Fusarium spp.* y *Phoma costarricensis*, respectivamente, que atacaban plantas de café y determinó que cuando crecieron bajo plena exposición solar se alcanzó el mayor índice de severidad, y la incidencia más alta se produjo bajo condiciones del 75 y 100% de luminosidad. Se concluye que la alta intensidad de la luz es un factor importante de estrés que incrementó la susceptibilidad del cultivo al ataque de ambos patógenos.

Las condiciones de plena exposición solar en una plantación conllevan a una proliferación de malezas en el campo, y consecuentemente al uso de herbicidas por parte de los caficultores. El uso de estos productos y de otros agroquímicos puede conducir, en algunos casos, al estrés (Altman y Campbell 1977, Lobos 1993, Strobel y Kuc 1995), y al desarrollo de enfermedades denominadas por Horsfall (1979) como iatrogénicas. Además la tasa de enfermedades infecciosas también se incrementa en las poblaciones de humanos expuestas a plaguicidas (Repetto y Baliga 1996).

Se ha determinado que cuando el café crece a plena exposición solar usa más rápido las reservas del suelo y se torna más exigente en sus requerimientos nutricionales (Ramírez y González 1990), por lo que se considera que en este caso, el estrés puede deberse a la poca disponibilidad de nutrientes. La adición de fertilizantes puede no tener efectos correctivos al prevalecer suelos con bajo contenido de humedad debido a la alta incidencia de luminosidad, lo cual también incide en las mayores pérdidas de nitrógeno. En estas circunstancias es de esperar una mayor incidencia o

severidad de enfermedades que deben ser contrarrestadas con el uso de grandes cantidades de plaguicidas.

En cuanto a los niveles de nutrición, se han realizado una considerable cantidad de experimentos para estudiar el efecto de los nutrimentos minerales, especialmente N, P, y K, en la susceptibilidad de las plantas a las enfermedades (Chase y Poole 1987, Engelhard 1989, Graham 1983, Huber 1980). Según Schoeneweiss (1983), el efecto de predisposición puede ser por el desbalance, deficiencia o exceso de uno o más nutrimentos y es variable en función de la edad y tipo de cultivo, condiciones del ambiente, especie de patógeno, que en conclusión afectan el vigor de las plantas e influyen negativamente en sus mecanismos de defensa.

En este sentido, Sarasola, y Roca (1975) y Huber (1980) coinciden en que niveles bajos de nutrición afectan el funcionamiento normal de las células vegetales y provocan un desbalance en la efectividad de los mecanismos de defensa de las plantas, influyen en la composición de la lámina media de los tejidos y en la facilidad con que puede ser alterada por enzimas del patógeno.

### **El mecanismo de inducción de resistencia**

El fenómeno natural de desarrollo de resistencia en respuesta a la infección de un patógeno, fue primeramente reconocido por Ray y Beauverie en 1901. Estos autores encontraron que la virulencia de una raza de *Botrytis cinerea* podía ser cambiada mediante parámetros ambientales como el calor, el frío o las condiciones de cultivo. La raza cambiada y atenuada en su virulencia indujo en begonia resistencia sistémica adquirida (SAR, por su sigla en inglés), a posteriores infecciones con razas altamente virulentas del mismo hongo (Beauverie 1901, Ray 1901).

En 1933, Chester revisó cerca de 200 publicaciones que describían un fenómeno que él denominó inmunidad fisiológica adquirida. Dentro este concepto, se incluían al menos, tres procesos diferentes reconocidos hoy en día como: protección cruzada viral, antagonismo y SAR.

Ross (1961a y 1961b), usando el *Virus del mosaico del tabaco* (TMV) sobre lesiones locales de plantas hospedantes, demostró que las infecciones de TMV se vieron restringidas por una infección previa. Esta resistencia fue eficaz no solo contra el TMV sino también contra el *Virus de la necrosis del tabaco* y ciertas bacterias patógenas. También se encontró que la resistencia era expresada localmente en el sitio de la inoculación primaria, pero ésta podía ser expresada sisté-

micamente en los tejidos que rodean al tratamiento localizado, y llegar a extenderse hasta las raíces (Ryals *et al.* 1994).

En términos generales, cuando las plantas reconocen que están siendo invadidas por un patógeno se inducen una variedad de respuestas de defensa dentro de las cuales se incluyen : a) acumulación de fitoalexinas, y otros metabolitos secundarios asociados a la pared celular, b) acumulación de compuestos que modifican y refuerzan la pared de la célula hospedante, y c) acumulación de inhibidores de proteínasa y enzimas hidrolíticas que degradan las paredes celulares de los patógenos, dentro de las cuales están las proteínas relacionadas con la patogenicidad o proteínas PR (Gurr 1995).

Las fitoalexinas, las cuales son compuestos antimicrobiales de bajo peso molecular que están asociadas con mecanismos de defensa de la planta cuando éstas se acumulan en respuesta a factores de estrés bióticos o abióticos. Su biosíntesis se asocia con la presencia de productos de la interacción hospedante-patógeno los cuales actúan como elicitores (Kuc 1995, Hammerschmidt 1999).

Sticher *et al.* (1997), registran una respuesta adicional que denominan condicionamiento o sensibilización, en el cual las plantas inducidas adquieren la capacidad de reaccionar más rápidamente y con mayor eficiencia a infecciones posteriores con patógenos virulentos.

Los mecanismos de resistencia inducida son procesos que requieren energía y éstos pueden ser caracterizados como de fase temporal cuando ocurre el reconocimiento y de fase funcional cuando el mecanismo de resistencia es expresado (Crute *et al.* 1985). A continuación se citan algunos requerimientos energéticos del mecanismo de inducción de resistencia, donde se puede evidenciar cambios a nivel celular y fisiológicos que ocurren como respuesta a la inducción.

En las interacciones incompatibles entre la cebada y el hongo causante del mildiú polvoso (*Erysiphe graminis* f.sp. *hordei*), las plantas hospedantes reaccionan a la inoculación con el patógeno a través de cambios en la actividad bioquímica que incluyen incremento en la producción de peroxidasa y etileno, producción de inhibidores, fitoalexinas, síntesis de ácidos nucleicos, sustancias aromáticas, fluorescentes, y absorbentes de UV y cambios en el contenido de carotenoides. Como se puede apreciar estas reacciones de defensa están asociadas con el incremento en la síntesis de varios compuestos, por lo tanto, existe poca

duda de que éstas también demandan un aumento en la respiración del hospedante, con el fin de suministrar las unidades de carbono y la energía para la síntesis (Smedegaard-Petersen 1982).

La descripción gráfica de la relación entre la energía y la inducción de resistencia se presenta en la figura 1, en la cual se indica como la fotosíntesis suministra la materia prima para la transformación de ésta vía respiración en defensas de la planta.

Aunque la planta en la interacción con una raza avirulenta no presente síntomas visibles de enfermedad, esta expresión de resistencia implica procesos de biosíntesis demandantes de energía, los cuales utilizan aquella reservada para trabajos más útiles como el crecimiento y la reproducción. En consecuencia, parámetros como rendimiento de grano, proteína en el grano, y longitud del tallo, fueron significativamente menores que aquellos de plantas testigo que no fueron inoculadas (Smedegaard-Petersen y StØlen 1981).

No solamente la respiración resulta incrementada en las respuestas de defensa sino que también ocurre un aumento en la síntesis de RNA (Oku *et al.* 1973), transcripción y traducción de genes específicos, requiriendo la inducción *de novo* de enzimas para la biosíntesis de las sustancias de defensa; con el consecuente consumo de ATP (Yoshikawa 1983).

El mecanismo de hipersensibilidad es un fenómeno también dependiente de la generación de energía (ATP). Se ha demostrado que la adición de ATP, acorta el tiempo necesario para la expresión de la resistencia en tubérculos de papa inoculados con razas incompatibles de *Phytophthora infestans*, y restaura también la capacidad de reacción hipersensitiva que había sido disminuida por el tratamiento con inhibidores del sistema generador de energía (Nozue *et al.* 1978).

En tomate se ha observado que la inducción de resistencia para *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, estimula la formación de una mayor cantidad de ribosomas y de retículo endoplasmático en las células activadas, sugiriendo un intenso metabolismo celular necesario para la expresión de la defensa (Griesbach *et al.* 2000).

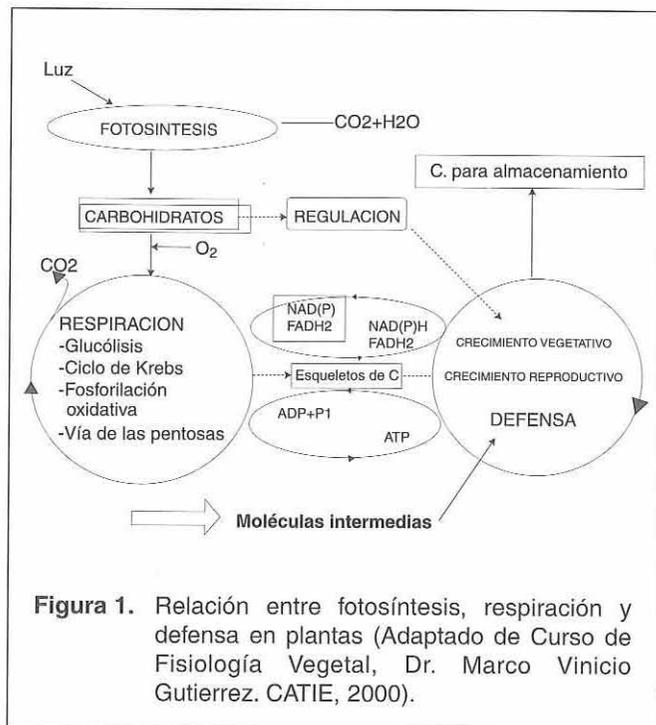
Guedes *et al.* (1980), registraron como la inducción de resistencia sistémica a antracnosis del pepino, se presentó en plantas en el estado de desarrollo vegetativo, pero no ocurrió en el período de fructificación, y su expresión fue baja al momento de floración. En este caso se considera que en los estados reproductivos la señal química para la resistencia no es repon-

dida o no se produce. Una aproximación a la interpretación de este hecho, es que durante los periodos de floración y fructificación la planta canaliza los productos de la fotosíntesis hacia las estructuras reproductivas, y por lo tanto, se disminuye en las hojas la disponibilidad de energía necesaria para expresar significativamente la resistencia a esta enfermedad.

Con relación a la capacidad de hacer efectiva la señal de inducción por parte de las células, es importante tener presente la acción de minerales como el calcio, el cual puede actuar como mensajero intracelular de la señal, pudiendo ser un facilitador de la respuesta de defensa (Krebs 1995).

El Acibenzolar-s-metil, un benzothiadiazole (BTH) desarrollado por Syngenta (Kessmam 1994), al ser usado en la inducción de resistencia a *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria* en plantas de pimentón o chile, conlleva un costo energético que puede ocasionar, en algunos cultivares, una sobreproducción de frutos de menor tamaño, afectando negativamente la producción, esta situación no se presentó cuando las plantas crecieron bajo condiciones óptimas desde el trasplante hasta la cosecha (Romero *et al.* 2001). Los costos energéticos de la expresión de la defensa en algunos casos también pueden ser superados por prácticas agronómicas como la fertilización y la irrigación (Karban y Kuc 1999, citados por Romero *et al.* 2001).

La energía disponible resulta aún más crítica para la inducción de resistencia en las partes cosechadas



**Figura 1.** Relación entre fotosíntesis, respiración y defensa en plantas (Adaptado de Curso de Fisiología Vegetal, Dr. Marco Vinicio Gutierrez. CATIE, 2000).

de la planta. Esta reabastece sus requerimientos de energía a través de la fotosíntesis y la translocación de agua y nutrimentos; mientras que en los productos cosechados, el suministro de nutrimentos se ve interrumpido y la capacidad fotosintética es disminuida significativamente (Wilson *et al.* 1994). Por lo tanto, el uso de la energía necesaria para lograr inducir resistencia ante problemas patológicos de poscosecha, debe ser aún más eficiente y buscar su activación desde las etapas previas a la cosecha.

La presencia de hongos saprófitos en la filosfera, como es el caso de *Cladosporium herbarum*, también se constituye en fuente elicitora de respuestas de defensa debido a los continuos intentos de penetración de estos microorganismos a la hoja; lo cual conlleva una pérdida en producción y en el contenido de clorofila debido al desvío de energía hacia la biosíntesis de compuestos asociados con la protección de la planta (Smedegard-Petersen y Tolstrup 1985).

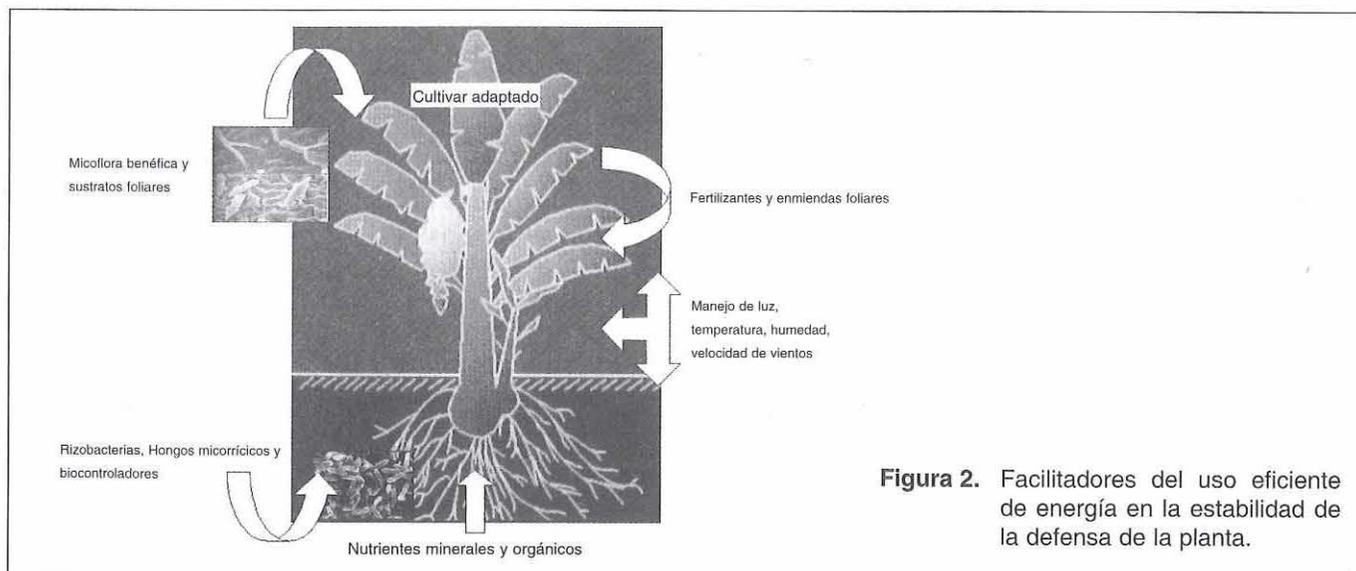
### Facilitadores del uso eficiente de la energía de la planta

Tanto en medicina humana como en la de plantas, no es lo mismo estar enfermo que no sentirse bien. En el primer caso los exámenes clínicos y la observación de la persona o planta, pueden indicar la naturaleza de la enfermedad, en el segundo la persona no presenta una enfermedad diagnosticable pero puede expresar verbalmente que siente fatiga, quizás debido a estrés, con su consecuente alto consumo de energía y predisposición futura a enfermedades. Con respecto a las plantas, tampoco se observan síntomas y sólo en el caso de nutrimentos, los análisis foliares pueden guiar para re-

solver un futuro problema de deficiencia. Esta situación enfatiza la necesidad de disponer de tecnología para un diagnóstico oportuno que fortalezca el manejo del presupuesto de energía de la planta.

Podemos considerar la situación de un cultivo en el campo sin barreras de protección en comparación con uno que disponga de plantas rompe vientos o de otro bajo cobertura de plástico. El primero de ellos tendrá un desgaste energético mayor debido, especialmente, a las condiciones ambientales desfavorables, causantes de estrés en el cultivo. Los efectos de este desgaste se observaran en la calidad de los frutos y en su duración en poscosecha y en la predisposición a enfermedades. En la situación considerada existen múltiples factores de inducción de estrés, incluyendo patógenos y saprófitos, que obligan al cultivo a realizar un esfuerzo de defensa permanente y costoso, como lo indican Smedegard-Petersen y StØlen (1981), para inoculaciones sucesivas de razas avirulentas.

El ejemplo anterior indica la necesidad de fundamentar un manejo y uso de energía en forma racional, que permita a la planta dentro de su presupuesto enfrentar las demandas en su desarrollo vegetativo y de producción, así como las condiciones de adaptación y defensa en el medio en el cual se desarrolla. A continuación se presentan algunos planteamientos orientados a disminuir el desgaste de energía mediante medidas que faciliten su uso eficiente (Fig. 2). Estos planteamientos y sugerencias sobre **facilitadores en el uso de la energía** se hacen en forma general ya que las necesidades de manejo y de las plagas en cada cultivo determinará el potencial de uso de las indicaciones sugeridas.



**Figura 2.** Facilitadores del uso eficiente de energía en la estabilidad de la defensa de la planta.

### Facilitadores ambientales

Para los facilitadores ambientales tales como temperatura, humedad, luz y velocidad del viento, los diferentes cultivos tienen sus respectivas especificaciones de acuerdo a las mejores condiciones de adaptabilidad de la planta, lo cual es un gran aporte en la disminución del drenaje de energía (Colhoum 1973). Sin embargo, la dinámica empresarial ha llevado a la utilización del máximo de la intensidad lumínica y del anhídrido carbónico apoyados en la tecnología de agroquímicos, con un incremento en producción pero con desgaste fisiológico del cultivo. En la medida en que la agricultura busque alternativas viables de sostenibilidad es predecible el mayor uso de los facilitadores. Estos ajustes se darían con base en prácticas tradicionales muy bien descritas por Thurston (1992) y Palti (1981), y aquellos que la investigación futura y la validación indiquen.

La disminución en la intensidad lumínica es un facilitador de la resistencia en plantas afectadas por patógenos productores de fotosensibilizadores como cercosporin, altertoxin, elsinocromo, por parte de *Cercospora* spp., *Alternaria alternata* y *Elsinoe* spp., respectivamente (Daub y Ehrenshaft 2000). Lo anterior explica las observaciones realizadas en banano de que la sombra disminuye el ataque de la Sigatoka Amarilla (Thorold 1940), situación similar a la de café y mancha de hierro (Nataraj y Subramanian 1975).

### Facilitadores biológicos

Los microorganismos que habitan en la rizosfera del suelo pueden tener gran influencia sobre el desarrollo de las plantas. Las micorrizas incrementan la resistencia al ataque de patógenos radicales cuando la simbiosis hongo-raíz ocurre antes de la llegada del patógeno. Los cambios que operan en el incremento de la resistencia son de naturaleza morfológica y fisiológica en la planta micorrizada, la cual puede tener una mayor lignificación de las paredes celulares y una optimización en la nutrición, especialmente en la toma de fósforo y potasio. En plantas micorrizadas también se ha encontrado mayores contenidos de aminoácidos, iso-flavonoides y quitinasa (Sánchez de Prager 1985, 1999).

La aplicación de ciertas cepas de rizobacterias, conocidas como promotoras de crecimiento, puede mejorar la condición del cultivo bajo estrés (Kloepper *et al.* 1980). Según Foster (1986), las rizobacterias pueden liberar nutrientes tanto orgánicos como inorgánicos, particularmente el fósforo insoluble, indicando que hasta el 60% del fósforo del suelo es inorgánico y que

enzimas producidas como las fosfatasas favorecen la disponibilidad de este elemento. Además de los efectos sobre el crecimiento de las plantas, existen rizobacterias no patogénicas como el grupo de *Pseudomonas* fluorescentes, que pueden inducir resistencia sistémica en las plantas, con una expresión fenotípicamente similar a SAR (van Loon *et al.* 1998).

La mayor contribución de la microflora bacteriana a las plantas que coloniza es el proveer productos excretados que sirven de fuente de carbono, nitrógeno, o reguladores de crecimiento; además la cantidad de CO<sub>2</sub> liberado por las bacterias, produce ácido carbónico que ayuda a la solubilización de nutrientes inorgánicos no disponibles, lo que favorece la asimilación de fósforo, potasio, magnesio y calcio (Alexander 1977).

Los microorganismos benéficos presentes en la rizosfera pueden cumplir además una función importante de reciclaje de las sustancias de desecho, las cuales dependiendo de la condición fisiológica y ambiental de la planta, pueden ser superiores al 20% de su peso seco; dentro de estos materiales se incluyen desechos de la cubierta de la raíz, mucílagos exudados y lisatos, los cuales contienen aminoácidos, proteínas, azúcares, carbohidratos complejos, alcoholes y hormonas (Kluepfel 1993).

El uso de bocashi y de *P. fluorescens* y *P. cepacia* sobre sustrato de broza de café, promovieron incrementos significativos en área foliar de plantas de banano y en los niveles nutricionales de las hojas, así como una disminución en la severidad de la Sigatoka Negra (Camacho 1997).

Se espera que tanto la resistencia inducida como el efecto benéfico de los microorganismos sobre las plantas y en contra de sus patógenos, puedan ser usados en combinación. Chen *et al.* (1996) al evaluar la compatibilidad de estas alternativas de control, encontraron en plantas de tabaco que la inducción de SAR suprimió el efecto de patógenos oomicetos, pero no alteró el crecimiento de la rizobacteria *Bacillus cereus* mejorando el control de las enfermedades.

Las sustancias húmicas y en general los sustratos orgánicos, también presentan un estímulo sobre el crecimiento de las plantas relacionado comúnmente con el incremento en la toma de macronutrientes y la solubilización de micronutrientes a partir de las formas orgánicas, incrementando también la permeabilidad de las membranas celulares. Similarmente, tanto la tasa de fotosíntesis como de respiración se han visto aumentadas por la presencia de sustancias húmicas, encontrándose un incremento en los conteni-

dos de clorofila luego de aspersiones foliares con este tipo de sustancias (Chen y Aviad 1990). Estos efectos sobre la fisiología de las plantas tiende a disminuir el riesgo de estrés en la planta y su predisposición a enfermedades, evitando el desgaste de energía propio de esta condición.

Los microorganismos benéficos de la filosfera y el uso de sustratos han demostrado su importancia en la defensa del cultivo de banano a través del antagonismo e inducción de resistencia a *Mycosphaerella fijiensis* (Camacho 1997, Talavera *et al.* 1998).

#### **Facilitadores químicos**

Tanto en humanos como en plantas, para los sistemas de inmunidad y resistencia, existen algunos elementos químicos fundamentales en la estabilidad de las defensas (Repetto y Baliga 1996). En el primer caso elementos como el hierro y el calcio son muy importantes y en las plantas se han reportado tanto el calcio como el fósforo y el potasio (Huber 1980, Reuveni y Reuveni 1988).

El fósforo al ser el elemento principal de la molécula de ATP, establece el enlace fosfato de alta energía, es además componente estructural de varios catalizadores de reacciones, también es parte de los fosfolípidos de las membranas celulares, y se enlaza activándolas a muchos azúcares diferentes implicados en el metabolismo fotosintético y respiratorio. Es importante establecer una fertilización equilibrada de fósforo y nitrógeno, para obtener el máximo de eficiencia (Bennett 1996, Huber 1980, Sharma y Sharma 1991).

El calcio, como se mencionó anteriormente, actúa como mensajero secundario en la transmisión de las señales intracelulares (Krebs 1995), pudiendo facilitar la dinámica de la señal de defensa. Su efecto benéfico sobre la inducción de resistencia se puede interpretar en el ejemplo reportado por Cole (1999), donde para corregirse el síntoma de estrés en plantas de tabaco inducidas mediante el Acibenzolar -s-metil hacia el ataque de bacterias y hongos patogénicos, se aplicó fertilización foliar con base en  $\text{CaNO}_3$ , atribuyendo la recuperación de las plantas al suministro de nitrógeno presente en ésta molécula, pero probablemente, el calcio también tuvo un efecto importante. Este mismo compuesto y otras fuentes de calcio coadyuvan a la expresión de resistencia del tomate al tizón temprano (Mendez *et al.* 1994).

El potasio es otro elemento importante para el buen funcionamiento de la maquinaria energética de la planta; dentro de sus funciones se destacan: la regu-

lación de la actividad enzimática y por lo tanto, participa en funciones esenciales como fotosíntesis, fotosforilación, síntesis de proteínas, translocación, mantenimiento de agua, reducción de nitratos, y reproducción (Huber 1980). Igualmente, este elemento es requerido para conservar los potenciales osmóticos de las células y está involucrado en el transporte de agua y asimilados en el floema y xilema a largas distancias. Este elemento también actúa como estabilizador del pH en la célula, y es requerido como activador de más de 60 enzimas en los tejidos meristemáticos. De igual forma, se ha reportado que con cantidades adecuadas de K, las paredes celulares son más gruesas y se mejora la resistencia a la inundación, y a enfermedades. Dentro de otras funciones atribuidas al potasio, está la producción de fosfato de alta energía (ATP), y en los productos cosechados de la planta parece alargar la vida en condiciones de almacenamiento (Bennett 1996).

En el caso de plaguicidas, y en especial los herbicidas, es necesario seleccionar cuidadosamente los ingredientes que no afecten la expresión de defensa en la planta (Carson *et al.* 1991). En 1979 ya se disponía de una lista de 45 químicos que podían inducir enfermedades en 21 hospedantes (Horsfall 1979). La mayoría son herbicidas o reguladores del crecimiento, así como también fungicidas, insecticidas y nematocidas. Las enfermedades inducidas fueron en un 85% de carácter fungoso, seguidas por las virales.

La importancia de la selección de herbicidas en el caso de café indica que el oxyfluorfen no causaba predisposición a patógenos fungosos foliares o radicales, mientras que el diuron sí disminuyó el crecimiento e incrementó la severidad de los hongos en su ataque (Lobos 1993). En la soya se conoce un efecto positivo del herbicida lactofen al reducir la severidad del mocho blanco por acumulación de glyceollin (Hammerschmidt 1999).

#### **Facilitadores genéticos**

Con base en las diferentes necesidades de defensa de la planta a factores ambientales, biológicos y tecnológicos, los procesos de selección deberían de hacerse para materiales que exhiban características de buena adaptabilidad, resistencia genética y producción. La primera permitiría a la planta un uso más eficiente de su energía en condiciones agroclimáticas desfavorables, reservándola para otras necesidades.

En los sistemas de producción agrícola donde se practica el uso de cultivos asociados o mixtos, se considera que dicha diversidad provoca una baja inciden-

cia de patógenos que pudieran afectarlos, como si ocurre cuando se utilizan monocultivos; donde no es posible alcanzar niveles altos de antagonismo y homeostasis de los patógenos (Browning 1974).

La experiencia del Siglo XX, en el uso de genes mayores de resistencia a patógenos en monocultivos, indica que la duración de la misma fue muy corta como lo demuestran cultivares de arroz con genes mayores y la evolución de razas de *Pyricularia oryzae*, o el caso de los cultivares resistentes de cereales y las diferentes formas especiales del hongo *Puccinia graminis* y sus respectivas razas y subrazas (Ou 1984, Stakman y Harrar 1957). Estos procesos de selección de genes mayores e incorporación en variedades comerciales ha constituido una carrera entre fitomejoradores y microorganismos, en la cual el mayor desgaste y riesgos ha estado a cargo de los primeros. Obviamente, en algunos cultivos los genes mayores para ciertos patógenos han sido muy estables.

Esta situación de microevolución de organismos patógenos y la consecuente pérdida de resistencia de genes ha llevado a la búsqueda de alternativas más duraderas como cultivares multilineales, cultivares con resistencia horizontal o dilatoria, condicionada por genes menores o al uso de materiales tolerantes (Browning *et al.* 1977).

Para complementar los beneficios de los facilitadores genéticos, es necesario tener en cuenta la producción y uso de semillas certificadas que aseguren al agricultor las condiciones de vigor, alta germinación y ausencia de patógenos, tres factores fundamentales en el desarrollo de una planta que se quiere fortalecer para generar y utilizar su energía.

### Acciones a futuro

Con base en lo anterior es evidente que en la actualidad existe información sobre los factores que pueden

predisponer la planta a la acción de patógenos y al mismo tiempo se ha avanzado en el área de la inducción de resistencia o en el uso de resistencia horizontal y cultivares multilineales. Sin embargo, siguen existiendo brechas de conocimiento en la manera de diagnosticar oportunamente las pérdidas de energía, y como implementar un manejo del presupuesto de ésta en la planta.

En el futuro será necesario orientar la investigación y la tecnología a producir el conocimiento adecuado en las áreas de selección, fisiología y bioquímica de la resistencia. En el caso de selección es importante considerar en el recurso genético y en los programas de mejoramiento el componente de adaptabilidad que minimice el drenaje de energía en los cultivos por factores ambientales desfavorables. Igualmente, fortalecer el uso de materiales genéticos y cultivares multilineales que disminuyan el riesgo de la microevolución de los patógenos.

Con respecto a la fisiología y bioquímica de la resistencia, será fundamental determinar la forma de mantener a la mitocondria en condiciones adecuadas de funcionamiento, de manera que pueda satisfacer la demanda de energía para la defensa de la planta. En esta área sería fundamental el conocimiento de cofactores, enzimas, y nutrimentos que optimicen la labor de esta organela; lo cual se debería complementar con plantas seleccionadas por su capacidad intrínseca para hacer uso eficiente de su energía y ser compatibles con microorganismos facilitadores del crecimiento e inductores de resistencia.

Finalmente, es claro que para la aplicación práctica de las fitoalexinas y el desarrollo comercial de inductores de amplia resistencia deberán considerar sus efectos sobre la fisiología de la planta, y la necesidad de utilizar facilitadores que coadyuven y estabilicen la expresión de la resistencia.

### Literatura citada

- Agrios, GW. 1988. Plant pathology. 3 ed. New York, Academic Press. 803 p.
- Alexander, P. 1977. Soil microbiology. New York, John Wiley. 467 p.
- Altman, J; Campbell, C. 1977. Effect of herbicides on plant disease. Annual Review of Phytopathology 15:361-385.
- Baker, B; Zambryski, P; Staskawicz, B; Dinesh-Kumar, SP. 1997. Signalling in plant-microbe interactions. Science 276:726-33.
- Beauverie, J. 1901. Essais d'immunization des végétaux contre de maladies cryptogamiques. CR Acad. Sci. Paris 133: 107-110.
- Bennett, WF. 1996. Nutrient deficiencies and toxicities in crop plants. Bennett, WF. Ed. St. Paul, Minnesota, APS. p.202.
- Browning, JA. 1974. Relevance of knowledge about natural ecosystems to development of pest management programs for agro-ecosystems. Proceedings of the American Phytopathological Society 1: 191-199.
- Browning, JA; Simmons, MD; Torres, E. 1977. Managing host genes: epidemiologic and genetics concepts. In Horsfall, JG; Cowling, ED. Plant Disease: and advance treatise. How disease is managed. New York, Academic Press. v. 1. p. 191-212.

- Browning, JA. 1980. Genetic protective mechanism of plant-pathogen populations: their coevolution and use in breeding for resistance. In Harris, MK. Ed. Biology and Breeding for Resistance to Arthropods and Pathogens in Agricultural Plantas. Texas Agric. Exp. Sta. College Station, TX. p. 52-75.
- Bustamante, E. 1979. Efecto de la luz y el CO<sub>2</sub> en la susceptibilidad de la *Avena sativa* a *Puccinia graminis avenae*. In Seminar of Coffee Rust Control 1979. Paipa, Colombia, Report GTZ. p.163-172.
- Camacho, AJC. 1997. Evaluación de microorganismos promotores de crecimiento e inductores de resistencia a Sigatoka negra (*M. fijiensis*) en banano (*Musa* sp.) y algunas observaciones sobre la gutación. Tesis Mag. Sc. Turrialba, Costa Rica. CATIE. 122 p.
- Carson, M; Arnold, W; Todt, P. 1991. Predisposition of soybean seedling to *Fusarium* root rot with trifluralin. Plant Disease 75 (4): 342-34
- Chase, A; Poole, R. 1987. Effects of fertilizer rates on severity of *Xanthomonas* leaf spot of shefflera and dwarf shefflera. Plant Disease 71: 527-529.
- Chen, Y; Aviad, T. 1990. Effects of humic substances on plant growth. In Humic substances in soil and crop sciences; selected readings. MacCarthy, P; Clapp, CE; Malcolm, RL; Blom, PR. Eds. American Society of Agronomy and Soil Science Society of America. South Segoe Road, Madinson. p. 161-185.
- Chen, J; Jacobson, LM; Handelsman, J; Goodman, RM. 1996. Compatibility of systemic acquired resistance and microbial biocontrol for suppression of plant disease in a laboratory assay. Molecular Ecology 5: 73-80.
- Chester, KS. 1933. The problem of acquired physiological immunity in plants. Q. Rev. Biol. 8: 275-324.
- Cole, DL. 1999. The efficacy of acibenzolar S-methyl, an inducer of systemic acquired resistance, against bacterial and fungal diseases of tobacco. Crop Protection 18: 267-273.
- Colhoum, J. 1973. Effects of environmental factors on plant disease. Annual Review Phytopathology 11:343-364.
- Crute, IR; De Wit, PJGM; Wade, M. 1985. Mechanisms by which genetically controlled resistance and virulence influence host colonization by fungal and bacterial parasites. In Fraser, RSS. Ed. Mechanisms of resistance to plant diseases. Boston, Martinus Nijhoff/Dr. W. Junk Publishers. 462 p.
- Daub, ME; Ehrenshaft, M. 2000. The photoactivated *Cercospora* toxin cercosporin: contributions to plant disease and fundamental biology. Annual Review of Phytopathology 38: 461-490.
- Engelhard, AW. 1989. Management of diseases with macro and microelements soilborne plant pathogens. St. Paul, Minn. 217 p.
- Farkas, GL. 1978. Senescence and plant diseases. In Plant Disease: Horsfall, JG; Cowling, EB. Eds. New York, Academic Press. v. 3. p. 391-412
- Flor, HH. 1971. Currents status of the gene-for-gene concept. Annual Review of Phytopathology 9:275-296.
- Foster, R. 1986. The ultrastructure of the rhizoplane and rhizosphere. Annual Review of Phytopathology 24: 11-34.
- Graham, RD. 1983. Effects of nutrient stress on susceptibility of plants to disease with particular reference to the trace elements. Advances in Botanical Research 10:221-278.
- Greer, D. 1990. The combined effects of chilling and light stress on photoinhibition of photosynthesis and its subsequent recovery. Plant Physiology and Biochemistry 28(4):447-455.
- Griesbach, E; Eisbein, K; Krämer, I; Ramm, M; Müller, J; Völksch, B. 2000. Induction of resistance to bacterial pathogens in the pathosystem tomato/*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* II. Characterization of the resistance inductor. Journal of Plant Diseases and Protection 107 (5): 464-483.
- Guedes, MEM; Richmond, S; Kuc. 1980. Induced systemic resistance to anthracnose in cucumber as influenced by the location of the inducer inoculation with *Colletotrichum lagenarium* and the onset of flowering and fruiting. Physiological Plant Pathology 17: 229-233.
- Gurr, SJ. 1995. Plant Pathology, Molecular. In Meyers, RA. Ed. Molecular biology and biotechnology. New York, Wiley-VCH. p.699-703.
- Hammerschmidt, R. 1999. Phytoalexins: What have we learned after 60 years? Annu. Rev. Phytopathol. 37:285-306.
- Horsfall, JG. 1979. Iatrogenic diseases. In Plant disease. Horsfall, JG; Cowling, EB. Eds New York, Academic Press. v. 1, p. 343-355.
- Horsfall, JG; Diamond, AE. 1957. Interactions of tissue sugar, growth substances, and disease susceptibility. Z. Pflanzenkrankh. Pflanzenschutz 64:415-421.
- Huber, D. 1980. The role of mineral nutrition in defense in plant disease. In Plant disease Horsfall, JG; Cowling, EB. Ed. New York, Academic Press. v. 5 p.381-406
- Jones, J; Chase, A; Harbaugh, B; Raju, B. 1985. Effects of leaf wetness, fertilizer rate, leaf age, and light intensity before inoculation on bacterial leaf spot of Chrysanthemum. Plant Disease 69 (9): 782-784.
- Keen, N; Staskawicz, B; Mekalanos, J; Ausubel, F; Cook, JC. 2000. Pathogens and hosts: The dance is the same, the couples are different. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 97(16):8752-8753.
- Kessmann, H; Staub, T; Hoffmann, C; Maetzke, T; Herzog J; Ward, E; Uknes, S; Ryals, J; 1994. Induction of systemic acquired disease resistance in plants by chemicals. Annual Review. Phytopathology 32:439-459.
- Kluepfel, D. 1993. The behavior and tracking of bacteria in the rhizosphere. Annual Review of Phytopathology 31: 441-472.
- Kloepper, JW; Leong, J; Teintze, M; Schroth, MN. 1980. Enhanced plant growth by siderophores produced by plant growth-promoting rhizobacteria. Nature 286:885-886.
- Krebs, J. 1995. Calcium biochemistry. In Meyers, RA. Ed. Molecular biology and biotechnology. New York, Wiley-VCH. p. 131-136.
- Kuc, J. 1995. Phytoalexins, stress metabolism and disease resistance in plants. In Annu. Rev. Phytopatol. 33:275-297.
- Lavesque, C; Rahe, J. 1992. Herbicide interactions with fungal root pathogens, with special reference to glyphosate. Annual Review of Phytopathology 30:579-602.
- Levitt, J. 1980. Responses of plants to environmental stresses. In Physiological ecology. Kozlowski, TT. Ed. New York, Academic Press. 607 p.
- Lobos, H. 1993. Efecto de factores de estrés tecnológico sobre café (*Coffea arabica*), cultivar caturra y su predisposición al ataque de hongos fitopatógenos. Tesis M.Sc. Turrialba, Costa Rica, CATIE. 105 p.
- Méndez, RM; Bustamante, E; Merino, F. 1994. Efecto de diferentes fuentes y niveles de calcio sobre la severidad de tizón tem-

- prano *Alternaria solani* en tomate *Lycopersicon esculentum*. Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica) 33:1-6.
- Mussel, H; Malone, M. 1979. Disease tolerance: reducing the impact of disease-induced stress on crop yields. In Stress physiology in crop plants. Mussel, H; Staples, Ed. New York, Wiley 510 p.
- Nataraj, T; Subramanian, S. 1975. Effect of shade and exposure on the incidence of brown-eyespot of coffee. Indian Coffee 39 (6): 179-180.
- Nozue, M; Tomiyama, K; Doke, N. 1978. Effect of Adenosine 5'-Triphosphate on hypersensitive death of potato tuber cells infected by *Phytophthora infestans*. Phytopathology 68: 873-876.
- Oku, H; Ouchi, S; Sato, M. 1973. Nucleic acid metabolism in powdery mildew-infected barley leaves as associated with symptom development. Rept. Tottori Mycol. Inst. Jpn. 10: 511-516.
- Ou, SH. 1984. Exploring tropical rice diseases: a reminiscence. Annual Review of Phytopathology 22:1-10.
- Palti, J. 1981. Cultural practices and infectious crop diseases. Berlin, Springer-Verlag. 243 p.
- Pandey, M; Wilcoxson, R. 1970. The effect of light and physiologic races of *Leposp. haerulina* leaf spot of alfalfa and selection for resistance. Phytopathology 60(10): 1456-1465.
- Ramírez, E; Gonzáles, A. 1990. Manejo de sombra. In El cultivo del café en México. México, La Fuente. 143-147 p.
- Ray, J. 1901. Les maladies cryptogamiques des végétaux. Rev. Gen. Bot. 13 : 145-151.
- Repetto, R; Baliga, SS. 1996. Los plaguicidas y el sistema inmunitario: riesgos para la salud pública. Washington, D.C, World Resources Institute. 112 p.
- Reuveni, R; Reuveni, M; 1988. Foliar-fertilizer therapy a concept in integrated pest management. Crop Protection 17:111-118.
- Romero, AM; Kousik, CS; Ritchie, DF. 2001. Resistance to bacterial spot in bell pepper induced by Acibenzolar-S-methyl. Plant Disease 85: 189-194.
- Ross, AF. 1961a. Localized acquired resistance to plant virus infection in hypersensitive hosts. Virology 14: 329-339.
- Ross, AF. 1961b. Systemic acquired resistance induced by localized virus infections in plants. Virology 14: 340-358.
- Rotem, J. 1994. The genus *Alternaria*: biology, epidemiology and pathogenicity. St. Paul, Minnesota. APS. 313 p.
- Russell, G; Jarvis, P; Monteith, J. 1989. Absorption of radiation by canopies and stand growth. In Plant canopies: their growth, form and function. Russell, G; Marshall, B; Jarvis, P. New York, Cambridge University. p. 21-39.
- Ryals, J; Uknes, S; Ward, E. 1994. Systemic acquired resistance. Plant Physiology 104:1109-1112.
- Sánchez de Prager, M. 1985. Interacciones entre micorrizas y patógenos de plantas. In Sieverding, E, Sánchez de Prager, M; Bravo, N. Eds. Curso Nacional sobre Micorrizas (1, 1984, Palmira, Colombia). Universidad Nacional de Colombia. p.62- 81.
- Sánchez de Prager, M. 1999. Endomicorrizas en agroecosistemas colombianos. Palmira, Colombia, Universidad Nacional de Colombia, Departamento de Ciencias Básicas. 227 p.
- Sarasola, A; Roca, M. 1975. Fitopatología. Argentina, Hemisferio Sur. p. 89-125
- Schoeneweiss, D. 1983. Drought predisposition to *Cytospora* canker in blue spruce. Plant Disease 67 (4): 383-385.
- Sharma, J; Sharma, U; 1991. Effect on nitrogen and phosphorus on the yield and severity of turcicum blight of maize in Nagaland. Indian Phytopathology. 44: 383-385.
- Smedegard-Petersen, V; StØlen, O. 1981. Effect of energy-requiring defence reactions on yield and grain quality in a powdery mildew-resistant barley cultivar. Phytopathology 71: 396-399.
- Smedegaard-Petersen, V. 1982. The effect of defense reactions on the energy balance and yield of resistant plants. In Wood, RKS. Ed. Active defense mechanisms in plants. New York, Plenum Press. p.299-315.
- Smedegard-Petersen, V; Tolstrup, K. 1985. The limiting effect of disease resistance on yield. Annual Review of Phytopathology 23: 475-490.
- Stakman, EC; Harrar, JG. 1957. Principles of plant pathology. New York, Ronald Press. 581 p.
- Sticher, L; Mauch-Mani, B; Métraux, JP. 1997. Systemic acquired resistance. Annual Review of Plant Pathology 35: 235-270.
- Strobel, N; Kuc, J; 1995. Chemical and biological inducers of systemic resistance to pathogens protect cucumber and tobacco plants from damage caused by paraquat and cupric chloride. Phytopathology 85:1306-1310.
- Talavera, ME; Bustamante, E; González, R; Sánchez, V. 1998. Selección y evaluación en laboratorio y campo de microorganismos glucanólitos antagonistas a *Mycosphaerella fijiensis*. Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica) 47:24-30.
- Thurston, HD.1992. Sustainable practices for plant disease management in traditional farming systems. Oxford, Westview Press. 280 p.
- Thorold, CA.1940. Cultivation of bananas under shade for the control of leaf spot disease. Trop. Agric. (Trinidad & Tobago) 17: 213-214.
- Van Loon, P; Bakker, H; Pieterse, C. 1998 Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria. Annual Review Phytopathology 36: 453-483.
- Weinhold, AR; Handcock, JG. 1980. Defense at the Perimeter: Extruded chemical. In Plant Disease. Horsfall, JG; Cowling, EB. Eds. New York, Academic Press. v. 5 p.121-137.
- Wilson, CL; El Ghaouth, A; Chalutz, E; Droby, S; Stevens, C; Lu, JY; Khan, V; Arul, J. 1994. Potencial of induced resistance to control postharvest diseases of fruits and vegetables. Plant Disease 78(9): 837- 844.
- Yarwood, C. 1976 Modification of the response-predisposition. In Physiological plant pathology. Heitefuss, R; Williams, PH. Ed. Berlin, Universitätsdruckerei H. Sturtz A.G., Wurzburg. vol. 4. 718 p.
- Yoshikawa, M. 1983. Macromolecules, recognition, and the triggering of resistance. In Callow, JA Ed. Biochemical Plant Pathology. New York, John Wiley. 484 p.

# Interacciones químicas entre *Hypsipyla grandella* y sus plantas hospedantes

Jorge E. Macías-Sámamo\*

**RESUMEN.** *Hypsipyla grandella*, el barrenador de los brotes de las Meliáceas, es probablemente el principal factor limitante en el establecimiento de plantaciones de caoba (*Swietenia* spp.) y cedro (*Cedrela* spp.) en América. Para del comercio internacional, estos árboles son las especies maderables tropicales más importantes de este continente. Recientemente, *S. macrophylla*, ha sido propuesta como una especie en peligro de extinción. Algunas publicaciones documentan aspectos biológicos y ecológicos de *H. grandella*, lo que incluye varios trabajos sobre el control químico y silvicultural de esta importante plaga. Sin embargo, se conoce poco sobre las interacción del insecto y sus hospedantes. En este trabajo se analizan estas interacciones, presentando la información disponible sobre la especificidad de hospedantes, así como los principales patrones de comportamiento del insecto. Se enfatiza la necesidad del estudio de estas interacciones, enfocando toda la familia Meliaceae y no solamente en las especies de valor comercial. Esas otras especies podrían proveer no sólo información importante acerca de las interacciones insecto-planta, sino que también podrían ser buenas alternativas como una fuente de maderas preciosas. Se discuten las evidencias que sugieren la existencia de feromonas involucradas en el apareamiento de *H. grandella* y en la atracción de las hembras a los compuestos volátiles de los hospedantes. El conocimiento de estos fenómenos dirigidos por sustancias químicas, fundamentaría el diseño de prácticas de manejo sólidas, que serían específicas para cierta especie, y de impacto ambiental prácticamente nulo. Se presentan varias tácticas de manejo, que involucran el uso de sustancias semioquímicas, y que han probado ser exitosas con otras especies de lepidópteros plagas.

**Palabras clave:** *Hypsipyla grandella*, Ecología química, *Swietenia* spp., *Cedrela* spp., Meliaceae, América tropical, Plagas forestales.

**ABSTRACT.** **Chemical interactions between *Hypsipyla grandella* and its host plants.** *H. grandella*, the mahogany shoot borer, is probably the main limiting factor in the establishment of mahogany (*Swietenia* spp.) and cedar (*Cedrela* spp.) plantations in America. For international commerce, these trees are the most important tropical timber species of this continent. Recently, it has been proposed that *Swietenia macrophylla* is a species in danger of extinction. Some publications document biological and ecological aspects of *H. grandella*, including several papers on the chemical and silvicultural control of this important pest. However, very little is known about the interactions between the insect and its hosts. In this work, these interactions are analysed, the available information about the specificity of host is presented as well as the main behavioural patterns of the insect. The need to study these interactions is emphasized, focusing on the entire Meliaceae family and not only on the species of commercial value. These other species may provide not only important information about the insect plant interactions, but they may also be good alternatives as a source of valuable timber. Evidence suggesting the existence of pheromones involved in the mating behaviour of *H. grandella* and in the attraction of females to the volatile compounds of hosts, is discussed. Knowledge of these behaviour patterns directed by chemical substances, could provide a basis for the design of robust management practices, that would be specific for each species and of practically no environmental impact. Several management practices are presented, which incorporate the use of semiochemicals and that have been successfully used with other Lepidopteran pest species.

**Key words:** *Hypsipyla grandella*, Chemical ecology, *Swietenia*, *Cedrela*, Meliaceae, American tropical, Forest pests.

\* Grupo de Ecología Química. Colegio de la Frontera Sur, Tapachula, Chiapas, México. Correo electrónico: jmacias@tap-ecosur.edu.mx.

## Introducción

En el trópico, las especies *Hypsipyla grandella* (Zell.) y *H. robusta* (Moore) (Lepidoptera: Pyralidae), denominadas comúnmente como barrenadores de los brotes de las Meliaceae, son un factor biótico muy limitante para el establecimiento de plantaciones de especies maderables importantes, como las caobas (*Swietenia* spp., *Khaya* spp.) y los cedros (*Cedrela* spp., *Toona* spp.) (Entwistle 1967, Newton, et al. 1993, Mayhew y Newton 1998). Las caobas son las maderas tropicales mejor conocidas y con mayor valor en el comercio internacional. En el ámbito mundial se conoce que existen, sin contar las plantaciones privadas, aproximadamente 200000 ha plantadas de esta especie (Mayhew y Newton 1998). El desarrollo de estas plantaciones no sólo permite abastecer la amplia demanda del producto, sino que además reducen la presión ejercida sobre los bosques naturales (Mayhew y Newton 1998).

Desde hace varias décadas y en varias partes del mundo, incluyendo Latinoamérica, las plantaciones de Meliaceae se han abandonado o bien se han interrumpido en su totalidad, debido al ataque de las dos especies de *Hypsipyla* mencionadas. En México, como en el resto del trópico americano, *H. grandella* ha sido informada como una plaga crónica que limita el establecimiento exitoso de plantaciones de cedro, (*Cedrela odorata* L.) y caoba, (*Swietenia macrophylla* King), en los estados de Campeche, Chiapas, Oaxaca, Quintana Roo, Tabasco, Veracruz y Yucatán (Cibrián et al. 1995).

Quizá por la importancia económica de esta plaga, la información generada se ha centrado en métodos de control, ya sean estos químicos, biológicos o silviculturales (Mayhew y Newton 1998), aunque han habido varios trabajos sobre su biología (Ramírez-Sánchez 1964, Grijpma y Gara 1970a, Roovers 1971, Holsten y Gara 1975, Holsten 1977, Whitmore 1976) y ecología básica (Grijpma y Gara 1970a, 1970b, Gara et al. 1973, Whitmore 1976, Fazoranti et al. 1982) que se han desarrollado. Hasta ahora el único método práctico y eficaz de control sigue siendo el uso de insecticidas sintéticos. El uso de insecticidas biológicos, basado en hongos entomopatógenos está en proceso de evaluación y parece prometedor (Dr. David Cibrián, com. pers.). Sin embargo, ambos métodos requieren ser aplicados constantemente y que los productos estén en contacto directo con el insecto.

Recientemente, se han realizado estudios de análisis de procedencia para *S. macrophylla* (Newton et al. 1993 y 1996), así como pruebas genéticas de suscepti-

bilidad de la misma especie y *C. odorata* al ataque de *H. grandella* (Newton et al. 1998, 1999). Estos estudios concluyen de manera general que: 1) existe una mayor incidencia del insecto en sitios con deficiencia de agua durante el establecimiento de la plantación; 2) existen variaciones genéticas significativas, en cuanto a alturas de crecimiento, dentro y entre diferentes poblaciones de caobas, y 3) en términos de su susceptibilidad a *H. grandella*, existen variaciones genéticas significativas dentro de *S. macrophylla* y *C. odorata*.

Con excepción de dichos estudios, prácticamente no existen trabajos que contemplen la interacción del insecto con sus hospedantes. Un enfoque de esta naturaleza permitirá una visión más integral del sistema insecto-planta y por ende, del desarrollo de medidas ecológicamente más sólidas para su manejo.

La ecología química es un área del conocimiento que estudia las interacciones ecológicas entre organismos, mediadas por compuestos químicos. Este enfoque permite un mejor entendimiento de cómo los barrenadores del género *Hypsipyla* detectan y aceptan sus plantas hospedantes. De igual manera, permite dilucidar los mecanismos de comunicación química existente entre los insectos mismos, ya sea a través de sus feromonas (intraespecíficamente) como entre los insectos y sus hospedantes (interespecíficamente) mediante compuestos kairomonales. Ambos mecanismos podrían ser explotados para el manejo del insecto y la manipulación de sus hospedantes, como ya ha sido ampliamente comprobado con otras especies de insectos que son plagas (Grant 1991, Borden 1993).

## Ecología química del sistema *H. grandella* – Meliaceae Incidencia del insecto según las especies de Meliaceae.

La gran mayoría de los trabajos que describen la incidencia de *H. grandella* lo hacen principalmente sobre *S. macrophylla* y *C. odorata* como sus hospedantes. Esto quizá se deba a que la mayoría de los informes proviene de plantaciones comerciales y son esas dos las especies más utilizadas. Sin embargo, hay otros hospedantes nativos en América, que no son utilizados comercialmente.

En general, existe una gran especificidad de los insectos del género *Hypsipyla* por las especies de la familia Meliaceae (Entwistle 1967) y por ello es importante un análisis de todos los hospedantes potenciales del barrenador en el trópico americano.

La familia Meliaceae tiene una distribución prácticamente pantropical. Entre sus miembros se encuentran especies maderables importantes en el comercio

insecticidal, todos ellos dentro de la subfamilia Swietenioideae, tribu Cedreleae (Pennigton y Styles 1975). Los más importantes comercialmente son: *S. macrophylla* y *C. odorata* en el trópico americano y *Toona ciliata* M. J. Roem, y *Khaya ivorensis* A. Chev., en el trópico asiático-australiano y africano, respectivamente.

Además de informes de *H. grandella* sobre *S. macrophylla* y *C. odorata*, también existen otros del insecto en frutos de *S. mahogani* Jacquin (Entwistle 1967) y brotes de *S. humilis* Zucc (Grijpma y Gara 1970a). Los frutos de *Carapa guianensis* Aubl. son afectados por *H. ferrealis* (Hampson) (Becker 1973).

Como hospedantes potenciales (por ser Meliaceae), pero no reportados, están el paraíso, (*Melia azedarach* L.) importada de Asia, el mapahuite (*Trichilia* spp.) y el trompillo (*Guarea* spp.) que se encuentran distribuidas en América (Pennigton y Styles 1975). Con excepción del primero, que es plantado como árbol ornamental, los otros dos no tienen un uso frecuente.

En el trópico americano se han establecido plantaciones de *T. ciliata* y de nim (*Azadirachta indica* A. Jussieu) ambas de origen asiático, pero se desconoce la presencia de *H. grandella* en dichas especies. Por experiencias en Costa Rica y Brasil se sabe que *T. ciliata* no es atacada por *H. grandella* (Grijpma 1970b, Aghostino *et al.* 1994). Sin embargo, ambas especies son atacadas por la especie congenera *H. robusta*, en sus áreas de origen (Entwistle 1967).

**Composición química de las Meliaceae.** En cuanto a los compuestos químicos presentes en los tejidos de las Meliaceae y que pudieran tener una actividad kairomonal o fagodisuasiva potencial para *H. grandella*, existe una considerable cantidad de literatura de varias Meliaceae, y especialmente de *C. odorata* (Chan *et al.* 1966, 1972). Sin embargo, estos estudios únicamente incluyen análisis químicos de extractos de madera y semillas de estas especies, sin ninguna relación o discusión sobre una posible actividad biológica sobre *H. grandella*.

De manera general, las Meliaceae se caracterizan por contener triterpenos del tipo de los limonoides (Taylor 1981). Para algunos de estos compuestos se han demostrado propiedades insecticidas, fagodisuasivas, fitotóxicas o fungicidas (Champagne *et al.* 1992, Govindachari *et al.* 1999, Céspedes *et al.* 1999), como son los aceites extraídos del árbol de nim (BOSTID 1992), y *Aglaia* spp. (Koul *et al.* 1997), ambas de origen asiático, de *M. azedarach*, *Trichilia havanensis*

Jacq. y *Cedrela ciliolata* S. Watson, de origen neotropical (Lavie *et al.* 1971, López-Olguín *et al.* 1997), *S. mahogany* L. Jacq. y *Khaya senegalensis* (Desr.) A. Juss. de origen hindú (Govindachari *et al.* 1999).

Aunque *H. grandella* ataca a *C. odorata* y *S. macrophylla*, existen diferencias en su susceptibilidad (Newton *et al.* 1998). Estas diferencias pueden reflejar una variación en la producción de sustancias químicas atrayentes o disuasivos para hembras en oviposición (Honda 1995), o bien diferencias en la arquitectura (morfología y crecimiento) de las ramas (Grijpma 1976). Lo mismo se puede pensar en cuanto a sustancias volátiles que permitieran la detección de un determinado individuo y no sólo para la oviposición, en lo cual otros sensores (p. ej. en el ovipositor) podrían estar involucrados.

Como se indicó previamente, *H. grandella* es la principal plaga en el trópico americano de *C. odorata* y *S. macrophylla*, y *H. robusta* en África, Asia y Australia es una importante plaga de *Khaya* spp. y *T. ciliata*. Por experiencias en Costa Rica, *H. grandella* oviposita tanto en una especie nativa como *C. odorata*, como en una exótica como *T. ciliata*; pero en ésta las larvas no se desarrollan (Grijpma y Roberts 1976). En Costa Rica y Brasil se han realizado injertos de *C. odorata* sobre patrones de *T. ciliata* y, sorprendentemente, estos injertos no son atacados por *H. grandella*. Es decir, el hecho de que los injertos de cedro crezcan a partir de un patrón de *T. ciliata*, le confiere una resistencia, al primero, el cual de otra manera sería dañado por el insecto (Grijpma, 1976, Aghostino *et al.* 1994, De Paula *et al.* 1997). Esta aparente "transferencia" de resistencia, por parte el patrón de *T. ciliata*, pudiera estar dada por la producción de algunos compuestos químicos, quizá fagodisuasivos o antialimentarios para el insecto.

De estos estudios, en donde se compara indirectamente la incidencia de *H. grandella* en un hospedante nativo con un exótico (Grijpma y Roberts 1976) y con un injerto de ambos (Aghostino *et al.* 1994, De Paula *et al.* 1997), se deriva que los tejidos y extractos de *T. ciliata*, presentan una actividad fagodisuasiva en larvas de *H. grandella*. Pero a nivel de percepción olfativa, es decir, de la identificación de compuestos volátiles que pudieran identificar a su hospedante, éstos no son diferenciados, pues el insecto oviposita en ambos.

Recientemente, Mancebo *et al.* (2000) realizaron pruebas para determinar posibles efectos fagodisuasivos o inhibidores del desarrollo de larvas de *H. grandella*, de los extractos de tres especies de árboles

no-Meliaceae y de dos productos comerciales derivados de la Meliaceae *A. inidica*. En este estudio determinaron que los extractos de *Quassia amara* (Simaroubaceae) y *Ruta gra eolens* (Rutaceae) fueron fagodisuasivos y que los productos derivados de la Meliaceae ocasionaban la mortalidad de las larvas.

En la actualidad se desconocen tanto los compuestos volátiles que pudieran estar involucrados en la detección del hospedante, como aquellos con actividad fagodisuasiva comprobada. Agostinho *et al.* (1994) sugieren que quizá los cicloartanos y la catequina sean los responsables de la actividad disuasiva, ya que éstos no han sido identificados en *C. odorata*, pero sí están presentes en *T. ciliata*.

De manera circunstancial Newton *et al.* (1999) encontraron que las proantocianidinas (taninos condensados) en el follaje pueden tener un papel importante en la disminución de la susceptibilidad de *C. odorata* a *H. grandella*. Sin embargo, los taninos no siempre son dañinos para los herbívoros (Bernays *et al.* 1989). Aun más, al ser *H. grandella* un insecto especialista, este tipo de compuestos no lo afectaría, como lo sugieren las investigaciones realizadas con otros lepidópteros especialistas como *Pieris rapae* L. y *Plutella xylostella* L. (Renwick 1988).

### El barrenador *H. grandella*

En el trópico americano, además de *H. grandella*, existen tres especies congéneres: *H. ferreralis*, *H. flu iatella* Schaus y *H. dorsimacula* (Schaus), pero se carece de información de los hospedantes para las dos últimas especies (Heindrich 1956, Becker 1973).

En cuanto a la ecología química hay algunos trabajos que sugieren la presencia de feromonas y la identificación, muy preliminar, de los posibles compuestos involucrados (Holsten y Gara 1974, Borek *et al.* 1991, Efraim 1996), así como de kairomonas (Grijpma y Gara 1970a, 1970b, Holsten 1977).

En el orden Lepidoptera, más específicamente en el grupo Ditrysia (que comprende a la familia Pyralidae) se conocen gran variedad de feromonas sexuales emitidas por las hembras (Tamaki 1989). Estos compuestos son muy específicos y son utilizados durante el apareamiento para atraer al macho, por lo que son muy volátiles. Otros compuestos químicos en este Orden que han recibido menos atención y que están involucrados en la detección y aceptación de los hospedantes, son las kairomonas.

### Kairomonas, atracción hacia los árboles hospedantes.

La información acerca de la atracción de insectos hacia compuestos volátiles emitidos por sus hospedantes es muy amplia (Metcalf 1987, Macías-Sámamo *et al.* 1998). Hay evidencias que indican la presencia y el uso de sustancias semioquímicas para que hembras de *H. grandella* detecten y seleccionen su hospedantes. Por ejemplo, durante las lluvias (cuando se produce nuevo follaje), las hembras vírgenes de *H. grandella* son atraídas a hojas nuevas de *C. odorata* y de *S. macrophylla*. Sin embargo, durante épocas secas (cuando los árboles están defoliados), también inciden en los árboles y en este caso quizá los insectos seleccionen a sus hospedantes mediante señales químicas emitidas por la corteza o por el aserrín y la resina producidos en ataques previos del barrenador (Grijpma y Gara 1970a, Gara *et al.* 1973, Holsten y Gara 1977, Newton *et al.* 1998). Según Grijpma y Gara (1970a) los machos no son significativamente atraídos a las hojas en crecimiento.

Newton *et al.* (1998) señalaron que el pico máximo de ataque de *H. grandella* a *C. odorata*, ocurre aproximadamente a las ocho semanas de que se ha iniciado la formación de nuevos brotes. Esta atracción al follaje de árboles en crecimiento parece estar en concordancia con observaciones de campo hechas por Roovers (1971), quien encontró que en las épocas de lluvia, las hembras ovipositan un número promedio de cuatro huevos. Mientras que en las épocas secas un gran número de huevos es depositado por cada espécimen. Esto se podría entender como que en este ambiente seco y donde los árboles no presentan hojas, los estímulos olfativos estuvieran fuertemente reducidos, por lo que los insectos ovipositan en los árboles previamente seleccionados, es decir en aquellos donde ha habido ataques (Holsten y Gara 1977).

Esta información sugiere la importancia que para *H. grandella* tienen los compuestos kairomonales en la detección y selección de su hospedante; sin embargo, aún no existen estudios que hayan identificado dichos compuestos.

**Feromonas, atracción sexual.** En varias familias de Lepidoptera se han descrito feromonas, así como los tejidos glandulares que las producen (Percy y Weatherston 1971). En el caso de *H. grandella*, Holsten (1977) realizó, a *grosso modo*, bioensayos de laboratorio con genitales femeninas maceradas y con lavados corporales de hembras en éter dietílico, obteniendo respuestas positivas por parte de los machos. Dichas respuestas consistieron en el acercamiento (caminando y mediante vue-

los cortos) a los dispositivos con los extractos e incluso en intentos de cópula, lo cual no ocurrió con el testigo (disolvente).

La identificación química de la posible feromona involucrada no ocurrió hasta que Borek *et al.* (1991), en Checoslovaquia y con insectos procedentes de Cuba, analizaron químicamente los compuestos volátiles de la glándula sexual de *H. grandella*, identificando los compuestos: [Z,E]-9,12-tetradecadienol (Z9,E12-14OH), acetato de hexadecanilo (16Ac) y acetato de [Z]-3-hexadecenilo (Z3-16Ac), pero no efectuaron pruebas para evaluar su actividad. El último compuesto, Z3-16Ac, resulta interesante porque no se ha hallado en otra palomilla y pudiera involucrar una ruta biosintética de otros Phycitinae (P. Zagatti, com. pers.).

En Canadá, Effraim (1997) utilizando insectos de Costa Rica, analizó el contenido de las glándulas de *H. grandella* y por comparación de tiempos de retención, identificó como antenalmente activos (compuestos que son reconocidos por los receptores en las antenas del insecto) al Z9-tetradecen-1-ol (Z9-14:OH), Z9,E12-tetradecadien-1-ol (Z9,E12-14:OH) y acetato de Z9,E12-tetradecadienilo (Z9,E12-14:Oac). Este mismo autor utilizó estos compuestos individualmente y mezclados en pruebas de campo en Costa Rica obteniendo una captura mínima de insectos.

De igual manera para *H. robusta* (Bosson y Gallois 1982) se han identificado dos de los compuestos reportados para *H. grandella* (Z9-14:Ac y el Z9,E12-14:Oac), y uno más (Z-11-16:Oac), no determinado para esta especie. Con una mezcla de aprox. 1:05 (Z9,E12-14:Oac y del Z-11-16:Oac), se lograron buenas capturas de machos en el campo (Bosson y Gallois 1982), ensayos con dosis de 0,5 mg de la combinación de los tres componentes (Z9,E12-14:Oac, Z9-14:Ac y Z-11-16:Oac) en una proporción de 5:3:2 dieron las mejores respuestas (P. Zagatti, com pers.).

Por lo anterior, a pesar de que el contenido de los abdómenes de hembras ha sido caracterizado químicamente, encontrándose compuestos que en otras especies de la familia Pyralidae tienen actividad feromonal, no existen evidencias concluyentes de que dichos compuestos químicos generen o determinen el comportamiento de atracción sexual en *H. grandella*.

También los machos de *H. grandella* presentan estructuras sexuales como "pinceles" cuya función pudiera ser importante en la atracción y a los cuales se les han hecho estudios químicos y etológicos muy preliminares, pero sin llegar a conclusión alguna (Holsten 1977).

## Conclusiones y recomendaciones

Por su especificidad, el sistema biológico formado por el barrenador *H. grandella* y varias especies de Meliaceae, es muy interesante y dada su importancia económica, es difícil entender por qué los aspectos de ecología química no han sido más estudiados.

De la misma manera, es clara la especificidad del lepidóptero por las Meliaceae, así como la atracción de las hembras por parte de las hojas jóvenes. Esto sugiere que esta atracción está mediada por compuestos kairomonales que guían a la hembra a su sitio de oviposición, por lo que se podría anticipar la naturaleza volátil de dichos compuestos. De conocerse estos, podrían ser empleados como una herramienta para el manejo. Ellos se podrían usar como atrayente en trampas, para la captura de hembras.

Si los compuestos no fueran volátiles como se derivan de los estudios de Grijpma y Gara (1970a), Aghostino *et al.* (1994), De Paula *et al.* (1997) entonces si los insectos localizan a *T. ciliata* ovipositan en ella, pero sus ataques no prosperan, se podría buscar mediante programas de mejoramiento genéticos, proveencias que produjeran dichos compuestos.

Asimismo, si existiera este reconocimiento olfativo del hospedante, sería posible un enmascaramiento del perfil de volátiles (olores que los caracterizan) de los árboles. Es decir, crear de manera artificial individuos con un "olor" de "no-Meliaceae", mediante la liberación artificial de compuestos ajenos al sistema, compuestos que le indicaran a las hembras que no están detectando a su hospedante. Esta estrategia es viable, dado que el insecto: 1) incide únicamente (en individuos jóvenes) en el brote principal o líder (Mayhew y Newton 1998); 2) que el número de ataques por individuo es en promedio dos (Yamazaki *et al.* 1992, Newton *et al.* 1998); y 3) que existe el conocimiento empírico de que los árboles sólo requieren ser protegidos de los ataques hasta los tres años de edad o hasta que tengan una altura de 2,5 a 3 m (Mayhew y Newton 1998).

La información existente sugiere la existencia de compuestos feromonales, de naturaleza sexual, liberados por la hembra para atraer al macho. De confirmarse la actividad biológica de dichos compuestos, estos podrían ser utilizados para el manejo del insecto. Una opción, sería emplearlos en trampas, para capturar y disminuir la incidencia de esta plaga (Borden 1993), con la salvedad de que solo los machos serían atrapados. Otra opción podrían ser trampas cebadas con la feromona para el monitoreo de las poblaciones

(Grant 1991) y con ello optimizar aplicación de otras medidas de control, como sería la aplicación de agroquímicos (Grant 1991, Borden 1993). Otra opción más, y quizá la táctica más empleada con lepidópteros plaga, sería utilizar la feromona para crear una "interrupción del apareamiento" (Borden 1993), la inundación del área con la feromona sexual del insecto para provocar una desorientación de los machos al seguir pistas falsas, los que presumiblemente se pierden y eventualmente mueren sin haber fertilizado ninguna hembra.

Con el propósito de determinar esta comunicación feromonal se estableció en ECOSUR, desde

### Literatura citada

Aghostino, SMM; Silva, MS das G F da; Fernandes, JB; Vieira, PC; Pinheiro, AL; Vilela, EF. 1994. Limonoids from *Toona ciliata* and their chemosystematics and speculative ecological significance. *Bioch. System. Ecol.* 22: 323-328.

Bernays, EA; Driver, GC; Bilgener, M. 1989. Herbivores and plant tannins. *Adv. Ecol. Res.* 19: 263-302.

Borden, JH. 1993. Strategies and tactics for the use of semiochemicals against forest insect pests in North America. In Lumsden, RD; Vaughn, JL. Eds. *Pest Management: Biologically Based Technologies*. Washington, American Chemical Society. p.265-276.

Borek, V; Kalinova, B; Valterova, I; Hochmut, R; Vrkoc, J. 1991. Sex pheromone gland volatiles from *Hypsipyla grandella* females (Lepidoptera, Pyralidae, Phycitinae). *Acta Entom. Bohemoslovaca* 88: 181-186.

Bosson, GA; Gallois, M. 1982. Analyse de la sécrétion phéromonale émise par les femelles vierges de la Mineuse des pousses de l'Acajou: *Hypsipyla robusta* (Moore) (Lepidoptera: Pyralidae). *C. R. Acad. Sc. Ser III. Paris, VIE* 294: 819-822.

BOSTID (Board on Science and Technology for International Development, National Res. Council). 1992. *Neem: a tree for solving global problems* Washington, National Academy Press.

Céspedes, CL; Calderón, JS; Gomez-Garibay, F; Segura, R; King-Díaz, B; Lotina-Hennsen, B. 1999. Phytogrowth properties of limonoids isolated from *C. ciliolata*. *J. Chem. Ecol.* 25: 2665-2676.

Champagne, DE; Koul, O; Isman, MB; Scuder, GGE; Towers, GHN. 1992. Biological activity of limonoids from Rutales. *Phytochemistry* 31(2): 377-394.

Chan, WR; Taylor, DR; Aplin, RT. 1966. Odoratin. *Chemistry in Commerce*. 576 p.

Chan, WR; Taylor, DR; Aplin, RT. 1972. Extracts of *Cedrela odorata* L. IV. The structure of odoratin, an undecanor-triterpene. *Tetrahedron* 28:431-437.

Cibrián Tovar, D; Méndez Montiel, JT; Campos Bolaños, R; Yates III, HO; Flores Lara, J. 1995. *Insectos forestales de México / Forest Insects of Mexico*. Univ. Auto. Chapingo, SARH, USDA-FS, Com. Forestal. Amer. Norte, FAO. Pub. no. 6. 453 p.

1999, el proyecto de investigación "Ecología Química del Barrenador de las Meliaceas" con énfasis en la investigación básica de la comunicación química del sistema insecto-planta. A finales del 2000, se elaboró un proyecto conjunto entre CATIE, ECOSUR y la compañía productora de feromonas ChemTica Inc., dicho proyecto busca evaluar, en condiciones de campo compuestos feromonales potenciales, así como las trampas y dispositivos adecuados para su liberación.

### Agradecimientos

A Julio Rojas ECOSUR por la revisión, ideas y discusiones de los borradores de este documento.

De Paula, JR; Vieira, IJC; Da Silva, MF; das GF; Rodrigues F, E; Fernandes, JB; Vieira, PC; Pinheiro, AL; Vilela, EF. 1997. Sesquiterpenes, triterpenoids, limonoids and flavonoids of *Cedrela odorata* graft and speculations on the induced resistance against *Hypsipyla grandella*. *Phytochemistry* 44: 1449-1454.

Effraim, NO. 1997. Biology, economic impact and potential for semiochemical-based control of Mahogany shootborer, *Hypsipyla robusta* (Moore) (Lepidoptera: Pyralidae), african rhinoceros beetle, *Oryctes monoceros* (Oliver) (Coleoptera: Scarabaeidae) and maize weevil, *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae). M.P.M. Professional Paper, Simon Fraser University, Canada.

Entwistle, PF. 1967. The current situation on shoot, fruit and collar borers of the Meliaceae. In *British Commonwealth Forestry Conference (9, 1967, Oxford)*. Proceedings, Commonwealth Forestry Institute.

Fasoranti, JO; Gara, RI; Geiszler, DR. 1982. Laboratory studies on the flight capacity of the mahogany shoot borer, *Hypsipyla grandella* (Lepidoptera: Pyralidae). *Z. fur. Anger. Entomol.* 93: 182-186.

Gara, RI; Allan, GG; Wilkins, RM; Whitmore, JL. 1973. Comportamiento en vuelo y selección de hospedero del barrenador de las Meliaceas, *Hypsipyla grandella* Zeller (Lep., Phycitidae). In Whitmore, JL. Ed. *Studies on the Shootborer Hypsipyla grandella* (Zeller), Lep., Pyralidae, Miscellaneous Publication No. 101. CATIE, Turrialba, Costa Rica. Vol. II, p. 116-121.

Grant, GG. 1991. Development and use of pheromones for monitoring lepidopteran forest defoliators in North America. *For. Ecol. Manage.* 39: 153-162.

Govindachari, TR; Suresh, B; Banumathy, B; Masilamani, S; Gopalakrishnan, GY; Krishna-Kumari, GN. 1999. Antifungal activity of some B,D-seco limonoids from two meliaceous plants. *J. Chem. Ecol.* 25: 923-933.

Grijpma, P. 1976. Resistance of Meliaceae against the shoot borer *Hypsipyla* with particular reference to *Toona ciliata* M. J. Roem. Var. *australis* (F. v. Muell.) C. DC. In Burley, J; Styles, BT. Eds. *Tropical trees: variation, breeding and conservation*. London, Linean Society. p. 69-78.

Grijpma, P; Gara, RI. 1970a. Studies of the shootborer

- Hypsipyla grandella* (Zeller). I. Host selection behavior. In Grijpma, P. Ed. Studies on the Shootborer *Hypsipyla grandella* (Zeller), Lep., Pyralidae. Turrialba, Costa Rica. CATIE. Vol. 1:26-33. Miscellaneous Publication no. 101.
- Grijpma, P; Gara, RI. 1970b. Studies of the shootborer *Hypsipyla grandella* (Zeller). II. Host preference of the larva. Turrialba (Costa Rica) 20: 241-247.
- Grijpma, P; Roberts, SC. 1976. Biological and chemical screening for the basis of resistance of *Toona ciliata* M. J. Roem. var. *australis*. In Whitmore, JL. Ed. Studies on the Shootborer *Hypsipyla grandella* (Zeller), Lep., Pyralidae, Turrialba, Costa Rica. CATIE. Vol. II, p. 102-109. Miscellaneous Publication No. 101.
- Heindrich, C. 1956. American moths of the subfamily Phycitinae. U.S. Natl. Museum Bull. No. 207: 27-30.
- Holsten, EH. 1977. Mating behavior of the Mahogany shootborer, *Hypsipyla grandella* (Zeller) (Lepidoptera: Pyralidae), in Costa Rica. Tesis. PhD. University of Washington. 144 p.
- Holsten, E; Gara, RI. 1977. Attraction and ovipositional response of *Hypsipyla grandella* (Lepidoptera: Pyralidae) to host and non-host materials. Ann. Entomol. Soc. Am. 70: 325-327.
- Honda, K. 1995. Chemical basis of differential oviposition by lepidopterous insects. Arch. Insect. Biochem. Physiol. 30: 1-23.
- Koul, O; Shankar, JS; Mehta, N; Taneja, SC; Tripathi, AK; Dhar, KL. 1997. Bioefficacy of crude extracts of *Aglaia* species (Meliaceae) and some active fractions against lepidopteran larvae. J. App. Entomol. 121: 245-248.
- Levie, D; Levy, EC; Jain, MK. 1971. Limonoids of biogenic interest from *Melia azederach* L. Tetrahedron 27: 3927-3939.
- López-Olguín, JF; Budia, F; Castañeda, P; Viñuela, E. 1997. Actividad de *Trichilia ha anensis* Jacq. sobre larvas de *Spodoptera littoralis* (Boisduval) (Lepidoptera: Noctuidae). Bol. San. Veg. Plagas 23: 3-10.
- Macías-Sámamo, JE; Borden, JH; Gries, R; Pierce, HD Jr; Gries, G; King, GGS. 1998. Primary attraction of the fir engraver, *Scolytus entralis*. J. Chem. Ecol. 24(6): 1049-1075.
- Mancebo, F; Hilje, L; Mora, GA; Salazar, R. 2000. Efecto de extractos vegetales sobre larvas de *Hypsipyla grandella*. Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica) no. 55: 12-23.
- Mayhew, JE; Newton, AC. 1998. The silviculture of mahogany. CABI. 226 p.
- Metcalf, RL. 1987. Plant volatiles as insect attractants. CRC Critical Rev in Plant Sciences 5: 251-301.
- Newton, AC; Leakey, RRB; Mesén, JF. 1993. Genetic variation in mahoganies: its importance, utilization and conservation. Biodiversity and Conservation 2: 114-126.
- Newton, AC; Cornelius, JP; Baker, P; Gillies, ACM; Hernández, M; Ramnarine, S; Mesén, JF; Watt, AD. 1996. Mahogany as a genetic resource. Bot. J. Linnean Soc. 122: 61-73.
- Newton, AC; Cornelius, JP; Mesén, JF; Corea, EA; Watt, AD. 1998. Variation in attack by the mahogany shoot borer, *Hypsipyla grandella* (Lepidoptera: Pyralidae), in relation to host growth and phenology. Bull. Entomol. Res. 88: 319-326.
- Newton, AC; Watt, AD; López, F; Cornelius, JP; Mesén, JF; Corea, EA. 1999. Genetic variation in host susceptibility to attack by the mahogany shoot borer, *Hypsipyla grandella* (Zeller). Agric. For. Entomol. 1: 11-18.
- Pennington, TD; Styles, BT. 1975. A generic monograph of the Meliaceae. Blumea 22: 419-540.
- Percy, JE; Weatherston, J. 1971. Studies of physiologically active arthropod secretions. X. Morphology and histology of the pheromone-producing glands of some female Lepidoptera. Can. Entomol. 103: 1733-1739.
- Ramírez-Sánchez, J. 1964. Investigación preliminar sobre la biología, ecología y control de *Hypsipyla grandella* Zeller. Bol. Inst. Ftal. Latino Amer. Invest. Cap. 16: 54-77.
- Renwick, JAA. 1988. Comparative mechanisms of host selection by insects attacking pine trees and crucifers. In Spencer, KC. Ed. Chemical Mediation of Coevolution, New York, Academic Press, p. 303-316.
- Roovers, M. 1971. Observaciones sobre el ciclo de vida de *Hypsipyla grandella* (Séller) en Barinitas, Venezuela. Bol. Inst. Ftal. Latino-Americano Inv. Cap. 38: 1-46.
- Tamaki, Y. 1989. Pheromones of the Lepidoptera. In Morgan, A; Mandava, NB. Eds. Handbook of Natural Pesticides, Florida. CRC. Vol. IV. p. 34-94.
- Taylor, DAH. 1981. Chemotaxonomy: The occurrence of limonoids in the Meliaceae. In Flora Neotropica. A monograph of neotropical Meliaceae. Pennington, TD Ed The New York Botanical Garden. p. 450-459.
- Whitmore, JL. Ed. 1976. Studies on the shootborer *Hypsipyla grandella* (Zeller), Lep. Pyralidae. Turrialba, Costa Rica, CATIE. Vol. II. Miscellaneous Publication No. 101.
- Yamasaki, S; Ikeda, T; Taketani, A; Vásquez Pacheco, C; Sato, T. 1992. Attack by the mahogany shoot borer, *Hypsipyla grandella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae), on the meliaceous trees in the Peruvian Amazon. Appl. Entomol. Zool. 27: 31-38.

# Manejo de insectos plaga mediante sustancias semioquímicas de origen vegetal

Graciela Mareggiani<sup>1</sup>

**RESUMEN.** Los problemas causados por el uso excesivo de insecticidas sintéticos obligan a buscar nuevas alternativas de manejo de insectos plagas. Una de estas alternativas es el uso de sustancias semioquímicas derivadas del metabolismo secundario de las plantas, que tienen la capacidad de intervenir en la comunicación química entre organismos. El control de insectos con el uso de varias plantas, como el nim (*Azadirachta indica*, Meliaceae), incrementó el interés en el uso de estos metabolitos secundarios. Esta revisión incluye aspectos relevantes de estas sustancias y su posibilidad real o potencial de uso en programas de manejo integrado de plagas. Se describe brevemente la contribución fitoquímica de cinco plantas utilizadas desde la antigüedad para el control de plagas y que actualmente son producidas a nivel comercial: el nim, el piretro (*Tanacetum* spp., Asteraceae), el timbó (*Derris* sp., Fabaceae), *Lonchocarpus* sp. (Fabaceae) y el tabaco (*Nicotiana tabacum*, Solanaceae).

**Palabras clave:** Semioquímicos, Alomonas, Kairomonas, Insecticidas botánicos

**ABSTRACT.** Management of insect pests with semiochemical substances originating from plants. The problems caused by the excessive use of synthetic insecticides mean that new management alternatives for insect pests should be looked for. One of these alternatives is the use of semiochemical substances derived from the secondary metabolism of plants, that have the capacity to intervene in chemical communication between organisms. The control of insects with various plants, such as neem (*Azadirachta indica*, Meliaceae), has increased the interest in utilizing these secondary metabolites. This review includes relevant aspects of these substances and their possibilities real or potential for use in integrated pest management programmes. The contribution of the plant chemistry of five plants utilized since long ago for the control of pests and that are currently produced on a commercial scale is briefly discussed: neem, piretro (*Tanacetum* spp., Asteraceae), Derris (*Derris* sp., Fabaceae), *Lonchocarpus* sp. (Fabaceae) and tobacco (*Nicotiana tabacum*, Solanaceae).

**Key words:** Semiochemicals, Allomonas, Kairomones, Botanical insecticides.

## Introducción

El uso indiscriminado de plaguicidas sintéticos ha ocasionado no sólo la aparición de poblaciones de insectos cada vez más resistentes a estos productos, sino también un impacto ambiental negativo, afectando a los enemigos naturales, contaminando las napas freáticas y el aire (Dietz *et al.* 1991).

Por estas razones se han considerado las plantas como un campo apropiado para la búsqueda de nuevas estructuras con menor impacto ambiental y con potencial para el control de plagas agrícolas, dando origen a nuevas e interesantes líneas de investigación en los países de América Latina (Kumul 1983, Lagu-

nes *et al.* 1984, Mancebo *et al.* 2000, Rodríguez Hernández, 1982 y 1986, Rodríguez Hernández *et al.* 1982).

La revalorización de la planta como fuente de sustancias con propiedades insecticidas data de los últimos 35 años. Sin embargo, en los años 30 se registraron algunas investigaciones sobre el tema. Metzger y Grant (1932) evaluaron la actividad de 390 plantas como repelentes del coleóptero *Popillia japonica* sobre durazneros y manzanos. Eger (1937) observó la respuesta, cuantificada como diferentes grados de aceptación del alimento, de larvas de nueve familias de le-

<sup>1</sup> Cátedra Zoología Agrícola, Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires, Argentina. Correo electrónico: mareggia@agro.uba.ar

pidópteros al tratamiento con varias sustancias de origen vegetal.

A partir de los años 60 estos estudios tomaron mayor importancia, particularmente, después de los trabajos de Pradhan quienes descubrieron la actividad del extracto de nim (*Azadirachta indica*, Meliaceae) (Fig. 1) para el control de las langostas (Ascher 1969). Cuando Slama y Williams (1965) observaron que individuos de *Pyrrhocoris apterus* (Hemiptera: Pyrrhocoridae) criados sobre papel fabricado a partir del tronco de la Gimnosperma (*Abies balsamea*) experimentaban alteraciones en su desarrollo, y que se identificara la estructura química del compuesto responsable por Bowers *et al.* (1966), se reveló una nueva forma de defensa vegetal mediante imitadores de las propias hormonas de insectos. Posteriormente, el descubrimiento de las propiedades del juvocineme II en la albahaca, *Ocimum basilicum* (Bowers y Nishida 1980) condujo, en el decenio siguiente, a la síntesis de una segunda generación de productos hormonales comerciales como el piriproxifen y el fenoxicarb (Bowers 1993).

El interés creado por estos descubrimientos, unido al avance de técnicas como la cromatografía, la resonancia magnética nuclear y la espectroscopía de masas que permiten detectar nuevas estructuras presentes en las plantas, aún en cantidades mínimas, condujo a que a finales del siglo XX nuevos grupos de investigación se incorporaran al estudio de estos compuestos y de su ecología química (Cremllyn 1995).

En la actualidad, en Argentina, se han iniciado estudios de las propiedades insecticidas y nematicidas de diversos compuestos de origen vegetal, tales como extractos de *Melia azedarach*, Meliaceae (Mareggiani *et al.* 1998, Valladares *et al.* 1997) de lactonas sesquiterpénicas de algunas Asteraceae (Sosa *et al.* 1995) de flavonoides naturales (Sosa *et al.* 1998) de extractos de *Tagetes patula*, Asteraceae (Mareggiani y Caffarini 1995, Mareggiani *et al.* 1996) y de un grupo de lactonas esteroideas aisladas de las Solánaceas, los salpicrólidos, cuya actividad para el control de herbívoros era hasta el momento desconocida (Mareggiani *et al.* 2000).

Estos antecedentes, unidos al hecho de que es el conocimiento adecuado de la interrelación planta-herbívoro y de sus componentes el que permite el manejo integrado de una plaga, condujeron a realizar una revisión sobre los aspectos más relevantes de las sustancias semioquímicas de origen vegetal, y la posibilidad real o potencial de su uso como una alternativa en el control de plagas agrícolas (Andrews y Quezada 1989).

### Las sustancias semioquímicas y su clasificación

Los sustancias semioquímicas intervienen en la comunicación química entre organismos (Law y Regnier 1971). El término semioquímico proviene del griego *semion* que significa marca o señal, asumiendo que el compuesto químico es emitido con un propósito definido hacia el receptor, con lo que se generaría una verdadera comunicación. Sin embargo, en la comunicación química el "propósito" de la emisión del compuesto no existe como tal, aunque el receptor sí utiliza la información que le llega mediante el compuesto químico. Por tanto, algunos autores prefieren el término infoquímico en lugar de semioquímico para caracterizar a estos compuestos (Dicke y Sabelis 1988).

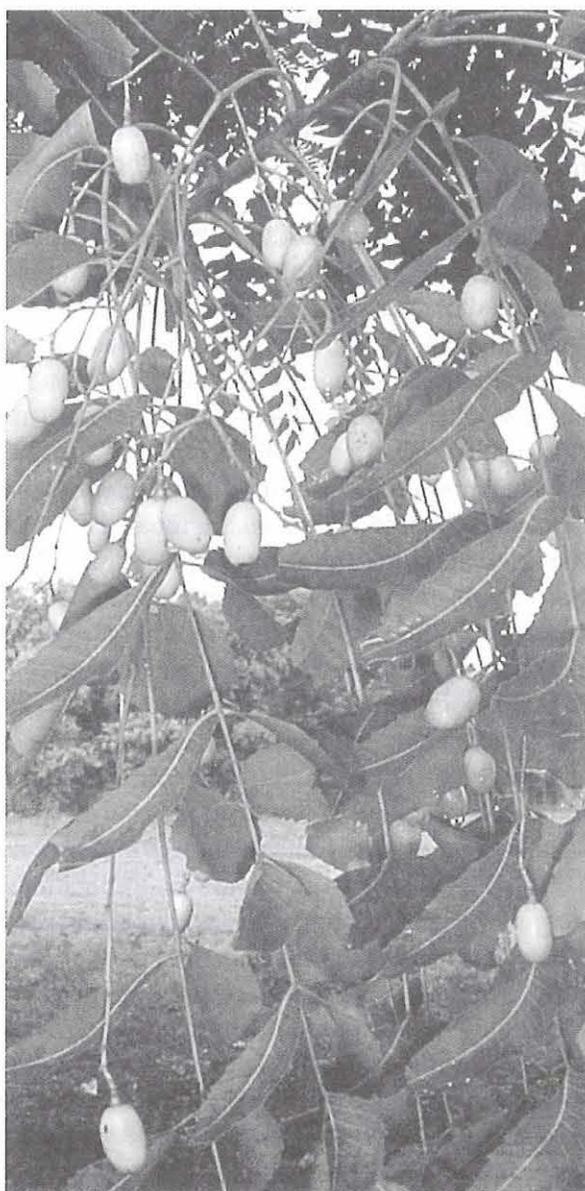


Figura 1. Arbol de nim. (Foto: Programa Regional CATIE-MIP/AF (NORAD)).

Las sustancias semioquímicas que intervienen en interacciones dentro de una misma especie reciben el nombre de feromonas (Karlson y Lüscher 1959). Las sustancias semioquímicas cuya emisión es significativa para un organismo de una especie diferente a la emisora se denominan aleloquímicos (Whittaker 1970).

La clasificación de Nordlung y Lewis (1976), basada en un análisis de costo-beneficio, agrupa a las sustancias aleloquímicos en cuatro categorías: alomonas, kairomonas, sinomonas y apneumonas. Recientemente, la clasificación se ha restringido a las tres primeras categorías (Dicke y Sabbelis 1988). Las alomonas son sustancias producidas o adquiridas por un organismo, que en un contexto natural, y en contacto con un individuo de otra especie producen en el receptor una reacción de comportamiento o fisiológica favorable al emisor. Las kairomonas son compuestos que, en contacto con individuos de otra especie, producen en el receptor una respuesta favorable a este último. Las sinomonas producen en el receptor una respuesta adaptativa favorable, tanto para el emisor como para el receptor (Nordlung 1981).

Las sustancias aleloquímicas emitidas por la planta que tienen mayor importancia en la selección del alimento por parte de una plaga son las kairomonas y las alomonas (Blum 1981, Mareggiani 1996). La emisión de kairomonas por la planta favorece al insecto porque lo orienta hacia ella, o induce su alimentación u oviposición, entre otros beneficios. Cuando el aleloquímico emitido es una alomona, resulta favorecida la planta pues disminuye la posibilidad de que un herbívoro generalista o polífago pueda utilizar esa planta como fuente de alimento, ya que lo repele, disuade la alimentación o la oviposición, e interrumpe su desarrollo, entre otros efectos, por el cual las alomonas actúan como defensas químicas naturales contra los herbívoros (Beck 1965, Dethier *et al.* 1960, Bernays 2000).

#### **Desarrollo de defensas químicas durante la coevolución**

La selección de una planta como fuente de alimento por un insecto herbívoro es un proceso complejo, influido por aspectos referidos tanto a la planta como al insecto (Quarashi 1977). En este proceso intervienen distintos fenómenos que se pueden diferenciar en varias etapas, como la búsqueda del hábitat del hospedante, la localización del mismo, su reconocimiento adecuado y su aceptación (Dethier 1982, Metcalf y Luckmann 1994). Todos estos pasos están condicionados por características de la plaga y del propio cultivo. Con respecto a la plaga, son importantes los aspectos

morfológicos y fisiológicos, especialmente aquellos relacionados con la presencia de los quimiorreceptores adecuados, y los aspectos bioquímicos vinculados con la capacidad de excretar, de biodegradar y de secuestrar metabolitos tóxicos destinados a evitar el ataque de depredadores (Dethier 1970 y 1980, Metcalf y Metcalf 1992).

Con referencia al cultivo y como consecuencia de los 400 millones de años de coevolución entre herbívoros y plantas, en los integrantes del primer nivel de la cadena trófica ocurrió un proceso de selección durante el cual se han desarrollado “defensas” químicas que funcionan como barreras contra los herbívoros, dificultando el consumo de las plantas por los insectos (Futuyma y Keese 1992, Thompson 1988). De acuerdo con algunos autores, esto configuraría la “defensa pasiva de las plantas contra los herbívoros”, por tanto las que poseen propiedades que las tornan menos adecuadas para el consumo, están en ventaja con respecto a las que no tienen estas propiedades (Rhoades 1985).

Frazier y Chyb (1995) señalaron un mecanismo de coevolución a través de mutaciones al azar, por las cuales el genoma vegetal condujo, en algún momento del proceso evolutivo, a la síntesis de sustancias semioquímicas que impedían al insecto alimentarse de la planta. Las plantas que de ese modo se transformaron en resistentes a la plaga, se multiplicaron tornándose más abundantes. De acuerdo con este mecanismo de coevolución, en una etapa posterior, bajo la fuerte presión selectiva ejercida por las sustancias semioquímicas vegetales, los insectos desarrollaron uno o más mecanismos destinados a detoxificarlos, o bien, comenzaron a utilizarlos en su propio beneficio, transformándolos en claves para reconocer al hospedante, o secuestrándolos con fines defensivos. Este proceso condujo a que ciertos herbívoros polípagos o generalistas (que se alimentan de especies de distintas familias) se adaptaran convirtiéndose en especialistas, en unos casos oligófagos (cuando se alimentan de especies de una misma familia) y en otros monófagos (cuando se alimentan de especies de un mismo género). Esto es lo que ocurre con las cucurbitacinas, fitoquímicos terpenoides presentes en la familia Cucurbitaceae, que actúan como alomonas para la mayoría de los insectos, pero que son atrayentes, actuando como kairomonas para las especies de *Diabrotica* (Coleoptera: Chrysomelidae) (Frazier y Chyb 1995).

El rol de los fitoquímicos en la interacción insecto-planta es variado y puede involucrar respuestas favorables o desfavorables para la planta, todas ellas in-

teracciones de alta especificidad que se han desarrollado a través del proceso de coevolución (Bernays 2000).

### **Rol del metabolismo secundario en los mecanismos defensivos de las plantas**

Los semioquímicos son sustancias derivadas del metabolismo secundario de la planta. La expresión metabolismo secundario no refleja su verdadera importancia en la planta, pudiendo causar la impresión errónea de que los compuestos secundarios tienen menor importancia que los primarios, o como se consideró por mucho tiempo, que son de desecho. Sin embargo, muchos de estos compuestos tienen un rol importante en los mecanismos defensivos contra los herbívoros. Por esta razón, suele preferirse la denominación de metabolitos especiales para estos compuestos (Schoonhoven 1981, Schoonhoven *et al.* 1998).

El término metabolito secundario fue creado hace aproximadamente 100 años, para definir compuestos cuya distribución varía ampliamente dentro de las especies vegetales, a diferencia de los metabolitos primarios que están presentes en todas las células vegetales capaces de dividirse; algunos metabolitos secundarios sólo se dan en alguna especie vegetal o en unas pocas íntimamente relacionadas entre sí, llegando a permitir su caracterización quimiotaxonómica (Rhodes 1994, Bennet y Wallsgrove 1994).

Se han recopilado cerca de 3000 metabolitos secundarios de origen vegetal con actividad biológica sobre distintos organismos (Harborne 1993a). Estos compuestos fitoquímicos comprenden una amplia variedad de estructuras químicas, entre las cuales pueden mencionarse a los terpenoides, los alcaloides, los compuestos fenólicos, los azufrados, los iridoides, los esteroides, entre otros (Harborne 1993b, Rosenthal y Berenbaum 1991).

La investigación básica sobre la ecología química de los insectos ha demostrado que la actividad de los metabolitos secundarios es variada y que muchos de ellos poseen actividad biológica sobre los insectos, alterando su alimentación, desarrollo, reproducción o comportamiento (Schoonhoven 1982). Sin embargo, sólo el 10% de las plantas terrestres han sido evaluadas como fuente de aleloquímicos para el control de insectos (Bowers 1993).

### **Contribución fitoquímica al manejo de plagas**

Tradicionalmente, el hombre ha explotado en beneficio propio la capacidad defensiva desarrollada por las plantas a través de la evolución, utilizando partes de éstas en la protección de cultivos (Flores 1993,

Gomero Osorio 1994, Hernández *et al.* 1983, Hernández 1985, Leskinen *et al.* 1984, Polonsky 1975, Rodríguez Hernández 1996). Es lo que ocurre con el nim, el piretro (*Tanacetum (Chrysanthemum = Pyrethrum) cinerariaefolium* Asteraceae), el timbó (*Derris* sp.) y *Lonchocarpus* sp. ambas de la familia Fabaceae y el tabaco (*Nicotiana tabacum* Solanaceae), entre otras (Hernández Escalona *et al.* 1999, Stoll 1986). Estas plantas contienen azadirachtina, piretrinas, rotenona y nicotina, respectivamente y aunque el conocimiento de cuáles son las estructuras químicas de las sustancias que las hacen insecticidas es nuevo, su utilización data desde la antigüedad, y actualmente se las produce a nivel comercial, por lo cual se analizan a continuación:

#### **Nim**

En India y Pakistán, las hojas secas del nim son aún usadas por los campesinos para evitar el ataque de plagas, colocándolas mezcladas con el grano en las bolsas estibadas (Ahmed *et al.* 1983).

Los componentes activos del árbol del nim están en la corteza, las hojas y frutos (Fig. 1) pero especialmente, en las semillas de esta especie. Esta especie contiene 64 triterpenoides además de alcaloides (Addor 1995). Los componentes más importantes son azadirachtina, un triterpenoide, salanina y meliantról (Schmutterer 1990).

La actividad biológica de estos compuestos es variada, incluyendo efectos tales como fagodisuasión, regulación del crecimiento, inhibición de la oviposición y esterilización. El principal componente activo del nim, la azadirachtina, posee excelente actividad como insecticida y nematocida, (Arpaia y van Loon 1993, Blaney *et al.* 1994, Isman 1993, Mark Lee *et al.* 1991) ya que, entre otras propiedades, es antagonista de la ecdisona (Tomlin 1997). Es efectivo tanto contra insectos con aparato bucal masticador, por ejemplo las larvas de *Liriomyza* sp. (Diptera, Agromyzidae) (Larew *et al.* 1985) y contra especies con aparato bucal picador, por ejemplo los áfidos (Lowery *et al.* 1993). En el caso de los cicadélidos y delfácidos, vectores de virus en plantas, al disminuir su alimentación, se reduce la posibilidad de transmisión de virus persistentes y semipersistentes (Saxena *et al.* 1987). Al evaluar su actividad sobre los polinizadores, se ha determinado que los insecticidas a base de nim en dosis utilizadas para controlar insectos herbívoros no afecta a los polinizadores (Naumann *et al.* 1994).

Actualmente, los componentes activos del nim se comercializan bajo diferentes nombres, tanto como extractos naturales como en formulaciones con azadirachtina natural, ya que debido a la complejidad de su

estructura química, aún no se ha logrado la síntesis total del compuesto para su utilización como insecticida. Es ventajoso por su baja toxicidad, siendo la  $DL_{50}$  en ratas de 5000 mg/kg (Tomlin 1997).

### **Piretro**

De las flores y hojas de ésta y otras especies del género *Tanacetum* se extraen las piretrinas, ésteres mono-terpénicos del ácido crisantémico (piretrinas, cinerinas y jasmolinas), todas con acción insecticida (Pascual-Villalobos 1996). Estas sustancias son neurotoxinas cuyo sitio de acción primario son proteínas receptoras de los canales de sodio de la membrana nerviosa. Al inducir actividad repetitiva en los nervios, en lugar de impulsos simples, las piretrinas alteran todo el sistema nervioso, causando incoordinación, hiperexcitación y parálisis (Lagunes -Tejeda y Villanueva-Jiménez 1994).

El polvo de las flores secas se conocía con el nombre de Polvo Insecticida de Persia y a inicios del siglo XIX se introdujo en Francia, Estados Unidos y Japón. A partir de 1930 comenzó a cultivarse en Africa del Este, en 1950 en Ecuador y Papúa, Nueva Guinea, y desde 1980 en Australia. Se lo comercializó bajo diferentes nombres, formulado junto con butóxido de piperonilo para inhibir su detoxificación por el insecto (Tomlin 1997).

El piretro controla una gran variedad de insectos, tanto domésticos como de importancia agrícola, masticadores y picadores. Debido a su baja toxicidad para mamíferos, porque se degrada rápidamente en el estómago ( $DL_{50}$  en ratas machos: 2370 mg/kg y en rata hembra 1030 mg/kg) y a su baja persistencia en el ambiente porque se degrada rápidamente por la luz, se utiliza en producción orgánica a pesar de su costo de producción (Tomlin 1997).

El conocimiento de la actividad insecticida de estas piretrinas naturales permitió el desarrollo de los insecticidas piretroides sintéticos, los cuales se comenzaron a utilizar a finales de los años 40, pero cobraron gran importancia a partir de los 70's, con la aparición de los compuestos fotoestables, desplazando en gran parte a las piretrinas naturales (Bowers 1993).

### **Timbó y *Lochocarpus***

Estas especies contienen rotenona, un compuesto fenólico de tipo flavonoide que inhibe el transporte de electrones en la cadena respiratoria de las mitocondrias, bloqueando la fosforilación oxidativa del ADP que conduce al ATP. Los insectos envenenados por rotenoides tienen síntomas diferentes de los ocasionados por los productos que actúan sobre el sistema nervio-

so. La rotenona produce en los insectos disminución en el consumo de oxígeno, depresión en la respiración y en el ritmo cardíaco con subsecuente parálisis y muerte (Lagunes -Tejeda y Villanueva -Jiménez 1994).

Las plantas que contienen rotenona fueron utilizadas originalmente por los indígenas para narcotizar los peces, sumergiendo sus ramas en los lagos, para pescarlos más fácilmente. Posteriormente, se las incorporó al uso popular como insecticidas. En China se emplea desde hace mucho tiempo un cocimiento de timbó para el combate de insectos en coles y en los árboles de nuez moscada (Benner 1993).

En 1946, en Estados Unidos se importaban las raíces secas de especies de *Derris* y de *Lonchocarpus* para el control de garrapatas, las cuales se usaban para el baño del ganado ovino y bovino. Estos productos han sido desplazados actualmente por los insecticidas sintéticos (Lagunes -Tejeda y Villanueva -Jiménez 1994).

La rotenona puede extraerse de las raíces de *Derris elliptica* y *D. malaccencia*, especies cultivadas en Malasia, Filipinas e India, así como de *Lonchocarpus micou* y *L. utilis*, cultivadas en Perú, Brasil y Venezuela. La extracción se efectúa mediante solventes orgánicos, obteniéndose un sólido cristalino, la rotenona, cuya estructura se determinó en 1932 (Bowers 1993). Debido a que no posee una toxicidad aguda para mamíferos ( $DL_{50}$  oral aguda en ratas: 135-1500 mg/kg) y a que es fácilmente degradado por la luz y el aire, se lo considera un insecticida seguro. Este es comercializado bajo diferentes nombres para el control de áfidos, gusanos, mosca sierra y ácaros en jardines y huertas (Tomlin 1997).

### **Tabaco**

La nicotina, principio activo del tabaco, fue aislada en 1828, pero su estructura se describió en 1893 y su síntesis se realizó en 1904. Este compuesto fue aislado de quince especies de *Nicotiana*, incluyendo a *N. tabacum* (Lagunes-Tejeda y Villanueva-Jiménez 1994). Del tabaco se extraen 12 alcaloides, entre los cuales figuran la anabasina, 1-nornicotina, nicotinina, y especialmente (S)-(-)-nicotina (Tomlin 1997).

La hoja de tabaco contiene nicotina en concentraciones que oscilan entre 0,5 y 3,0%, pudiendo en algunos cultivares llegar a 10%, los extractos de sus hojas han sido utilizados desde la antigüedad en pulverizaciones para controlar distintos insectos. En pequeñas huertas, por ejemplo, se efectuó el control de pulgones, psílidos, minadores y trips en una amplia variedad de cultivos, remojando hojas de tabaco o restos de cigarrillos junto con jabón (INTA 1993).

La nicotina no está libre en la planta, sino combinada con algunos ácidos originando malatos y citratos. Por ello, para su utilización, se la prepara como sulfato de nicotina 40%, evitándose así su volatilización y disminuyendo la toxicidad hacia el hombre, debido a su toxicidad en mamíferos (DL<sub>50</sub> oral en ratas: 50 mg/kg) (Rosenthal y Berenbaum 1991).

Este es un insecticida no sistémico con acción predominantemente respiratoria que actúa mimetizando a la acetilcolina al unirse con el receptor de ésta en la membrana postsináptica de la unión neuromuscular. Se generan entonces impulsos que provocan contracciones espasmódicas, convulsiones y finalmente la muerte (Lagunes-Tejeda y Villanueva-Jiménez 1994).

El uso de este producto fue parcialmente desplazado del mercado por los productos organosintéticos debido a su toxicidad hacia los mamíferos y a que es poco efectivo en climas fríos, pero en producciones orgánicas se utilizan tanto preparados artesanales como productos que se comercializan bajo diferentes nombres (Tomlin 1997).

#### **Papel real y potencial de las sustancias semioquímicas de origen vegetal en MIP**

La utilización de estas sustancias en MIP es variada. El sólo hecho de que una misma sustancia pueda actuar como fagoestimulante para una especie y repeler a otras abre nuevas e interesantes posibilidades (Blum 1981).

En las cucurbitacinas, por ejemplo, terpenoides antes mencionados atraen, actuando como kairomonas, a 41 especies del género *Diabrotica*, mientras que muchos otros insectos las evitan por su toxicidad (Metcalf y Metcalf 1992). Esta propiedad se aprovecha para el control de *Diabrotica*, utilizando la mezcla de carbaril con el polvo de la raíz de *Cucurbita foetidissima* que es atrayente de modo que se requiere una dosis de compuesto tóxico menor a la habitual para su control (Avé 1995, Brust y Foster 1995).

En general, los atrayentes alimentarios no son tan específicos como los sexuales, pero son muy útiles en estudios preliminares debido a su menor costo. Al monitorear la población de la plaga es posible efectuar la aplicación del insecticida cuando ésta alcanza el umbral de daño económico, con lo cual se aumenta el potencial del producto (Cremlyn 1995).

Las kairomonas volátiles pueden utilizarse en MIP como atrayentes de alimentación o de oviposición de parasitoides, tanto para monitorear sus poblaciones como para atraerlos hacia aquellos sitios donde su presencia favorezca el control biológico de una plaga (Hall y Menn 1999). Algunos sistemas de

monitoreo de coleópteros plagas de granos también utilizan kairomonas como cebo atrayente (Obeng-Ofori 1993), así como en sistemas de control y monitoreo de coleópteros que son plagas forestales, basados en el uso de feromonas de agregación combinadas con metabolitos secundarios de origen vegetal que aumentan la acción de la feromona (Ross y Daterman 1995).

Otra aplicación importante de los atrayentes alimentarios es mediante su incorporación en formulaciones con bacterias y virus entomopatógenos que no actúan por contacto, de manera que la presencia del estimulante alimentario favorezca la ingestión del plaguicida biológico y su efecto posterior (Avé 1995).

La identificación química de las kairomonas vegetales que atraen a insectos plaga también puede ser aprovechada para obtener, mediante mejoramiento genético convencional o ingeniería genética, plantas con bajos niveles de estos compuestos, y en consecuencia, con menor atractivo a la plaga (Hall y Menn 1999).

Por otra parte, cuando se trabaja en cultivos donde es importante la producción de semillas y por ende la acción de los polinizadores, se ha visto que atrayentes como el E y el Z citral pulverizados sobre el cultivo pueden aumentar, casi al doble las poblaciones de himenópteros polinizadores. Por el contrario, si previamente a la aplicación de plaguicidas se pulveriza el cultivo con aceite de colza (Brassicaceae) como atrayentes, mezclada con la feromona de alarma de la abeja se conseguirá alejarlas del campo evitando que los insecticidas las afecten (Cremlyn 1995).

También son útiles en el MIP las alomonas, por sus diferentes modos de acción: repelente, fagodisuasivo, disuasivo de oviposición y regulador de crecimiento, entre otros (Warthen y Morgan 1990).

Dentro de los repelentes, las cumarinas, el piperonal, el piperitone y el linalool, compuestos que inducen a la plaga a alejarse de la planta (Frazier y Chyb 1995) son muy efectivos en manejo de hormigas; no obstante, su limitación es la volatilidad (Bowers 1993). Sin embargo, esta dificultad podría solucionarse a través de las tecnologías modernas de formulación de liberación controlada que podrían aumentar su persistencia (Hall y Menn 1999).

En los últimos veinte años, las investigaciones sobre alomonas se han concentrado, especialmente, en el estudio de los fagodisuasivos, compuestos que actúan sobre los receptores gustativos, cancelando la señal en el insecto de iniciar la alimentación, llegando a

ocasionarle la muerte por inanición, aunque permanezca sobre la planta (Frazier y Chyb 1995).

Los fagodisuasivos, al igual que otras alomonas vegetales, tienen la limitante de no encontrarse en su fuente natural en las cantidades económicamente requeridas. Esta situación podría superarse, paulatinamente, mediante la obtención de sustancias análogas sintéticas, que los haga económicamente rentables. Algunos compuestos naturales como la azadirachtina, con propiedades fagodisuasivas y de regulación de crecimiento, tienen moléculas muy complejas, por lo que a pesar del trabajo continuo para desarrollar sintéticamente una estructura química con propiedades semejantes, se la sigue utilizando en forma natural bajo diferentes nombres comerciales. En otros casos, como el del (-) polygodial, metabolito con actividad afidicida, aislado de *Polygonium hydropiper* (Polygonaceae), se ha avanzado en la obtención del isómero (+), que tiene actividad afidicida pero tiene la desventaja de ser fitotóxico. Este ejemplo demuestra que a pesar de sus dificultades, la síntesis de imitadores de alomonas puede permitir la producción de un compuesto eficaz y económico (Cremlyn 1995).

El uso masivo de las sustancias semioquímicas de origen vegetal puede lograrse, principalmente mediante: a) la búsqueda de nuevas formulaciones con microencapsulados que aumentan la persistencia del

compuesto natural y que controlen el grado de liberación del insecticida y b) la ingeniería genética o biotecnología, incorporando genes a la planta. Actualmente, se utilizan plantas transgénicas que contienen genes que codifican la producción de sustancias insecticidas, como la toxina Bt de *Bacillus thuringiensis* en maíz, los inhibidores de proteasa en caupí (CpTi) y hormonas vegetales de tipo citoquinina en *Nicotiana* (Cremlyn 1995, Smigocki *et al.* 1993).

Probablemente, en pocos años existirá la posibilidad de aislar los genes involucrados en la síntesis de metabolitos secundarios producidos por las plantas ante situaciones del estrés causados por herbívoros. La transferencia de genes de las especies vegetales dotadas de estas propiedades, a especies de interés económico que carezcan de ella, permitiría a los cultivos de importancia económica sintetizar y acumular sustancias semioquímicas que ofrezcan protección contra los insectos (Hallahan *et al.* 1992).

En cualquier situación, es indudable que los avances químicos y genéticos abren nuevas posibilidades que ampliarán el papel que las sustancias semioquímicas tienen en el manejo integrado de plagas.

### Agradecimientos

A los Drs. A. Bachmann (FCEN; Univ. Bs. As., Argentina), M. I. Picollo y E. Zerba (CIPEIN, Argentina) por la supervisión y corrección de este trabajo.

### Literatura citada

- Addor, RW. 1995. Insecticides. In Godfrey, CRA. Ed. Agrochemicals from natural products. New York, Marcel Decker. p. 1-62.
- Ahmed, S; Grainge, M; Hylin, JW; Mitchel, WC; Litsinger, JA. 1983. Some promising plant species for use as pest control agents under traditional farming systems. In Intern. Nim Conference (2, 1983, Ravischholzhausen) Proceedings. p. 565-580.
- Andrews, K; Quezada, J. 1989. Manejo de plagas insectiles. Honduras, Esc. Agr. El Zamorano. 623 p.
- Arpaia, S; van Loon, JJA. 1993. Effects of azadirachtin after systemic uptake into *Brassica oleracea* on larvae of *Pieris brassicae*. Entomol. Exp. Appl. 66:39-45.
- Ascher, KRS. 1969. Insect pest control by chemosterilization and other advanced methods (antifeedants, microbial pesticides, etc.). In Act. Congr. Intern. Antiparasitaires. Milan. 22 p.
- Avé, DA. 1995. Stimulation of feeding: insect control agents. In Regulatory mechanisms in insect feeding. New York, Chapman & Hall.
- Beck, SD. 1965. Resistance of plants to insects. Annu. Rev. Entomol. 10:207-232
- Benner, JP. 1993. Pesticidal compounds from higher plants. Pestic. Sci 39: 95-102.
- Bennet, RN; Wallsgrave, RM. 1994. Secondary metabolites in plant defence mechanisms. New Phytol. 127:617-633.
- Bernays, EA. 2000. Plant-insect interactions- A synthesis. Abstr. Book I. XXI Int. Congr. Entom. Brazil. Plenary Lectures VIII-XIII.
- Blaney, WM; Simmonds, MSJ; Ley, SV; Anderson, JC; Smith, SC. Wood, A. 1994. Effect of azadirachtin-derived decalin (perhydronaphtalene) and dihydrofuranacetal (Furo 2,3-b pyran) fragments on the feeding behaviour of *Spodoptera littoralis*. Pestic. Sci. 40: 169-173.
- Blum, MS. 1981. Chemical defences of Arthropods. Acad. Press. 562 p.
- Bowers, WS; Fales, HM; Thompson, MJ; Uebel, EC. 1966. Juvenile hormone: identification of an active compound from balsam fir. Science 54: 1022.
- Bowers, WS; Nishida, R. 1980. Juvocimenes: potent juvenile hormone mimics from sweet basil. Science 209: 1030-1032.
- Bowers, WS. 1993. Phytochemical contributions to pest management. Amer. Chem. Soc. In Lumsden, R; Vaughn, J. Eds. Pest management: Biologically based technologies. Beltsville Symposium XVIII, Agric. Res. Service. U.S. Dep. Agric. Maryland. p. 252-257.
- Brust, GE; Foster, RE. 1995. Semiochemical-based toxic baits for control of striped cucumber beetle

- (Coleoptera:Chrysomelidae) in cantaloupe. *J.Econ.Entom.* 88(1):112-116.
- Cremlyn, RJ. 1995. Agrochemicals: Preparation and mode of action: New York, Wiley & Sons. 396 p.
- Dethier, VG. 1970. Chemical interactions between plants and insects. In Sondheimer, E; Simeone, JB. Eds. Chemical ecology. New York, Academic Press. p.83-102.
- Dethier, VG. 1980. Evolution of receptor sensitivity to secondary plant substances with special reference to deterrents. *Amer.Nat.* 115: 45-46.
- Dethier, VG. 1982. Mechanism of host plant recognition. *Ent. Exp. Appl.* 31: 49-56.
- Dethier, VG; Barton Brown, L; Smith, CN. 1960. The designation of chemicals in terms of the responses they elicit from insects. *J.Econ.Entomol.*53:134-136.
- Dicke, M; Sabelis, MW. 1988. Infochemical terminology: based on cost-benefit analysis rather than origin of compounds?. *Functional Ecology* 2: 131-139.
- Dietz, FJ; van der Ploeg, F; van der Straaten, J. 1991. Environment policy and the economy. Elsevier. 331 p.
- Eger, H. 1937. Ueber den Geschmackssinn von Schmetterlingsraupen. *Biol. Zbl.* 57: 293-308.
- Flores, E. 1993. El cuidado orgánico de las plantas. *Bibl.Ecología. Planeta Tierra.* 144 p.
- Frazier, JL; Chyb, S. 1995. Use of feeding inhibitors in insect control. In Regulatory mechanisms in insect feeding. New York, Chapman & Hall. p. 364-381.
- Futuyma, DJ; Keese, MC. 1992. Evolution and coevolution of plants and phytophagous arthropods. In Rosenthal Berenbaum, MR. Eds. Herbivores, their interactions with secondary plant metabolites. New York, Academy Press. p. 440-47.
- Gomero Osorio, L. Ed. 1994. Plantas para proteger cultivos; tecnología para controlar plagas y enfermedades. Lima, Perú, Red de Acción en Alternativas al Uso de Agroquímicos. 239 p.
- Hall, FR; Menn, JJ. 1999. Biopesticides: Use and delivery. New Jersey, Human Press. 626 p.
- Hallahan, DL; Picket, JA; Wadhams, IJ; Wallsgorve, RM; Woodcock, C. 1992. Potential of secondary metabolites in genetic engineering of crops for resistance. In Plant Genetic manipulation for crop protection. Gatehouse, AMR; Hilder, VA; Boulter, D. Eds. Medisham, Redwood, UK. p. 212-248.
- Harborne, JB. 1993a. Introduction to ecological biochemistry. London, Acad. Press.
- Harborne, JB. 1993b. Advances in chemical ecology. *Nat. Prod. Reports.* 10:327-350.
- Hernández X, E; Insunza M, F; Solano S, CB. 1983. Intentos de control de plagas y enfermedades identificadas en la agricultura tradicional en México. *Revista Chapingo (México)* 40: 55-56.
- Hernández X, E. 1985. Lecturas en Etnobotánica. México, Colegio de Postgraduados. 188 p.
- Hernández Escalona, M; Fuentes Fiallo, VR; Alfonso Hernández, MM; Avilés Pacheco, R; Perera Aja, ET. 1999. Plaguicidas naturales de origen botánico. La Habana, CIDISAV. 105 p.
- INTA. 1993. Manejo orgánico de la huerta. Inst. Nac. Tecn.Agrop. y Minist.Salud y Acción Social. Cartilla 6. 8 p.
- Isman, MB. 1993. Growth inhibitory and antifeedant effects of azadirachtin on six noctuids of regional economic importance. *Pestic. Sci.* 38(1): 57-63.
- Karlson, P; Lüscher, M. 1959. Pheromones a new term for a class of biologically active substances. *Nature* 183: 155-156.
- Kumul, DE. 1983. Búsqueda de plantas silvestres del Estado de Veracruz con propiedades tóxicas contra gusano cogollero del maíz *Spodoptera frugiperda* J.E.Smith y mosquito casero *Culex quinquefasciatus* Say. Tesis. México, Universidad Autónoma de Chapingo. 76 p.
- Lagunes T, A; Arenas L, C; Rodríguez H, C. 1984. Extractos acuosos y polvos vegetales con propiedades insecticidas. México, Colegio de Postgraduados. 203 p.
- Lagunes-Tejeda, A; Villanueva-Jiménez, JA. 1994. Toxicología y manejo de insecticidas, México, Col. Postgraduados. 264 p.
- Larew, HG; Knodel-Montz, JJ. Webb, RE; Warthen, JD Jr. 1985. *Liriomyza trifolii* (Burgess) (Diptera, Agromyzidae) control on chrysanthemum by *nim* seed extract applied to soil. *J.Econ.Entom.* 78: 80-84.
- Law, JH; Regnier, FE. 1971. Pheromones. *Annual Rev. Biochem.*40: 533-548.
- Leskinen, V; Polonsky, J; Bhatnagar, S. 1984. Antifeedant activity of quassinoids. *J.Chem.Ecol.* 10 (10): 1497-1507.
- Lowery, DT; Isman, MB. 1993. Antifeedant activity of extracts from *nim*, *Azadirachta indica*, to strawberry aphid *Chaetosiphon fragaefolii*. *J. Chem. Ecol.* 19 (8): 1761-1773.
- Mancebo, F; Hilje, L; Mora, GA; Salazar, R. 2000. Efecto de extractos vegetales sobre larvas de *Hypsipyla grandella*. *Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica)* 55 (1):1-5
- Mareggiani, G. 1996. Semiochemicals: the role of allomones and kairomones in natural crop protection. *Biocontrol* 2 (1): 65-70.
- Mareggiani, G; Caffarini, P. 1995. *Tagetes patula* y materia orgánica en el control del nematode agallador en ornamentales. *Gaceta Agronómica* 84:101-105.
- Mareggiani, G; Pelicano, A; Frascina, A; Bilotti, G; Gorosito, N; Zipeto, G. 1996. Actividad in vitro de productos naturales de origen vegetal sobre larvas de *Meloidogyne incognita* (Nematoda, Meloidogynidae). *Revta. Fac. Agron. (Argentina)* 16 (3): 141-145.
- Mareggiani G; Leikach, S; Laner, P. 1998. Toxicidad de extractos que contienen metabolitos secundarios de distintos órganos de *Melia azedarach* al nematodo del nudo de la raíz. *Revta. Asoc. Latinoam. Fitopat.* 33 (2): 122-126.
- Mareggiani, G; Picollo, MI; Zerba, E; Burton, G; Tettamanzi, MC; Benedetti-Doctorovich, MOV; Veleiro, AS. 2000. Antifeedant activity of withanolides from *Salpichroa origanifolia* on *Musca domestica*. *Journal Nat.Prod.* 63 (8):1113-1116.
- Mark Lee, S; Klocke, JA; Barnby, MA; Yamasaki, RB; Balandrin, MF. 1991. Insecticidal constituents of *Azadirachta indica* and *Melia azedarach* (Meliaceae). In Hendin PA. Ed. Naturally occurring pest bioregulators Washington, Am. Chem. Soc. p. 293-304
- Metcalf, RL; Metcalf, ER. 1992. Plant kairomones in insect ecology and control. London, Chapman & Hall. 168 p.
- Metcalf, RL; Luckmann, WH. 1994. Introducción al manejo de plagas de insectos. Mexico, Noriega. 710 p.
- Metzger, FW; Grant, DH. 1932. Repellency to the Japanese beetle of extracts made from plants immune to attack. *USDA Tech. Bull.* 299.
- Naumann, K; Currie, RW; Isman, MB. 1994. Evaluation of the repellent effects of a *nim* insecticide on foraging bees and other pollinators. *Canad.Entom.* 126 (2): 225-230.
- Nordlung, DA. 1981. Semiochemicals: a review of the

- terminology. In *Semiochemicals: their role in pest controls*. Nordlung, DA; Jones, RL; Lewis, WJ. Ed. London, Wiley. p.13-28.
- Nordlung, DA; Lewis, WJ. 1976. Terminology of chemical releasing stimuli in intraspecific and interspecific interactions. *J.Chem.Ecol.* 2: 211-220.
- Obeng-Ofori, D. 1993. Behavioural responses of three stored product Coleoptera species to extract of carob (Locust bean), *Ceratonia siliqua*. *Entom. Exp.Appl.* 68:9-13.
- Pascual-Villalobos, MJ. 1996. Plaguicidas naturales de origen vegetal: estado actual de la investigación. Madrid. 35 p.
- Polonsky, J. 1975. Quassinoid bitter principles. *Fortyschritte der Chemie Organischer Naturstoffe* 30: 101-150.
- Quarashi, MS. 1977. Biochemical insect control. Its impact on economy, environment and natural selection. New York, Wiley & Sons. 280 p.
- Rhoades, DF. 1985. Offensive-defensive interactions between herbivores and plants: their relevance in herbivore population dynamics and ecological theory. *Amer.Naturalist* 125 (2): 205-238.
- Rhodes, MJC. 1994. Physiological roles for secondary metabolites in plants: some progress, many outstanding problems. *Plant Molec. Biol.* 24: 1- 20.
- Rodríguez Hernández, C. 1982. Búsqueda de plantas nativas del Estado de México con propiedades tóxicas contra gusano cogollero del maíz *Spodoptera frugiperda* J.E. Smith y mosquito casero *Culex quinquefasciatus* Say. Tesis. México, Univ. Autónoma de Chapingo.
- Rodríguez Hernández, C; Lagunes T, A; Domínguez R, R. 1982. Búsqueda de plantas nativas del estado de México con propiedades tóxicas contra gusano cogollero, *Spodoptera frugiperda* J.E. Smith, y mosquito casero *Culex quinquefasciatus* Say. *Revista Chapingo (México)* 7 (37-38): 35-39.
- Rodríguez Hernández, C. 1986. Actividad tóxica de *Cestrum* spp.(Solanaceae) en larvas de mosquito casero *Culex quinquefasciatus* Say. (Diptera: Culicidae). Tesis MSc. Chapingo, Mexico, Colegio de Postgraduados. 83 p.
- Rodríguez Hernández, C. 1996. Las propiedades plaguicidas del ajo. *Bol. Fundac. Mexic. para la Educación ambiental. FUNDEA.* 1 (3): 7-8.
- Rosenthal, GA; Berenbaum, MR. 1991. Herbivores. Their interactions with secondary plant metabolites. *Acad. Press* 468 p.
- Ross, DW; Daterman, GE. 1995. Response of *Dendroctonus pseudotsugae* (Coleoptera:Scolytidae) and *Thanasimus undulatus* (Coleoptera:Cleridae) to traps with different semiochemicals. *Journ.Econ. Entom.* 88 (1):106-111.
- Saxena, RC; Khan, ZR; Bajet, NB. 1987. Reduction of Tungro virus transmission by *Nephotettix iredscens* (Homoptera:Cicadellidae) in nim cake-treated rice seedlings. *J.Econ. Entom.* 80:1079-1082.
- Schmutterer, H. 1990. Properties and potential of natural pesticides from the nim tree, *Azadirachta indica*. *Annu. Rev. Entom.* 35: 271-97.
- Schoonhoven, LM. 1981. Chemical mediators between plants and phytophagous insects. In *Semiochemicals: their role in pest control*. Nordlung, DA; Jones, RL; Lewis, WJ. Eds. London, Wiley, p.31-50.
- Schoonhoven, LM. 1982. Biological aspect of antifeedants. *Entom.Exp.Appl.* 31: 57-69.
- Schoonhoven, LM; Jermy, T; Van Loon, JAA. 1998. *Insect-Plant Biology*. London, Chapman & Hall.
- Slama, K; Williams, CM. 1965. Juvenile hormone activity for the bug. *Proc.Natl.Acad.Sci. U.S.A.* 54:411-414.
- Smigocki, AC; Neal, JW; Mc.Canna, IJ. 1993. Plant hormone-mediated insect resistance in transgenic Nicotiana. In *Pest management biologically based technologies*. Lumsden, R; Vaughn, J.L. *Procc. Beltsville Symp. XVIII. Maryland.U.S.A.* p. 378-380.
- Sosa, ME; Tonn, CE; Guerreiro, E; Giordano, OS. 1995. Toxicidad de lactonas sesquiterpénicas sobre larvas de *Tenebrio molitor* (Coleoptera:Tenebrionidae). *Revista. Soc.Entom.Arg.* 54 (1-4): 83-88.
- Sosa, ME; Guerreiro, E; Giordano, OS; Tonn, CE. 1998. Bioactividad de flavonoides sobre larvas de *Tenebrio molitor* L. (Coleoptera: Tenebrionidae). *Resúm. IV Cong. Arg.Entom.* p. 253.
- Stoll, G. 1986. Natural crop protection, based on local farm resources in the tropics and subtropics. *V. J. Margraf.* 186 p.
- Thompson, JN. 1988. Coevolution and alternative hypotheses on insect/plant interactions. *Ecology* 69 (4):893-895.
- Tomlin, CDS. Ed. 1997. *The pesticide manual. A world compendium*. British Crop Protection Council. U.K. 1606 p.
- Valladares, G; Defago, MT; Palacios, S; Carpinella, MC. 1997. Laboratory evaluation of *Melia azedarach* (Meliaceae) extracts against the elm leaf beetle (Coleoptera: Chrysomelidae). *Journ.Econ.Entom.* 90 (3): 747-750.
- Warthen, JD; Morgan, ED. 1990. Insect feeding deterrents. In *Morgan, ED; Mandava, NV. Eds. CRC Handbook of natural pesticides. Insect attractants and repellents*. Florida, CRC Press. p. 23-134.
- Whittaker, RH. 1970. The biochemical ecology of higher plants. In *Chemical Ecology*. Sondheimer, E; Simeone, JB. Ed. New York, Acad. Press. p. 43-70.

# Incremento de la patogenicidad de *Beauveria bassiana* sobre *Hypothenemus hampei*, utilizando integumento del insecto en el medio de cultivo

María Teresa González García\*  
Arnubio Valencia Jiménez\*\*  
Alex Enrique Bustillo Pardey\*\*\*

**RESUMEN.** El integumento de los insectos posee condiciones que pueden ser exploradas como fuente de nutrición para un grupo de hongos especializados. *Beauveria bassiana* puede germinar, penetrar la cutícula e invadir el hemocele y causar la muerte de los insectos, lo cual sugiere que las condiciones necesarias para la germinación de las conidias y el crecimiento hifal están presentes en el integumento del insecto susceptible. Dada la importancia que tiene el sustrato de producción en la virulencia de los hongos, se cuantificó y determinó la relación entre la patogenicidad de cuatro aislamientos de *B. bassiana* (Bb9007, Bb9009, Bb9015 y Bb9205) aislados de insectos de los órdenes Coleoptera, Hemiptera y Lepidoptera, cultivados en medio SDA suplementado con integumento de broca al 0,5%, en amortiguador fosfato pH 7,0, al igual que la patogenicidad del aislamiento Bb9205 subcultivado durante cinco meses en el mismo medio. Se observaron incrementos altamente significativos, superiores al 80%, en los cuatro aislamientos evaluados después de ser cultivados en el medio SDA + integumento de broca. El aislamiento Bb9205 subcultivado cada quince días, en este medio conservó una patogenicidad entre 87,5% y 100%, con un tiempo promedio de mortalidad inferior a 3,7 días. Se determinaron diferencias significativas ( $P > 0,05\%$ ) entre tratamientos. La mayoría de los aislamientos de *B. bassiana* pueden causar alta mortalidad a la broca, si permanentemente se proporciona al hongo el sustrato requerido para desarrollarse e inducir las enzimas requeridas para su patogenicidad.

**Palabras clave:** *Beauveria bassiana*, *Hypothenemus hampei*, Broca del café, Patogenicidad, Café, Control biológico.

**ABSTRACT.** Increase of pathogenicity of *Beauveria bassiana* towards *Hypothenemus hampei* using insect integument in the culture medium. The insect integument has conditions that may be explored as a nutritional source for a group of specialized fungi *B. bassiana* can germinate, penetrate the cuticle, invade the hemocele and cause the death of insects which suggests that the conditions necessary for germination of the conidia and growth of the hyphae are present in the integument of the susceptible insect. Given the importance of the production substrate in the virulence of fungi, the relation among the pathogenicity of four isolates (Bb9007, Bb9009, Bb9015 and Bb9205) of *B. bassiana*, isolated from insects of the orders Coleoptera, Hemiptera and Lepidoptera and grown on SDA medium supplemented with 0,5% borer integument ground in phosphate buffer pH7,0 was quantified and determined, as well as the pathogenicity of isolated Bb9205 subcultured for five months on the same medium. Highly significant increases were observed, greater than 80%, in the four isolates evaluated after being cultured on the SDA + borer integument medium. Isolate Bb9205 subcultured every 15 days, on this medium maintained a pathogenicity of between 87.5% and 100%, with an average mortality time of less than 3.7 days. Significant differences ( $P > 0,05\%$ ) between the treatments were determined. Most of the *B. bassiana* isolates can cause high borer mortality, if the fungus is constantly provided with the substrate required for the development and induction of the enzymes required for its pathogenicity.

**Key words:** *Beauveria bassiana*, *Hypothenemus hampei*, Coffee borer, Pathogenicity, Coffee, Biological control.

\* Centro Nacional de Investigaciones de Café (Cenicafé) Caldas, Colombia

\*\* Departamento de Química, Universidad de Caldas, Colombia.

\*\*\* Centro Nacional de de Investigaciones de Café (Cenicafé) Caldas, Colombia. Correo electrónico: alex.bustillo@cafedecolombia.com

## Introducción

En Colombia, la broca del café *Hypothenemus hampei* (Ferrari), se ha constituido en la principal plaga de la caficultura, debido a los graves daños que causa en los frutos, la disminución de su calidad, la reducción en el volumen de café para exportación y las pérdidas económicas del caficultor por la inversión en labores de control (Bustillo *et al.* 1998).

El integumento de los insectos, formado por la epidermis y la cutícula, tiene gran importancia en relación con su defensa y protección, al crear barreras contra la desecación y enfermedades. Además de proteínas y quitina contiene otros compuestos menores como precursores fenólicos de quinonas, ácidos grasos, ésteres de alcaloides y alcoholes grasos. (Andersen 1979). Su estudio es importante para entender los mecanismos de virulencia de los distintos patógenos (Willis 1987, Khachatourians 1991). La composición del integumento de los insectos se ha explorado como fuente de nutrición de algunos hongos (Smith y Grulla 1981), por ejemplo *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin puede germinar, penetrar la cutícula e invadir el hemocelo de muchos insectos, lo que sugiere que las condiciones necesarias para estos procesos están presentes en los insectos susceptibles (Ferrón 1981, Khachatourians 1991). Los niveles de germinación, desarrollo micelial, producción de conidias y virulencia se han incrementado en *B. bassiana* al adicionar al medio de crecimiento cadáveres de insectos, manteniendo estas características después de varias transferencias en medios de cultivo sin los insectos (Elsufty 1983). La penetración se produce por un sistema enzimático de lipasas, proteasas y quitinasas liberadas al comienzo de la germinación de la espóra (Khachatourians 1991, St Leger *et al.* 1991).

Para el control de *H. hampei* dentro de un esquema de manejo integrado se recomienda el uso del *B. bassiana* (Bustillo 1998), el cual se ha convertido en un importante factor de mortalidad en los cafetales (Ruíz 1996). Los programas de control con este hongo buscan aislamientos altamente patogénicos, recomendándose para su producción reactivar el hongo sobre adultos vivos de *H. hampei* (Vélez *et al.* 1997). Sin embargo, esto requiere mantener una colonia del insecto lo cual retrasa y encarece el proceso. Una alternativa en este proceso sería el uso de integumento obtenido de material muerto de la broca del café. El objetivo de este trabajo fue determinar el incremento de la patogenicidad de aislamientos de *B. bassiana* a *H. hampei* utilizando integumento del insecto en el medio de cultivo.

## Materiales y métodos

### Obtención de las cepas y medios de cultivo

Se evaluaron los aislamientos de *B. bassiana* codificados como: Bb9007, proveniente de *Leptopharsa gibbicarina* (Stal), Bb9009 de *H. hampei*; Bb9015 de origen tailandés y hospedante desconocido y Bb9205 de *Diatraea saccharalis* (F.), los cuales se mantienen en el cepario de entomología de Cenicafé bajo refrigeración (4°C) en medio de cultivo Sabouraud Dextrosa Agar (SDA). Para la recuperación y crecimiento del hongo se utilizó el medio SDA sólo y suplementado con integumento de broca. Para la preparación del medio de cultivo, se recolectaron brocas muertas de la unidad de cría de parasitoides de Cenicafé, se desinfectaron con hipoclorito de sodio al 0,5%, se maceraron en una solución amortiguadora fosfato pH 7,0 y se esterilizó en autoclave a 120 lb de presión durante 20 min. Se usaron 0,5 g del macerado de broca, los cuales se adicionó a 100 ml del medio de cultivo SDA, posteriormente se esterilizó la mezcla. El medio se vertió en cajas de Petri de 9 cm de diámetro, colocando 12 ml de medio por caja.

### Prueba de germinación

La viabilidad de las conidias de los aislamientos de *B. bassiana* se determinó al iniciar el experimento y después de aplicar los tratamientos. Inicialmente, la germinación se determinó en el medio Agar- Agua (AA) sin acidificar. Luego se cultivó el hongo en el medio SDA + integumento de broca y después de la esporulación se evaluó la germinación en los medios AA y SDA + integumento de broca. Las observaciones sobre germinación se realizaron a las 4, 8, 12, 16, 20 y 24 horas, después de la siembra, siguiendo la metodología descrita por Vélez *et al.* (1997).

### Bioensayos de patogenicidad

En los bioensayos de patogenicidad se siguió el procedimiento descrito por González *et al.* (1993). La concentración del inóculo empleado fue de  $1 \times 10^7$  esporas/ml y para cada tratamiento se utilizaron cuatro repeticiones de 10 brocas cada una. La mortalidad se evaluó diariamente durante 10 días con la ayuda de un estereoscopio. Las pruebas de patogenicidad se realizaron a los cuatro aislamientos antes y después de cultivar el hongo en el medio SDA + integumento, y al aislamiento Bb9205 subcultivado 10 veces, uno cada quince días, en medio de cultivo SDA + integumento. A cada subcultivo se le realizaron las pruebas de patogenicidad descritas. Con los resultados obtenidos se estimó el porcentaje de mortalidad de cada aislamiento, el tiempo promedio de mortalidad y el tiempo en el cual muere la mitad de la población ( $TM_{50}$ ) de cada uno de los aislamientos.

## Resultados y discusión

### Crecimiento del hongo

En todos los tratamientos con *B. bassiana* cultivado en SDA + integumento de broca del café se observó un crecimiento más rápido y una producción más abundante de esporas, posiblemente, debido a los nutrientes aportados por el integumento, a diferencia del hongo cultivado solo en SDA, el cual alcanzó un menor desarrollo. Resultados similares fueron encontrados por Smith y Grula (1981), quienes registran un mayor crecimiento de *B. bassiana* cuando el medio de cultivo, contiene fuente de carbono, fracciones de integumento pulverizado, almidón o quitina.

### Germinación

Los aislamientos de *B. bassiana* seleccionados para este estudio se recolectaron de una colección del hongo mantenida en refrigeración. Cuando se colocaron en el medio de cultivo Agar- Agar (AA) para su germinación, ésta fue nula a las 24 horas de incubación. Sin embargo, cuando el hongo se cultivó en SDA + integumento de broca, hubo germinación. Un nuevo subcultivo de estos aislamientos usando AA y SDA + integumento presentó una germinación mayor y más rápida usando el último medio (Cuadro 1). A las 24 horas de incubación, se observaron hifas más gruesas, largas y más oscuras. Estos resultados muestran que la germinación es más rápida cuando se utilizan sustratos enriquecidos, lo que se traduce en una mayor virulencia del patógeno, como se observó posteriormente. Esto ha sido comprobado por otros investigadores que han encontrado estímulo al proceso germinativo en otros hongos, al adicionar al medio de cultivo integumento de insectos (Al-Aidroos y Roberts 1978, Dillon y Charnley 1990, El Sayed *et al.* 1991, El Sayed *et al.* 1993a, 1993b).

### Patogenicidad

Los resultados de mortalidad de los cuatro aislamientos evaluados se presentan en el Cuadro 2. Los diferentes aislamientos incrementaron su patogenicidad significativamente cuando se subcultivaron en el medio suplementado con integumento con respecto a los no suplementados con integumento. Este aumento varió entre 80 y 100% para todos los aislamientos. Resultados similares se han determinado con otros insectos y diferentes hongos (Hayden *et al.* 1992).

Después de subcultivar el aislamiento Bb9205 diez veces, con intervalos de 15 días, en el medio SDA + integumento, su patogenicidad se mantuvo entre 87,5% y 100% con un tiempo de mortalidad que varió entre 3,1 y 3,7 días (Cuadro 3). Este resultado coincide con los obtenidos por Elsufty (1983), quien informó que la virulencia de *B. bassiana* se incrementó a través de seis subcultivos en un medio enriquecido con larvas de insectos. St Leger *et al.* (1992), sugieren que la susceptibilidad o resistencia de un insecto a un hongo en particular, puede estar determinada por los componentes de la cutícula al inicio de la infección. Estos resultados son de gran utilidad, si se tiene en cuenta que los hongos entomopatógenos cultivados en medios no enriquecidos o carentes de insectos reducen su patogenicidad a través de pases sucesivos, como ha sido demostrado con los hongos *B. bassiana*, *Metarhizium anisopliae* y *Verticillium lecanii* por varios investigadores (Kawakami 1960, Schaerffenberg 1964, Fargues 1972, Nagaich 1973, Hall 1980, Morrow *et al.* 1989, Ignoffo *et al.* 1992).

Otro aspecto importante en el incremento de la patogenicidad, se debe a que *B. bassiana* produce muchas enzimas extracelulares en medios nutritivos tales como proteasa, lipasa y quitinasa, las cuales están in-

**Cuadro 1.** Germinación de cuatro aislamientos de *B. bassiana* recuperados en SDA suplementado con integumento de *H. hampei* varias horas después de su exposición en dos medios de cultivo.

Aislamiento recuperado	Medio de germinación	Horas de exposición y germinación (%)					
		4	8	12	16	20	24
9007	AA*	0	0	10,5	58,6	83,6	92
	SDA**+ integumento	0	0,3	23,1	70,7	92,1	100
9009	AA	0	0	10	45	62	73
	SDA + integumento	0	0	16	55	88	100
9015	AA	1,7	1,2	16,1	47,1	73,2	88,5
	SDA + integumento	2,2	3,2	28,8	67,3	88,8	100
9205	AA	0	1,3	16,2	62,4	83,5	96,1
	SDA + integumento	0	2,3	24,4	87,7	95,5	100

\*AA= medio Agar- Agua

\*\*SDA= medio Sabouraud Dextrosa Agar

**Cuadro 2.** Mortalidad promedio y tiempo promedio de mortalidad de *H. hampei* causado por cuatro aislamientos de *B. bassiana* en medio SDA sin ser suplementado con integumento de broca (a) y después de ser suplementado (d).

	Mortalidad (%)				Tiempo de mortalidad (días)			
	a		d		a		d	
	$\bar{X}$	$\pm DE$	$\bar{X}$	$\pm DE$	$\bar{X}$	$\pm DE$	$\bar{X}$	$\pm DE$
Bb9007	12,5	1,5	97,5	0,5	5,0	1,4	2,9	0,8
Bb9009	0	0	100	0	0	0	3,4	0,8
Bb9015	12,5	1,25	100	0	4,2	2,2	3,2	0,9
Bb9205	20,0	1,15	100	0	4,8	0,8	2,7	0,5

\*DE= desviación estándar

volucradas en la penetración del integumento del hospedante y en consecuencia en la infección y su expresión está influenciada por la concentración de la cutícula y el origen de la misma en el medio de cultivo (St Leger *et al.* 1992, El Sayed 1993a).

Los resultados de este estudio comprueban que *B. bassiana* puede ser conservado en medio de cultivo suplementado con integumento de broca, para incrementar y mantener su patogenicidad, lo cual obviaría la necesidad actual de pasar por un proceso de reactivación en un bionensayo con colonias de broca del café, lo que resulta en un proceso más rápido y económico (González *et al.* 1993, Vélez *et al.* 1997).

#### Tiempo medio de mortalidad (TM<sub>50</sub>)

La mortalidad de los adultos de broca, tratados con los cuatro aislamientos cultivados en SDA + integumento de broca, inició a los dos días con los aislamientos Bb9007 y Bb9205 y hasta el quinto día con Bb9009 y Bb9015, con un TM<sub>50</sub> entre 2,4 días (Bb9007) y 3,1 días (Bb9009) (Fig. 1). Cuando el hongo se cultivó solo en SDA la mortalidad no fue mayor al 20% (Cuadro 2).

Una tendencia similar en el TM<sub>50</sub> se presentó con el aislamiento Bb9205 subcultivado 10 veces sucesivamente en el medio SDA + integumento, el cual osciló entre 2,7 y 3,5 días, observándose que a medida que el hongo se desarrolla en este medio, disminuye el valor del TM<sub>50</sub> (Cuadro 3). La muerte rápida de la broca y la producción temprana de un gran número de esporas sobre el cadáver de insectos puede facilitar una mayor diseminación de la enfermedad sobre sus poblaciones (Heale *et al.* 1989). De acuerdo con Bidochka y Khachatourians (1990), las proteasas son, probablemente, las enzimas más importantes en la patogenicidad de un aislamiento y su ausencia conduce a la prolongación del tiempo de mortalidad.

**Cuadro 3.** Mortalidad promedio, tiempo promedio de mortalidad y TM<sub>50</sub> de adultos de *H. hampei* causada por *B. bassiana* (Bb9205) cultivado en SDA suplementado con integumento de broca durante 10 subcultivos.

Subcultivos de Bb9205	Mortalidad (%)		Tiempo promedio de mortalidad (días)		T TM <sub>50</sub>
	$\bar{X}$	$\pm DE^*$	$\bar{X}$	$\pm DE$	
1°	87,5	1,5	3,7	0,9	3,5
2°	87,5	0,5	3,7	0,6	3,2
3°	87,5	1,5	3,4	0,8	3,0
4°	90,0	0,5	3,4	1,1	2,9
5°	90,0	1,0	3,6	0,8	3,0
6°	97,5	0,5	3,5	0,6	3,1
7°	92,5	1,0	3,1	1,1	2,8
8°	100	0	3,4	0,6	2,8
9°	87,5	1,9	3,7	0,8	3,1
10°	97,5	0,5	3,3	0,4	2,7

\*DE= desviación estándar

Estos resultados sugieren que es posible que la mayoría de los aislamientos de *B. bassiana* puedan causar altas mortalidades a la broca del café si a través de su cultivo se le proporciona el sustrato requerido para su desarrollo e inducir así, las enzimas requeridas en el proceso de patogenicidad, lo cual contribuirá en la formulación de un producto con mejores características biológicas y consecuentemente en un mayor control de *H. hampei*.

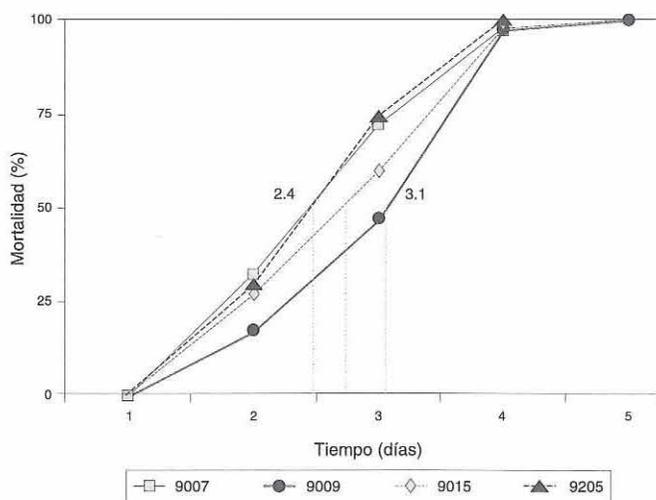


Figura 1. Mortalidad acumulada y tiempo medio de mortalidad (TM<sub>50</sub>) de *H. hampei* causado por cuatro aislamientos de *B. bassiana* después de subcultivos en medio SDA + integumento de broca.

## Literatura citada

- Al-Aidroos, K; Roberts, DW. 1978. Mutants of *Metarhizium anisopliae* with increased virulence towards mosquito larvae. Canadian Journal of Genet. Cytol., 20:211-219.
- Andersen, SO. 1979. Biochemistry of insect cuticle. Annual Review of Entomology 24 (1): 29-61.
- Bidochka, MJ; Khachatourians, GG. 1990. Identification of *Beauveria bassiana* extracellular protease as a virulence factors in pathogenicity towards the migratory grasshopper *Melanoplus sanguinipes*. Journal of Invertebrate Pathology 56: 362-370.
- Bustillo, AE. 1998. Control of coffee berry borer, *Hypothenemus hampei*, by fungal pesticides in Colombia. In Internac. Workshop. on Biotechnology for crop protection - Its potential for developing countries (1996, Berlin, Germany). Proceedings. (ZEL)- Feldafing/Zschortau p. 219 - 229.
- Bustillo, AE; Cárdenas, R; Villalba, DA.; Benavides, P; Orozco, J; Posada, FJ. 1998. Manejo integrado de la broca del café *Hypothenemus hampei* (Ferrari) en Colombia. Chinchiná, Colombia, Cenicafé. 134 p.
- Dillon, RJ; Charnley, AK. 1990. Initiation of germination in conidia of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. Mycological Research 94 (3): 299-304
- El Sayed, GN; Ignoffo, CM; Leathers, TD. 1991. Effects of cuticle source and concentration on germination of conidia of two isolates of *Nomuraea rileyi*. Mycopathologia 113 (1): 95-102.
- El Sayed, GN; Ignoffo, CM; Leathers, TD; Gupta, SC. 1993a. Cuticular and non-cuticular substrate influence on expression of cuticle-degrading enzymes from conidia of an entomopathogenic fungus, *Nomuraea rileyi*. Mycopathologia 122 (1): 79-87
- El Sayed, GN; Ignoffo, CM; Leathers, TD; Gupta, SC. 1993b. Effects of cuticle source and concentration on expression of hydrolytic enzymes by an entomopathogenic fungus, *Nomuraea rileyi*. Mycopathologia 122: 149-152.
- Elsufty, R. 1983. Enhanced culture of *Beauveria bassiana* by incorporation of insect material into the growth medium. Journal of Agricultural Research 9: 871-879.
- Fargues, J. 1972. Étude des conditions d' infection des larves de doryphore, *Leptinotarsa decemlineata* Say, par *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. Entomophaga 17 (4): 319-337.
- Ferrón, P. 1981. Pest control by the fungi *Beauveria* and *Metarhizium*. In Burges, HD. Ed. Microbial control of pests and plant diseases 1970-1980. London, Academic Press. p. 465-482.
- González G, MT; Posada, FJ; Bustillo, AE. 1993. Desarrollo de un bioensayo para evaluar la patogenicidad de *Beauveria bassiana* sobre *Hypothenemus hampei*. Cenicafé (Colombia) 44(3): 93-102.
- Hall, RA. 1980. Effect of repeated subculturing on agar and passaging through and insect host on pathogenicity, morphology and growth rate of *Verticillium lecanii*. Journal of Invertebrate Pathology 36: 216-222.
- Hayden, TP; Bidochka, MJ; Khachatourians, GG. 1992. Entomopathogenicity of several fungi towards the english grain aphid (Homoptera: Aphidae) and enhancement of virulence with host passage of *Paezilomyces farinosus*. Journal Economic Entomology 85 (1): 58-64.
- Heale, JB; Isaac, JE; Chandler, D. 1989. Prospects for strain improvement in entomopathogenic fungi. Pesticide Science 26 (1): 79-92.
- Ignoffo, CM; Puttler, B; Hosteller, DL; Dickersos, WA. 1992. Effects of successive *in vitro* and *in vivo* passages on the virulence of the entomopathogenic fungus, *Nomuraea rileyi*. Entomophaga 27 (4): 371-378.
- Kawakami, K. 1960. On the changes of characteristics of the silkworm muscardines through successive cultures. Bulletin Sericultural Experimental Station (Japón) 16: 83-99.
- Khachatourians, G. G. 1991. Physiology and genetics of entomopathogenic fungi. In Aurora, DK; Ajello, A; Mukerji, KG. Eds. Handbook of Applied Mycology. Humans, Animals and Insects. New York, Marcel Dekker. Vol. 2 p.613-661.
- Morrow, BJ; Boucias, DG; Heath, MA. 1989. Loss of virulence in an isolate of an entomopathogenic fungus *Nomuraea rileyi*, after serial *in vitro* passage. Journal of Economic Entomology 82 (2): 404-407.
- Nagaich, BB. 1973. *Verticillium* species pathogenic on aphids. Indian Journal of Phytopathology 26: 163-165.
- Ruiz C, R. 1996. Efecto de la fenología del fruto de café sobre los parámetros de la tabla de vida de la broca del café *Hypothenemus hampei* (Ferrari). Tesis Ing. Agr. Manizales Colombia, Universidad de Caldas, Facultad de Ciencias Agropecuarias. 87p.
- Schaerffenberg, B. 1964. Biological and environmental conditions for the development of mycoses caused by *Beauveria* and *Metarhizium*. Journal of Insect Pathology 6 (1): 8-20.
- St. Leger, RJ; Goettle, M; Roberts, DW; Staples, RC. 1991. Prepenetration events during infection of host cuticle by *M. anisopliae*. Journal of Invertebrate Pathology 58 (2):168-179.
- St. Leger, RJ; Frank, DC; Roberts, DW; Staples, RC. 1992. Molecular cloning and regulatory analysis of the cuticle-degrading-protease structural gene from entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. European Journal of Geochemistry 204: 991-1001.
- Smith, RJ; Grula, EA. 1981. Nutritional requirements for conidial germination and hyphal growth of *Beauveria bassiana*. Journal of Invertebrate Pathology 37 (2): 222-230.
- Willis, JH. 1987. Cuticular proteins: The neglected component. Archives of Insect Biochemistry and Physiology 6 (2): 203-215.
- Vélez, PE; Posada, FJ; Marín, P; González, MT; Osorio, E; Bustillo, AE. 1997. Técnicas para el control de calidad de formulaciones de hongos entomopatógenos. Chinchiná, Colombia, Cenicafé. 37p. Boletín Técnico no 17.

# // Comparación de la incidencia de enfermedades del fruto en sistemas de producción de café orgánico y convencional\*

Jorge Omar Samayoa-Juárez\*\*  
Vera Sánchez-Garita\*\*\*

**RESUMEN.** Se evaluó la incidencia de enfermedades del fruto y su efecto sobre el rendimiento en un cafetal convencional (manejado con fertilizantes y plaguicidas sintéticos y sin sombra) y uno orgánico (con sombra y sin aplicación de insumos sintéticos), en dos fincas comerciales vecinas, situadas en Paraíso, Cartago, Costa Rica. Cada finca tenía siete o más años de mantener el sistema de producción utilizado actualmente. En cada finca se seleccionó una parcela de 1,5 ha, en la cual se seleccionaron 25 hileras al azar y en cada hilera se escogió aleatoriamente una planta. En cada planta se seleccionaron tres ramas plagiotrópicas, en las cuales se registró la incidencia de enfermedades en el fruto y el número de frutos por bandola, entre agosto de 1998 y febrero de 1999. Se midió el volumen de producción, el número total de frutos, la incidencia de cada enfermedad y el porcentaje de frutos vanos por planta. La incidencia de enfermedades del fruto antes de la cosecha y la incidencia total por planta fue mayor en el sistema de producción convencional. En ambos sistemas de producción, *Cercospora coffeicola* fue la enfermedad más importante. La pérdida de frutos antes de la cosecha también fue mayor en el cafetal con manejo convencional, causada principalmente por el ataque de *C. coffeicola*. El porcentaje de frutos vanos y enfermos también fue mayor en el cafetal con manejo convencional. El rendimiento por planta (promedio de dos cosechas) no mostró diferencias entre sistemas de producción. La incidencia de enfermedades del fruto y su impacto sobre la reducción del rendimiento por planta fue mayor en café manejado convencionalmente, siendo la principal enfermedad *C. coffeicola*.

**Palabras clave:** Café orgánico, Café convencional, Enfermedades del fruto, *Cercospora coffeicola*, Rendimiento, Enfermedades.

**ABSTRACT. Comparison of the incidence of fruit diseases in organic and conventional coffee production systems.** The incidence of diseases on fruit and its effect on yield was evaluated on a conventional (management with fertilizers and synthetic pesticides, and without shade) and an organic (with shade and without application of synthetic inputs) coffee plantation, on two commercial neighboring farms, situated in Paraiso, Cartago, Costa Rica. Each farm has been employing the production systems currently used for seven or more years. On each farm a plot of 1.5 ha was selected, in which 25 furrows were selected at random and in each furrow a plant was chosen randomly. On each plant three plagiotropic branches were selected, on which the incidence of diseases of the fruit, and the number of fruits per branch was recorded, between august of 1998 and february of 1999. The volume of production, the total number of fruits, the incidence of each disease and the percentage of vain fruit per plant was measured. The incidence of diseases of the fruit before harvest and the total incidence per plant was higher in the conventional production system. With both production systems, *Cercospora coffeicola* was the most important disease. The loss of fruits before harvest was also greater on the conventional management coffee plantation, caused mainly by attack by *C. coffeicola*. The percentage of diseased vain fruit was also higher in the coffee plantation with conventional management. The yield per plant (average of two harvests) did not show differences between the management systems. The incidence of diseases on the fruit and the impact on the reduction of yield per plant was greater on the coffee with conventional management, the principal disease being *C. coffeicola*.

**Key words:** Organic coffee, Conventional coffee, Fruit diseases, *Cercospora coffeicola*, Yield, Diseases.

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

\*\* Facultad de Agronomía. Universidad de San Carlos. Ciudad de Guatemala, Guatemala. Correo electrónico: jorge\_omar\_s@catie.ac.cr

\*\*\* 7170 CATIE, Turrialba, Costa Rica. Correo electrónico: sanchezv@catie.ac.cr

## Introducción

El sistema de producción de café convencional (con aplicación de insumos sintéticos y sin sombra) de cultivo de café es ampliamente utilizado en Costa Rica. Actualmente, del total del área sembrada, 40% está tecnificada y 50% semitecnificada (Rice 1996). Este sistema se basa en la siembra en altas densidades, con eliminación o reducción de la sombra y la utilización intensiva de insumos sintéticos externos. La elevada extracción de nutrimentos por las altas producciones ocasiona que los cafetales cultivados al sol tiendan a debilitarse más rápido (Rice 1996).

El mayor estrés ambiental y nutricional conduce al agotamiento del cultivo y puede predisponerlo al ataque de ciertas enfermedades como chasparria (*Cercospora coffeicola* Berk & Coke), antracnosis (*Colletotrichum* spp.) y *Corticium salmonicolor* (Beer *et al.* 1998, Fournier 1988, Nataraj y Subramanian 1975). Bajo estas condiciones, el ataque de enfermedades que afectan al fruto como *C. coffeicola* suele también ser más severo y causa pérdidas directas por caída de frutos y menor calidad del mismo (Fernández *et al.* 1966, Muschler 1997).

El sistema de producción orgánico es una alternativa al sistema convencional, que procura la sostenibilidad e incorpora mayor diversidad de componentes y reduce el uso de insumos sintéticos externos. El manejo de enfermedades se fundamenta en el estímulo, la defensa y utilización de los enemigos naturales, así como en el uso de prácticas de cultivo apropiadas, variedades resistentes, fertilización balanceada y el uso de sombra, entre otras (Figuroa *et al.* 1996).

Sin embargo, algunos componentes como la sombra podrían disminuir la producción y crear un ambiente microclimático propicio para el desarrollo de enfermedades que pueden llegar a ser más severas en cafetales manejados convencionalmente (bajo sol), especialmente, algunas destructivas como el ojo de gallo o gotera (*Mycena citricolor* Berk et Curt) (Beer *et al.* 1998). *M. citricolor* ataca, no sólo el follaje sino también los frutos, lo cual la convierte en una enfermedad potencialmente peligrosa, por su efecto directo en producción. El no utilizar plaguicidas en este sistema de producción también podría favorecer el incremento de las enfermedades en la plantación.

El objetivo de esta investigación fue evaluar la incidencia de enfermedades del fruto, en sistemas de producción de café orgánico y convencional, ambos en fincas comerciales en producción, así como determinar si el manejo afecta la incidencia de las enfermedades del fruto y el rendimiento por planta.

## Materiales y métodos

### Localización y características del área de estudio

La investigación se realizó en las fincas Cristina y Los Chiles, en Birrisito, cantón Paraíso, provincia de Cartago. El lugar se localiza a 09°51' N y 83°50' O, a 1300 msnm, con temperatura media de 17,1 °C y precipitación pluvial anual de 1780 mm. Los suelos son de origen volcánico, agrupados dentro de la subunidad geomorfológica Volcán Irazú. La topografía se caracteriza por lomas redondeadas sobre cenizas volcánicas recientes, con diferente grado de meteorización (Chinchilla 1987). Los suelos pertenecen al orden de los Andisoles, de buenas propiedades físicas, moderadamente fértiles, con altos contenidos de alofana que fija grandes cantidades de fósforo, la cual constituye su principal limitante (Bertsch 1995).

### Sistemas de producción de investigación y procedimientos

Las características de los sistemas de producción convencional y orgánico son las mismas que las descritas por Samayoa-Juárez y Sánchez-Garita (2000).

### Parcelas de muestreo

En cada sistema de producción se seleccionó una parcela de 1,5 ha. Dentro de las parcelas se seleccionaron al azar 25 hileras de 100 m de longitud y dentro de cada hilera una planta al azar. En cada planta se seleccionaron 3 ramas plagiotrópicas (bandolas), distribuidas en el estrato inferior, medio y superior. La unidad de muestreo estuvo constituida por una planta. El tamaño de muestra fue de 25 plantas por sistema de manejo, el cual se determinó mediante un muestreo al azar, considerando las variables que serían incluidas en el estudio. Para el cálculo se usó la siguiente fórmula (Krebs 1994):

$$n = \left( \frac{t_{\alpha} S}{d} \right)^2$$

donde: n = tamaño de la muestra  
t = estadístico "t" de student  
s = desviación estándar de la variable  
d = Error absoluto requerido

El error máximo permitido fue 15% del valor de la media para todas variables consideradas en ese momento.

Las plantas y ramas fueron marcadas con banderines y cintas plásticas, respectivamente, para facilitar su ubicación dentro de las parcelas y llevar la secuencia sobre las mismas durante todo el período de muestreo.

## VARIABLES DE RESPUESTA

Sobre las bandolas marcadas se registró el número de frutos por bandola y la incidencia de enfermedades del fruto antes de la cosecha (entre agosto y noviembre de 1998). Al momento de la cosecha se midió el volumen (rendimiento), número total de frutos, incidencia de cada enfermedad y frutos vanos por planta.

## ANÁLISIS DE LA INFORMACIÓN

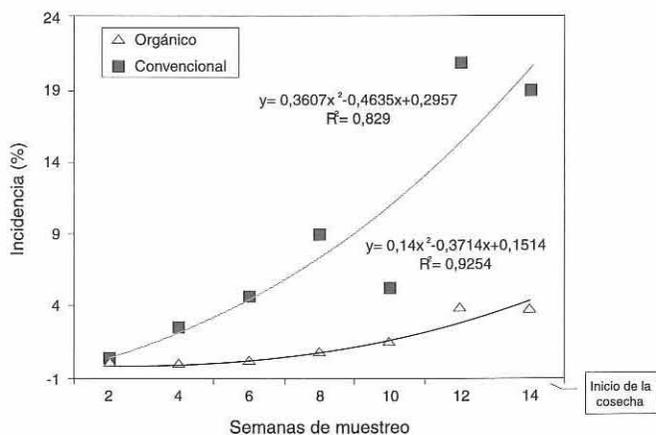
Las variables incidencia de cada enfermedad, incidencia total, fruto vano y rendimiento por planta en cada sistema de manejo fueron comparados mediante la pruebas F y Mann-Whitney. Se realizó correlación entre el número de frutos por bandola y la incidencia de cada enfermedad en las mismas.

## RESULTADOS

### INCIDENCIA DE ENFERMEDADES DEL FRUTO ANTES DE LA COSECHA

Antes de la cosecha los frutos fueron atacados por *C. coffeicola*, *M. citricolor* y *Colletotrichum* spp. La enfermedad más importante fue *C. coffeicola*, ya que las otras dos tuvieron una incidencia muy baja (< de 0,3%). Antes de iniciar la cosecha, la incidencia de *C. coffeicola* en el fruto fue mayor en el sistema de producción convencional ( $p=0,001$ ); determinándose una incidencia de 19%, mientras que en el orgánico fue de 3,9% (Fig. 1).

Al igual que en el follaje, algunos factores como la producción, la sombra y el contenido de ciertos elementos como el potasio en la planta, influyen sobre la incidencia de *C. coffeicola* en el fruto (Muschler 1997, Nataraj y Subramanian 1975, Somarriba *et al.* 1995, Valencia 1998).



**Figura 1.** Desarrollo de la incidencia de *C. coffeicola* ( $n=25$  plantas) en el fruto antes de la cosecha en sistemas de producción de café orgánico y convencional. Paraíso, Cartago, Costa Rica. 1998-1999.

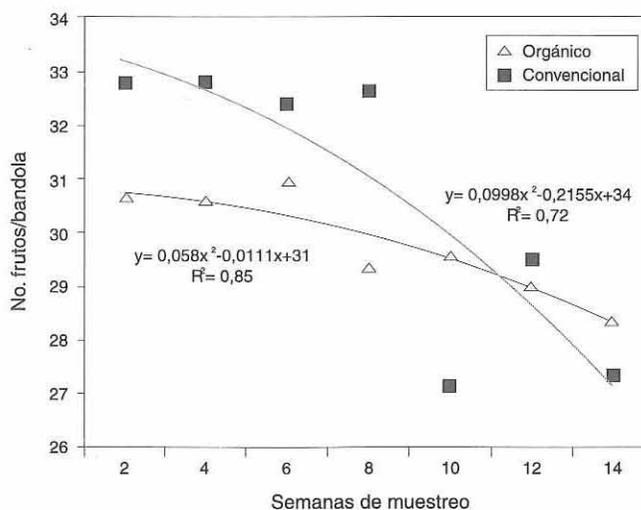
El bajo nivel de sombra en la plantación con manejo convencional (entre 0 y 30%) es uno de los principales factores que inciden sobre la alta incidencia de *C. coffeicola*. Esta enfermedad es típica de los cafetales con poca sombra (Zambolim *et al.* 1996). Sin embargo, la alta producción, que también es estimulada por alta luminosidad y la mala nutrición pueden acentuar el problema. Este último puede hacerse más evidente en sistemas de producción de café convencionales, debido a que en éstos las producciones son normalmente altas y extraen altas cantidades de nutrientes. En el siguiente acápite se discute con más detalle los factores que podrían explicar el comportamiento de esta variable.

*C. coffeicola* acelera la maduración de los frutos atacados y puede causar su caída antes de la cosecha (Zambolim *et al.* 1996). Este problema fue más evidente en el cafetal con manejo convencional.

### CAÍDA DE FRUTOS ANTES DE LA COSECHA

Al inicio de los muestreos, el promedio de frutos por bandola fue de 32,8 y 30,6 en café con el sistema convencional y orgánico, respectivamente. Conforme maduraron los frutos, las bandolas fueron perdiendo algunos de ellos. Esta pérdida fue mayor en café manejado convencionalmente; al inicio de la cosecha la pérdida promedio por bandola en este sistema fue de 5,48 frutos mientras en el sistema orgánico fue de 2,24 frutos por bandola (Fig. 2).

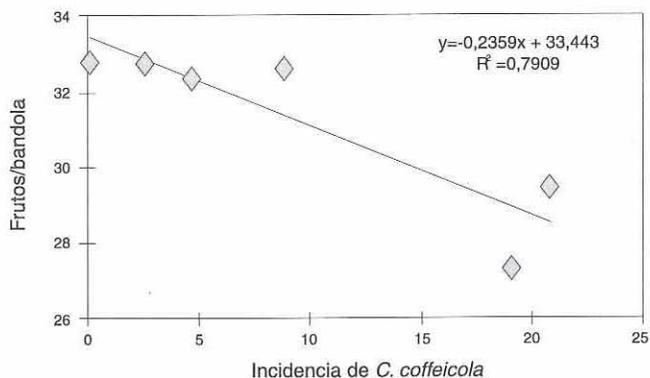
Si se considera que la cantidad de frutos caídos por bandola representa el comportamiento en toda la planta, esto implica que al inicio de la cosecha las plantas del cafetal manejado convencionalmente ha-



**Figura 2.** Promedio de frutos por bandola ( $n=25$ ) en plantas de café en sistemas de producción orgánico y convencional, conforme maduran los frutos. Paraíso, Cartago, Costa Rica. 1998-1999.

bían perdido el 17% de su producción total, mientras que en el cafetal orgánico habían perdido 7%.

En ambos sistemas, el número de frutos en las bandolas mostró correlación negativa con la incidencia de *C. coffeicola* en los frutos (Fig. 3) (orgánico:  $r = -0,88$   $p=0,0001$ ; convencional:  $r=-0,59$ ,  $p= 0,02$ ).

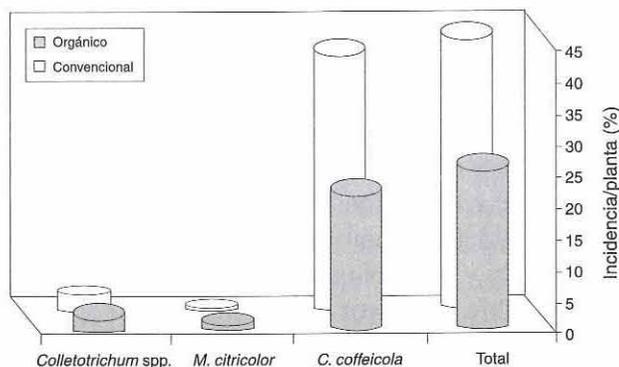


**Figura 3.** Relación entre el número de frutos por bandola y la incidencia de *C. coffeicola*, en el sistema de producción convencional. Paraíso, Cartago, Costa Rica. 1998-1999.

#### Incidencia de enfermedades en frutos cosechados

Muchos frutos se caen antes de la cosecha por efecto de las enfermedades, principalmente afectados por *C. coffeicola* en una etapa muy temprana. Sin embargo, todos los frutos enfermos que se mantienen en la planta son cosechados. Las tres enfermedades que se determinaron en frutos cosechados fueron: *C. coffeicola*, *Colletotrichum* spp. y *M. citricolor*.

Hubo mayor incidencia de enfermedades en frutos cosechados en el sistema de producción de café convencional (Fig. 4), lo cual coincide con el desarrollo que mostraron las enfermedades del fruto. La incidencia total por planta fue 25,7 y 43,5% en el sistema



**Figura 4.** Incidencia de enfermedades del fruto por planta ( $n=25$ ) en sistemas de producción de café orgánico y convencional. Paraíso, Cartago, Costa Rica. 1998-1999.

orgánico y convencional, respectivamente, determinando diferencias significativas entre sistemas de producción ( $p=0,0001$ ).

Esto sugiere que muchos de los frutos se pierden a causa de esta enfermedad. Fernández *et al.* (1966) informaron una relación semejante entre la incidencia de *C. coffeicola* y la pérdida de frutos.

Entre los factores determinantes para la incidencia de *C. coffeicola* en el fruto están la alta producción, bajos niveles de sombra e inadecuada nutrición de la planta. Debido a que el sistema de producción convencional busca altas producciones y una reducción de la sombra, se procura manejar la enfermedad a través del otro factor, la nutrición. Por ejemplo, Ramírez *et al.* (1997) determinaron que la incidencia de *C. coffeicola* se redujo con respecto a un testigo, aplicando 250 Kg de  $K_2O$ /ha/año. Fernández *et al.* (1966) encontraron que la aplicación de 60 g de fertilizante de la fórmula 12-12-17-2 por planta redujo la pérdida de frutos de 21,8 a 8,3%.

En la plantación con manejo convencional se aplicó aproximadamente 510 kg/ha (aproximadamente 78 g/planta) de fertilizante fórmula 18-5-15-6-2. Sin embargo, a pesar de que no se pudo determinar la respuesta al fertilizante, es claro que la incidencia y las pérdidas de frutos se mantuvieron altas.

Otro factor que puede estar relacionado a este fenómeno, es la población de nematodos, la cual fue más alta en el cafetal con manejo convencional (Samayoa-Juárez 1999). Kumar y Samuel (1990) mencionan que uno de los daños ocasionados por nematodos es la reducción de la respuesta de la planta a la fertilización. Por tanto, estos organismos pueden estar afectando la absorción de nutrientes y favorecer la mayor incidencia de *C. coffeicola* y la pérdida de los frutos en el sistema convencional.

Por el contrario, en la plantación manejada orgánicamente se determinó la menor incidencia y pérdida de frutos, a pesar de tener una producción similar al cafetal manejado convencionalmente (Fig. 7), lo cual podría ser explicado por una mayor cantidad de sombra y un mejor aprovechamiento de nutrientes por parte de las plantas debido a un menor daño de la raíz causado por nematodos.

De las tres enfermedades del fruto, *C. coffeicola* fue la más importante con una incidencia por planta de 21,9% en el cafetal con manejo orgánico y 40,9% en el manejo convencionalmente (Fig. 4), determinándose diferencias significativas ( $p=0,0001$ ) entre los sistemas de producción. La incidencia por planta de

*Colletotrichum* spp. y *M. citricolor* no mostró diferencias significativas entre sistemas ( $p=0,79$  y  $p=0,2489$ ).

Según Jaramillo *et al.* (1988), *C. coffeicola* puede afectar la totalidad de la cosecha. Zambolim *et al.* (1996) señala que esta enfermedad produce pérdidas hasta de 30% de la producción en cafetales a plena exposición solar.

No obstante, es importante señalar que aunque la incidencia sea alta, no implica necesariamente que se produzcan pérdidas, debido a que en muchos frutos el daño provocado por el hongo es mínimo. Sin embargo, en este caso, la incidencia total en el fruto cosechado está directamente relacionada con el porcentaje de frutos vanos y enfermos ( $r=0,83$ ,  $p=0,0001$ ) que representan pérdidas durante el beneficiado. Estas pérdidas ocurren debido a frutos momificados, frutos que mantienen parte de la pulpa adherida al grano (grano media cara) y frutos inmaduros que provienen de ramas secas (Zuluaga 1990).

#### Frutos vanos

Como se mencionó anteriormente, las enfermedades están directamente relacionadas con el porcentaje de frutos vanos y enfermos que producen pérdidas durante el beneficiado. En este estudio se consideraron únicamente estos frutos como indicador de este efecto. Estos frutos enfermos que flotan durante el beneficiado en húmedo, son frutos momificados, principalmente atacados por *C. coffeicola* y frutos inmaduros provenientes de bandolas debilitadas por las enfermedades o la alta producción de la planta (Zuluaga 1990).

El porcentaje de frutos vanos y enfermos fue mayor en el sistema de producción convencional ( $p=0,0489$ ), mientras que el de vanos no enfermos (con una o dos cavidades vacías) fue superior en el sistema orgánico ( $p=0,0302$ ) (Fig. 5).

El fruto vano y enfermo normalmente es desechado durante el beneficiado o vendido como café de menor calidad y por tanto, a menor precio, por lo cual las pérdidas debidas al ataque de enfermedades del fruto fueron mayores en el cafetal con manejo convencional. El fruto vano no enfermo aunque produce pérdidas, al menos uno de los granos es aprovechado. Además, la diferencia en el porcentaje de fruto vano no enfermo es 0,5% mayor en el sistema orgánico, mientras que en fruto vano enfermo la diferencia es 3,3% mayor en café con manejo convencional.

#### Tamaño del fruto

El tamaño promedio de los frutos, calculada a partir del volumen de producción por planta y número de granos por planta fue de 1,31 y 0,95 cc/fruto en siste-

mas de producción de café orgánico y convencional, respectivamente. Esto indica un mayor tamaño del fruto en el café manejado orgánicamente.

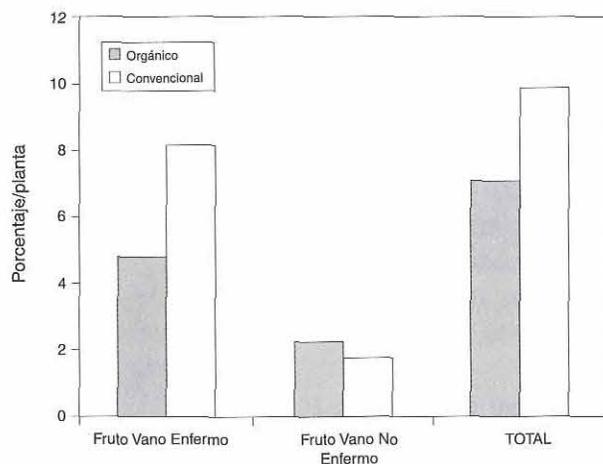


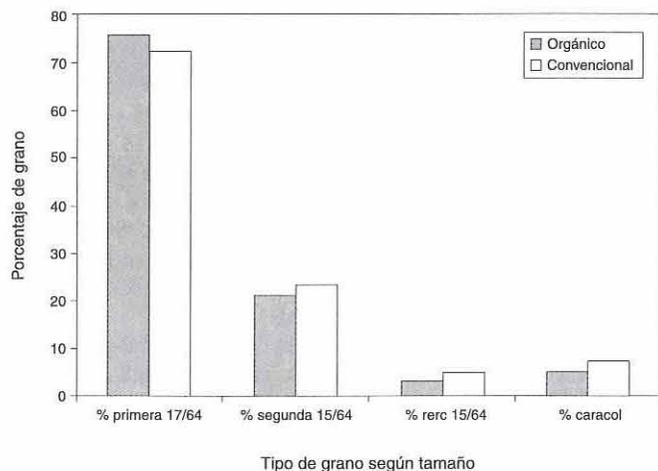
Figura 5. Porcentaje de fruto vano total, vano y enfermo y vano no enfermo ( $n=25$ ) en sistemas de producción orgánico y convencional. Paraíso, Cartago, Costa Rica. 1998-1999.

Aldazábal y Alarcón (1994), determinaron mayor tamaño de fruto en plantaciones bajo sombra con respecto a plantaciones a pleno sol, señalando que esto puede deberse a un efecto térmico. Debido a que los frutos son fuertes extractores de carbohidratos durante su crecimiento y las hojas disminuyen la producción de carbohidratos a temperaturas foliares superiores a 25 °C, esto se manifiesta como un menor tamaño de los frutos, en cafetales con poca sombra. Según Valencia (1998), se requieren de 1,6 hojas con un área foliar de 25 cm<sup>2</sup> para producir un grano de café pergamino seco de 0,22 g. En años de alta producción, la relación entre el área foliar y el número de frutos se reduce, a tal grado que la cantidad de follaje de la planta no es capaz de atender adecuadamente la demanda de los frutos, lo cual también se traduce en un menor tamaño del mismo.

Kumar y Samuel (1990), señalan que los nematodos también pueden ser responsables de una reducción en el tamaño del fruto. La información anterior sugiere que en el sistema de producción orgánico la mayor cantidad de sombra, mayor cantidad de follaje por bandola y poblaciones más bajas de nematodos, influyen sobre un mayor tamaño del fruto.

Esta característica se manifiesta en la calidad física del grano. En la figura 6 se muestra la clasificación de los granos según su tamaño, para ambos sistemas de producción. Un mayor porcentaje de grano del café orgánico que quedó retenido en la zaranda 17/64

(grano de primera), y el porcentaje de grano caracol fue menor que en la plantación manejada convencionalmente. Resultados similares fueron informados por Muschler (1997) en una investigación en cafetales bajo sol y cafetales con sombra, determinando mayor tamaño del grano en las parcelas con los mayores porcentajes de sombra.



**Figura 6.** Porcentaje de grano retenido en zarandas 17/64 y 15/64 de pulgada, y porcentaje de grano caracol ( $n=1$ ), en sistemas de producción de café orgánico y convencional. Paraíso, Cartago, Costa Rica. 1998-1999.

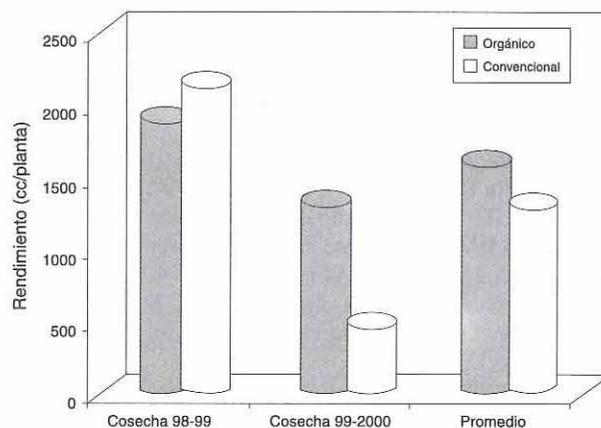
### Rendimiento

El rendimiento por planta no mostró diferencias significativas entre sistemas de producción, al comparar el promedio de dos cosechas ( $p=0,192$ ) (Fig. 7). En la cosecha 98-99 no se observaron diferencias entre los sistemas de producción; sin embargo, en la siguiente (1999-2000) el cafetal con manejo orgánico presentó mayor rendimiento de acuerdo con la estimación hecha ( $p=0,00583$ ) (Fig. 7).

En ambos sistemas se observó la bianualidad de la producción que se ha señalado para plantaciones de café, caracterizada por años de producción alta seguida por la reducción en el rendimiento en el año siguiente (Muschler 1999). La bianualidad, según Segura-Monge (1996), se debe a un desequilibrio en la relación entre el área foliar y la cantidad de frutos. Se requieren 20 cm<sup>2</sup> para atender las necesidades nutricionales de cada fruto sin afectar el crecimiento vegetativo de la planta. (Canell 1974).

Sin embargo, en el cafetal con manejo orgánico el efecto de la bianualidad fue menos acentuado. Segura-Monge (1996) indica que el agotamiento de las plantas, relacionado con la alta producción, puede ser acentuado por factores bióticos y abióticos. Por lo tan-

to, este agotamiento puede ser disminuido mediante prácticas que reduzcan el estrés ambiental, causado por temperaturas extremas y falta de agua, entre otras. En el cafetal con manejo orgánico existen varios factores que reducen el estrés de las plantas, entre ellos más sombra, menor acidez, menor ataque de *C. coffeicola* y menor población de nematodos, lo cual podría explicar el efecto menos marcado de la bianualidad en este sistema.



**Figura 7.** Rendimiento de cafetos ( $n=25$ ) en sistemas de producción orgánico y convencional durante dos cosechas. Paraíso, Cartago. 1998-1999.

En Costa Rica se han realizado experimentos para comparar el rendimiento de café en sistema de producción convencional y orgánico (Alpizar 1997, Arias 1997, Campos 1997, Fonseca *et al.* 1997, Ramírez 1997). En esas investigaciones, el café con manejo convencional mostró mayor rendimiento que el orgánico. Sin embargo, los datos corresponden a cafetales recién transformados a orgánicos, donde la producción normalmente es baja.

En esta investigación, el cafetal orgánico tenía siete años de ser manejado según este enfoque y por tanto, la producción ha alcanzado cierta estabilidad. El cafetal con manejo convencional también es una plantación con al menos siete años y podría mostrar una reducción en el rendimiento debido al agotamiento de la plantación. Sin embargo, es difícil hacer conclusiones a partir de dos cosechas, y sería importante continuar evaluando cada sistema de manejo.

A pesar de esto, se ha encontrado que en sistemas de producción orgánicos pueden llegar a producir hasta 75% de la producción obtenida en cafetales convencionales, y en ciertos casos, algunas fincas con manejo orgánico producen más que aquellas con manejo convencional (Lyngbaek *et al.* 1999).

## Conclusiones

La incidencia de enfermedades del fruto fue mayor en el sistema de producción convencional. En ambos sistemas, la enfermedad más importante fue *C. coffeicola*. La pérdida de frutos antes de la cosecha fue mayor en el cafetal con manejo convencional y mostró correlación con la incidencia de *C. coffeicola*. La incidencia en el fruto cosechado por planta también fue mayor en el cafetal con manejo convencional, lo cual incidió

## Literatura citada

- Aldazábal Romero, M; Alarcón Méndez, O. 1994. Fisiología del cafeto en condiciones de montaña. 3. Influencia del sol y la sombra en el crecimiento del fruto. *Centro Agrícola* 21(3):5-9
- Alpízar Saborío, JM. 1997. Estudio de tres sistemas de producción de café. In ICAFE. Informe anual de labores 1996. Heredia, Costa Rica, ICAFE-CICAFAE. p. 179-181.
- Arias Vargas, JE. 1997. Estudio de tres sistemas de producción de café. In ICAFE. Informe anual de labores 1996. Heredia, Costa Rica, ICAFE-CICAFAE. p. 189-191.
- Beer, J; Muschler, R; Kass, D; Somarriba, E. 1998. Shade management in coffee and cacao plantations. *Agroforestry Systems* 38:139-164.
- Bertsch, F. 1995. Fertilidad de suelos y su manejo. San José, Costa Rica, Asociación Costarricense de la Ciencia del Suelo. 157 p.
- Campos Campos, E. 1997. Estudio de tres sistemas de producción de café. In ICAFE. Informe anual de labores 1996. Heredia, Costa Rica, ICAFE-CICAFAE. p. 183-184.
- Canell, MGR. 1974. Factors affecting arabica coffee beans size in Kenya. *Journal of Horticultural Sciences* 49:65-76.
- Chinchilla, E. 1987. Atlas cantonal de Costa Rica. Instituto de Fomento y Asesoría Municipal, San José Costa Rica. p. 175-178.
- Fernández-Borrero, O; Mestre Mestre, A; López Duque; S. 1966. Efecto de la fertilización en la incidencia de la mancha de hierro (*Cercospora coffeicola*) en frutos de café. *Cenicafé* (Colombia) 17(1):5-16.
- Figueroa Zeballos, R; Fischersworing Hömberg, B; Roskamp Ripken, R. 1996. Guía para la caficultura ecológica. Lima, Perú, Novella Publigrat S.R.L. 171 p.
- Fonseca Castro, C; Rodríguez Calderón, G; Obando Jiménez, JJ. 1997. Estudio de tres sistemas de producción de café. In ICAFE. Informe anual de labores 1996. Heredia, Costa Rica, ICAFE-CICAFAE. p. 193-194.
- Fournier, LA. 1988. El cultivo del cafeto (*Coffea arabica* L.) al sol o a la sombra: Un enfoque agronómico y ecofisiológico. *Agronomía Costarricense* 12(1):131-146.
- Jaramillo R, LA; Leguizamón C, J; Cadena G.G. 1988. Enfermedades del cafeto. In Federación Nacional de Cafeteros de Colombia. Tecnología del cultivo del café. 2. ed. Caldas, Colombia. p. 157-169.
- Krebs, CJ. 1994. Ecological methodology. 2 ed. California, USA, Addison Wesley Longman. 620 p.
- Kumar, AC; Samuel, SD. 1990. Nematodes attacking coffee and their management: A review. *Journal of Coffee Research* 20(1):1-27.
- Lynghaek, AE; Muschler, RG; Sinclair, FL. 1999. Productivity, labour and variable costs of organic versus conventional coffee smallholdings in Costa Rica. In Semana Científica CATIE (4, 1999, Turrialba, Costa Rica). Logros de la Investigación para el Nuevo Milenio. Actas. Turrialba, C.R., CATIE. p.216-219.
- en una mayor pérdida de frutos (frutos vanos) en este sistema. El rendimiento por planta (promedio de dos cosechas) no mostró diferencias entre los sistemas de manejo.

## Agradecimientos

A Ernest Carman y Anselmo Solano por facilitar en sus fincas. A Manrique González por su ayuda en la etapa de campo.

- Muschler, RG. 1997. Efectos de sombra de *Erythrina poeppigiana* sobre *Coffea arabica* vars. Caturra y Catimor. In Simposio Latinoamericano de Caficultura (18, 1997, San José, Costa Rica). Memorias. San José, C.R., IICA-PROMECAFE. p. 157-162. (Serie de ponencias, resultados y recomendaciones de eventos técnicos. No. A1/SC-97-05).
- Muschler, RG. 1999. Shade benefits production and vigor of *Coffea arabica* L. in sub-optimal coffee zone of Costa Rica. *Agroforestry Systems*. (submitted)
- Nataraj, T; Subramanian, S. 1975. Effect of shade and exposure on the incidence of brown-eye-spot of coffee. *Indian Coffee* 39(6):179-180.
- Ramírez, LG. 1997. Estudio de tres sistemas de producción de café. In ICAFE. Informe anual de labores 1996. Heredia, Costa Rica, ICAFE-CICAFAE. p. 185-187.
- Ramírez, LG; Mora Ramírez, M; Montenegro, J; Vargas, AL. 1997. Efecto de diferentes niveles de potasio sobre la producción de café y la incidencia de enfermedades. In Simposio Latinoamericano de Caficultura (18, 1997, San José, Costa Rica). Memorias. San José, C.R., IICA-PROMECAFE. p. 219-222.
- Rice, R. 1996. Coffee modernization and ecological changes in northern Latin America. *Tea & Coffee Trade Journal*. 168(9):104-113.
- Samayoa-Juárez, J.O. 1999. Desarrollo de enfermedades en café bajo manejo orgánico y convencional en Paraíso, Costa Rica. Tesis Mag. Sc. Turrialba, Costa Rica, CATIE. 65 p.
- Samayoa-Juarez, JO; Sánchez Garita, V. 2000. Enfermedades foliares en café orgánico y convencional. *Manejo Integrado de Plagas* (Costa Rica) 58:9-19.
- Segura-Monge, A. 1996. Algunas consideraciones agrofisiológicas en relación a la poda de los cafetos: Experiencias con cafetales con alta densidad de siembra. In Simposio Internacional sobre Café Adensado (1994, Londrina, Brasil). Anais, Londrina, IAPAR. p. 199-220.
- Somarriba B, G; Monterroso G, D; Gutiérrez G, J. 1995. Epidemiología de la mancha de hierro del café (*Cercospora coffeicoa* Berk & Cooke) en las regiones norte y pacífico de Nicaragua. In Simposio sobre Caficultura Latinoamericana (16, 1993, Managua, Nicaragua). Memoria. Tegucigalpa, Honduras, IICA-PROMECAFE. v.1 p. irr.
- Valencia, A.G. 1998. Manual de nutrición y fertilización del café. Instituto de la potasa y el fósforo, Quito, Ecuador. 61 p.
- Zambolim, L; Chaves, GM; Do Vale, FXR; Pereira, AA. 1996. Manejo integrado das doenças do cafeeiro em cultivo adensado. In Simposio Internacional sobre Café Adensado (1994, Londrina, Brasil). Anais. Londrina, IAPAR. p. 151-182.
- Zuluaga, J. 1990. Los factores que determinan la calidad del café verde. In Federación Nacional de Cafeteros. 50 años de Cenicafé 1938-1988: Conferencias Conmemorativas. Chinchiná, Caldas, Colombia. CENICAFE. p. 167-183.

# Hoja TECNICA

No. 37

CATIE



## Uso de microorganismos para el control de *Phyllophaga* spp.

Eduardo Hidalgo<sup>1</sup>

### Introducción

Las larvas de varias especies del género *Phyllophaga* causan daños severos a muchos cultivos en América Central y parte de Sur y Norteamérica. Entre los cultivos afectados están maíz, papa, pastos, hortalizas, granos básicos, algunos cultivos perennes y viveros forestales (King y Saunders 1984). El control de esta plaga se ha dificultado debido a su hábito subterráneo, estacionalidad y patrón de ataque en parches y a que, en la mayoría de los casos, su detección se da cuando el daño al cultivo ya ha ocurrido.

El uso de microorganismos que han coevolucionado con la plaga se perfila como una práctica promisoriosa para su control, especialmente aquellos reconocidos por su capacidad para causar enfermedades crónicas y muerte, tanto a los estadios larvales como a los adultos de *Phyllophaga* spp. Muchos de estos microorganismos han mostrado ser capaces de causar epizootias que mantienen naturalmente controladas las poblaciones de larvas de escarabeidos en el campo. Una de las ventajas del uso de este tipo de agentes de control biológico radica en que, generalmente, son organismos que están adaptados a los mismos hábitats en que se desarrolla la plaga; además tienen la capacidad de autoreproducirse sobre las larvas y adultos, aumentando la concentración de sus propágulos, lo cual ayuda a su establecimiento en el campo. Eventualmente, un microorganismo que se ha esta-

blecido en un sitio con problemas de infestación de *Phyllophaga*, entrará a formar parte de los factores de mortalidad de la plaga que ayudan a mantener las poblaciones en niveles bajos.

Pese a los esfuerzos en la investigación en control biológico de *Phyllophaga*, aún se está en una fase incipiente en lo referente al desarrollo de productos formulados de eficacia aceptable. Sin embargo, se ha demostrado el potencial de algunos microorganismos y la necesidad de usarlos en combinación con otras prácticas que permitan mejorar el control de la plaga.

### Metodologías para el uso de microorganismos

Shannon (1996) indica que la categorización convencional de estrategias de control biológico (control clásico, inoculativo e inundativo) no se adapta bien al control con microorganismos porque frecuentemente hay que combinar tácticas de más de una categoría. Debido a que *Phyllophaga* es nativa de América, y sus enemigos naturales han coevolucionado con cada especie, el concepto de control biológico clásico no sería apropiado en este caso, aunque las mismas especies de microorganismos asociados a *Phyllophaga* existen también en otras latitudes y la introducción de nuevas cepas de estos agentes al continente podría tener potencial para su control; no obstante, la experiencia con el hongo *Metarhizium* en *Phyllophaga* spp. ha mostrado que los aislamientos más virulentos provienen de

<sup>1</sup> Unidad de Fitoprotección, CATIE, Costa Rica. Correo electrónico: ehidalgo@catie.ac.cr

zonas infestadas con la plaga, pero no necesariamente de la misma especie (Shannon *et al.* 1993). La mayoría de aislamientos de hongos en otros insectos y aislamientos extranjeros, aún aquellos con alta infectividad en otros escarabeidos, no han mostrado ser efectivos contra *Phyllophaga* spp.

La inoculación controlada de áreas infestadas con el objetivo de iniciar el proceso de infección e inducir epizootias es una estrategia implícita en el uso de la mayoría de los patógenos, pero más marcada en aquellos casos en que el costo del inóculo es elevado. Una alternativa a esta estrategia es la aplicación masiva de inóculo para tener un efecto insecticida. Los productos utilizados con este fin se han denominado micoinsecticidas cuando el ingrediente activo es un hongo o bioplaguicidas como un término más general que incluye a todos los grupos de microorganismos utilizados con este propósito. Para el control de algunos escarabeidos, se han puesto al mercado preparaciones en forma de polvo mojable, gránulos o suspensiones de esporas, aunque mucho del trabajo en control de *Phyllophaga* se ha realizado con formulaciones simples y económicas, como mezclas con talco simple o suspensiones acuosas de esporas o conidios.

### Principales patógenos de *Phyllophaga* y otros escarabeidos

Las bacterias formadoras (*Bacillus popilliae*) y no formadoras de esporas (*Serratia entomophila*) así como los hongos entomopatógenos *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* y nematodos de las familias Steinernematidae y Heterorhabditidae, son los microorganismos que se han estudiado más a fondo por tener mayor potencial para su uso en el control de larvas de escarabeidos. Sin embargo, otros grupos como los virus, rickettsias y protozoarios también llegan a jugar un papel importante en el arsenal biológico que naturalmente contiene las explosiones poblacionales de este tipo de plaga.

#### Bacterias

Muchas bacterias han sido asociadas a *Phyllophaga* spp. entre ellas *Bacillus cereus*, *Clostridium* sp., *B. laterosporus* (Poprawski y Yule 1990); sin embargo, Klein y Jackson (1992) considera que en la mayoría de los casos éstos podrían ser patógenos facultativos que infectan solamente cuando las larvas están bajo condiciones de estrés. Otros grupos de bacterias considerados como invasores rápidos, incluyen *Pseudomonas*, *Micrococcus*, *Actinobacter*, *Erwinia* y *Serratia*. Pocas

cepas de estas bacterias resultan consistentemente patogénicas con inoculaciones orales, aunque para larvas de otra especie de escarabeidos (*Costelytra zealandica*) se han encontrado cepas de *Serratia entomophila* altamente virulentas, con las que se ha llegado a desarrollar un bioplaguicida comercial (Invade).

Recientemente, se han identificado cepas de *Bacillus thuringiensis* activas contra larvas de escarabeidos (Crocker *et al.* 1982) y se considera que pronto podrían salir al mercado productos formulados para el control de estos insectos.

La bacteria más exitosa y estudiada contra larvas de escarabajos, incluyendo *Phyllophaga*, ha sido *B. popilliae*, para la cual se ha confirmado su condición de parásito obligado. Esta bacteria forma esporas muy resistentes a las condiciones adversas del ambiente, que le confieren una ventaja como agente de control biológico. Esta característica también asegura que la bacteria formulada será estable y almacenable por periodos prolongados.

La enfermedad causada por *B. popilliae* es conocida como "enfermedad lechosa" y ocurre solamente en escarabeidos. Las larvas enfermas se reconocen por su color blanco lechoso causado por la proliferación de esporas refractarias en la hemolinfa (Fig. 1). Esto se puede observar a través de la cutícula transparente de los últimos segmentos abdominales. El diagnóstico se puede confirmar perforando la cápsula cefálica con un alfiler, lo que permite que salga una gota de hemolinfa con apariencia de leche en las larvas enfermas o transparente-amarillenta en larvas sanas.

Las larvas se infectan cuando ingieren alimento contaminado con esporas de la bacteria. Las esporas pueden sobrevivir muchos años en el suelo y al entrar al tracto digestivo germinan e infectan a la larva, produciendo alrededor de  $5 \times 10^{10}$  esporas/ml de hemolinfa. La muerte típicamente ocurre al mes o más después de la infección.

*B. popilliae* ha sido utilizado con éxito, en condiciones de campo con poblaciones altas de larvas del escarabajo japonés *Popillia japonica* (Klein 1992) y en estudios para el control de otras especies determinando que tiene un buen potencial como agente de control biológico. En el CATIE, se mantiene una colección de cepas de *B. popilliae*, colectadas en zonas tropicales y subtropicales, entre las que se han seleccionado algunas altamente promisorias contra al menos dos de las especies de *Phyllophaga* más importantes en América Central.

La principal limitante para el uso de esta bacteria es su reproducción, la cual se debe hacer directamente en la larva debido a su condición de patógeno obligado (Fig. 2). Las investigaciones actuales en CATIE se han centrado en mejorar las metodologías de reproducción y aplicación del inóculo en el campo para disminuir el costo de su uso.

Pese a que existen algunas preparaciones comerciales en el mercado, éstas son bastante específicas para larvas del abejón japonés, *Popillia japonica* y su eficacia para el control de las especies locales de *Phyllophaga* ha resultado baja en pruebas de laboratorio. Sin embargo, la diseminación de cepas nativas de *B. popilliae*, en pequeña escala, es posible utilizando larvas infectadas naturalmente en el campo como fuente de inóculo. Las larvas enfermas pueden ser maceradas en agua para preparar una suspensión de esporas que luego se aplica con equipos convencionales como bombas de espalda o mezclada con talco para su aplicación en polvo. Estimando una producción promedio de  $2,5 \times 10^{10}$  esporas / larva (en *P. menetriesi* y *P. elenans*) se requieren 16 larvas por bomba de espalda de 16 L, con lo cual se pueden cubrir  $400 \text{m}^2$  con una dosis equivalente a  $1 \times 10^{13}$  esporas/ha. Las áreas aplicadas pueden ser luego muestreadas para colectar larvas infectadas que servirán para inocular otras áreas infestadas con la plaga.

### Hongos entomopatógenos

Varios hongos del grupo de los Deuteromicetos tales como *Paecilomyces*, *Hirsutella*, *Verticillium*, *Akanthomyces*, *Beauveria* y *Metarhizium*, han sido observados infectando larvas de escarabeidos; sin embargo, solamente los dos últimos han sido considerados como agentes con potencial para el desarrollo de un micoinsecticida. Ambos hongos son habitantes normales del suelo y están distribuidos globalmente, causando epizootias esporádicas bajo condiciones naturales.

Al igual que para muchas otras plagas, las diferentes cepas de *Beauveria* y *Metarhizium*, no tienen la misma virulencia contra *Phyllophaga* por lo que es necesario llevar a cabo procesos de selección de aislamientos. Las larvas de *Phyllophaga* han evolucionado en un ambiente en que constantemente están en contacto con una gran variedad de microorganismos, incluyendo hongos entomopatógenos, por lo que han desarrollado resistencia contra la mayoría de ellos, haciendo que las cepas patogénicas de alta virulencia sean poco comunes. Algunos mecanismos de defensa contra la infección por hongos son fácilmente identifi-

cables en el campo. El caso más claro es la acumulación de quitina, formando manchas café oscuro, alrededor de los puntos de la cutícula por donde se ha iniciado la penetración del patógeno (Fig. 3) o la encapsulación del microorganismo cuando ya ha penetrado, formando gránulos pardos o negruzcos en el cuerpo graso de la larva.

Se han reportado cuatro especies de *Beauveria* activas contra escarabeidos: *B. bassiana*, *B. brongniartii* (= *B. tenella* y *B. densa*), *B. amorpha* (= *Isaria amorpha*, e *Isaria orthopterorum*), y *B. vermicornia*. Todas las especies producen abundante micelio blanco sobre el cadáver, en algunos casos extendiéndose a varios centímetros de la larva, produciendo masas de conidios blancos o blanco cremoso (Fig. 4). *B. bassiana* y una posible especie nueva de *Beauveria* ha sido aislada de larvas de *P. obsoleta* en Costa Rica. Pruebas de laboratorio con estas cepas produjeron altos porcentajes de mortalidad en larvas de segundo estadio de *P. menetriesi*; sin embargo, no se obtuvo esporulación, y la mortalidad en larvas de tercer estadio y en otras especies de *Phyllophaga* fue muy baja (Shannon *et al.* 1993).

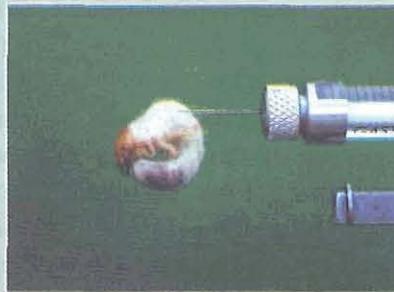
*Metarhizium* produce micelio blanco o amarillo y columnas de conidios verdes que se unen formando típicos bloques muy compactos (Fig. 4). Pese a ser un hongo muy abundante en el suelo, las cepas con buena actividad contra *Phyllophaga* son escasas. De acuerdo a pruebas realizadas en el CATIE, de 160 aislamientos evaluados contra *P. menetriesi*, *P. vicina* y *P. obsoleta*, solamente tres infectaron llegando a producir niveles aceptables de infección en dos o más de las especies. Esta experiencia confirma que la selección adecuada del genotipo probablemente sea un factor crítico para el uso de este hongo en el control de *Phyllophaga*.

### Otros microorganismos

**Nemátodos** de las familias Heterorhabditidae y Steinernematidae portan bacterias que son liberadas dentro del hospedante. La multiplicación de estas bacterias, causa la muerte del insecto y a la vez le permite al nematodo completar su ciclo de vida generando nuevos estadios juveniles que saldrán en busca de nuevas presas. Una ventaja de los nematodos es su movilidad, que se traduce en capacidad para buscar las larvas de *Phyllophaga* en el suelo. Existen métodos de producción masiva y formulación de estos organismos que ha permitido la generación de productos comerciales para otras plagas. Pese a que hay muchos resultados pro-



**Figura 1.** Larva de *Phyllophaga menetriesi* con síntomas de la enfermedad lechosa (Izq) y larva de la misma especie sana (Der).



**Figura 2.** Producción *in vivo* de *B. popilliae* con inoculación de esporas vía inyección.



**Figura 3.** Mancha parda producida por la larva como respuesta al intento de penetración de un patógeno a través de la cutícula.



**Figura 4.** Larva de *Phyllophaga* infectada con *Metarhizium* (Izq) y *Beauveria* (Der).

misorios contra *Phyllophaga* a nivel de laboratorio, su uso en el campo tiene limitaciones biológicas y técnicas que deben superarse.

En CATIE se han recolectado y evaluado muestras nativas de nematodos entomofílicos contra *P. menetriesi* y *P. elenas*, obteniendo porcentajes muy bajos de mortalidad en larvas. Este es un recurso en el cual debe continuarse la investigación para identificar cepas más virulentas.

Algunos **protozoarios**, específicamente de los grupos Microsporidia, Eucoccidiida, Neogregarinida y algunos Eugregarinida, son comúnmente encontrados parasitando larvas de *Phyllophaga* spp. Sin embargo, se conoce poco sobre su ciclo de vida y su verdadero rol en el control de poblaciones de esta plaga.

Se han encontrado algunas **Rickettsias**, principalmente de la especie *Rickettsiella popilliae*, causando enfermedades letales en varias especies de escarabajos. La infección es por ingestión y la muerte puede tardar hasta seis meses en alcanzarse. Pese a que se cree que tienen un papel importante en la dinámica de poblaciones de este grupo de insectos, su uso comercial es incierto debido a que su producción debe hacerse en células vivas y por el peligro que representan

por su condición de patógenos potenciales de vertebrados (Shannon 1996).

### Literatura citada

- Crocker, RL; et al 1982. Field records of pathogens and parasites of scarabs in Texas. Texas Turfgrass Research 1982: 41-42.
- King, ABS; Saunders, JL. 1984. Las plagas invertebradas de cultivos anuales alimenticios en América Central. Londres, UK, TDRI-CATIE/ODA. p.90-93.
- Klein, MG. 1992. Use of *Bacillus popilliae* in Japanese beetle control. In Jackson, TA; Glare, TR. Eds. Use of pathogens in scarab pest management. Andover, Gran Bretaña, Intercept. p. 179-189.
- Klein MG; Jackson, TA. 1992. Bacterial diseases of scarabs. In Jackson, TA; Glare, TR. (eds), Use of pathogens in scarab pest management. Andover, Gran Bretaña, Intercept. p. 43-61
- Porprawski, TJ; Yule, WN. 1990. Bacterial pathogens of *Phyllophaga* spp. (Col: Scarabaeidae) in southern Quebec. Journal of Applied Entomology 109: 414-422.
- Shannon, PJ; Smith, SM; Hidalgo, E. 1993. Evaluación en el laboratorio de aislamientos costarricenses y exóticos de *Metarhizium* spp. y *Beauveria* spp. contra larvas de *Phyllophaga* spp. (Coleoptera: Scarabaeidae). In Diversidad y Manejo de Plagas Subterráneas. Veracruz, México, Sociedad Mexicana de Entomología/ Instituto de Ecología. p. 203-215.
- Shannon, PJ. 1996 Control microbiano de *Phyllophaga* spp. (Col: Melolonthidae). In Shannon, PJ; Carballo, M. Eds. Biología y control de *Phyllophaga* spp. CATIE, PRIAG. p. 80-93.

# Actividad enzimática de hongos y su patogenicidad sobre *Hypothenemus hampei*

Fernando Delgado Blandón\*  
Yamel López Forero\*\*  
Elsa María Giraldo Cardozo\*\*\*

**RESUMEN.** Se evaluaron seis aislamientos de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* para cuantificar la actividad catalítica de cinco enzimas y su relación con la patogenicidad sobre la broca del café (*Hypothenemus hampei*). Se utilizaron aislamientos con diferentes grados de patogenicidad, produciendo una variedad de enzimas extracelulares como lipasa, proteasa, fenoloxidasa, B-N-acetilglucosaminidasa (nagasa) y quitinasa que se relacionan con los componentes principales de la cutícula del insecto. En los aislamientos 9205 y 9620 de *B. bassiana* y los aislamientos 9236 y 9303 de *M. anisopliae* se encontró relación directa entre la patogenicidad y la actividad catalítica mayor del 50% de la actividad total para quitina, proteasa y lipasa. Se determinó actividad catalítica máxima para lipasa, proteasa y fenoloxidasa en etapas tempranas del desarrollo del hongo y de nagasa y quitinasa en etapas tardías. Algunos aislamientos presentaron actividad catalítica inferior a 50% de la actividad total evaluada. En otros aislamientos no se encontró relación entre la actividad catalítica y la patogenicidad. Este estudio permite deducir que el mecanismo enzimático es parte de la acción integral del proceso de infección.

**Palabras claves:** *Hypothenemus hampei*, *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, Enzimas, Actividad específica, Espectrofotometría.

**ABSTRACT.** Enzymatic activity of fungi and their pathogenicity to *Hypothenemus hampei*. Six pathogenic isolates of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* were evaluated in order to quantify the catalytic activity of five enzymes and their relation to pathogenicity against the coffee berry borer (*H. hampei*). Isolates with different degrees of pathogenicity were used, producing a variety of extracellular enzymes such as lipase, protease, phenoloxidase, B-N-acetylglucosaminidase (nagase) and chitinase that are related to the main components of the insect cuticle. In the 9205 and 9620 isolates of *B. bassiana* and the 9236 and 9303 isolates of *M. anisopliae* a direct relation was found between pathogenicity and catalytic activity greater than 50% of the total activity for chitinase, protease and lipase. The maximum catalytic activity was determined for lipase, protease and phenoloxidase in the early development stages of the fungus and for nagase and chitinase in the late stages. Some isolates showed a catalytic activity of less than 50% of the total activity evaluated. In other isolates a relation was not found between catalytic activity and pathogenicity. This study indicates that the enzymatic mechanism is part of the integral action of the infection process.

**Key words:** *Hypothenemus hampei*, *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, Enzymes, Specific activity, Spectrophotometry

## Introducción

En diversos centros de investigación del mundo se han llevado a cabo estudios relacionados con la biología y patogenicidad de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae*, los cuales han mostrado gran potencial para el control de plagas en cultivos de importancia económica.

Los entomopatógenos atacan al insecto a través de la cutícula, donde germinan las esporas, produciendo hifas invasoras que penetran los tejidos del hospedante (Castellanos 1997, Paterson *et al.* 1994, Smith *et al.* 1981, St. Leger *et al.* 1986, Zimmerman 1993). Las hifas se ramifican, colonizan y llegan hasta la cavidad

\* Centro Nacional de Investigaciones del Café, (Cenicafé) Chinchiná, Caldas, Colombia. Correo electrónico: Fernando.Delgado@cafedecolombia.com

\*\* Universidad Nacional de Colombia, Sede Palmira. Valle, Colombia.

\*\*\* Centro Nacional de Investigaciones del Café (Cenicafé) Chinchiná, Caldas, Colombia.

hemocélica, donde se produce una masa micelial por el crecimiento del hongo, además se liberan toxinas que están implicadas en el proceso de bloquear el desarrollo fisiológico del insecto.

En la literatura se ha indicado la posible relación entre la actividad enzimática de estos hongos y su patogenicidad al insecto sobre el cual se dirige el control. Diversos estudios ultraestructurales e histoquímicos sugieren que en el proceso infectivo del hongo hacia el insecto existe degradación de la cutícula donde se encuentran implicadas varias enzimas (fenoloxidasa, proteasa, lipasa, quitinasa y N-acetilglucosaminidasa o nagasa). Algunas partes de la cutícula del insecto son más susceptibles al ataque enzimático producido por los entomopatógenos, siendo importante, no sólo la actividad catalítica del complejo enzimático producido sino también el sitio específico de la acción de las enzimas sobre la cutícula (Castellanos 1997, Paterson *et al.* 1994).

La producción a escala y la obtención de una formulación eficaz de *B. bassiana* y *M. anisopliae* como agentes de control biológico, requiere profundizar en el conocimiento de aspectos genéticos, bioquímicos, fisiológicos, factores de virulencia y estudios ecoambientales donde los entomopatógenos ejercen su espectro de acción.

Es necesario cuantificar la actividad catalítica de las enzimas producidas por *B. bassiana* y *M. anisopliae* patogénicos a *Hypothenemus hampei* y relacionarla con la patogenicidad como uno de los parámetros a evaluar dentro del mecanismo de infección de *B. bassiana* y *M. anisopliae* sobre insectos plaga (Castellanos 1997, Smith *et al.* 1981).

El objetivo de este trabajo fue cuantificar la actividad catalítica de las enzimas proteasa, lipasa, fenoloxidasa, nagasa y quitinasa y su relación con la pato-

genicidad de seis aislamientos de *B. bassiana* y *M. anisopliae*.

## Materiales y métodos

### Aislamientos y medio de cultivo

Se utilizaron aislamientos de *B. bassiana* y *M. anisopliae* provenientes de la micoteca del Centro Nacional de Investigaciones de Café (Cenicafé), patogénicos a *H. hampei*. Los aislamientos de *B. bassiana* Bb9205 y Bb9620 con patogenicidad > a 90%, Bb9009 y Bb9010 con patogenicidad < al 14%, *M. anisopliae* Ma9236 y Ma9303 con patogenicidad entre el 80 y 90% se reactivaron en medio agar-broca (González *et al.* 1993). Para la preparación del medio de cultivo se licuaron 7,27g de adultos de *H. hampei* en 750 ml de agua, se agregaron 15 g de agar y se esterilizó el medio a 121°C y 15 libras de presión durante 15 min. El medio inoculado con cada uno de los aislamientos se incubó a temperatura ambiente, y la patogenicidad fue clasificada según la escala de Vélez *et al.* (1998) y Padilla (1998): grupo 1=0-25%, grupo 2=26-50%, grupo 3=51-80% y grupo 4=81-100%. (Cuadro 1).

### Propagación

La cuantificación de las esporas se llevó a cabo a partir de una solución madre, la cual contenía esporas del hongo en estudio. A esta se le agregó 10 ml de tween 80 al 1% y glicerina al 0,25%. Después de la determinación de la concentración de esporas, se inocularon  $1 \times 10^7$  esporas en 100 ml de medio líquido de sales basales (solución amortiguadora fosfato 0,1 M, pH 6,6;  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  2,028 mM,  $ZnSO_4$  0,006199 mM, NaCl  $3,4 \times 10^{-2}$   $\mu M$  y 0,4 g de cutícula de broca), esterilizado por filtración. Una vez inoculado el medio, conteniendo sales basales y cutícula de broca se incubó el sistema bajo agitación rotacional a 2,0 Hz y a temperatura ambiente.

**Cuadro 1.** Aislamientos de *B. bassiana* y *M. anisopliae* seleccionados para la cuantificación enzimática de acuerdo a su origen, hospedante, patogenicidad y tipo de cultivo.

Código	Origen	Insecto Hospedante		Patogenicidad		Tipo de cultivo
		Orden-Familia	Género-especie	%	Escala	
Bb9205	Colombia	Lepidóptera : Pyralidae	<i>Diatraea saccharalis</i>	94	4	Multiespórico
Bb9009	Colombia	Lepidóptera: Noctuidae	<i>Spodoptera frugiperda</i>	4	1	Multiespórico
Bb9010	Colombia	Coleóptera : Scolytidae	<i>Hypothenemus hampei</i>	14	1	Multiespórico
Ma9236	Colombia	Lepidóptera : Pyralidae	<i>D. saccharalis</i>	88	4	Multiespórico
Bb9620	Colombia	Coleóptera : Scolytidae	<i>H. hampei</i>	> 90	4	Monoespórico
Ma9303	Colombia	Coleóptera : Scolytidae	<i>H. hampei</i>	> 90	4	Monoespórico

Escala de patogenicidad: Grupo 1: 0-25%; Grupo 2: 26-50%; Grupo 3: 51-80%; Grupo 4: 81-100%. Fuente: Vélez *et al.* (1998), Padilla (1998).

Las cutículas de broca usadas en el medio de cultivo se prepararon a partir de insectos adultos lavados con agua destilada estéril, luego se maceraron en un mortero de ágata, y se lavaron con 50 ml de  $K_2B_4O_7$  (Tetraborato de potasio) al 1%. Posteriormente, se lavaron dos veces con agua destilada estéril, se secaron a 30°C y se separaron las partes blandas mediante filtración en malla de nailon, luego se esterilizaron a 121°C y 15 libras de presión durante 15 min. Se adicionaron 0,4% de cutículas en polvo al medio líquido. En el período de incubación y durante 20 días se evaluó el pH, la germinación y la patogenicidad de los hongos sobre *H. hampei*.

#### **Obtención de los sobrenadantes**

De los días 0,75; 3; 5; 7; 9; 12; 15 y 20 se obtuvieron los extractos del medio de cultivo y se filtraron sobre papel "rundfilter" 595 y al vacío, el sobrenadante se centrifugó a 8000 g durante 20 min y se concentró por ultrafiltración sobre membranas de exclusión micropor 100 kDa bajo flujo de  $N_2$  a 4°C. El concentrado se dializó sobre membranas de micropor de 10 kDa para eliminar los compuestos de baja masa molecular. En los sobrenadantes pasados por membranas mayores de 100 kDa se evaluó la actividad de la fenoloxidasas y la nagasa, y en los pasados por membranas menores de 100 kDa la actividad de la lipasa, la proteasa y la quitinasa.

#### **Cuantificación de la actividad enzimática**

Se realizó por métodos espectrofotométricos utilizando la ley de Beer-Lambert ( $A = \epsilon \cdot C \cdot l$ ) donde ( $A$ ) es la absorbancia, ( $\epsilon$ ) es el coeficiente de extinción específico del producto formado durante la reacción y ( $l$ ) la longitud del espesor de la celda utilizada para el paso de la luz a través de la solución. En general, se valoró el cambio de densidad óptica generado por los productos de hidrólisis conjugados con colorantes específicos (Bergmeyer 1984, Segel 1982).

#### **Actividad de la lipasa**

Se usaron 100  $\mu$ l del extracto del hongo, que se incubó durante 30 min a 37°C en presencia de la sustancia amortiguadora fosfato 0,05M pH 7,0 y p-nitrofenillaureato 0,025M.

La reacción se detuvo con NaOH 0,1M y la mezcla se centrifugó a 11000 g durante 10 min; se registró la liberación del p-nitrofenol a 400 nm en un espectrofotómetro Unicam UV2 y los resultados se expresaron como actividad específica  $\mu$ mol de producto liberado por hora por mg de la proteína presente en la muestra.

Se cuantificó la cantidad de p-nitrofenol que libera la lipasa del hongo cuando actúa sobre p-nitro-

fenillaureato. Una unidad de actividad enzimática se definió como la cantidad de enzima que convierte 1  $\mu$ mol de p-nitrofenillaureato a p-nitrofenol en un min.

El coeficiente de extinción utilizado del p-nitrofenol fue  $\epsilon = 18,4 \cdot 10^{-3}/M/cm$  (Colomick y Kaplan 1970).

#### **Actividad de la proteasa**

Se mezcló 100 ml del extracto del hongo con 100  $\mu$ l de solución de azocaseína 1% (P/V) (para hidrolizar la azocaseína a grupo azo y aminoácidos libres) luego se incubó la mezcla por 30 min a 37 °C en presencia de solución amortiguadora fosfato 0,05 M pH 7,0. La reacción se detuvo con 100  $\mu$ l de ácido tricloroacético al 10% y la mezcla se centrifugó a 11000 g durante 10 min. Se registro la liberación del grupo AZO a 340 nm. Los resultados expresados como actividad específica que corresponden a la cantidad de enzima que libera 1  $\mu$ mol de grupo AZO en 1 min utilizando un coeficiente de extinción  $\epsilon = 98/M/cm$  (Sigma 1999).

#### **Actividad de la fenoloxidasas**

La actividad de la fenoloxidasas se determinó en celdas de poliestireno de 1ml, se incubaron 150  $\mu$ l del extracto del hongo, 500  $\mu$ l de una solución amortiguadora fosfato 0,1M, pH 6,8, durante 10 min a 30°C. Se disparó la reacción con 350  $\mu$ l del sustrato Dopa (Merck) al 0,5%. La reacción fue monitoreada a 480 nm en un espectrómetro Beckman (DU-650).

Para cuantificar la actividad específica se estimó la proteína total y el respectivo coeficiente de extinción para dopaquinona  $\epsilon = 3378/M/cm$  (Wahe 1976).

Una unidad enzimática se definió como la cantidad de enzima que transforma 1  $\mu$ mol de Dopa a dopaquinona en un min. Los resultados fueron expresados en actividad específica  $\mu$ mol de producto liberado / h / mg de proteína presente en la muestra.

#### **Actividad de la nagasa**

Para determinar la actividad de la nagasa se utilizaron 100  $\mu$ l del extracto del hongo con 500  $\mu$ l de solución amortiguadora citrato-fosfato 0,1M, pH 5,0. Esta mezcla se incubó a 28°C durante 10 min, se disparó la reacción con 400  $\mu$ l del sustrato nagasa a una concentración de 1,46 mM. Se realizó un monitoreo continuo a 405 nm durante 10 min.

Una unidad de actividad enzimática se definió como la cantidad de enzima que convierte 1  $\mu$ mol de nagasa en un min.

El coeficiente de extinción utilizado para el p-nitrofenol fue  $\epsilon = 18,4 \cdot 10^{-3}/M/cm$  (Colomick y Kaplan 1970).

### Actividad de la quitinasa

Se utilizaron 100  $\mu$ l de sobrenadante del hongo en reacción con 200  $\mu$ l de quitina coloidal (5mg/ml en solución amortiguadora acetato de sodio 0,1M pH 5,0). La mezcla se incubó a 50°C por 30 min y la reacción se paró a -15°C. Se adicionó 200  $\mu$ l de reactivo Somogyi I, 50 $\mu$ l del reactivo Somogyi II y se incubó en baño de agua durante 30 min a 92°C. Se dejaron enfriar los tubos y se le adicionó a cada uno 250  $\mu$ l de la solución de Nelsón y agua destilada hasta 1 ml. Dieciséis horas después se centrifugaron las muestras contenidas en los tubos, se recogió 1ml del sobrenadante y se leyó a 595 nm.

Se utilizó como blanco 250 $\mu$ l de Somogyi I, 250 $\mu$ l de Somogyi II, 250 $\mu$ l de solución amortiguadora acetato de sodio y 250 $\mu$ l de solución de Nelsón. El coeficiente de extinción de la nagasa reportado fue  $\epsilon = 10/M/cm$  (Reissig *et al.* 1957).

### Proteínas totales

La cuantificación de proteínas totales se realizó utilizando el método de Bradford (Bradford 1976). Con estos valores se elaboró la curva correspondiente utilizada como patrón para cuantificar la proteína total presente en los sobrenadantes de los hongos.

### Resultados y discusión

El medio líquido de sales basales y cutícula de broca utilizada como fuente de carbono y nitrógeno para la propagación del hongo presentó un pH estable  $6,6 \pm 0,2$  y permitió un crecimiento rápido de los hongos con abundante formación de conidias y micelio.

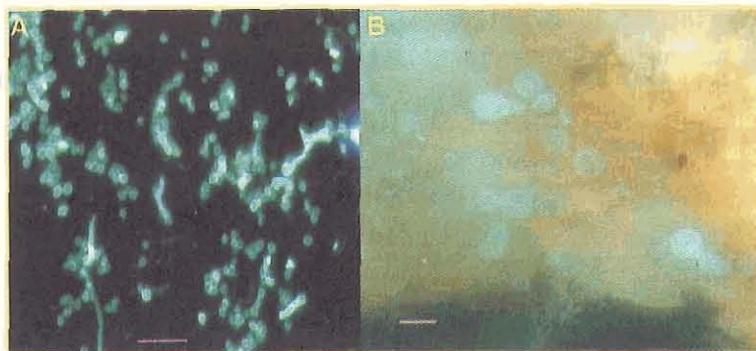
Las observaciones realizadas mediante microscopio óptico y de fluorescencia permitió evidenciar adhesión, muy temprana, de los hongos a los fragmentos de cutícula de *H. hampei* (Fig. 1).

La mayor actividad de la lipasa y proteasa se presentó en los extractos de los aislamientos Ma9236 y Ma9303 con una actividad catalítica superior al 50%. Los niveles máximos de actividad lipolítica en los aislamientos de *B. bassiana* y *M. anisopliae* se presentaron entre los 3 y 5 días, sin evidenciar diferencias significativas entre las dos especies de entomopatógenos (Cuadro 2, Figs. 2 y 3).

En estos aislamientos se encontró la máxima actividad catalítica para proteasas de 0,0992 y 0,1362  $\mu$ mol de AZO/min.mg de proteína en los aislamientos Bb9620 y Ma9236, respectivamente; lipasas de 0,1390 y 0,1658  $\mu$ mol de PNP/min.mg de proteína para los aislamientos Ma9303 y Ma9236, respectivamente. En el caso de fenoloxidasas 16,2 y 3,23  $\mu$ mol/hora.mg de proteína para los aislamientos Bb9010 y Bb9009, respectivamente; nagasa presentó actividad 1,43  $\mu$ mol/hora.mg de proteína y 1,096  $\mu$ mol/hora.mg de proteína para Bb9009 y Bb9010; quitinasa presentó actividad catalítica de 38,2 y 22,37mmol/hora.mg de proteína para Bb9205 y Bb9620, respectivamente.

La actividad de la fenoloxidasas mostró niveles variables y se observó que en Bb9205 y Bb9009 se produce alta actividad catalítica durante los primeros días de crecimiento del hongo (Cuadro 2, Fig. 4).

La presencia de componentes fenólicos y oxidasas cuticulares en el integumento del insecto (Andersen 1980) frecuentemente da como resultado melanización alrededor de la hifa penetrante. Dada la conocida susceptibilidad de los microorganismos y sus enzimas a los fenoles, se sugiere que las reacciones de melanización tienen efectos antifúngicos (Charnley 1984). La melanina en la cutícula de insectos puede ofrecer protección fisicoquímica a los componentes cuticulares, protegiéndolos de la degradación enzimática. Una si-

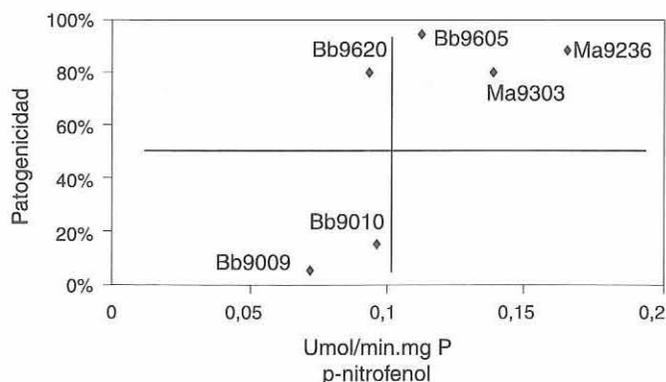


**Figura 1.**

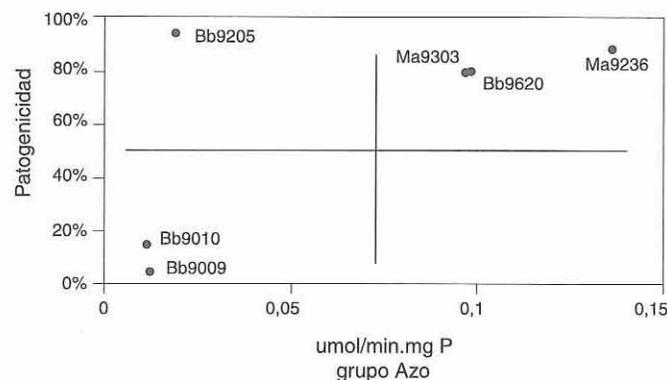
Microfotografías de fluorescencia con "Calcofluor White" mostrando esporas con tubo germinativo de *B. bassiana* (A y B) adheridas a fragmentos de cutícula de broca. Escala de barras (A= 10 $\mu$ m) y (B= 1 $\mu$ m).

**Cuadro 2.** Máxima actividad enzimática específica en  $\mu\text{mol}/\text{min.}/\text{mg}$  de proteína y día de registro durante los 20 días de observación para los diferentes aislamientos de *B. bassiana* y *M. anisopliae*

Código	Patogenicidad (%)	Proteasa		Lipasa		Fenoloxidasas		Nagasa		Quitinasa	
		Actividad	Día	Actividad	Día	Actividad	Día	Actividad	Día	Actividad	Día
Bb9009	4	0,01243	3	0,0723	5	3,23	3	1,430	7	16,14	9
Bb9010	14	0,01150	7	0,0963	5	16,2	7	1,096	7	6,31	7
Bb9205	94	0,01856	7	0,1127	3	7,43	0,75	0,188	20	38,29	9
Ma9236	88	0,13621	5	0,1658	5	2,55	3	0,355	3	15,85	3
Bb9620	>90	0,0992	7	0,0938	3	0,61	11	0,498	20	22,37	0,75
Ma9303	>90	0,0980	3	0,1390	5	0,374	0,75	0,129	15	5,30	0,75



**Figura 2.** Relación entre la actividad catalítica de la lipasa producida por los hongos *B. bassiana* y *M. anisopliae* sobre el sustrato p-Nitrofenillaureato y su patogenicidad sobre *H.hampei*.



**Figura 3.** Relación entre la actividad catalítica de la proteasa producida por los hongos *B. bassiana* y *M. anisopliae* sobre el sustrato azocaseína y su patogenicidad sobre *H.hampei*.

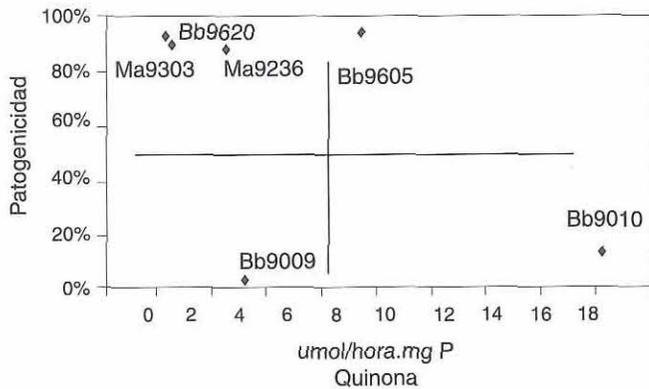
tuación análoga ocurre en plantas superiores las cuales producen lignina en respuestas a heridas o infección (Ride 1983). Los precursores fenólicos de bajo peso molecular como las quinonas y radicales libres disponibles antes de su polimerización pueden inactivar las enzimas que degradan la pared celular de un gran número de patógenos para plantas (Ride 1983). Es importante conocer si esta situación puede ocurrir en la quitina cuticular de insectos cuando éstos se encuentran en presencia de hongos entomopatógenos.

En las preparaciones del sustrato utilizando cutículas de *H. hampei* no se retiraron los componentes fenólicos, ni sus derivados, los cuales pueden inhibir algunas enzimas (Hoffmann 1963); sin embargo, no hubo evidencia de inhibición en la mayoría de los extractos estudiados y no se encontraron depósitos de pigmentos negros en los sitios de entrada de las hifas o tubos germinativos hacia la cutícula, lo que evidenciaría que quinonas de la cutícula no interfirieron con las estructuras infectivas de los entomopatógenos estudiados.

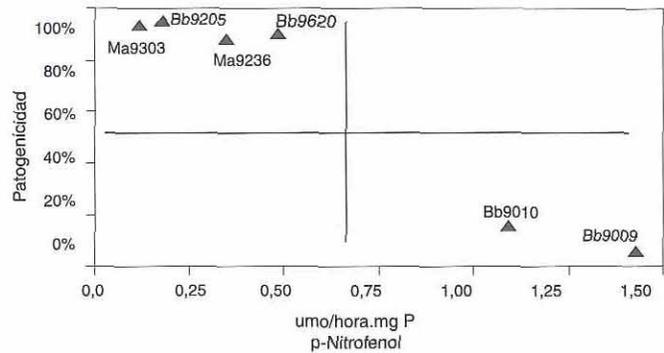
La actividad de la nagasa fue similar a la determinada en los estudios realizados por otros investi-

gadores y que presentan pesos similares entre 110 y 140 kDa (Kimura 1977, Spindler 1976). La producción de nagasa se encontró después de la de proteasa y lipasa. La actividad de la nagasa más alta se presentó en sobrenadantes pasados por membranas mayores de 100 kDa (Cuadro 2, Fig.5). Los resultados se pueden comparar con actividades máximas reportadas entre un pH 4,3-6,3 (Powning y Irzykiewicz 1964). En otros estudios se realizaron pruebas para demostrar histoquímicamente la presencia de nagasa durante la penetración y crecimiento del hongo sobre la cutícula de *Galleria mellonella* (Pugh et al. 1957).

Se determinó alta actividad quitinasa en los extractos menores de 100 kDa, mostrando relación con las encontradas en otros microorganismos. Estas propiedades incluyen un pH óptimo de 5,0-5,5 y también el peso molecular de la quitinasa (33000 daltons) es similar a las enzimas de *Streptomyces*, *Serratia marcescens* (36000) y *Phycomyces blakesleeianus* (30000) (Cohen 1974, Jeuniaux 1963, Lysenko 1976, Unestam 1968) (Cuadro 2 y Fig. 6).



**Figura 4.** Relación entre la actividad catalítica de la fenoloxidasa producida por los entomopatógenos *B. bassiana* y *M. anisopliae* sobre el sustrato DOPA (L-3,4-Dihidroxifenil-alanina) y su patogenicidad sobre *H.hampei*.



**Figura 5.** Relación entre la actividad catalítica de nagasa producida por los entomopatógenos *B. bassiana* y *M. anisopliae* sobre el sustrato p-Nitrofenil-N Acetil-B-D glucosaminida y su patogenicidad sobre *H. hampei*.

Los resultados indican que la lipasa y proteasa tienen un papel importante en los primeros días de contacto del patógeno con el hospedante, participando en la degradación de los lípidos y proteínas de la cutícula, lo cual puede facilitar la penetración del hongo a los tejidos del insecto. Esto coincide con Bidochka y Khachatourians (1990) que señalan que la proteasa es probablemente la enzima más importante en la patogenicidad de un aislamiento.

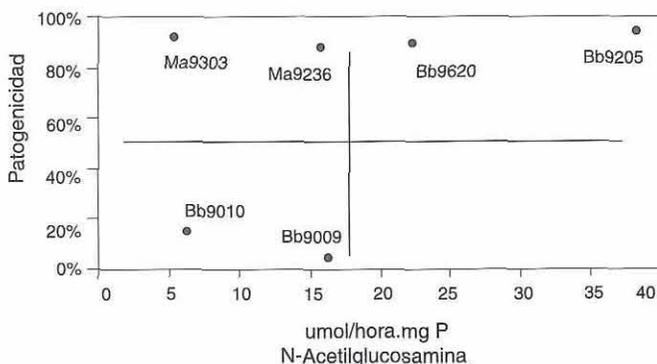
En la mayoría de los aislamientos, las enzimas aparecieron secuencialmente y mostraron distintas fases de producción. Esto se relaciona con los informes de varios investigadores, posiblemente, porque la cutícula del insecto presenta una capa de proteínas y lípidos que se encuentra cubriendo la capa de quitina. Por lo tanto, el hongo hidroliza los lípidos y proteínas

durante los primeros días y queda expuesta la quitina para que actúen enzimas como la nagasa y la quitinasa en etapas tardías, lo cual ratifica que el mecanismo enzimático es parte de la acción integral del proceso de infección.

Se encontró variabilidad en las actividades enzimáticas y éstas difieren entre algunos aislamientos, sugiriendo la presencia de metabolitos secundarios en el medio líquido, esto se debe a la formación de productos finales durante el origen de una reacción enzimática, sufriendo reacciones secundarias entre ellos, con sustratos no reactivos, con proteínas y con otros constituyentes.

Los resultados muestran que existe correlación entre la actividad específica de algunas enzimas producidas por hongos y su patogenicidad, pero no para otras. Esta variación en la actividad enzimática puede ser explicada por diferencias en las tasas de crecimiento, las fases secuenciales en la producción de enzimas de los hongos, lo mismo que en el sustrato empleado debido a la utilización de insectos adultos que presentaron fragmentos esclerotizados e insectos jóvenes que presentaron pocas capas lipídicas y enlaces débiles formados por proteínas y quitina. También la variabilidad genética, la ecología, la fisiología de los hongos, de los insectos y la resistencia de éstos a los entomopatógenos, en conjunto son una de las causas de la variabilidad en la producción enzimática.

La evaluación realizada sirve de base para el estudio de la cinética enzimática de la lipasa, proteasa, fenoloxidasa, nagasa y quitinasa.



**Figura 6.** Relación entre la actividad catalítica de la quitinasa producida por los hongos *B. bassiana* y *M. anisopliae* sobre el sustrato quitina y su patogenicidad sobre *H. hampei*.

## Agradecimientos

El presente estudio se realizó gracias al apoyo financiero del Instituto Colombiano para el Desarrollo de la Ciencia y la Tecnología "Francisco José de Caldas" COLCIENCIAS, la Federación Nacional de Cafeteros de Colombia a través de su centro de investigaciones CENICAFÉ y la Universidad Católica de Manizales (Caldas).

## Literatura citada

- Andersen, SO. 1980. Cuticular sclerotization. *In* Cuticles techniques in arthropods, Miller, TA. Ed. New York, Springer-Verlag. p. 185-217.
- Bergmeyer, HU. 1984. Methods of enzymatic analysis. Enzymes: Peptidase, proteinases and their inhibitors. Weinheim, Verlag Chamie. 340 p.
- Bidochka, MJ; Khachatourians, GG. 1990. Identification of *Beauveria bassiana* extracellular protease as a virulence factors in pathogenicity towards the migratory grasshopper *Melanoplus sanguinipes*. *Journal of Invertebrate Pathology* 56: 362-370.
- Bradford, MA. 1976. Rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* (72): 248-254.
- Castellanos, D. 1997. Importancia en la patogenicidad de la acción enzimática del hongo *Beauveria bassiana* sobre la broca del café. *Revista Colombiana de Entomología* 23 (1-2): 65-71.
- Charnley, AK. 1984. Physiological aspects of destructive pathogenesis in insects by fungi: a speculative review. *In* Invertebrate-Microbial Interactions. British Mycological Society Symposium (6, 1984, London). Anderson, JM; Rayner, ADM; Walton, DWH. Ed. London, Cambridge University Press. p.229-270
- Cohen, RJ. 1974. Some properties of chitinase from *Phycomyces blakesleeanus*. *Life Sciences* 15:289-300.
- Colomick, SP; Kaplan, NO. 1970. Methods in enzymology proteolytic enzymes. Gertrude, E. Ed. New York, Academic Press. v.19. 340 p.
- González, MT; Posada, FJ; Bustillo, AE. 1993. Desarrollo de un bioensayo para evaluar la patogenicidad de *B. bassiana* sobre *Hypothenemus hampei*. *Cenicafé (Colombia)* 44(3): 93-102.
- Hoffmann-Ostenhof, O. 1963. Enzymes inhibited by quinones. *In* Metabolic Inhibitors. Hochster, RM; Quastel, JH. Eds. New York, Academic Press. p. 145-159.
- Jeuniaux, CH. 1963. Chitine et chitinolyse, un chapitre de la Biologie Moléculaire. Paris, Masson.
- Kimura, S. 1977. Insect haemolymph exo- $\beta$ -N Acetilglucosaminidase from *Bombyx mori*. *Biochem. Biophys. Acta* 446:399-406.
- Lysenko, O. 1976. Chitinase of *Serratia marcescens* and its toxicity to insects. *J. Invertebr. Pathol.* 27: 385-386.
- Padilla GN. 1998. Caracterización patogénica y morfológica de aislamientos del hongo entomopatógeno *Metarhizium anisopliae* provenientes de diferentes ordenes de insectos. Colombia, Universidad Católica de Manizales. 75 p.
- Paterson, I; Charnley, K; Cooper, R; Clarkson, J. 1994 Specific induction of cuticle-degrading protease of the insect pathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. *Microbiology* (140): 185-189.
- Powning, RF; Irzykiewicz, H. 1964.  $\beta$ -Acetylglucosaminidase in the cockroach, (*Periplaneta americana*) and in the puff ball (*Lycerdon perlatum*). *Com. Biochem. Physiol.* 12:405-415.
- Pugh, D; Leaback, DH; Walker, PG. 1957. Studies on glucosaminidase, N-acetyl- $\beta$ -glucosaminidase in rat kidney. *Biochem. J.* 65, 464-469.
- Reissig, J; Straminger, J; Leloir, F. 1957. A modified colorimetric method for the estimation of N- acetyl amino sugars. *Journal of Biological Chemistry* 217: 959-966
- Ride, JP. 1983. Cell walls and other structural barriers in defense. *In* *Biochem. Plant Pathol.* Callow, JA. Ed. London, John Wiley.
- Segel, JH. 1982. Cálculos de bioquímica España, Editorial Acribia. 450 p.
- Sigma Technical Service Sigma-techserv@sial.com 1999
- Smith, RJ; Pekrul, S; Grula, EA. 1981. Requirement for sequential enzymatic activities for penetration of the integument of entomopathogenic hyphomycetes. *Journal of Invertebrate Pathology* 38:335-344.
- St. Leger, R; Charnley, K; Cooper, RM. 1986. Cuticle degrading enzymes of entomopathogenic fungi: Synthesis in culture on cuticle. *Journal of Invertebrate Pathology* 48: 85-95
- Spindler, KD. 1976. Initial characterization of chitinase and chitobiase from the integument of *Drosophila hydei* Insect. *Biochem* 6:663-667.
- Unestam, T. 1968. Some properties of unpurified chitinase from the crayfish plaque fungus *Aphanomyces astaci*. *Physiologia Plantarum* 21:137-147.
- Velez, AP; González, MT; Rivera, A; Bernal M, G; Bustillo, A; Estrada, MN. 1998. Caracterización de aislamientos de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* de la colección de hongos entomopatógenos de CENICAFÉ. *In* Congreso SOCOLEN (25, 1998, Cali, Colombia). Resúmenes p. 13
- Wahe, JH. 1976. Calculating extinction coefficients for enzymatically produced o-Quinones. *Analytical biochemistry* 75: 211-218.
- Zimmerman, G. 1993. The entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* and its potential as a biocontrol agent. *Pesticide Science* 37:373-379.

## Evaluación del efecto insecticida de extractos de plantas sobre *Leptophobia aripa elodia*

Luis A. Ramírez-Moreno\*  
Luis E. García-Barrios\*  
Cesáreo Rodríguez Hernández\*\*  
Helda E. Morales\*  
Adriana E. Castro Ramírez\*

**RESUMEN.** En Los Altos de Chiapas, México, el repollo o col (*Brassica oleracea* var. *capitata*) es uno de los cultivos hortícolas más importantes. Este es afectado, principalmente, por el gusano de la col, *Leptophobia aripa elodia* Boisd. (Lepidoptera: Pieridae). El control de esta plaga se basa principalmente en el uso de insecticidas sintéticos, los cuales ocasionan problemas ambientales. Con el fin de encontrar insecticidas vegetales que permitan reducir el daño ocasionado por la plaga y el uso de los insecticidas sintéticos, se evaluaron extractos acuosos de 15 plantas silvestres de la región, pertenecientes a géneros que han sido mencionados en la literatura como promisorias para el control de piéridos. Se desarrolló un método para evaluar extractos acuosos sobre plantas de repollo infestadas con larvas de *L. aripa elodia* en un invernadero, y se comparó el porcentaje de mortalidad y repelencia de larvas con cada tratamiento con relación al testigo (agua). El método desarrollado permitió identificar que el instar II de la larva es el más adecuado para la evaluación, y reduce al mínimo la mortalidad por manipulación o por otros factores ajenos al efecto de los extractos. Ninguna de las plantas evaluadas mostró diferencias significativas con respecto al testigo. Sin embargo, las especies *Pteridium aquilinum*, *Equisetum myriochaetum* y *Senecio salignus* mostraron porcentajes de mortalidad de 27, 25 y 19%, respectivamente.

**Palabras clave:** *Leptophobia aripa elodia*, Insecticidas botánicos, *Brassica oleracea*, Extractos acuosos.

**ABSTRACT.** Evaluation of the insecticidal effect of plant extracts of *Leptophobia aripa elodia*. In the Highlands of Chiapas, Mexico, cabbage (*Brassica oleracea* var. *capitata*) is one of the most important horticultural crops. It is affected principally by the cabbage white butterfly, *L. aripa elodia* Boisd. (Lepidoptera: Pieridae). Control of this pest is based mainly on the use of synthetic insecticides, which cause environmental problems. In order to find plant insecticides that might reduce the damage caused by the pest and the use of synthetic insecticides, aqueous extracts of 15 plants native to the region, belonging to genera that have been reported in the literature as promising for the control of Pieridae were evaluated. A method was developed to test aqueous extracts on cabbage plants infested with *L. aripa elodia* larvae in a greenhouse and the percentage mortality and repellency of larvae in each treatment was compared with the control (water). The method developed identified the II instar of the larva as the most suitable for the evaluation, reducing to a minimum mortality due to manipulation or other factors not related to the effect of the extracts. None of the plants evaluated showed significant differences with respect to the control. However the species *Pteridium aquilinum*, *Equisetum myriochaetum* and *Senecio salignus* showed mortalities of 27, 25 and 19%, respectively.

**Key words:** *Leptophobia aripa elodia*, Botanical insecticides, *Brassica oleracea*, Aqueous extracts.

### Introducción

El repollo o col, *Brassica oleracea* var. *capitata* L., uno de los principales cultivos en la región de Los Altos de Chiapas, es atacado severamente por el gusano defo-

liador de la col, *Leptophobia aripa elodia* Boisd. (Lepidoptera: Pieridae). La abundancia de plaguicidas sintéticos y la falta de capacitación sobre el manejo integrado de plagas han propiciado que los agricultores

\* El Colegio de La Frontera Sur, San Cristóbal de Las Casas Chiapas, México. Correo electrónico: iramirez@slc.ecosur.mx, lgarcia@slc.ecosur.mx, bruhel@hotmail.com, acaastro@slc.ecosur.mx

\*\* Instituto de Fitosanidad, Colegio de Postgraduados, Montecillo, Texcoco, Estado de México, México. crhernan@colpos.colpos.mx

intensifiquen el uso de estos productos (Montoya *et al.* 1998). Por tanto, es necesario encontrar otras alternativas para el control de esta plaga, que permitan disminuir los costos de control, la contaminación y los problemas de salud.

Una de estas alternativas es el uso de sustancias de origen vegetal (Endersby y Morgan 1991, Rodríguez y Lagunes 1992). Las plantas producen metabolitos secundarios que disuaden el ataque de insectos (Espinosa-García y Delgado 1998) y ésto ha sido aprovechado desde hace siglos para elaborar insecticidas naturales (Henrick 1995, Singh 1996). Los extractos vegetales se preparan con diferentes disolventes como agua, alcohol, éter etílico, aceite, acetona y benceno (Rodríguez 1993), que extraen distintos metabolitos con diferentes efectos. La disolución acuosa extrae solo una parte de los metabolitos, pero la técnica es la más sencilla y económica para los agricultores y reduce el riesgo de contaminación y accidentes (Rodríguez 1990, Lagunes y Villanueva 1994).

Grainge y Ahmed (1988) reportaron 70 especies vegetales con actividad insecticida para el control de diversas plagas, entre los que no se incluye a *L. aripa elodia*. Las plantas medicinales tienen abundantes metabolitos secundarios, de los cuales algunos han resultado útiles para el control biológico de plagas (Wink 1993, Singh 1996, Prakash y Rao 1997, García-Barrios 1999) y algunas podrían ser eficaces contra *L. aripa elodia*. En la región de Los Altos de Chiapas, México se han registrado aproximadamente 1650 especies de plantas medicinales (Berlin y Berlin 1993). Algunas se han asociado a otros cultivos del género *Brassica* para determinar su capacidad de repeler al adulto de *L. aripa elodia* (Reyes 1996, Córdoba 1998, Hernández *et al.* 2000), pero no hay estudios previos sobre el efecto del extracto de estas especies sobre las larvas de esta plaga, después de la oviposición.

Los objetivos de esta investigación fueron: a) identificar un grupo de plantas medicinales de Los Altos de Chiapas con posible actividad insecticida sobre *L. aripa elodia*, b) desarrollar el protocolo experimental para evaluar el efecto de extractos acuosos de estas especies en el sistema repollo-*L. aripa elodia*, en invernadero y, c) evaluar el efecto de los extractos acuosos sobre la mortalidad y repelencia de larvas de la plaga.

## Materiales y métodos

**Selección de especies silvestres promisorias.** Las especies evaluadas fueron seleccionadas con base en los

siguientes criterios: 1) que las plantas formaran parte de la farmacopea tzotzil-tzeltal, que tuvieran antecedentes en la literatura como plantas eficaces en el control de especies de la familia Pieridae, y que se localizaran en forma silvestre en la región de estudio. Se incluyeron además algunas plantas que, cumpliendo con el primer criterio, contaran con antecedentes de eficacia en el control de otras plagas ó que poseen un aroma fuerte.

Las especies señaladas por Grainge y Ahmed (1988) con potencial para el control de insectos de la familia Pieridae, se buscaron en la lista florística de la región de Los Altos (González *et al.* 1997) y los listados de la flora medicinal de la región (Berlin y Berlin 1993, Breedlove y Laughlin 1993) pero no se encontraron coincidencias a nivel de especie con las plantas silvestres de la región.

Por tanto, se identificaron los géneros cuyas especies han sido informados por su potencial para controlar insectos plagas pertenecientes a la familia Pieridae. Se encontró que cada uno de los géneros está representado con una o más especies de la flora regional; de éstas se seleccionaron siete que son de uso medicinal.

Además se incluyeron ocho especies locales de importancia medicinal (siete de ellas han sido informados en la literatura con propiedades insecticidas para otras plagas, y otra por ser muy aromática).

**Establecimiento del sistema repollo-*L. aripa elodia*-extractos.** Los elementos que integraron el sistema estudiado (Fig. 1) se obtuvieron de la siguiente manera:

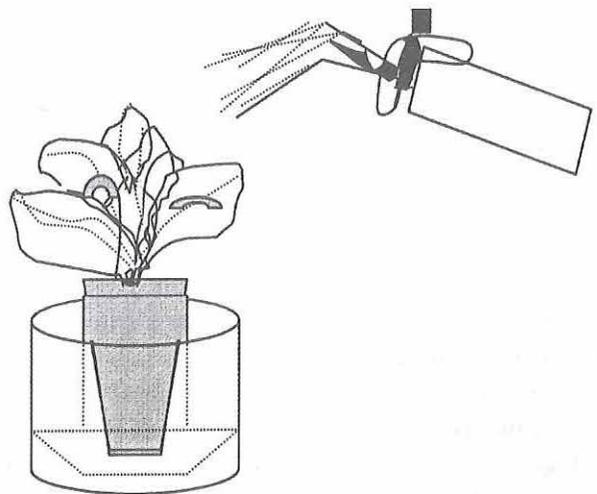


Figura 1. Sistema repollo-*L. aripa elodia*-extractos utilizado en la evaluación de 15 plantas contra larvas de *L. aripa elodia*.

Se establecieron tres almácigos de repollo, de la variedad Copenhague. A los 30 días de la germinación se trasplantaron a vasos de polietileno (1000 ml), los cuales contenían suelo franco arcilloso, ligeramente ácido y rico en materia orgánica. El tamaño de las plantas para el experimento se homogeneizó por eliminación de los individuos más grandes y los más pequeños. Al momento de la inoculación con las larvas (60 días después de la germinación), medían aproximadamente 18 cm y tenían 10-12 hojas. Estas tuvieron un buen enraizamiento y suficiente follaje para los propósitos del experimento.

En campos agrícolas abandonados se recolectaron trozos de hojas de repollo con huevos y larvas de instar I. Estos trozos se colocaron sobre plantas de repollo cultivados en macetas, dentro de una jaula de cría (2,5x2,3x1,5m) a temperatura ambiente.

Cuando las larvas alcanzaron el tamaño deseado (1,5 cm de longitud) se transfirieron de las plantas usadas para su cría a las plantas sobre las que se aplicaron los extractos. Para evitar el daño por manipulación, se recortaron fragmentos de repollo con larvas adheridas y se colocaron sobre la planta destino.

Feltwell (1982) informó que las larvas de los insectos de la familia Pieridae pasan por tres etapas de actividad: a) gregaria, que ocurre en el instar I; b) de dispersión, cuando las larvas buscan y consumen alimento; y c) errante, cuando la larva busca un sitio adecuado para convertirse en pupa, el cual puede encontrarse a varios metros de distancia de su hospedante. Por tanto, se utilizaron larvas de instar II, que en pruebas preliminares resultó ser el tamaño idóneo para realizar el experimento y que es la etapa en que la larva inicia una mayor actividad de consumo y puede trasladarse por sí misma de los fragmentos de hoja a la planta destino. Las larvas de instar I resultaron muy sensibles a la manipulación mientras que las más desarrolladas pupan antes de evaluar el efecto de los extractos.

**Preparación de extractos acuosos.** Se recolectaron plantas completas (raíces, tallos, hojas y flores) de las especies seleccionadas en la orilla de caminos vecinales, poco transitados por vehículos.

En este estudio se evaluó el extracto de las plantas completas por ser la primera prueba de actividad biológica.

Cada planta se secó a la sombra y todos los órganos se pulverizaron. Con el polvo se elaboraron extractos acuosos por infusión al 5%, para lo cual se mezcló 50 g de material vegetal con 1 L de agua, a 50°C ( $\pm 5$ ),

(Rodríguez y Lagunes 1992), y se licuó durante 30 seg. Las mezclas se prepararon un día antes de utilizarse y se dejaron reposar durante 24 h a temperatura ambiente, manteniéndose la sombra. Posteriormente, se filtraron para obtener los extractos.

**Diseño experimental.** Se utilizó un diseño completamente al azar con 18 tratamientos y cinco repeticiones. Cada repetición consistió en una planta de repollo. Las plantas para cada tratamiento se tomaron en forma aleatoria, de las 90 plantas distribuidas en el invernadero. De los tratamientos, 15 fueron extractos acuosos de las plantas seleccionadas (Cuadro 1) y dos testigos: agua y permetrina.

El experimento se realizó en un invernadero con paredes de malla fina, para homogeneizar el microclima e impedir el ataque de otras plagas.

Se colocaron 90 vasos con plantas de repollo en nueve columnas y 10 filas (25 y 40 cm entre plantas, respectivamente). Cada uno de los vasos se colocó sobre un plato de polietileno, y se encerró con una cartulina en forma de cilindro de 15 cm de altura y 30 cm de diámetro, para evitar que las larvas repelidas se dispersaran y perdieran (Fig. 1).

En cada planta se colocaron cinco larvas, cuatro días antes de aplicar los extractos, para que las larvas se ambientaran a su nuevo hospedante. Se eliminaron las larvas que se alejaron de la planta, las que no comían o no se movían. Al iniciar el experimento, cada tratamiento tenía entre 14 y 16 larvas alimentándose.

Los extractos se aplicaron con atomizadores manuales de 0,5 L, de plástico, boquilla estándar y palanca de presión. La aspersión se hizo en una sola ocasión, sobre el haz y el envés de las hojas, incluyendo a las larvas.

**Variables evaluadas.** Las variables evaluadas fueron mortalidad y repelencia de larvas en cada tratamiento. Después de aplicar los extractos se evaluó la mortalidad cada 24 h durante 5 días, registrándose el número de larvas muertas.

Los criterios utilizados para determinar la mortalidad por efecto del extracto fueron: que la larva estuviera sin movimiento y no respondiera al tacto ó que tuviera apariencia quemada, deshidratada o curvada en posición dorsal. Estos criterios se establecieron con base en pruebas preliminares.

El criterio utilizado para la evaluación de la repelencia fue el número de larvas que abandonaron la planta durante las primeras 24 h después de la aplicación de los extractos (rechazo a la alimentación o fagodisuasión) (Renwick 1996). Las larvas repelidas se

**Cuadro 1.** Especies medicinales de la flora de Los Altos de Chiapas, México seleccionadas para evaluar el efecto de su extracto acuoso para el control de *L. aripa elodia*.

Criterio de selección	Especie	Familia	Nombre común Tzeltal
Especies de géneros con antecedentes como insecticidas biológicos evaluados para el control de plagas de la familia Pieridae	<i>Equisetum myriochaetum</i>	Equisetaceae	Tujt Yama chauk
	<i>Salvia karwinskii</i>	Lamiaceae	Muk'ul pom tz'unun Tzajal pom tz'unun
	<i>Salvia lavanduloides</i>	Lamiaceae	Ch'a bacal wamal Poxil obal
	<i>Salvia polystachya</i>	Lamiaceae	Woch'ol yok Yaxal pom tz'unun
	<i>Tagetes foetidissima</i>	Asteraceae	Kelem tusus K'ox vo'tus
	<i>Tagetes nelsonii</i>	Asteraceae	Tusus wamal Tzis chauk
	<i>Verbena litoralis</i>	Verbenaceae	Yakan k'ulub wamal Batz'i pem k'ulub
Especies medicinales con antecedentes para controlar otras plagas	<i>Bacharis glutinosa</i>	Asteraceae	Chilka wamal K'ox chilkat
	<i>Chrysanthemum coccineum</i> = <i>C. roseum</i> Adam.	Asteraceae	Krisantema
	<i>Lantana camara</i>	Verbenaceae	Krisantema Ch'ilwet wamal
	<i>Lantana hispida</i>	Verbenaceae	Ch'ix ch'il vet Tzajal ch'ilwet
	<i>Pinaropappus spathulatus</i>	Asteraceae	Sakil ch'il vet Ch'ajkaton
	<i>Pteridium aquilinum</i>	Polypodiaceae	Poxil sep Tzin
	<i>Senecio salignus</i>	Asteraceae	Batz'i tzib Ansil chilka
Especie medicinal muy aromática	<i>Arracacia nelsonii</i>	Apiaceae	Batz'i chilkat Muk'ul chauk wamal Yama chauk

volvieron a colocar sobre la planta para continuar evaluando el efecto de mortalidad.

En el caso de las larvas que no perecieron y se mantuvieron sobre el repollo no fue posible evaluar otros efectos de fagodisuasión (reducción de la superficie defoliada y del peso de la larva), debido a que la manipulación excesiva podría causarles mortalidad adicional por altos niveles de estrés.

**Análisis estadístico.** Se elaboraron tablas de contingencia y se aplicó la prueba estadística G para descartar la asociación del efecto del extracto (mortalidad y repelencia) con la ubicación de las macetas en el invernadero y con la variación en el número de larvas por maceta. Los datos sobre mortalidad y repelencia se expresaron como porcentajes del número inicial de larvas inoculadas en cada tratamiento.

Se compararon las frecuencias de muerte y repelencia de cada uno de los tratamientos con respecto al testigo (agua), aplicando para ello la prueba exacta de

Fisher, con un nivel de significancia de  $\alpha = 0,05$ ; mediante el ajuste de Bonferoni (Sokal y Rohlf 1981). Se utilizó el paquete estadístico SPSS (SPSS 1998) advanced statistics™ 8.0 para Windows.

## Resultados y discusión

### Especies medicinales silvestres seleccionadas como promisorias para el control de *L. aripa elodia*.

Se determinó que 57 especies de plantas de la región pertenecen a géneros reportados por Grainge y Ahmed (1988) con efecto sobre insectos de la familia Pieridae. Los géneros están representados con una o más especies de plantas medicinales, de las cuales fueron seleccionadas siete. Además se incluyeron ocho especies medicinales, de las cuales siete presentan antecedentes por eficacia para el control de otras plagas y otra especie es muy aromática.

### Efecto de los extractos acuosos

La proporción de larvas muertas o repelidas no fue di-

ferente significativamente entre las plantas con diferente número de larvas. La ubicación de las macetas tampoco afectó las proporciones de respuesta a los extractos vegetales. Con base en estos resultados, se decidió analizar el número total de larvas de cada tratamiento de manera conjunta.

Los extractos vegetales evaluados no provocaron diferencias significativas de mortalidad o repelencia, con respecto al tratamiento testigo (agua). Sin embargo, las diferencias pese o no ser significativas muestran la importancia de continuar pruebas con las especies más promisorias.

Los extractos de plantas que produjeron los porcentajes más altos de mortalidad acumulada a los cinco días fueron: *P. aquilinum*, *E. myriochaetum* y *S. salignus* con 27, 25 y 19%, respectivamente. El resto de las plantas provocaron una mortalidad menor a 13%, y el testigo con agua 7% (Cuadro 3). El insecticida sintético (permetrina) provocó el 100% de mortalidad durante las primeras 2 horas. Únicamente el tratamiento de permetrina difirió significativamente ( $p < 0,01$ ) del testigo de agua.

En el caso de *P. aquilinum* se ha informado que las raíces y hojas presentan esteroides y triterpenoides que causan repelencia en *Locusta migratoria* y *Trichoplusia ni* (Grainge y Ahmed 1988); sin embargo, en este estudio la ingestión de repollo asperjado con *P. aquilinum* provocó la muerte de las larvas, lo cual podría deberse a los esteroides que esta planta produce.

López y Rodríguez (1999) encontraron que el polvo de las raíces de *S. salignus* al 1,0% eliminó el 98% de la población de *Zabrotes subfasciatus*, mientras que para *E. myriochaetum* se reportan efectos insecticidas únicamente a nivel de género (Philbrick y Philbrick 1980, Grainge y Ahmed 1988, Prakash y Rao 1997). Aunque en ambas especies se reportan alcaloides que son tóxicos para insectos (Grainge y Ahmed 1988, Liddell *et al.* 1994), se desconoce el ingrediente activo que provocó la muerte de larvas al ingerir repollos contaminados con los extractos de estas especies.

Las plantas cuyos extractos provocaron algún grado de repelencia (12 a 13%) fueron: *V. litoralis*, *L. camara* y *C. coccineum* (Cuadro 3). Aunque estos tratamientos no fueron diferentes significativamente al testigo de agua, se considera conveniente continuar evaluando su capacidad de repelencia. Otros extractos, que también mostraron repelencia fueron los de *P. spathulatus*, *S. karwinskii*, *S. polystachya* y *E. myriochaetum* los cuales fueron entre 6 y 7%, respectivamente. Los extractos de las demás plantas y el testigo (agua) no causaron repelencia (Cuadro 3).

No obstante, las especies de *V. litoralis* y *L. camara* se han descrito con actividad repelente, insecticida y fagodisuasiva hacia otros insectos (Grainge y Ahmed 1988, Prakash y Rao 1997); sin embargo, no se encontraron informes sobre el principio activo de *V. litoralis*, mientras que para *L. camara*, de la misma familia, se reportan flavonoides y triterpenoides, los cuales pre-

**Cuadro 3.** Especies medicinales, partes utilizadas y sus efectos sobre larvas de *L. aripa elodia*.

Nombre científico	Estructuras utilizadas	Repelencia(%)	Mortalidad acumulada (%)
<i>A. nelsonii</i>	Tallo, hoja, flor y raíz	0 a	13 a
<i>B. glutinosa</i>	Tallo y hojas	0 a	13 a
<i>C. coccineum</i>	Tallo, hoja y flor	12 a	12 a
<i>P. spathulatus</i>	Tallo, hoja, raíz y flor	7 a	0 a
<i>S. salignus</i>	Tallo, hoja, flor y raíz	0 a	19 a
<i>T. foetidissima</i>	Tallo, hoja y flor	0 a	0 a
<i>T. nelsonii</i>	Tallo, hoja y flor	0 a	7 a
<i>E. myriochaetum</i>	Follaje y raíz	6 a	25 a
<i>S. lavanduloides</i>	Tallo, hoja, raíz y flor	0 a	0 a
<i>S. karwinskii</i>	Tallo, hoja, flor y raíz	7 a	13 a
<i>S. polystachya</i>	Tallo, hoja y flor	7 a	13 a
<i>P. aquilinum</i>	Follaje y raíz	0 a	27 a
<i>L. camara</i>	Tallo, hojas y flores	13 a	6 a
<i>L. hispida</i>	Tallo, hoja, flor y raíz	0 a	7 a
<i>V. litoralis</i>	Tallo, hoja, flor y raíz	13 a	7 a
Testigo permetrina		0 a	100 b
			( $P < 0,01$ )
Testigo de agua		0 a	7 a

sentan actividad fagodisuasiva en *Aphis fabae*, *Plutella xylostella* y *Sitophilus orizae* (Grainge y Ahmed 1988, Norris 1990, Warthen y Morgan 1990, Prakash y Rao 1997).

*C. coccineum* ha sido informado como eficaz para el control de muchas plagas, pero no se especifica la concentración en la que tiene efecto (Jacobson M. 1975 citado por Grainge y Ahmed 1988). Nalinassundari *et al.* 1994 citado por Prakash y Rao (1997) encontraron que el extracto de hojas de *C. roseum* a 600 ppm provocó 47,2% de deformidad morfológica (efecto insectistático) en *E. fraterna*. Con la concentración usada en este estudio no se observaron efectos prometedores de mortalidad ni repelencia por la acción de esta planta y no fue posible evaluar los efectos secundarios del extracto. Esto puede deberse a que la concentración pudo haber sido baja o que los compuestos químicos de la planta no actúan de la misma manera sobre todos los insectos (Renwick 1996).

Las especies evaluadas fueron seleccionadas a partir de géneros con antecedentes promisorios para controlar plagas de la familia Pieridae; sin embargo, no se encontraron respuestas positivas. Esto podría deberse a que las especies de un mismo género no necesariamente producen los mismos aleloquímicos ni presentan la misma eficacia para controlar plagas, y a que la composición química de las plantas de una mis-

ma especie varía según las condiciones de su hábitat (p. ej. suelo, altitud, interacciones con insectos y otras plantas), a la edad de la planta y a la época de recolección (Rodman y Chew 1980, Downum 1993, Romeo *et al.* 1996, Munson 1998).

Los extractos acuosos al 5% de las plantas evaluadas no controlaron las larvas de II instar de *L. aripa elodia* bajo condiciones de invernadero. No obstante, no se descarta que los extractos obtenidos con otros disolventes puedan causar mortalidad y repelencia sobre esta plaga.

Los extractos acuosos de *E. myriochaetum*, *P. aquilinum* y *S. salignus* mostraron algún nivel de actividad biológica, sería conveniente evaluarlos a mayor concentración, así como extractos de diferentes estructuras de las plantas.

### Agradecimiento

Al CONACyT por el apoyo económico. Al Grupo de Cooperación Internacional para la Biodiversidad May, y al Programa de Apoyo a Tesistas de Maestría (PATM) de El Colegio de la Frontera Sur (ECOSUR, San Cristóbal de Las Casas, Chiapas, México.) por financiar este proyecto.

De igual forma, se agradece a Manuel Gómez Sántis, Juan Franco Pérez y Elías Sántis Gómez por su apoyo y colaboración en la etapa experimental.

### Literatura citada

- Berlin, B; Berlin, E. 1993. Enciclopedia etnomédica Maya: Bases científicas de la medicina tradicional en los Altos de Chiapas. Instituto Chiapaneco de Cultura. 636 p.
- Breedlove, D; Laughlin, R. 1993. The flowering of man. A tzotzil botany of Zinacantán. Smithsonian Contributions to Anthropology. Vol. 1, No. 2.
- Córdoba B, R. 1998. Asociación de Cempoalxochitl (*Tagetes erecta* L.) al brócoli (*Brassica oleracea* var. *italica* L.) como biocontrol de la mariposa blanca de la col (*Leptophobia aripa elodia* Boisd). Tesis de Lic. México, Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas. 81 p.
- Downum R, K. 1993. Phytochemical potential of tropical plants. In Phytochemical potential of tropical plants. Downum, K; Romeo, J; Stafford, H. Eds. New York, Plenum Press. 287 p.
- Endersby N, M; Morgan, WC. 1991. Alternatives to synthetic chemical insecticides for use in crucifer crops. Institute of Plant Sciences, Biological Agriculture and Horticulture, Department of Agriculture. Australia. Vol. 8. p. 33-52.
- Espinosa-García, F; Delgado, G. 1998. Relationship between ecology of plant defence and the prospection of secondary metabolites with potential medicinal or agricultural application. Revista Latinoamericana de Química, 26:1:13-29.
- Feltwell, J. 1982. Large white butterfly. The biology, biochemistry and physiology of *Pieris brassica* (Linnæus). The Hague, Netherlands. 535 p.
- García B, L. 1999. Conservation, sustained harvest and Economic Growth, Protocolo de investigación del Programa asociado 3. In International collaborative biodiversity group (ICBG). Berlin, B. Ed. Drug discovery and biodiversity among the Maya of México. p. 225-250.
- González E, M; Ochoa, S; Ramírez, N; Quintana, P. 1997. Contexto vegetacional y florístico de la agricultura. In Los Altos de Chiapas: Agricultura y Crisis Rural. Tomo 1. Parra V, M; Díaz M, B. Eds. Chiapas, México, ECOSUR, p. 85-117.
- Grainge, M; Ahmed, S. 1988. Handbook of plants with pest-control properties. New York, John Wiley & Sons. 470 p.
- Henrick A, C. 1995. Pyrethroids. In Agrochemicals from natural products. Godfrey, C. Ed. Marcel Dekker. p. 63-145.
- Hernández N, J; García-Barrios, L; Cruz L, L; Morales, H. 2000. Asociación de plantas medicinales aromáticas con repollo y su efecto sobre el gusano defoliador, *Leptophobia aripa elodia* Boisd. (Lepidoptera: Pieridae). Tesis de Maestría. Chiapas, México, Ecosur. 20 p.
- Lagunes T, A; Villanueva, J. 1994. Toxicología y manejo de insecticidas. Montecillo, México, Colegio de Postgraduados. 264 p.
- Liddell, J; Logie, C; Mphephu, A. 1994. New pyrrolizidine alkaloids from *Senecio linifolius* and *S. pterophorus* DC.

- In Plant-associated toxins; agricultural, phytochemical and ecological aspects. Colegate, S; Dorling, P. Eds. Wallingford, U.K, CABI. p. 207-211.
- López P, E; Rodríguez H, C. 1999. Actividad de la chilca *Senecio salignus* (Asteraceae) en el combate del gorgojo mexicano del frijol *Zabrotes subfasciatus* (Coleoptera : Bruchidae). In Simposio Nacional sobre sustancias vegetales y minerales en el combate de plagas. (5, 1999, Aguascalientes, México). Rodríguez H, C. Ed. Memorias. p. 93-99.
- Montoya G, G; Hernández D, O; Ruiz H, F; Mandujano G, M. 1998. Algunos elementos del lado de la demanda y de la oferta en la producción de hortalizas en Los Altos de Chiapas. In Semana de Investigación Científica. México, Universidad Autónoma de Chiapas. p. 187-201.
- Munson D, R. 1998. Principles of plant analysis. In Handbook of reference methods for plant analysis. Kalra, Y. Ed. CRC. p. 1-24.
- Norris M, D. 1990. Repellents. In Handbook of natural pesticides: insect attractants and repellents. CRC. p. 135-149.
- Philbrick, H; Philbrick, J. 1980. El libro de los insectos, control inofensivo de insectos. México. 117 p.
- Prakash, A; Rao, J. 1997. Botanical pesticides in agriculture. Division of entomology, Central Rice Research Institute. CRC. 451 p.
- Renwick J, A. 1996. Diversity and dynamics of crucifer defences against adults and larvae of cabbage butterflies In Phytochemical diversity and redundancy in ecological interactions. Recent advances in phytochemistry. New York, Plenum Press. 293 p.
- Reyes G, H. 1996. Asociación de herbáceas silvestres aromáticas con brócoli (*Brassica oleracea*) para biocontrol de insectos plaga en Chiapas, México. Tesis de Lic. México, UACH. 82 p.
- Rodman E, J; Chew S, F. 1980. Phytochemical correlates of herbivory in a community of native and naturalized crucíferos. Biochemical systematics and ecology. V. 8 p. 43-50
- Rodríguez H, C. 1990. Perspectivas del uso de plantas con propiedades insecticidas. Simposio Nacional sobre sustancias vegetales y minerales en el combate de plagas (11, 1990, Oaxaca, México). Memorias. p. 176-187.
- Rodríguez H, C; Lagunes T, A. 1992. Plantas con propiedades insecticidas; resultados de pruebas experimentales en laboratorio, campo y granos almacenados. Agroproductividad (México) 1: 17-25.
- Rodríguez H, C. 1993. Fitoinsecticidas en el combate de insectos: Bases prácticas de la agroecología en el desarrollo centroamericano. In Manejo de plagas en el sistema de producción orgánica. Guatemala, ALTERTEC/HELVETAS/CLADES. p. 112-125.
- Romeo T, J; Saunders A, J; Barbosa, P. 1996. Phytochemical diversity and redundancy in ecological interactions. In Phytochemical diversity and redundancy in ecological interactions. Romeo, J; Saunders, J; Barbosa, P. Eds. New York, Plenum. 313 p.
- Singh, D. 1996. Medicinal and aromatic plants in insect pest management. In Allelopathy in pests management for sustainable agriculture. Narwal, S; Tauro, P. Eds. Jodhpur, India, Scientific Publishers. p. 125-136.
- Sokal, R; Rohlf, F. 1981. Biometry. 2 ed. New York. 859 p.
- SPSS 1998. Manual del usuario de SPSS Base 8.0 para Windows. SPSS Inc. USA. 511 p.
- Warthen J, D; Morgan D, E. 1990. Insect feeding deterrents. In Handbook of natural pesticides, Insect attractants and repellents. Morgan, E; Mandava, D. Eds. CRC. Press. Vol. VI. No 13. p. 23-134.
- Wink, M. 1993. Production and application of phytochemicals from an agricultural perspective. In Phytochemistry and agriculture. Van, B; Breteler, H. Eds. Oxford, Clarendon Press. p. 170-213.

NOTA TECNICA

## La electroterapia como alternativa para la eliminación del virus DMV en malanga

Janet Igarza Castro<sup>1</sup>  
Ricardo Hernández Pérez<sup>2</sup>  
Beatriz Cruz Castellanos<sup>1</sup>

**RESUMEN.** En Cuba ha aumentado la producción de plántulas mediante cultivo *in vitro* de diversas especies como la malanga (*Xanthosoma sagitifolia* Schott). Estas plantas son utilizadas en programas de fomento de semillas, por tanto son caracterizadas genética y fitosanitariamente para evitar la diseminación de patógenos mediante la micropropagación. Uno de los problemas fitosanitarios más importantes de la malanga es el virus *Dasheen mosaic virus* (DMV), el cual puede tener una incidencia de hasta 95% en plantaciones, y disminuye drásticamente la producción esta aráceo. Se evaluó la electroterapia como una alternativa para la desinfección del virus en plantas de malanga del clon México 8. Los tratamientos fueron 5, 10 y 20 V durante 5 min. El mejor tratamiento fue el de 5 V durante 5 min, logrando una desinfección del 100% de las plantas, siendo diferente significativamente a los demás tratamientos. Además este tratamiento aceleró el crecimiento del material vegetativo.

**Palabras claves:** Virus, DMV, Malanga, *Xanthosoma sagitifolia*, Electroterapia, Saneamiento.

**ABSTRACT.** Electrotherapy as an alternative for elimination of the DMV virus in malanga. In Cuba *in vitro* plant production for various crops has increased; amongst which is malanga (*Xanthosoma sagitifolia* Schott). These plants are utilized in seed promotion programmes. For which they are characterized genetically and for plant pathogens in order to avoid the dissemination of pathogens through micropropagation. One of the most important plant pathogens of malanga is the *Dasheen mosaic virus* (DMV), which can have an incidence of up to 95% in plantations and drastically reduce production. Electrotherapy was evaluated as an alternative for virus disinfection on the Mexico 8 malanga clone. The treatments were 5, 10 and 20 V for 5 min. The best treatment was 5 V for 5 min, achieving disinfection of 100% of the plants and significantly different to the other treatments. Also this treatment accelerated the growth of the plant material.

**Key Words:** Virus, DMV, Malanga, *Xanthosoma sagitifolia*, Electrotherapy, Drainage.

### Introducción

Las técnicas tradicionales de desinfección de semilla generalmente, consideran el patógeno y su transmisión en el tejido de la planta. Usualmente, éstas son aplicadas para atenuar o eliminar virus en vegetales. Algunas de éstas técnicas son el cultivo de meristemas, la hidroterapia, la termoterapia y la quimioterapia (Quak 1977, Lozoya 1981, Griffith y Slack 1990, El-Anin *et al.* 1974, Hernández *et al.* 1995).

Muchas de estas técnicas logran hasta el 100% de desinfección; sin embargo, carecen de un requisito fundamental, la eficiencia para adecuarse al proceso productivo. Algunos de los aspectos que contribuyen a la baja eficiencia son: la gran cantidad de material inicial destruido, los largos períodos de tiempo requeridos para obtener resultados y evaluar las líneas y la baja producción de material desinfectado (Hernández *et al.* 1997a).

<sup>1</sup> Centro de Biotecnología Vegetal (C.B.V). Holguín. Cuba. Correo electrónico: janet@cbv.holguin.inf.cu

<sup>2</sup> Instituto Nacional de Viandas Tropicales (INIVIT). Villa Clara. Cuba. Correo electrónico: inter@esivc.colombus.cu

No obstante, estas técnicas han tenido un gran desarrollo en los últimos años debido a la aplicación de la biofísica. Además, la gran demanda de material sano para la micropropagación ha exigido cambios estratégicos. Cuba posee 14 biofábricas y demanda entre 1000-5000 líneas de más de 10 variedades en caña de azúcar (*Saccharum* sp.), así como el material requerido por otros programas de producción de semilla de ajo (*Allium sativum* L.), papa (*Solanum tuberosum* L.) y aráceas. Estos aspectos han contribuido a la aplicación de una nueva técnica para la desinfección de semilla, la electroterapia (Hernández 1997). Wagele (1978) patentó las primeras experiencias sobre el uso de corriente eléctrica para influir en el crecimiento de células, tejidos, bacterias, animales así como en sustancias nutritivas.

Quacquerelli *et al.* (1980) al aplicar corrientes eléctricas a estacas de almendra que mostraban síntomas de mosaicos producidos por virus, obtuvieron hasta un 90% de plantas sanas, por lo cual recomendaron estos tratamientos para el control de virus como: *Virus del mosaico del pepino*, *Arabia Mosaic Virus*, *Gravelpine Franleaf Virus*, *Chicory Yellow Mottle* y *Virus del mosaico del tabaco*.

Hernández *et al.* (1997b) construyeron un equipo con aditamento para el complejo viral del ajo, el cual fue usado después como método para el programa Nacional de Producción de micropropagación de líneas sanas de caña de azúcar, como alternativa para el control de bacterias y virus (Hernández *et al.* 1997c) y posteriormente, en papa para el control del *Virus del enrollamiento de la hoja de la papa* (Bernal 1997), así como para de otros virus como el PVX y PVY (Lozoya *et al.* 1996).

En Cuba, los géneros *Xanthosoma*, *Colocasia* y en general, las Aráceas, son seriamente afectados por el virus *Dasheen mosaic virus* (DMV) (Zettler *et al.* 1978). La incidencia del DMV puede llegar hasta 95% en plantaciones de malanga en Cuba (Quintero 1987).

Debido a las limitaciones que tiene el cultivo de meristemas y las pérdidas de materiales con el uso de la hidrotermoterapia, el objetivo de este trabajo fue evaluar la electroterapia como alternativa para la desinfección de virus DMV en semilla de malanga.

### **Materiales y métodos**

El trabajo se realizó en el Laboratorio Provincial de Biotecnología Vegetal de la provincia de Holguín, Cuba. Se utilizó un equipo para Electroterapia (Patente 37/95 A01c/08 No.22496). Se seleccionaron cormos de

malanga, clon México 8 del Banco de Germoplasma del Instituto Nacional de Viandas Tropicales (INIVIT), los cuales fueron certificados con el *Virus del Mosaico de la Malanga* (DMV). El estudio se dividió en cinco fases experimentales.

**Determinación del límite de corriente eléctrica para el cultivo de la malanga.** Para determinar el límite de sobrevivencia de los ápices meristemáticos de malanga a la corriente eléctrica, los cormos fueron colocados en un pregerminador de arena durante 5 - 7 días para aumentar el crecimiento de las yemas. Se seleccionaron las yemas axilares, que tenían un tamaño homogéneo (10 cm) y no presentaban daños mecánicos ni estaban afectados por otros agentes patógenos. Las yemas fueron extraídas con una pistola rudimentaria (INIVIT 1990) y desinfectadas con detergente, fungicida al 1%, alcohol al 70% e hipoclorito de sodio al 3%. Posteriormente, fueron colocadas en el equipo de electroterapia donde se evaluaron los siguientes voltajes 5, 10, 15, 20, 30 y 50 V durante 5 y 10 min cada uno. En cada tratamiento se utilizaron cinco yemas, las cuales fueron desinfectadas luego del tratamiento de electroterapia con hipoclorito de sodio al 2% (fueron del flujo laminar) y nuevamente con hipoclorito de sodio en el flujo laminar antes de ser sembradas en tubos de ensayo, con el medio de cultivo de establecimiento (García *et al.* 1998).

**Aplicación de la electroterapia como método de desinfección.** Los límites de corriente eléctrica que no causaron daño a la planta se evaluaron como tratamientos. Estos fueron 5, 10 y 20 V durante 5 min, además, se utilizó un testigo, sin aplicación de la corriente. Se usaron 20 yemas por tratamiento.

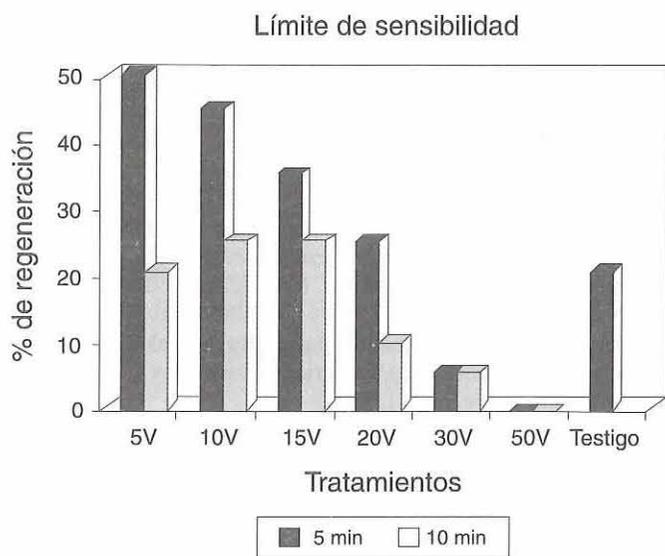
**Siembra en medio de cultivo de establecimiento.** Después de la aplicación de la electroterapia, los ápices meristemáticos de 0,5 mm se sembraron en tubos de ensayo conteniendo medio de establecimiento suplementado con sales MS al 70 %, mioinositol 100 mg/L, 6 BAP 0,1 mg/l, sacarosa 30 g/L, pH de 5,5 sin agar (García *et al.* 1998). Se realizaron observaciones semanales y se registró el porcentaje de yemas que brotaron a los 60 días (cm), porcentaje de material a diagnosticar y de contaminación.

A los 60 días las vitroplantas se sembraron en medio de cultivo para su multiplicación, suplementado con sales MS, mioinositol 100 mg/L, y para la variedad México 8 se utilizó 1mg/L de AIA y 3mg/L de 6 BAP, sacarosa 30g /L y agar 5g/L, pH 5,7 (García *et al.* 1998), para obtener material suficiente para el diagnóstico.

**Diagnóstico del material al DMV.** La efectividad de la desinfección en cada tratamiento se evaluaron mediante Ultramicro-ELISA sandwich de doble anticuerpo. Se utilizó un kit desarrollado en el INIVIT (Hernández *et al.* 1998). La lectura de los valores de fluorescencia fue realizada con equipo SUMA 121 diseñado por Inmunoensayo (Tecnosuma) Cuba. En la interpretación de los resultados se consideró positivo aquellas muestras cuya media era superior al límite de corte obtenido del duplo de la media de los negativos. Se realizó un análisis de varianza ANOVA con los datos obtenidos.

## Resultados y discusión

Las dosis superiores a 30 V durante 10 min resultaron letales para el cultivo de la malanga (Fig. 1), lo cual coincide con los resultados obtenidos por Hernández *et al.* (1997a, 1998) en los cultivos de ajo y caña de azúcar y por Bernal (1997) en papa. Esto indica que pueden usarse dosis desde 5 V durante 5 min hasta 30 V durante 10 min.



**Figura 1.** Sensibilidad de plantas de malanga, clon México 8 a diferentes tratamientos de electroterapia para la desinfección del virus DMV. Holguín, Cuba.

En la fase de establecimiento, el tratamiento de 5 V durante 5 min obtuvo los mejores resultados en la regeneración de plantas, siendo diferentes significativamente con respecto al testigo y al tratamiento de 20 V durante/ 5 min, pero no al tratamiento de 10 V durante/ 5 min.

En cuanto al crecimiento *in vitro* de los explantes, se logró el mayor tamaño (6,1 cm) con el tratamiento de 20 V durante / 5min (Cuadro 1), siendo aproximadamente el doble del tamaño alcanzado por el testigo. Estos permiten inferir que el voltaje estimula el desarrollo de las vitroplantas en la fase de iniciación, lo cual coincide con lo señalado por Wagele (1978) de que la corriente eléctrica estimula el crecimiento de las células, así como con los resultados obtenidos por Hernández *et al.* (1995) sobre la estimulación del crecimiento de plantas de ajo mediante electroterapia.

**Cuadro 1.** Aplicación de la electroterapia a plantas de malanga, clon México 8 durante la fase de establecimiento de los ápices meristemáticos. Holguín, Cuba.

Tratamientos	Regeneración (%)	Crecimiento promedio (cm)
5 V / 5 min	75 a	4,1 b
10 V / 5 min	70 b	4,5 c
20 V / 5 min	20 d	6,1 a
Testigo	35 c	3,3 c

Letras iguales en la misma columna no son diferentes estadísticamente según prueba Tukey 0,05.

El mayor porcentaje de yemas brotadas y de desinfección se logró con el tratamiento de 5 V durante 5 min (Cuadro 2), logrando una mayor eficiencia; este tratamiento fue diferente significativamente al testigo y a los tratamientos de 10 y 20 V. Este tratamiento puede ser útil cuando se emplea a gran escala, coincidiendo con los resultados obtenidos en la desinfección de semilla de ajo, papa y caña de azúcar.

Entre las ventajas de la electroterapia están el incremento en el crecimiento del material, reducción

**Cuadro 2.** Resultados del diagnóstico en plantas de malanga, clon México 8, tratados con electroterapia. Holguín, Cuba.

Tratamientos	Plantas regeneradas (%)	Material diagnosticado (%)	Desinfección (%)	Eficiencia (%)
5 V / 5 min	75 a	100	100,0 a	18,75 a
10 V / 5 min	70 b	100	85,7 b	6,12 b
20 V / 5 min	20 d	100	75,0 c	6,66 b
Testigo	35 c	100	0 d	0 c

Letras igual en la misma columna no son diferentes estadísticamente según prueba de Tukey, 0,05.

en el tiempo de diagnóstico, destrucción de menor cantidad de material donante y mayor rapidez en la obtención de resultados. La desinfección del material fue superior al 5%. Por consiguiente, con el uso de esta técnica se logra un ahorro considerable de energía y recursos materiales y se reducen los costos de producción.

La metodología utilizada debe evaluarse para la desinfección de semilla de otros clones de los géneros *Xanthosoma* y *Colocasia*.

### Literatura citada

- Bernal, JF. 1997. Técnicas de saneamiento para la obtención de papa (*Solanum tuberosum*. L) var Desiree, libre del Virus Enrollamiento de la Hoja. Tesis MSc. Instituto de Biotecnología de las Plantas.
- El-Amin, SM; Valkonen, JPT; Breemer, K; Pehu, E. 1974. Elimination of virus hypersensitivity to potato virus Y in and important Sudance potato Stock (Zalinge) Am. Bot. J. 71: 267-272,
- García, M; García, S; Rodríguez, S; Medero, V; López, J; Ventura, J; Cabrera, M. 1998. Impacto de la biotecnología de la malanga en el programa de certificación de semilla. In Encuentro Latinoamericano de Biotecnología Vegetal REDBIO (3, 1998, La Habana, Cuba). Resúmenes. FAO. p. 51.
- Griffith, HM; Slack, SA. 1990. Effect of chemical and heat therapy on virus concentration *in vitro* potato plantlets. Canadian Journal of Botany 68: 1515- 1521.,
- Hernández, R; Noa, JC; Pichardo T; Igarza, Y. 1995. Saneamiento al Complejo Viral del Ajo (*Allium sativum*. L), mediante termoterapia y cultivo meristemo. Cuaderno de Fitopatología no. No 47.
- Hernández, R. 1997. Obtención de plantas libres de patógenos. In Curso Teórico-Práctico de Propagación Masiva de Plantas. Villa Clara, IBP-UCLV. p. 31-43.
- Hernández, R; Fontanella, J; Noa, JC; Pichardo, T; Manzo, R; Cárdenas, H. 1997a. Electroterapia, nuevo método para el saneamiento del virus en *Allium sativum* L. con optimización del diagnóstico por UM - ELISA. Centro Agrícola (Cuba) 24(1): 92-93.
- Hernández, R; Fontanella, J; Noa, JC; Pichardo, T; Manzo, R; Cárdenas, H. 1997b. Electroterapia, nuevo método para el saneamiento a virus en ajo (*Allium sativum*. L). L Registro de patente de la República de Cuba A01/08 No 22496.
- Hernández, R; Fontanella, J; Noa, JC; Pichardo, T; Manzo, R; Cárdenas, H. 1997c. Electroterapia, nuevo método para el saneamiento a virus en ajo (*Allium sativum*. L). L Registro de patente de la República de Cuba A01/08 No 22496.
- Hernández, R; Igarza, Y; Bernal, F; Zarría, Z; Pichardo, T; Noa, JC; Martínez, Y. 1997d. Nuevo método para el saneamiento a virus y bacterias en caña de azúcar (*Saccharum* spp. híbrido) In Taller de Técnicas de Avanzadas aplicada a la propagación masiva de plantas. BIOVEG'97 (1997, Ciego de Avilá, Cuba). Resúmenes. p. 38.
- Hernández, R; González, JE; Bermúdez, D; Machado, J; Párol. A. 1998. Diagnóstico del virus del mosaico de la malanga (DMV) por UM-ELISA. In Encuentro Latinoamericano de Biotecnología Vegetal REDBIO (3, 1998, La Habana, Cuba). Resúmenes. FAO.
- Lozoya, SH. 1981. Chemo and thermotherapy of plant viruses. Dissertation. Riverside, University of California.
- Lozoya, SH; Abello, J; Garía de la K, G. 1996. Electrotherapy and shoot tip culture eliminate PVX in potato. American Potatoes Journal 73:149-154.
- MINAGRI. 1990. Informe Comisión Ministerial de Revisión tecnológica de saneamiento y micropropagación de la malanga. Instructivo técnico.
- Quack, F. 1977. Meristem culture and virus free plants. In Ouack, F. Applied and fundamental aspect of plant cell, tissue and organ culture. New York, Springer-Verlag. p. 598-615.
- Quacquerelli, A; Gallitelli, D; Sarrino, V; Piazzola, P. 1980. The use of electrical corrient (RACE ) for obtaining Mosaic free Almonds. Acta Phytopathológica. Academic Scientiarum Hungaricae 15(14):155-251.,
- Quintero, S. 1987. Virosis de la Malanga (*Xanthosoma* ssp.) y la malanga Isleña (*Colocasia esculenta*. S ) en Cuba. In Jornada Científica del INIVIT (3, 1987, Villa Clara, Cuba). INIVIT. p.1-4.
- Wagele, R. 1978. Procedimiento para influir en el crecimiento de células e individuos bacterianos, animales y vegetales. Patentans Piiche 28(41): 933,
- Zettler, FW; Abo El-Nil, MM; Hartman, RD. 1978. *Dasheen mosaic virus*. CMI/AAB. Descriptions of plant viruses No 191.

## *Brevipalpus* como vectores de la leprosis de los cítricos

Carl C. Childers<sup>1</sup>  
Elliot W. Kitajima<sup>2</sup>  
W. Calvin Welbourn<sup>3</sup>  
Carmen Rivera<sup>4</sup>  
Ronald Ochoa<sup>5</sup>

**RESUMEN.** Se han informado dieciséis especies de ácaros de la familia Tenuipalpidae en cítricos, a nivel mundial, incluyendo diez del género *Brevipalpus*. En Norte, Centro y Sur América, *B. californicus* (Banks), *B. obovatus* (Donnadieu) y *B. phoenicis* (Geijskes) se han informado en cítricos y en un amplio ámbito de plantas hospedantes. La leprosis de los cítricos es una seria enfermedad que afecta los cítricos en Argentina, Brasil, Paraguay, Venezuela y, recientemente en Panamá. La leprosis reduce la producción y eventualmente ocasiona la muerte de los árboles sin control del ácaro. A finales de 1800's esta enfermedad se informó en Florida, pero desde 1960 no hay nuevos informes de la misma. *B. californicus*, *B. obovatus* y *B. phoenicis* han sido señalados como vectores de la leprosis de los cítricos, pero solamente *B. phoenicis* ha probado ser un vector eficaz. El virus en *B. phoenicis* es transmitido entre estadios pero no transovialmente. Investigaciones recientes indican que hay dos clases de partículas de virus, una citoplasmática y otra nuclear. Mientras la leprosis ha sido transmitida en forma mecánica de árbol a árbol en cítricos y a unas pocas plantas herbáceas, los intentos para purificar y caracterizar el virus no han sido exitosos.

**Palabras clave:** *Brevipalpus* spp., Leprosis de los cítricos, Cítricos, Virus, Acaros.

### Introducción

Los ácaros de la familia Tenuipalpidae se encuentran principalmente en climas tropicales y subtropicales (Jeppson *et al.* 1975, Baker y Tuttle 1987). Ellos son conocidos como falsa arañita o ácaros planos y varias especies son de importancia económica en cultivos, como cítricos (Kitajima *et al.* 1972), café (Chagas *et al.* 2000), té (Oomen 1982), pistacho (Rice y Weinberger 1981), maracuyá (Kitajima *et al.* 1997) y numerosas plantas ornamentales (Smith Meyer 1979). Los ácaros conocidos como falsa arañita son un poco alargados, dorsoventralmente planos, de color rojizo y movimientos lentos. Frecuentemente, estos ácaros no son fácilmente detectados por su tamaño pequeño (200-300  $\mu$ m de longitud) y su comportamiento inactivo (Haramoto 1969, Jeppson *et al.* 1975). El género *Brevipalpus* es reconocido como el grupo más impor-

tante dentro de ésta familia. Baker (1949) fue el primero en describir este género, y señaló que éstos no eran tan importantes como el ácaro araña. Al conocer mejor algunas especies de *Brevipalpus* se hizo evidente que pueden ser importantes plagas de cultivos. Es necesario realizar más investigaciones para obtener información que responda a muchas interrogantes sobre Tenuipalpidae, especialmente de las especies del género *Brevipalpus*.

El leprosis de los cítricos es una enfermedad viral grave que puede finalmente causar la muerte de los árboles (Rodrigues 2000). Esta enfermedad se ha restringido a América del Sur desde su desaparición de Florida en 1962. En este artículo se presenta una revisión de las especies conocidas de ácaros del género *Brevipalpus*, vectores de la leprosis de los cítricos, su

<sup>1</sup>University of Florida, Citrus Research and Education Center, Lake Alfred, Florida 33850, USA.

<sup>2</sup>Universidade de Sao Paulo, ESALQ, NAP/Fitopatologie, 13418-900, Piracicaba, SP, Brasil.

<sup>3</sup>Department of Agriculture & Consumer Services, Division of Plant Industry, Gainesville, Florida, EE.UU. 32614.

<sup>4</sup>Universidad de Costa Rica, Centro de Investigación en Biología Celular y Molecular, San José, Costa Rica.

<sup>5</sup>USDA, ARS, Systematic Entomology Laboratory, Beltsville, MD, USA.

taxonomía, biología, distribución, plantas hospedantes, su participación como vector de la leprosis de los cítricos, el *Virus de la leprosis de los cítricos* y otros virus similares en otros cultivos.

### Taxonomía

La familia Tenuipalpidae es parte de la superfamilia Tetranychoidae y se caracteriza por tener tibia palpal sin una seta semejante a una espina alargada (p.e. uña palpal) y un tarso palpal apical; setas pretorsales y empodio con pelos adhesivos y no setas dobles unidas con el solenidio en los tarsos de las patas I y II. (Jeppson *et al.* 1975, Smith Meyer 1979). El patrón reticulado en el idiosoma, el tipo de setas y su disposición en el cuerpo son caracteres sistemáticos distintivos para los miembros de la familia Tenuipalpidae.

Se han identificado diez especies de *Brevipalpus* en cítricos en el mundo, que incluyen: *B. amicus* Chaudhri, *B. californicus* (Banks), *B. chilensis* Baker, *B. karachiensis* Chaudhri, Akbar y Rasool, *B. lewisi* (McGregor), *B. mcgregori* Baker, *B. obovatus* Donnadieu, *B. phoenicis* (Geijskes), *B. rugulosus* Chaudhri, Akbar y Rasool y *B. tinsukiaensis* Sadana y Gupta. *B. deleoni* (Pritchard y Baker (1949) fue reportado en cítricos pero es un sinónimo de *B. phoenicis* (Baker y Suigong 1988). Las especies de otros géneros encontrados en cítricos son: *Tenuipalpus citri* Smith Meyer en Africa (Smith Meyer 1979). *Tenuipalpus* sp. en la Provincia de Chiriquí en Panamá (Childers, inédito), *T. mustus* Chaudhri en India y Pakistán, *T. orilloi* Rimando en Indonesia y Filipinas, y *Pentamerismus tauricus* Livshitz y Mitrofanov (Ghai y Shenhmar 1984). *Tenuipalpus caudatus* (Duges) fue encontrado en cítricos en India y también se halla en Francia, Grecia, Italia y Portugal y *Ultratenuipalpus gonianensis* Sadana y Sidhu en cítricos en India (Sadana 1997).

### Biología del ácaro

Los ácaros del género *Brevipalpus* son partenogenéticos (telitóquicos), las hembras reproducen hembras y raramente se encuentran machos. Ambos, hembras y machos son haploides con dos cromosomas (Pijnacker *et al.* 1980). El ciclo de vida de un ácaro *Brevipalpus* se muestra en la figura 1. Este tiene cuatro estadios activos: larva, protoninfa, deutoninfa y adulto. Entre cada estadio activo hay una fase de desarrollo inmóvil fisiológicamente activo. Los adultos son morfológicamente diferentes de los estados inmaduros. La tasa de desarrollo depende, en gran medida, de la temperatura, humedad relativa y plantas hospedantes (Haramoto

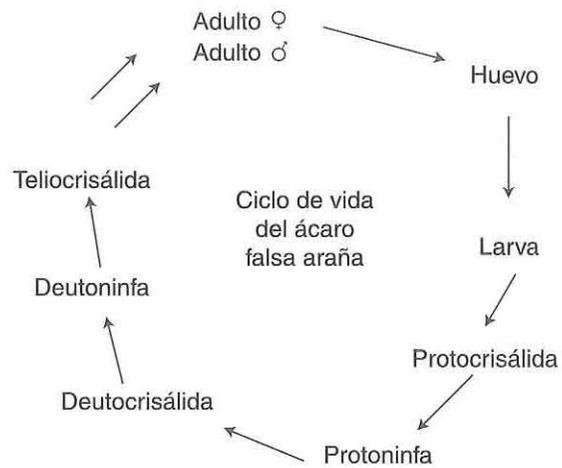


Figura 1. Ciclo de vida típico del ácaro *Brevipalpus*.

1969, Chandra y Channabasavanna 1974, Lal 1978, Goyal *et al.* 1985). Por ejemplo, la duración de las fases de desarrollo para *B. californicus* criados a temperaturas entre 21 y 30° C fue de: 8,6 días para la larva; 6,2 días para la protoninfa; 7,0 días para la deutoninfa y cada estadio inmóvil requirió 3,6 días (Manglitz y Cory 1953). Las hembras de *B. californicus* empiezan la oviposición aproximadamente a los 3,8 días después de su última muda y ovipositan un huevo por día durante más de 25 días. En comparación, la tasa de desarrollo de *B. obovatus* a temperaturas entre 27 y 30° C es: 5,3 y 3,5 días para la larva; 4,0 y 4,1 días para la protoninfa y 4,0 y 2,7 días para la deutoninfa, respectivamente (Jeppson *et al.* 1975). Un total de 54,3 o 32,1 huevos fueron ovipositados por hembras para un promedio de vida adulto de 38,1 y 23,4 días, respectivamente. La duración del ciclo de vida de *B. phoenicis*, criados en hojas de té a 26° C fue de 9,53 ± 1,71 días para los huevos, 19,13 ± 1,73 días para los estados inmaduros y 41,68 ± 5,92 días para el ciclo de vida completo (Kennedy *et al.* 1996). La tasa de reproducción es de 56,7 huevos/hembra, el tiempo de generación es de 27,6 días y la población es duplicada cada 5,5 días. El huevo de *B. phoenicis* es elíptico, rojo brillante y de 84 µm de longitud y 60 µm de diámetro, en promedio (Rodrigues y Machado 1999). Normalmente, los huevos son depositados en racimos de cuatro a ocho, por varias hembras y se adhieren firmemente a la superficie de la planta. Una sustancia pegajosa permite que los huevos depositados en rajaduras o resquebrajamientos, hendiduras, exuvias u otros nichos protegidos en la superficie de las frutas permanezcan adheridos (Jeppson *et al.* 1975). Los estadios móviles son también difíciles de remover de la superficie de frutos de-

bido a su preferencia por las zonas con rajaduras, hendiduras o manchas anilladas.

### Plantas hospedantes

Haramoto (1969) informó 37 especies de plantas pertenecientes a 27 familias que son hospedantes de *B. phoenicis* en Hawaii. Chandra y Channabasavanna (1974) informaron de 36 especies de plantas hospedantes de *B. phoenicis*. Anteriormente, Pritchard y Baker (1958) habían señalado 63 plantas hospedantes de *B. phoenicis*. Para *B. californicus*, *B. obovatus* y *B. phoenicis* Smith Meyer (1979) reportó más de 50 especies de plantas hospedantes a nivel mundial. Ochoa *et al.* (1994) reportaron 177 hospedantes para *B. phoenicis*, *B. californicus* y *B. obovatus* en América Central, incluyendo 114 hospedantes para *B. phoenicis*, 29 para *B. californicus* y 34 para *B. obovatus*.

### Leptosia de los cítricos y su vector *Brevipalpus*

*B. californicus*, *B. obovatus* y *B. phoenicis* han sido identificados en cítricos en Brasil, Costa Rica, Honduras, Sudafrica y en los Estados Unidos (California, Texas y Florida) (Knorr *et al.* 1968, Muma 1975, Smith Meyer 1979, Denmark 1984, Baker y Suigong 1988, Evans *et al.* 1993, Ochoa *et al.* 1994). *B. californicus* fue el vector de la leptosis en Florida según Knorr (1968). Sin embargo, no hay especímenes de referencia de Argentina, Venezuela o Florida, disponibles para validar las identificaciones.

La leptosis es una enfermedad muy seria de los cítricos en Brasil, Argentina, Paraguay, Venezuela y probablemente en Colombia y Uruguay y recientemente (1999) documentada por primera vez en Panamá (Dominguez *et al.* 2001). La enfermedad continua siendo un problema significativo, que a largo plazo provoca serios daños en los árboles, reducción de la producción y eventualmente, la muerte de los árboles, si no se mantiene un control del ácaro (Rodrigues 2000).

*B. phoenicis* es un vector eficaz de la leptosis (Chiavegato y Salibe 1984), siendo más eficiente la transmisión durante la fase larval en comparación con los estadios de ninfa y adulto (Chagas *et al.* 1984). Según Chiavegato (1995) todos los estadios de alimentación de *B. phoenicis* son igualmente eficientes para la transmisión de la leptosis. Una vez que el ácaro es infectado con el virus continua como vector de la enfermedad en los instares sucesivos (=transmisión a través de los estadios) pero no hay evidencia de transmisión transovarial (Rodrigues 2000). Es necesario estudios simultáneos sobre *B. californicus* y *B. obovatus*. Se han

identificado partículas similares al virus que causa la leptosis de los cítricos en especímenes de *B. phoenicis* mediante el uso de un microscopio electrónico (Rodrigues *et al.* 1997).

Los ácaros del género *Brevipalpus* son longevos y mantienen la capacidad de transmitir el *Virus de la leptosis de los cítricos* durante toda su vida. La duración del ciclo de vida de *B. phoenicis*, incluyendo las fases de desarrollo individual es considerablemente más larga que la del ácaro rojo de los cítricos *Panonychus citri* (McGregor) (Tetranychidae) (Beavers y Hampton 1971, Saito 1979) (Cuadro 1). Esto es un problema potencialmente importante, relacionado con el mantenimiento del virus por largos periodos de tiempo en una población de ácaros virulífera.

**Cuadro 1.** Índices comparativos de desarrollo, producción de huevos y longevidad de adultos de *Brevipalpus phoenicis* criados en *Oroxylum indicum* y *Panonychus citri* criados en cítricos a 27° C.

Instares	Duración (en días)	
	<i>B. phoenicis</i>	<i>P. citri</i>
Huevo	6,0	3,4
Larva	4,8	1,9
Protoninfa	4,8	1,9
Deutoninfa	4,9	2,3
Huevo-Adulto	20,7	12,0
Longevidad del adulto	20,4	—

(Beavers y Hampton 1971, Lal 1978, Saito 1979).

La leptosis es la enfermedad viral más importante de los cítricos en Brasil, donde causa pérdidas económicas significativas (Rodrigues 2000). Las variedades de naranja dulce *Citrus sinensis* (L.) Osbeck son particularmente susceptibles. Los síntomas severos se presentan en las hojas, brotes verdes y frutos. Estos pueden variar según la variedad, planta hospedante, región y desarrollo de la parte afectada de la planta.

### Evidencias de la naturaleza viral de la leptosis de los cítricos

Fawcett y Lee (1926) informaron la presencia de la leptosis de los cítricos en Florida desde finales del siglo 19. La asociación y transmisión de la leptosis por el ácaro *Brevipalpus* fue informada por primera vez en Argentina, donde la enfermedad era conocida como "lepra explosiva" (Frezzi 1940, Vergani 1945), después fue confirmada en Brasil (Musumecchi y Rossetti 1963) y en los Estados Unidos de América (Knorr 1968) sugiriendo su etiología viral.

En este sentido, Knorr (1968) también señaló que las lesiones de la leptosis en los tallos se transmi-

ten a los tejidos sanos cuando estos son injertados. Kitajima *et al.* (1972) demostró la presencia de partículas similares a varillas (40-50 nm x 100-110 nm) en el núcleo y en el citoplasma, normalmente asociadas con membranas del retículo endoplasmático y nucleares, así como un viroplasma intranuclear electrotráns lucido en lesiones en hojas, causadas por un aislamiento de la leprosis, del Estado de Sao Paulo, Brasil. Este efecto citopático, referido aquí como del tipo nuclear, es similar al descrito para el "*Orchid fleck virus*" (Doi *et al.* 1977) que es transmitido por *B. californicus* (Maeda *et al.* 1998). Sin embargo, el efecto citopático en lesiones causadas por otros aislamientos de la leprosis de los cítricos de Argentina (Kitajima *et al.* 1974) y de Brasil (Colariccio *et al.* 1995) fueron diferentes: partículas baciliformes cortas, cubiertas por una membrana (50-60 nm x 110-120 nm) dentro de las cisternas del retículo endoplasmático, así como un viroplasma vacuolado electro denso en el citoplasma. Este tipo de alteración de la célula es conocido como del tipo citoplasmático. En un estudio reciente, en la Provincia de Chiriquí, Panamá las muestras de lesiones de leprosis de los cítricos, especialmente las de Boquete, eran predominantemente del tipo nuclear, mientras las tomadas en Potrerillos eran del tipo citoplasmático (Dominguez *et al.* 2001). Colariccio *et al.* (1995) aportaron otra evidencia importante de la naturaleza viral de la leprosis de los cítricos cuando exitosamente y de manera mecánica lograron la transmisión del agente causal entre cultivos de cítricos y a algunas hospedantes herbáceas (*Chenopodium quinoa* Willd., *C. amaranticolor* Coste & Reyn., *Gomphrena globosa* L.) que produjeron lesiones locales. Sin embargo, a la fecha los intentos para purificar y caracterizar el virus han sido infructuosos.

La citopatología de la leprosis de los cítricos indica que pueden haber dos tipos diferentes de virus (nuclear y citoplasmático), ambos transmitidos por ácaros del género *Brevipalpus*, los cuales causan síntomas similares. Hasta ahora, el tipo citoplasmático ha sido el más común. Debe mencionarse que estos tipos de alteraciones de la célula, tanto del núcleo como del citoplasma,

### Literatura citada

- Baker, EW. 1949. The genus *Brevipalpus* (Acarina: Pseudoleptidae). The Amer. Midland Nat. 2:350-402.  
 Baker, EW; Tuttle, DM. 1987. The false spider mites of Mexico (Tenuipalpidae: Acari). USDA ARS Tech. Bull. 1706.  
 Baker, EW; Suigong, Y. 1988. A catalog of the false spider mites (Tenuipalpidae: Acari) of the United States. Int. J. Acarol. 14(3):143-155.

han sido encontrados en muchas otras enfermedades transmitidas por *Brevipalpus* (Cuadro 2). Estos aspectos fueron determinados recientemente pero la relación exacta entre ellos refleja claramente que la epidemiología de la leprosis de los cítricos es aún desconocida.

**Cuadro 2.** Enfermedades transmitidas por ácaros del género *Brevipalpus*, especies vectoras, distribución geográfica y citopatología (Kitajima *et al.* 2000).

Enfermedad	Distribución geográfica	Acaro vector	Citopatología
Leprosis de los cítricos	América	<i>B. phoenicis</i> , <i>B. obovatus</i> , <i>B. californicus</i>	N, C
Orchid fleck	Mundial	<i>B. californicus</i>	N, C
<i>Ligustrum</i> ringspot	América del Sur	<i>B. phoenicis</i> , <i>B. obovatus</i>	C
Coffee ringspot	Brasil	<i>B. phoenicis</i>	N
Passion fruit green spot	Brasil	<i>B. phoenicis</i>	C
<i>Hibiscus</i> green spot	Brasil, Panamá	<i>B. phoenicis</i>	C
<i>Hibiscus</i> chlorotic spot	Brasil	No determinado	N
<i>Malvaviscus</i> ringspot	Brasil	<i>B. phoenicis</i>	N
Ivy green spot	Brasil	<i>B. phoenicis</i>	C
<i>Schefflera</i> ringspot	Brasil	<i>B. phoenicis</i>	C
<i>Clerodendron</i> chlorotic spot	Brasil	<i>B. phoenicis</i>	N
<i>Clerodendron</i> green spot	Brasil	No determinado	C
<i>Solanum</i> violaeifolium ringspot	Brasil	<i>B. phoenicis</i>	C
<i>Viola</i> chlorotic spot	Australia	No determinado	N

\* N = tipo nuclear; C = tipo citoplasmático

### Nota final

Agradecemos a K.S. Derrick y J. Beretta, del Citrus Research & Education Center, University of Florida y E. Kane, D. Nickle y D. Miller, del Systematic Entomology Laboratory, USDA por su revisión y comentarios. Esta investigación fue apoyada por Florida Agricultural Experiment Station, y aprobada su publicación como Journal Series No. R-08158.

- Beavers, JB; Hampton, RB. 1971. Growth, development, and mating behavior of the citrus red mite (Acarina: Tetranychidae). Ann. Entomol. Soc. Am. 64:804-806.  
 Chagas, CM.; Rossetti, V; Chiavegato, LG. 1984. Effectiveness of the different life stages of *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes) on leprosis transmission. Proc. Ninth Conf. Int. Org. Citrus Virol., Riverside, CA, USA, 211-214.  
 Chagas, CM; Rossetti, V; Colariccio, A; Lovisololo, O; Kitajima, EW; Childers, CC. 2000. *Brevipalpus* mites (Acari:

- Tenuipalpidae) as vectors of plant viruses. *In* Int. Congress Acarology (10, 2000, Melbourne). Halliday, RB; Walter, DE; Proctor, HC; Norton, RA; Colloff, MJ. Ed. Proceedings. CSIRO Pub. (En prensa).
- Chandra, BKN; Channabasavanna, GP. 1974. Biology of guava scarlet mite, *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes) (Acarina: Tenuipalpidae). *Proc. Int. Congress Acarol.* 4:167-176.
- Chiavegato, LG; Salibe, AA. 1984. Transmissibility of leprosis symptoms by *Brevipalpus phoenicis* to young citrus plants under laboratory conditions. *In* Conf. Int. Organ. Citrus Virol (9, 1984, Riverside, Calif). Compendium of citrus diseases. Garnsey, SM; Timmer, LW; Dodds, J. A. Ed. Proceedings. IOCV. p. 218-221.
- Chiavegato, LG. 1995. Avaliação da potencialidade de *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes, 1939) (Acari: Tenuipalpidae) na transmissão da leprose em plantas cítricas. *Congr. Brasileiro Entomol. Caxambu, Minas Gerais.* 15:14 [Abstract].
- Colariccio, A; Lovisolio, O; Chagas, CM; Galletti, SR; Rossetti, V; Kitajima, EW. 1995. Mechanical transmission and ultrastructural aspects of citrus leprosis virus. *Fitopatologia Brasileira* 20:208-213.
- Denmark, HA. 1984. *Brevipalpus* mites found on Florida citrus. Florida Dept. Agric. Consumer Serv., DPI. *Entomol. Circ.* 69.
- Doi, Y; Chang, MU; Yora, K. 1977. Orchid fleck virus. Commonwealth Agricultural Bureau. Association of Applied Biologists. Description of Plant Viruses. 183.
- Dominguez, FS; Bernal, A; Childers, CC; Kitajima, EW. 2001. First report of the citrus leprosis virus in Panama. *Plant Disease (Disease Notes)* 85(2):228.
- Evans, GA; Cromroy, HA; Ochoa, R. 1993. The Tenuipalpidae of Honduras (Tenuipalpidae: Acari). *Florida Entomol.* 76:126-155.
- Fawcett, HS; Lee, HA. 1926. Citrus diseases and their control. New York, McGraw-Hill.
- Frezzi, MS. 1940. La lepra explosiva del naranjo – Investigaciones realizadas por el laboratorio de patología de Bella Vista (Corrientes). *Bol. Frutass y Hortalizas. Min. Agric. La Nación, Buenos Aires.* 5. 16 p.
- Ghai, S; Shenhmar, M. 1984. A review of the world fauna of Tenuipalpidae (Acarina: Tetranychoida). *Oriental Insects* 18:99-172.
- Goyal, M; Sadana, GL; Sharma, NK. 1985. Influence of temperature on the development of *Brevipalpus obovatus* (Acarina: Tenuipalpidae). *Entomon.* 10:125-129.
- Haramoto, FH. 1969. Biology and control of *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes) (Acarina: Tenuipalpidae). *Hawaii Agric. Exp. Sta. Tech. Bull.* 68.
- Jeppson, LR; Keifer, HH; Baker, EW. 1975. Mites injurious to economic plants. Univ. Calif. Press. Berkeley.
- Kennedy, JS; Van Impe, G; Dance, TH; Lebrun, PH. 1996. Demecology of the false spider mite, *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes) (Acari, Tenuipalpidae). *J. Appl. Entomol.* 120:493-499.
- Kitajima, EW; Muller, GW; Costa, AS; Yuki, VA. 1972. Short, rodlike particles associated with citrus leprosis. *Virology* 50:254-258.
- Kitajima, EW; Rosillo, MA; Portillo, MM; Muller, GW; Costa, AS. 1974. Microscopía electrónica de tejidos foliares de laranjeira infetadas pela lepra explosiva da Argentina. *Fitopatología (Perú)* 9:55-56.
- Kitajima, EW; Rezende, JAM; Rodrigues, JCV; Chiavegato, LG; Piza Jr, CT; Morozini, W. 1997. Green spot of passion fruit, a possible viral disease associated with infestation by the mite *Brevipalpus phoenicis*. *Fitopatol. Bras.* 22:555-559.
- Kitajima, EW; Rodrigues, JCV; de Moraes, GJ; Childers, CC. 2000. *Brevipalpus* mite-borne viruses. *Virus Review & Research* 5 (2 supl.):44-45.
- Knorr, LC. 1968. Studies on the etiology of leprosis in citrus. *Proc. Conf. Int. Org. Citrus Virol., Univ. Florida Press.* Gainesville. 4:332-341.
- Knorr, LC; Denmark, HA; Burnett, HC. 1968. Occurrence of *Brevipalpus* mites, leprosis and false leprosis on citrus in Florida. *Florida Entomol.* 51:11-17.
- Lal, L. 1978. Biology of *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes) (Tenuipalpidae: Acarina). *Acarologia* XX:97-101.
- Maeda, T; Kondoi, H; Mitsuhata, K; Tamada, T. 1998. Evidence that orchid fleck virus is efficiently transmitted in a persistent manner by the mite *Brevipalpus californicus*. *Seventh Int. Conf. Plant Pathol. Edinburgh*
- Manglitz, GR; Cory, EN. 1953. Biology and control of *Brevipalpus australis*. *J. Econ. Entomol.* 46:116-119.
- Muma, MH. 1975. Mites associated with citrus in Florida. *Univ. Florida Agric. Exp. Sta. Bull.* 640A.
- Musumecchi, MR; Rossetti, V. 1963. Transmissão de sintomas de leprose dos citros pelo Acaro *Brevipalpus phoenicis*. *Ciencia e Cultura* 15(3):228.
- Ochoa, R; Aguilar, H; Vargas, C. 1994. Phytophagous mites of Central America: an illustrated guide. Turrialba, Costa Rica, CATIE. 234 p.
- Oomen, PA. 1982. Studies on population dynamics of the scarlet mite, *Brevipalpus phoenicis*, a pest of tea in Indonesia. *Med. Landbouwhogeschool* 82-1. Wageningen.
- Pijnacker, LP; Ferwerda, MA; Bolland, HR; Helle, W. 1980. Haploid female parthenogenesis in the false spider mite *Brevipalpus obovatus* (Acari: Tenuipalpidae). *Genetica* 51:211-214.
- Pritchard, AE; Baker, EW. 1958. The false spider mites of California (Acarina: Phytoseptipalpidae). *Univ. Calif. Pub. Entomol.* 9:1-94.
- Rice, RE; Weinberger, GB. 1981. Citrus flat mite on pistachios in California. *Calif. Agric. Jul/Aug.* 25-26.
- Rodrigues, JCV; Nogueira, NL; Freitas, DS; Prates, HS. 1997. Virus-like particles associated with *Brevipalpus phoenicis* Geijskes (Acari: Tenuipalpidae), vector of citrus leprosis virus. *An. Soc. Entomol. Brasil* 26:391-395.
- Rodrigues, JCV; Machado, MA. 1999. Notes on a probable respiratory apparatus in eggs of *Brevipalpus phoenicis* (Acari: Tenuipalpidae). *Int. J. Acarol.* 25:231-234.
- Rodrigues, JCV. 2000. Relações patógeno-vetor-planta no sistema leprose dos citros. Thesis Ph.D. Piracicaba, Brasil, Centro de Energia Nuclear na Agricultura, da Universidade de São Paulo.
- Sadana, GL. 1997. False spider mites infesting crops in India. Ludhiana, India, Kalyani Pub. 201 p.
- Saito, Y. 1979. Comparative studies on life histories of three species of spider mites (Acarina: Tetranychidae) (*Oligonychus ununguis*, *Panonychus citri* and *Tetranychus urticae*, pests of farm crops and trees. *Appl. Entomol. Zool.* 14:83-94.
- Smith Meyer, MKP. 1979. The Tenuipalpidae (Acari) of Africa with keys to the world fauna. Republic of South Africa. Dept. Agric. Tech. Serv. Entomology Memoir 50.
- Vergani, AR. 1945. Transmisión y naturaleza de la "lepra explosiva" del naranjo. Buenos Aires, Min. Agric. Inst. Sanidad Vegetal. Serie A Ano V. No. 3. 11 p.

## *Brevipalpus* mites on citrus and their status as vectors of citrus leprosis

Carl C. Childers<sup>1</sup>  
Elliot W. Kitajima<sup>2</sup>  
W. Calvin Welbourn<sup>3</sup>  
Carmen Rivera<sup>4</sup>  
Ronald Ochoa<sup>5</sup>

**ABSTRACT.** Sixteen species of mites in the family Tenuipalpidae have been reported from citrus worldwide including ten in the genus *Brevipalpus*. In North, Central and South America, *B. californicus* (Banks), *B. obovatus* Donnadieu and *B. phoenicis* (Geijskes) have been reported from citrus and a wide range of other plant hosts. Citrus leprosis is a serious disease of citrus in Argentina, Brazil, Paraguay, Venezuela, and recently in Panama. Citrus leprosis causes yield reduction and eventual death of the trees without acaricidal control. In the late 1800s citrus leprosis was reported in Florida, but has not been reported since the 1960s. *B. californicus*, *B. obovatus* and *B. phoenicis* have been reported as vectors of citrus leprosis, but only *B. phoenicis* has been proven to be an effective vector. The virus in *B. phoenicis* is transmitted transstadially but not transovarially. Recent work indicates there are two kinds of virus particles, one cytoplasmic and the other nuclear. While citrus leprosis has been mechanically transmitted from citrus to citrus and a few herbaceous plants, attempts to purify and characterize the virus have been unsuccessful.

**Key Words:** *Brevipalpus* spp. Citrus leprosis, Citrus, Virus, Mites.

### Introduction

Mites in the family Tenuipalpidae are mostly found in tropical to subtropical climates (Jeppson *et al.* 1975, Baker and Tuttle 1987). They are referred to as false spider mites or flat mites and several species are of economic importance on various crops including: citrus (Kitajima *et al.* 1972), coffee (Chagas *et al.* 2000), tea (Oomen 1982), pistachio (Rice and Weinberger 1981), passion fruit (Kitajima *et al.* 1997) and numerous ornamental plants (Smith Meyer 1979). False spider mites are somewhat elongate, dorsoventrally flattened, reddish in color and slow moving. They frequently are not readily detected because of their small size (200-300  $\mu\text{m}$  in length) and sluggish behavior (Haramoto 1969, Jeppson *et al.* 1975). The genus *Brevipalpus* is recognized as the most important group within the family. Baker (1949)

first described this genus and stated that they were not as important as spider mites. As we become more familiar with certain *Brevipalpus* species, it is evident that they can be serious plant pests. Considerable research is needed to address many questions regarding Tenuipalpidae, especially species within the genus *Brevipalpus*.

Citrus leprosis is a serious virus disease that can ultimately kill citrus trees (Rodrigues 2000). The disease has been restricted to South America since its disappearance from Florida prior to 1962. This paper reviews the known species of *Brevipalpus* mites that occur on citrus, their taxonomy, biology, distribution, host plants, involvement as vectors of citrus leprosis, citrus leprosis and similar viruses on other crops.

<sup>1</sup> University of Florida, Citrus Research and Education Center, Lake Alfred, FL 33850, USA.

<sup>2</sup> Universidad de Sao Paulo, ESALQ, NAP/Fitopatologie, 13418-900, Piracicaba, SP, Brazil.

<sup>3</sup> Department of Agriculture & Consumer Services, Division of Plant Industry, Gainesville, FL 32614, USA.

<sup>4</sup> Universidad de Costa Rica, Centro de Investigación en Biología Celular y Molecular, San José, Costa Rica.

<sup>5</sup> USDA, ARS, Systematic Entomology Laboratory, Beltsville, MD, USA.

## Taxonomy

The family Tenuipalpidae is in the superfamily Tetranychoidae and is characterized by having a palpal tibia without an enlarged spine-like seta (i.e., palpal claw) and an apical palp tarsus; pretarsal claws and empodium with tenet hairs and no duplex setae associated with the solenidia on the tarsus of legs I and II (Jeppson *et al.* 1975, Smith Meyer 1979). The reticulate pattern on the idiosoma, type of setae and their arrangement on the body are all distinctive systematic characters for the Tenuipalpidae.

Ten species of *Brevipalpus* have been identified on citrus worldwide and include: *B. amicus* Chaudhri, *B. californicus* (Banks), *B. chilensis* Baker, *B. karachiensis* Chaudhri, Akbar and Rasool, *B. lewisi* (McGregor), *B. mcgregori* Baker, *B. obovatus* Donnadieu, *B. phoenicis* (Geijskes), *B. rugulosus* Chaudhri, Akbar and Rasool and *B. tinsukiaensis* Sadana and Gupta. *B. deleoni* (Pritchard and Baker (1949) is reported on citrus but it is a junior synonym of *B. phoenicis* (Baker and Suigong 1988). Species within other genera found on citrus include: *Tenuipalpus citri* Smith Meyer in Africa (Smith Meyer 1979), *Tenuipalpus* sp. from Chiriqui Province in Panama (Childers, unpublished data), *T. mustus* Chaudhri in India and Pakistan, *T. orilloi* Rimando in Indonesia and the Philippines, and *Pentamerismus tauricus* Livshitz and Mitrofanov (Ghai and Shenhmar 1984). *Tenuipalpus caudatus* (Duges) was found on citrus in India and also occurs in France, Greece, Italy and Portugal and *Ultratenuipalpus gonianensis* Sadana and Sidhu from citrus in India (Sadana 1997).

## Mite Biology

*Brevipalpus* mites are parthenogenetic (thelytokous) with females producing females and males are rarely found. Both females and males are haploid with 2 chromosomes (Pijnacker *et al.* 1980). A typical life cycle of a *Brevipalpus* mite is shown in Figure 1. There are four active stages: larva, protonymph, deutonymph and adult. Between each active stage is a physiologically active quiescent developmental stage. Adults are morphologically different from the immatures. Development rates are strongly influenced by temperature, relative humidity and host plant (Haramoto 1969, Chandra and Channabasavanna 1974, Lal 1978, Goyal *et al.* 1985). For example, the duration of development stages for *B. californicus* reared between 21 and 30°C was: 8.6 days for the larva, 6.2 days for the protonymph, 7.0 days for the

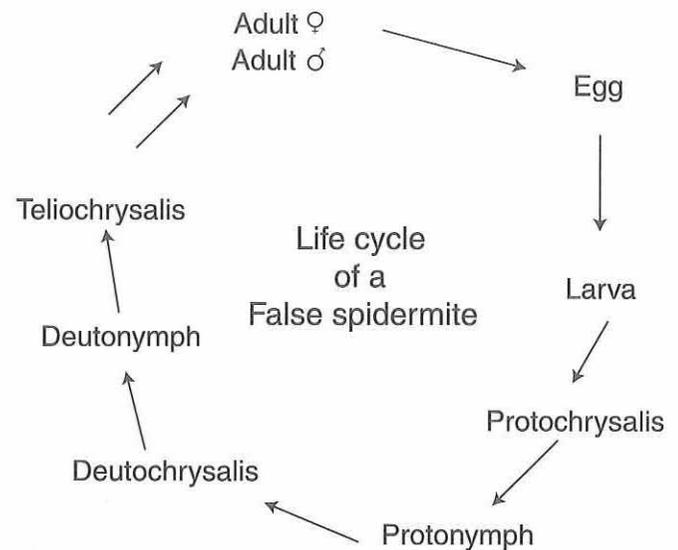


Figure 1. Typical life cycle of a *Brevipalpus* mite.

deutonymph and the quiescent stages required 3.6 days each (Manglitz and Cory 1953). *B. californicus* females begin oviposition about 3.8 days after their last moult and lay one egg per day over 25+ days. In contrast, *B. obovatus* developmental rates at 27 and 30°C were: 5.3 and 3.5 days for the larva, 4.0 and 4.1 days for the protonymph, and 4.0 and 2.7 days for the deutonymph, respectively (Jeppson *et al.* 1975). A total of 54.3 or 32.1 eggs were produced per female over adult lifespans of 38.1 and 23.4 days, respectively. Developmental times for *B. phoenicis* reared on tea leaves at 26°C were 9.53±1.71 days for eggs, 19.13±1.73 days for completion of immature stages and 41.68±5.92 days for the total life cycle (Kennedy *et al.* 1996). The gross reproductive rate was 56.7 eggs/female, the generation time was 27.6 days and the population doubled once in 5.5 days. The *B. phoenicis* egg is elliptical, bright red and averages 84 µm in length and 60 µm in diameter (Rodrigues and Machado 1999). Eggs usually are deposited in clusters of four to eight by different females and adhere tightly to the plant surface. A sticky substance allows eggs to be deposited in cracks, crevices, exuviae or other protected niches on fruit surfaces and remain attached (Jeppson *et al.* 1975). The motile stages are also difficult to remove from fruit surfaces due to their preference for areas with cracks, crevices or rind blemishes.

## Host Plants

Haramoto (1969) listed 37 species of plants in 27 families that were hosts for *B. phoenicis* in Hawaii.

Chandra and Channabasavanna (1974) listed 36 species of plants as hosts for *B. phoenicis*. Earlier, Pritchard and Baker (1958) had reported 63 host plants for *B. phoenicis*. *B. californicus*, *B. obovatus* and *B. phoenicis* each had more than 50 plant species recorded as hosts worldwide by Smith Meyer (1979). Ochoa *et al.* (1994) reported 177 hosts for *B. phoenicis*, *B. californicus*, and *B. obovatus* in Central America that included 114 hosts for *B. phoenicis*, 29 hosts for *B. californicus* and 34 hosts for *B. obovatus*.

### Citrus leprosis and *Brevipalpus* mite vectors

*B. californicus*, *B. obovatus*, and *B. phoenicis* have all been identified from citrus in Brazil, Costa Rica, Honduras, South Africa and in the United States (California, Texas and Florida) (Knorr *et al.* 1968, Muma 1975, Smith Meyer 1979, Denmark 1984, Baker and Suigong 1988, Evans *et al.* 1993, Ochoa *et al.* 1994). *B. californicus* was the reported vector of leprosis in Florida according to Knorr (1968). However, voucher specimens are not available from Argentina, Venezuela or Florida to validate identifications.

Leprosis is a very serious disease of citrus in Brazil, Argentina, Paraguay, Venezuela, probably Colombia and Uruguay and more recently documented in Panama for the first time in 1999 (Dominguez *et al.* 2001). The disease remains a significant problem today by creating serious long-term decline in tree quality, yield reduction and eventual death of the trees if acaricidal control is not maintained (Rodrigues 2000).

*B. phoenicis* is an effective vector of leprosis (Chiavegato and Salibe 1984) with higher transmission efficiency occurring in the larval stage compared with either the nymphal or adult stages (Chagas *et al.* 1984). According to Chiavegato (1995), all feeding stages of *B. phoenicis* were equally effective in leprosis transmission. Once a mite is infected with the virus, it can continue to vector the disease through successive instars (=transstadial transmission) but there is no evidence of transovarial transmission (Rodrigues 2000). Parallel studies with either *B. californicus* or *B. obovatus* are lacking. Virus-like particles similar to those causing citrus leprosis were identified within *B. phoenicis* specimens using electron microscopy (Rodrigues *et al.* 1997).

*Brevipalpus* mites are long-lived and capable of remaining infective with leprosis virus throughout their lives. The duration of the life cycle including individual developmental stages is considerably

longer for *B. phoenicis* when compared with the developmental rate of the citrus red mite, *Panonychus citri* (McGregor) (Tetranychidae) (Beavers and Hampton 1971, Saito 1979) (Table 1). This is a potentially important problem relative to maintenance of the virus in a viruliferous mite population for extended periods of time.

**Table 1.** Comparative developmental rates, egg production and adult longevity of *Brevipalpus phoenicis* reared on *Oroxylum indicum* and *Panonychus citri* reared on citrus at 27°C.

Stage	Duration (in days)	
	<i>B. phoenicis</i>	<i>P. citri</i>
Egg	6.0	3.4
Larva	4.8	1.9
Protonymph	4.8	1.6
Deutonymph	4.9	2.3
Egg-Adult	20.7	12.0
Adult longevity	20.4	--

(Beavers & Hampton 1971, Lal 1978, Saito 1979).

Leprosis is the major viral disease of citrus in Brazil where it causes significant economic loss (Rodrigues 2000). Sweet orange *Citrus sinensis* (L.) Osbeck varieties are especially susceptible. Severe symptoms occur on leaves, green twigs and fruit. Symptoms may change according to variety, host, region and development of the affected plant part.

### Evidence for the viral nature of citrus leprosis

Fawcett and Lee (1926) stated that citrus leprosis was present in Florida since the late 1800s. Association and transmission of leprosis by *Brevipalpus* mites were first reported in Argentina where the disease was known as "lepra explosiva" (Frezzi 1940, Vergani 1945) and later confirmed in Brazil (Musumeci and Rossetti 1963) and in the United States of America (Knorr 1968) suggesting viral etiology. In this direction, Knorr (1968) also showed that the leprosis lesions on the stems expanded to healthy tissue when grafted. Kitajima *et al.* (1972) demonstrated the presence of rodlike particles (40-50 nm x 100-110 nm) in the nucleus and cytoplasm, commonly associated with nuclear and endoplasmic reticulum membranes, as well as an electron lucent intranuclear viroplasm in leaf lesions caused by an isolate of leprosis from the State of Sao Paulo, Brazil. This cytopathic effect, referred here as a nuclear type, is similar to that described in *Orchid fleck virus* (Doi *et al.* 1977) that

was transmitted by *B. californicus* (Maeda *et al.* 1998). However, the cytopathic effects in lesions caused by other isolates of citrus leprosis from Argentina (Kitajima *et al.* 1974) and from Brazil (Colariccio *et al.* 1995) were distinct: short bacilliform, membrane-bounded particles (50-60 nm X 110-120 nm) within cisternae of the endoplasmic reticulum and having an electron dense, vacuolated viroplasm in the cytoplasm. This type of cell alteration is referred to as the cytoplasmic type. In a recent survey in Chiriqui Province in Panama, citrus leprosis lesion samples from Boquete were predominately of the nuclear type, whereas from Potrerillos, the cytoplasmic type was recovered (Dominguez *et al.* 2001). Colariccio *et al.* (1995) added another important piece of evidence for the viral nature of citrus leprosis when they succeeded in mechanically transmitting the causal agent from citrus to citrus and to some other

herbaceous hosts (*Chenopodium quinoa* Willd., *C. amaranticolor* Coste & Reyn., *Gomphrena globosa* L.) that produced local lesions. However, to date, attempts to purify and characterize the virus have been unsuccessful.

The cytopathology of citrus leprosis indicates that there may be two different types of viruses (nuclear and cytoplasm types), both transmitted by *Brevipalpus* mites and causing similar symptoms. So far, the cytoplasmic type has been the most prevalent. It should be mentioned that these types of cell alterations, either from the nuclear or cytoplasmic types, have been found in many other *Brevipalpus* transmitted diseases (Table 2). These facts have surfaced only recently and the precise relationship among them clearly reflects that the epidemiology of citrus leprosis remains unknown.

**Table 2.** Diseases transmitted by *Brevipalpus* mites, vector species, geographical distribution and cytopathology (from Kitajima *et al.* 2000).

Disease	Geographical Distribution	Mite vector	Cytopathology*
Citrus leprosis	Americas	<i>B. phoenicis</i> , <i>B. obovatus</i> , <i>B. californicus</i>	N, C
Orchid fleck	Worldwide	<i>B. californicus</i>	N, C
<i>Ligustrum</i> ringspot	South America	<i>B. phoenicis</i> , <i>B. obovatus</i>	C
Coffee ringspot	Brazil	<i>B. phoenicis</i>	N
Passion fruit green spot	Brazil	<i>B. phoenicis</i>	C
<i>Hibiscus</i> green spot	Brazil, Panama	<i>B. phoenicis</i>	C
<i>Hibiscus</i> chlorotic spot	Brazil	Not determined	N
<i>Malvaviscus</i> ringspot	Brazil	<i>B. phoenicis</i>	N
Ivy green spot	Brazil	<i>B. phoenicis</i>	C
<i>Schefflera</i> ringspot	Brazil	<i>B. phoenicis</i>	C
<i>Clerodendron</i> chlorotic spot	Brazil	<i>B. phoenicis</i>	N
<i>Clerodendron</i> green spot	Brazil	Not determined	C
<i>Solanum violaeifolium</i> ringspot	Brazil	<i>B. phoenicis</i>	C
<i>Viola</i> chlorotic spot	Australia	not determined	N

\* N = nuclear type; C = cytoplasmic type

### End Note

We are grateful to K.S. Derrick and J. Beretta, Citrus Research & Education Center, University of Florida and E. Kane, D. Nickle and D. Miller, Systematic Entomology Laboratory, USDA for their review comments. This research was supported by the Florida Agricultural Experiment Station, and approved for publication as Journal Series No. R-08158.

### References cited

- Baker, EW. 1949. The genus *Brevipalpus* (Acarina: Pseudoleptidae). The Amer. Midland Nat. 2:350-402.
- Baker, EW; Tuttle, DM. 1987. The false spider mites of Mexico (Tenuipalpidae: Acari). USDA ARS Tech. Bull. 1706.
- Baker, EW; Suigong, Y. 1988. A catalog of the false spider mites (Tenuipalpidae: Acari) of the United States. Int. J. Acarol. 14(3):143-155.
- Beavers, JB; Hampton, RB. 1971. Growth, development, and mating behavior of the citrus red mite (Acarina: Tetranychidae). Ann. Entomol. Soc. Am. 64:804-806.
- Chagas, CM.; Rossetti, V; Chiavegato, LG. 1984. Effectiveness of the different life stages of *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes) on leprosis transmission. Proc. Ninth Conf. Int. Org. Citrus Virol., Riverside, CA, USA, 211-214.
- Chagas, CM; Rossetti, V; Colariccio, A; Lovisololo, O; Kitajima, EW; Childers, CC. 2000. *Brevipalpus* mites (Acari: Tenuipalpidae) as vectors of plant viruses. In Int. Congress Acarology (10, 2000, Melbourne). Halliday, RB; Walter, DE; Proctor, HC; Norton, RA; Colloff, MJ. Ed. Proceedings. CSIRO Pub. (In press).
- Chandra, BKN; Channabasavanna, GP. 1974. Biology of guava scarlet mite, *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes) (Acarina: Tenuipalpidae). Proc. Int. Congress Acarol. 4:167-176.
- Chiavegato, LG; Salibe, AA. 1984. Transmissibility of leprosis symptoms by *Brevipalpus phoenicis* to young citrus plants under laboratory conditions. In. Conf. Int. Organ. Citrus Virol (9, 1984, Riverside, Calif). Compendium of citrus

- diseases. Garnsey, SM; Timmer, LW; Dodds, JA. Ed. Proceedings. IOCV. p.218-221.
- Chiavegato, LG. 1995. Avaliacao da potencialidade de *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes, 1939) (Acari: Tenuipalpidae) na transmissao da leprose em plantas citricas. Congr. Brasileiro Entomol. Caxambu, Minas Gerais. 15:14 [Abstract].
- Colariccio, A; Lovisolo, O; Chagas, CM; Galletti, SR; Rossetti, V; Kitajima, EW. 1995. Mechanical transmission and ultrastructural aspects of citrus leprosis virus. Fitopatologia Brasileira 20:208-213.
- Denmark, HA. 1984. *Brevipalpus* mites found on Florida citrus. Florida Dept. Agric. Consumer Serv., DPI. Entomol. Circ. 69.
- Doi, Y; Chang, MU; Yora, K. 1977. Orchid fleck virus. Commonwealth Agricultural Bureau. Association of Applied Biologists. Description of Plant Viruses. 183.
- Dominguez, FS; Bernal, A; Childers, CC; Kitajima, EW. 2001. First report of the citrus leprosis virus in Panama. Plant Disease (Disease Notes) 85(2):228.
- Evans, GA; Cromroy, HA; Ochoa, R. 1993. The Tenuipalpidae of Honduras (Tenuipalpidae: Acari). Florida Entomol. 76:126-155.
- Fawcett, HS; Lee, HA. 1926. Citrus diseases and their control. New York, McGraw-Hill.
- Frezzi, MS. 1940. La lepra explosiva del naranjo - Investigaciones realizadas por el laboratorio de patologia de BellaVista (Corrientes). Bol. Frutas y Hortalizas. Min. Agric. La Nación, Buenos Aires 5. 16 p.
- Ghai, S; Shenhmar, M. 1984. A review of the world fauna of Tenuipalpidae (Acarina: Tetranychoida). Oriental Insects 18:99-172.
- Goyal, M; Sadana, GL; Sharma, NK. 1985. Influence of temperature on the development of *Brevipalpus obovatus* (Acarina: Tenuipalpidae). Entomon. 10:125-129.
- Haramoto, FH. 1969. Biology and control of *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes) (Acarina: Tenuipalpidae). Hawaii Agric. Exp. Sta. Tech. Bull. 68.
- Jeppson, LR; Keifer, HH; Baker, EW. 1975. Mites injurious to economic plants. Univ. Calif. Press. Berkeley.
- Kennedy, JS; Van Impe, G; Dance, TH; Lebrun, PH. 1996. Demecology of the false spider mite, *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes) (Acari, Tenuipalpidae). J. Appl. Entomol. 120:493-499.
- Kitajima, EW; Muller, GW; Costa, AS; Yuki, VA. 1972. Short, rodlike particles associated with citrus leprosis. Virology 50:254-258.
- Kitajima, EW; Rosillo, MA; Portillo, MM; Muller, GW; Costa, AS. 1974. Microscopía electrónica de tejidos foliares de laranjeira infetadas pela lepra explosiva da Argentina. Fitopatología (Perú) 9:55-56.
- Kitajima, EW; Rezende, JAM; Rodrigues, JCV; Chiavegato, LG; Piza Jr, CT; Morozini, W. 1997. Green spot of passion fruit, a possible viral disease associated with infestation by the mite *Brevipalpus phoenicis*. Fitopatol. Bras. 22:555-559.
- Kitajima, EW; Rodrigues, JCV; de Moraes, GJ; Childers, CC. 2000. *Brevipalpus* mite-borne viruses. Virus Review & Research 5 (2 supl.):44-45.
- Knorr, LC. 1968. Studies on the etiology of leprosis in citrus. Proc. Conf. Int. Org. Citrus Virol., Univ. Florida Press. Gainesville. 4:332-341.
- Knorr, LC; Denmark, HA; Burnett, HC. 1968. Occurrence of *Brevipalpus* mites, leprosis and false leprosis on citrus in Florida. Florida Entomol. 51:11-17.
- Lal, L. 1978. Biology of *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes) (Tenuipalpidae: Acarina). Acarologia XX:97-101.
- Maeda, T; Kondoi, H; Mitsuhata, K; Tamada, T. 1998. Evidence that orchid fleck virus is efficiently transmitted in a persistent manner by the mite *Brevipalpus californicus*. Seventh Int. Conf. Plant Pathol. Edinburgh
- Manglitz, GR; Cory, EN. 1953. Biology and control of *Brevipalpus australis*. J. Econ. Entomol. 46:116-119.
- Muma, MH. 1975. Mites associated with citrus in Florida. Univ. Florida Agric. Exp. Sta. Bull. 640A.
- Musumecchi, MR; Rossetti, V. 1963. Transmissao de sintomas de leprose dos citros pelo Acaro *Brevipalpus phoenicis*. Ciencia e Cultura 15(3):228.
- Ochoa, R; Aguilar, H; Vargas, C. 1994. Phytophagous mites of Central America: an illustrated guide. Turrialba, Costa Rica, CATIE. 234 p.
- Oomen, PA. 1982. Studies on population dynamics of the scarlet mite, *Brevipalpus phoenicis*, a pest of tea in Indonesia. Med.Landbouwhogeschool 82-1. Wageningen.
- Pijnacker, LP; Ferwerda, MA; Bolland, HR; Helle, W. 1980. Haploid female parthenogenesis in the false spider mite *Brevipalpus obovatus* (Acari: Tenuipalpidae). Genetica 51:211-214.
- Pritchard, AE; Baker, EW. 1958. The false spider mites of California (Acarina: Phytotipalpidae). Univ. Calif. Pub. Entomol. 9:1-94.
- Rice, RE; Weinberger, GB. 1981. Citrus flat mite on pistachios in California. Calif. Agric. Jul/Aug. 25-26.
- Rodrigues, JCV; Nogueira, NL; Freitas, DS; Prates, HS. 1997. Virus-like particles associated with *Brevipalpus phoenicis* Geijskes (Acari: Tenuipalpidae), vector of citrus leprosis virus. An. Soc. Entomol. Brasil 26:391-395.
- Rodrigues, JCV; Machado, MA. 1999. Notes on a probable respiratory apparatus in eggs of *Brevipalpus phoenicis* (Acari: Tenuipalpidae). Int. J. Acarol. 25:231-234.
- Rodrigues, JCV. 2000. Relacoes patogeno-vetor-planta no sistema leprose dos citros. Thesis Ph.D. Piracicaba, Brasil, Centro de Energia Nuclear na Agricultura, da Universidade de Sao Paulo.
- Sadana, GL. 1997. False spider mites infesting crops in India. Ludhiana, India, Kalyani Pub. 201 p.
- Saito, Y. 1979. Comparative studies on life histories of three species of spider mites (Acarina: Tetranychidae) (*Oligonychus ununguis*, *Panonychus citri* and *Tetranychus urticae*, pests of farm crops and trees. Appl. Entomol. Zool. 14:83-94.
- Smith Meyer, MKP. 1979. The Tenuipalpidae (Acari) of Africa with keys to the world fauna. Republic of South Africa. Dept. Agric. Tech. Serv. Entomology Memoir 50.
- Vergani, AR. 1945. Transmisión y naturaleza de la "lepra explosiva" del naranjo. Buenos Aires, Min. Agric. Inst. Sanidad Vegetal. Serie A Ano V. No. 3. 11 p.

# // Estrategia de manejo para romper el ciclo del vector *Brevipalpus* spp. - Rhadovirus, causante de la leprosis de los cítricos

Carl C. Childers<sup>1</sup>  
Jose Carlos Rodrigues<sup>2</sup>  
Elliot W. Kitajima<sup>3</sup>  
Kenneth S. Derrick<sup>1</sup>  
Carmen Rivera<sup>4</sup>  
W. Calvin Welbourn<sup>5</sup>

**RESUMEN.** La leprosis de los cítricos es una seria enfermedad viral transmitida por ácaros del género *Brevipalpus* (Acari:Tenuipalpidae), la cual puede finalmente causar la muerte de los árboles de cítricos. Actualmente, la enfermedad se encuentra en Sur América y Panamá y representa una amenaza para la industria de cítricos del Caribe, América Central, México y los Estados Unidos. Antes de 1926, la leprosis de los cítricos casi destruyó la industria de cítricos en Florida (EEUU), pero la enfermedad no ha sido encontrada en ese país desde 1962. Se requiere un enfoque alternativo para el control de la leprosis por no ser posible la eliminación del ácaro vector. El incremento en los costos de los plaguicidas, la resistencia a los acaricidas y un amplio ámbito de plantas hospedantes exacerba los esfuerzos de control. Se propone un programa de seis pasos para romper el ciclo del virus-vector en América Central. El programa para identificar y prevenir la diseminación de la leprosis de los cítricos incluye el uso de cuarentena, capacitación, entrenamiento, educación, monitoreo y remoción de árboles. Además el programa propuesto incluye pasos a tomar cuando la leprosis es detectada en un área.

**Palabras clave:** Leprosis de los cítricos, Cítricos, Virus, Acaros, Estrategias de control.

## Introducción

La leprosis de los cítricos estaba presente en Florida antes de 1962 y según informes entre 1900 y 1925 casi destruyó la industria de cítricos (Knorr y Price 1958, Knorr 1968). En Florida se informó de síntomas de leprosis en frutos, hojas, brotes y ramas grandes (Fawcett y Lee 1926, Knorr y DuCharme 1950, 1951, Knorr y Price 1958, Knorr *et al.* 1968). Los síntomas en las ramas grandes no son consistentes con los observados en Brasil y Panamá (Kitajima *et al.* 1972, 1974, Rodrigues 2000, Chagas *et al.* 2000). Fawcett y Lee (1926) describieron las diferencias entre los síntomas de la leprosis y la del cáncer de los cítricos, en hojas y brotes. Una descripción de la leprosis de los cítri-

cos en Florida y fotografías sobre los síntomas en hojas, frutos y brotes fueron publicadas por Knorr y DuCharme (1950, 1951). Estos coinciden con los síntomas de leprosis encontrados recientemente en Brasil, Argentina, Venezuela, Paraguay y Panamá.

El uso generalizado de azufre soluble en agua en cítricos en Florida, para el control del ácaro, se inició aproximadamente en 1923, informándose como responsable de la desaparición de los síntomas de la leprosis en las plantaciones en las cuales se aplicó este producto (Knorr *et al.* 1968). En las plantaciones de cítricos tratadas se hicieron de 1 - 3 a tres aplicaciones de azufre por estación, usando bombas manuales de

1 University of Florida, Citrus Research and Education Center, Lake Alfred, FL 33850, USA.

2 Instituto Agronomico, Centro de Citricultura, Sylvio Moreira, Cordeiropolis, SP, Brasil.

3 Universidade de Sao Paulo, ESALQ, NAP/Fitopatologia, 13418-900, Piracicaba, SP, Brasil.

4 Universidad de Costa Rica, Centro de Investigación en Biología Celular y Molecular, San José, Costa Rica.

5 Department of Agriculture and Consumer Services, Division of Plant Industry, Gainesville, FL, USA 32614.

gran volumen y asperjando tanto el dosel interno como el externo de cada árbol. En 1948, los síntomas de leprosis de los cítricos habían desaparecido de las zonas de Florida donde se aplicó este producto (Knorr *et al.* 1948). Probablemente, la helada de diciembre 1962 eliminó los últimos vestigios de la enfermedad en ese estado. Desde entonces, en Florida pocas veces se han observado en hojas de cítricos síntomas similares a los de la leprosis. La observación más reciente de síntomas similares a los de leprosis fue en toronja y hojas de naranja "Hamlin" recolectadas en el Condado de Manatee el 29 de agosto de 1997; posteriormente, se confirmó que estaban libres del virus de la leprosis (Childers *et al.* inédito).

Entre los vectores potenciales de la leprosis de los cítricos en Florida y Texas están *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes), *B. californicus* (Banks), y *B. obovatus* Donnadieu. En Florida se ha informado la presencia de estas tres especies en cítricos mientras que en Texas, en cítricos sólo se han informado *B. phoenicis* y *B. californicus* (Dean y Maxwell 1967, Knorr *et al.* 1968, Denmark 1984, Childers 1994, French y Rakha 1994).

El costo anual del control químico de *Brevipalpus* spp. y del ácaro de la herrumbre de los cítricos *Phyllocoptruta oleivora* (Ashmead) en cítricos en Brasil es superior a US\$100 millones (Ferreira 1999). En el cuadro 1 se presentan varios acaricidas sintéticos eficaces para el control de *Brevipalpus* en cítricos. Debido al incremento en los costos de producción de los plaguicidas y a los problemas de resistencia a acaricidas se requieren alternativas de control

**Cuadro 1.** Acaricidas evaluados para el control de *Brevipalpus* spp.

Clases of acaricidas	Tenuipalpidae
Aceite de petróleo	?
Azúfre	Yes
Organoclorado (dicofol, endosulfán, clorobenzilato)	Si
Piretroides (fenpropatin)	No
Carboxamida (Hexitiazox)	Si
Tetrazina (clofentezine)	?
Carbonitrilo (pirrol)	Si
Organofosforado (etión, dimetoato, metidatión)	No
Carbamatos (aldicarb, carbaril)	Si /No
Organoestañoso (óxido de fenbutatin)	Si
Organosulfurado (propargita)	Si
Lactona Macroclíclica (abamectina)	No/?
IGR (dimilin)	No
Piridazinona (piridaben)	Si

(Omoto 2000). La leprosis de los cítricos es una enfermedad viral grave que puede finalmente causar la muerte de los árboles (Rodrigues 2000). Esta enfermedad ha estado restringida a América del Sur desde su desaparición de Florida, antes de 1962. Se han impuesto severas limitaciones a las exportaciones de países donde está presente la leprosis.

La leprosis de los cítricos fue confirmada en Panamá en 1999 (Dominguez *et al.* 2001). En el 2000, la enfermedad fue confirmada en al menos 462 ha de cítricos en Potrerillos, Boquete y Volcancito, zonas de la Provincia de Chiriquí, Panamá y se considera que la infección tiene más de cinco años. Rodrigues considera que la leprosis ha existido en la provincia de Chiriquí por lo menos durante los últimos 10 años por dos razones: 1. la diseminación inicial de la enfermedad es lenta, y 2. la rapidez de la diseminación de la leprosis está relacionada directamente con una amplia incidencia de la enfermedad. Por consiguiente, la baja incidencia de la enfermedad provoca una diseminación inicial lenta (Rodrigues 2000). El virus no es sistémico, sólo se presenta en cítricos, y únicamente es transmitido por *Brevipalpus* (Rodriguez *et al.* 2000). Una rápida diseminación de la enfermedad en Panamá es una anticipación al eventual establecimiento en el Caribe, América Central, México y finalmente en los Estados Unidos. Su impacto en la producción futura de cítricos en el Caribe y América Central sería significativa.

#### Lineamientos para un enfoque alternativo para romper el ciclo virus-vector

Debido al valor sustancial de la industria citrícola se presenta un enfoque alternativo para romper el ciclo del virus-vector con el propósito de ofrecer pautas para una pronta y decisiva acción cuando se presente un brote localizado de leprosis. La erradicación del ácaro es imposible. Los seis pasos propuestos son:

- 1- Establecer una cuarentena total del movimiento de frutos, plantas y partes de plantas de cítricos de Panamá u otros países donde existe leprosis de los cítricos a Costa Rica.
- 2- Desarrollar un programa de capacitación sobre la identificación exacta de la sintomatología de la leprosis de los cítricos a través del Ministerio de Agricultura en Costa Rica en conjunto con la Universidad de Costa Rica, la Universidad de São Paulo, Brasil y la Universidad de Florida. Simultáneamente, preparar una serie de fotografías a color para ilustrar los síntomas de la enfermedad en naranja grande 'Valencia', y en variedades de mandarina existentes en

Costa Rica. El reconocimiento exacto de las lesiones de leprosis en hojas, frutos y troncos es esencial.

- 3- Desarrollar un programa completo de monitoreo en Costa Rica, especialmente en las áreas limítrofes con Panamá, para identificar brotes iniciales de la enfermedad. El estudio inicial debe ser completo para identificar la distribución y ubicación de árboles de cítricos, tanto en plantaciones comerciales como en patios o jardines, especialmente en una banda de 5-20 km a lo largo de la frontera este de Costa Rica. Las inspecciones periódicas en esta área deben ser más intensivas que en áreas al oeste y norte de esta zona.
- 4- Se debe implementar un programa intensivo de educación para desarrollar y fomentar el apoyo local a propietarios de huertos caseros y a productores comerciales. Realizar una campaña en los medios de comunicación (televisión, radio, reuniones de extensión, reuniones con iglesias y otras organizaciones políticas locales, escuelas, así como en cartas y carteles) para educar a los finqueros, productores y a la población local sobre la enfermedad, los vectores y la necesidad primordial de eliminar los árboles infectados. No sólo se debe educar a la población sobre la enfermedad, sino que ésta debe involucrarse y participar activamente como en los programas del gusano barrenador. En América Central, la leprosis podría acabar completamente con la producción de naranjas y mandarinas en patios y jardines, de las áreas donde esta enfermedad se establezca debido a la susceptibilidad de estos cítricos al virus. En plantaciones comerciales, será necesario realizar aplicaciones con múltiples acaricidas para controlar los ácaros virulíferos.
- 5- Definir y establecer una zona de protección alrededor de cada área infectada, la cual debe medir 1 km como mínimo (perímetro exterior), esto debe hacerse tan pronto como el área sea identificada. La aspersión en los árboles de cítricos debe iniciar desde los bordes del perímetro exterior hacia el centro, moviéndose hasta el centro de la zona de infección. El propósito de la aplicación de un acaricida es, principalmente, reducir las poblaciones móviles del ácaro *Brevipalpus* y el potencial de una distribución posterior de ácaros virulíferos mediante los equipos técnicos de erradicación. En la fumigación de plantaciones comerciales se usan equipos de aspersión con volúmenes de rocío altos y medios (por ejemplo 1000 a 2000 L/ha) o equipo de pulverización de alto volumen (por ejemplo 2000 a 2500 L/ha). Solo

se utilizan bombas de espalda de ultra bajo volumen en patios o laderas donde no puede usarse equipo más grande, asperjando de 5-8 L/árbol. Es indispensable lograr el cubrimiento completo de las plantas infectadas. Un movimiento de convección del rocío se logra fácilmente a temperaturas moderadas y con viento. Cuando se usa equipo de ultra bajo volumen se debe considerar este fenómeno.

Los árboles tratados deben ser cortados y quemados dentro de las 24 h siguientes al tratamiento con el acaricida. Inmediatamente después de retirar el árbol, se debe pintar cada tocón o estaca expuesta del árbol con un herbicida registrado, apropiado para esto, para lo cual se usa una brocha manual extendida. Muchos herbicidas pueden ser peligrosos para quienes los aplican y causan irritación severa en los ojos y la piel así como toxicidad dérmica o por inhalación. Cuando se usa cualquier herbicida se deben tener cuidados especiales para la seguridad de quienes aplican el producto, incluyendo la dotación de una máscara protectora, ropa especial y guantes. También, se deben tomar precauciones para la protección y seguridad de los residentes en zonas aledañas a las áreas donde se aplicó. Además, en patios o jardines se debe tener un cuidado máximo cuando se usan herbicidas para evitar la fitotoxicidad de las plantas adyacentes.

- 6- Desarrollar un programa de indemnización a los propietarios por el reemplazo de árboles de cítricos, para asegurar su apoyo en el área de máximo control.

#### **Necesidades de investigación sobre *Brevipalpus* vector de la leprosis y de enfermedades virales relacionadas**

La mayoría de los especialistas en taxonomía han informado variaciones morfológicas entre diferentes poblaciones de *B. phoenicis*, *B. californicus*, y *B. obovatus* (Gonzales 1975, Smith Meyer 1979, Baker y Tuttle 1987, Evans *et al.* 1993, Ochoa *et al.* 1994). Es posible encontrar complejos de especies. Acaros del género *Brevipalpus* fueron recolectados en cítricos en Panamá en julio del 2000, por el autor principal de este artículo. Los ácaros fueron identificados como *B. phoenicis* por el Dr. Ronald Ochoa, de USDA ARS Systematic Entomology Laboratory en Beltsville, Maryland; el encontró diferencias morfológicas entre los especímenes examinados.

Un aspecto básico que debe ser resuelto es la presencia de una o más especies de *Brevipalpus* en cítricos. Es necesario conocer si hay una, dos o varias especies de este género involucradas en la transmisión de la

leprosis de los cítricos y otros virus relacionados del café, maracuyá y varias especies de plantas ornamentales. ¿Si están varias especies de *Brevipalpus* presentes, entonces ¿cuáles son sus ámbitos de plantas hospedantes? No se pueden desarrollar estrategias de control alternativo eficaces hasta que estos aspectos no se resuelvan. Se requieren técnicas moleculares para evaluar las poblaciones de ácaros recolectadas en cítricos, café y otros cultivos en América del Sur, América Central y América del Norte. Los resultados de estos estudios podrán proporcionar mayor información a los taxónomos de ácaros, para evaluaciones del posible complejo de especies dentro o entre las poblaciones de *Brevipalpus* de las diferentes regiones o localidades. Se podría además incluir información sobre las plantas hospedantes. Para definir posibles propuestas de control, como romper el ciclo vector-virus en una área específica de Costa Rica u otra región de América Central o de América del Sur se requieren estos resultados. Para determinar las diferencias entre los daños causados por la alimentación de *Brevipalpus* y los síntomas del virus de la leprosis de los cítricos es necesario su investigación (Childers 1994). También es necesario el desarrollo de técnicas moleculares y serológicas eficaces para la caracterización e identificación del virus.

Es importante ofrecer información sobre la taxonomía actual y el ámbito de hospedantes de *B. phoenicis* pues el riesgo de que la leprosis de los cítricos se dis-

tribuya en toda América Central y América del Norte es grande. Deben considerarse varios factores relacionados con el ácaro vector y sus movimientos. Caso: 1. La longevidad de las especies de *Brevipalpus*, que desde larva hasta adulto puede ser de 40-60 días; 2. una vez que el ácaro ha sido infectado con la leprosis puede transmitir la enfermedad durante el resto de su vida; 3. las especies encontradas en cítricos son difíciles de remover de los frutos debido a su tendencia de preferir las áreas manchadas en la superficie o ubicarse bajo los sépalos; 4. muchas especies de ácaros fitófagos se dispersan aéreamente. Si la información actual sobre el ámbito de hospedantes es correcta, entonces los ácaros virulíferos podrían ser trasladados, mediante una o más especies ornamentales leñosas o en otras plantas hospedantes que no son cítricos pero que están cerca de árboles de cítricos infectados, desde Panamá y otros países con la enfermedad hasta otros países de América Central o el Caribe y eventualmente a México y a los Estados Unidos. Esta combinación de factores debe considerarse por su potencial relación con la diseminación de la enfermedad desde los países con leprosis de los cítricos.

#### Nota final

Esta investigación fue apoyada por Florida Agricultural Experiment Station, y aprobada su publicación como Journal Series No. R-08157.

#### Literatura citada

- Baker, EW; Tuttle, DM. 1987. The false spider mites of Mexico (Tenuipalpidae: Acari). USDA ARS Tech. Bull. 1706.
- Chagas, CM; Rossetti, V; Colariccio, A; Lovisolo, O; Kitajima, EW; Childers, CC. 2000. *Brevipalpus* mites (Acari: Tenuipalpidae) as vectors of plant viruses In Halliday, RB; Walter, DE; Proctor, HC; Norton, RA; Colloff, MJ. Eds. Int. Congress Acarology (10, 1998, Melbourne). Proceedings. CSIRO Publ. (En prensa).
- Childers, CC. 1994. Feeding injury to 'Robinson' tangerine leaves by *Brevipalpus* mites (Acari: Tenuipalpidae) in Florida and evaluation of chemical control on citrus. Florida Entomol. 77:265-271.
- Dean, HA; Maxwell, NP. 1967. Spotting of grapefruit as associated with false spider mites. Proc. Rio Grande Valley Hort. Soc. 21:35-45.
- Denmark, HA. 1984. *Brevipalpus* mites found on Florida citrus. Florida Dept. Agric. Consumer Serv., DPI. Entomol. Circ. 69.
- Dominguez, FS; Bernal, A; Childers, CC; Kitajima, EW. 2001. First report of the citrus leprosis virus in Panama. Plant Disease 85(2):228 (Disease Notes).
- Evans, GA; Cromroy, HA; Ochoa, R. 1993. The Tenuipalpidae of Honduras (Tenuipalpidae: Acari). Florida Entomol. 76:126-155.
- Fawcett, HS; Lee, HA. 1926. Citrus diseases and their control. New York, McGraw-Hill.
- Ferreira, CRRP. 1999. Defensivos agrícolas. Informacoes Economicas 29:11-13.
- French, JV; Rakha, MA. 1994. False spider mite: damage and control on Texas citrus. Subtropical Plant Sci. 46:16-19.
- Gonzalez, RH. 1975. Revision of the *Brevipalpus phoenicis* "complex" with descriptions of new species from Chile and Thailand (Acarina: Tenuipalpidae). Acarologia 17: 81-91.
- Kitajima, EW; Muller, GW; Costa, AS; Yuki, VA. 1972. Short, rodlike particles associated with citrus leprosis. Virology 50:254-258.
- Kitajima, EW; Rosillo, MA; Portillo, MM; Muller, GW; Costa, AS. 1974. Microscopia electronica de tecidos foliares de laranjeira infetadas pela lepra explosiva da Argentina. Fitopatologia (Perú) 9:55-56.
- Knorr, LC; DuCharme, EP. 1950. A comparison of Argentina's lepra explosiva and Florida's scaly bark-with implications for the Florida citrus grower. Citrus Magazine 12(7):28-32.
- Knorr, LC; DuCharme, EP. 1951. The relationship between Argentina's lepra explosiva and Florida's scaly bark, with implications for the Florida citrus grower. Plant Disease Reporter 35:70-75.

- Knorr, LC; Price, WC. 1958. Leprosis. In Pratt, RM Ed. Florida guide to citrus insects, diseases and nutritional disorders (in color). Univ. Florida Agric. Exp. Sta. Gainesville p. 112-114.
- Knorr, LC. 1968. Studies on the etiology of leprosis in citrus. Proc. Conf. Int. Org. Citrus Virol., Univ. Florida Press. Gainesville. 4:332-341.
- Knorr, LC; Denmark, HA; Burnett, HC. 1968. Occurrence of *Brevipalpus* mites, leprosis and false leprosis on citrus in Florida. Florida Entomol. 51:11-17.
- Ochoa, R; Aguilar, H; Vargas, C. 1994. Phytophagous mites of Central America: an illustrated guide. CATIE. Turrialba, Costa Rica. 234 p.
- Omoto, C. 2000. Management of *Brevipalpus phoenicis* (Acari: Tenuipalpidae) resistance to acaricides in Brazilian citrus. Int. Soc. Citriculture, Orlando, Fla. (En prensa).
- Rodrigues, JCV. 2000. Relacoes patogeno-vetor-planta no sistema leprose dos citros. Ph.D. dissertation. Piracicaba, Brasil, Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de Sao Paulo.
- Rodrigues, JCV; Machado, MA; Kitajima, EW; Muller, GW. 2000. Transmission of citrus leprosis virus by *Brevipalpus phoenicis* (Acari: Tenuipalpidae). Proc. Conf. Int. Org. Citrus Virol. 14:174-178.
- Smith Meyer, MKP. 1979. The Tenuipalpidae (Acari) of Africa with keys to the world fauna. Republic of South Africa. Dept. Agric. Tech. Serv. Entomology Memoir 50.

# A control strategy for breaking the virus-vector cycle of *Brevipalpus* spp. and the Rhabdovirus disease, citrus leprosis

Carl C. Childers<sup>1</sup>  
Jose Carlos Rodrigues<sup>2</sup>  
Elliot W. Kitajima<sup>3</sup>  
Kenneth S. Derrick<sup>1</sup>  
Carmen Rivera<sup>4</sup>  
W. Calvin Welbourn<sup>5</sup>

**ABSTRACT.** Citrus leprosis is a serious virus disease transmitted by *Brevipalpus* (Tenuipalpidae) mites that can ultimately kill citrus trees. The disease is currently found in South America and Panama and poses a threat to the citrus industries in the Caribbean, Central America, Mexico and the United States. Prior to 1926, citrus leprosis nearly destroyed the citrus industry in Florida (USA), but the disease has not been found since 1962. Alternative approaches are needed to control leprosis because elimination of the mite is not possible. Increasing chemical costs, acaricide resistance and the wide range of plant hosts exacerbate control efforts. A six step program is proposed to break the virus-vector cycle in Central America. The program includes the use of quarantine, training, education, monitoring and tree removal to identify and prevent the spread of citrus leprosis. In addition, the proposed program includes steps to take when citrus leprosis is detected in an area.

**Key words:** Citrus leprosis, Citrus, Virus, Mites, Control strategies.

## Introduction

Citrus leprosis occurred in Florida prior to 1962 and reportedly nearly destroyed the citrus industry between 1900 and 1925 (Knorr and Price 1958, Knorr 1968). Symptoms of leprosis in Florida were reported to occur on fruit, leaves, twigs and large limbs (Fawcett and Lee 1926, Knorr and DuCharme 1950, 1951, Knorr and Price 1958, Knorr *et al.* 1968). Symptoms on large limbs are inconsistent with symptoms observed in Brazil and Panama (Kitajima *et al.* 1972, 1974, Rodrigues 2000, Chagas *et al.* 2000). Fawcett and Lee (1926) described differences between leprosis and citrus canker symptoms on leaves and twigs. A description of citrus leprosis symptoms in Florida and supportive photographs of leaves, fruit and twigs were published by Knorr and DuCharme (1950, 1951).

These symptoms were identical to leprosis symptoms found in Brazil, Argentina, Venezuela, Paraguay and Panama today.

Widespread use of wettable sulfur on Florida citrus beginning about 1923 for mite control reportedly was responsible for the disappearance of leprosis in treated citrus grove sites (Knorr *et al.* 1968). One to three thoroughly applied, high volume handgun applications of sulfur were applied per season both to the inner and outer canopy areas of each citrus tree in treated orchards. By 1948, citrus leprosis symptoms had disappeared in sulfur-treated citrus sites in Florida (Knorr *et al.* 1948). The freeze of December 1962 probably eliminated the last vestiges of the disease within the State. Leprosis-like symptoms on citrus

<sup>1</sup> University of Florida, Citrus Research and Education Center, Lake Alfred, FL 33850, USA.

<sup>2</sup> Instituto Agronomico, Centro de Citricultura, Sylvio Moreira, Cordeiropolis, SP, Brazil.

<sup>3</sup> Universidade de Sao Paulo, ESALQ, NAP/Fitopatologia, 13418-900, Piracicaba, SP, Brazil.

<sup>4</sup> Universidad de Costa Rica, Centro de Investigación en Biología Celular y Molecular, San José, Costa Rica.

<sup>5</sup> Department of Agriculture and Consumer Services, Division of Plant Industry, Gainesville, FL, USA 32614.

leaves in Florida have been rarely observed since then. The most recently observed instance of leprosis-like symptoms on grapefruit and 'Hamlin' orange leaves collected from Manatee County on 29 August 1997 were subsequently found to be free of leprosis virus (Childers *et al.* unpublished data).

Potential vectors of leprosis from both Florida and Texas citrus include *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes), *B. californicus* (Banks), and *B. obovatus* Donnadieu. All three species reportedly occur on Florida citrus while only *B. phoenicis* and *B. californicus* have been reported from Texas citrus (Dean and Maxwell 1967, Knorr *et al.* 1968, Denmark 1984, Childers 1994, French and Rakha 1994).

Chemical control of *Brevipalpus* spp. and the citrus rust mite *Phyllocoptruta oleivora* (Ashmead) on citrus in Brazil exceeds 100 million US dollars annually (Ferreira 1999). Table 1 summarizes various chemical classes of acaricides that are effective in controlling *Brevipalpus* mites on citrus. Alternative control strategies are needed due to increasing chemical production costs and problems with acaricide resistance (Omoto 2000). Citrus leprosis is a serious virus disease that can ultimately kill citrus trees (Rodrigues 2000). The disease has been restricted to South America since its disappearance from Florida prior to 1962. Severe export limitations are imposed on countries that have leprosis.

Citrus leprosis was confirmed in Panama in 1999 (Dominguez *et al.* 2001). This past year the disease was confirmed in at least 462 hectares of citrus in Potrerillos, Boquete and Volcancito areas of Chiriqui

Province, Republic of Panama and the infection is believed to be more than 5 years old. Rodrigues believes leprosis has been in Chiriqui Province for at least 10 years because 1. the disease has an initial slow spread, and 2. rapid spread of leprosis is directly related to the amount of disease available. Therefore, a low level of the disease equals a slow initial spread (Rodrigues 2000). The virus is non-systemic, occurs only in citrus, and spread only by *Brevipalpus* mites (Rodriguez *et al.* 2000). A rapid spread of this disease throughout Panama is anticipated with eventual establishment throughout the Caribbean, Central America, Mexico and ultimately the United States. Its impact on future citrus production throughout the Caribbean and Central America will be significant.

#### **Guidelines to alternative approach to breaking the virus-vector cycle**

Because the citrus industry is of substantial value, an alternative approach to breaking the virus-vector cycle is presented with the idea of providing guidelines for prompt and decisive action when a localized outbreak of leprosis occurs. Eradication of the mites is not possible.

1. Establish a total quarantine on the movement of all citrus fruit or citrus plants or cuttings from Panama or other countries infected with citrus leprosis into Costa Rica.
2. Develop a training program on the accurate identification of citrus leprosis symptomatology through the Ministry of Agriculture in Costa Rica in conjunction with the University of Costa Rica, University of São Paulo and the University of Florida. Concurrently, develop a series of color photographs to illustrate disease symptoms on 'Valencia', navel orange and tangerine varieties grown in Costa Rica. Accurate recognition of leaf, fruit and green wood leprosis lesions is essential.
3. Develop a comprehensive monitoring program throughout Costa Rica, especially along the border with Panama to identify early outbreaks of this disease. An initial survey should be completed to identify the distribution and locations of both commercial and dooryard citrus trees especially in a band 5-20 kilometers along the eastern border of Costa Rica. Periodic inspections of this area should be pursued more intensively compared with areas west and north of this zone.
4. An intensive educational program must be implemented to develop and encourage local support from dooryard growers and commercial

**Table 1.** Acaricidal activity against *Brevipalpus* spp.

Class of acaricides	Tenuipalpidae
Petroleum oil	?
Sulfur	Yes
Chlorinated Hydrocarbons (dicofol, endosulfan, chlorobenzilate)	Yes
Pyrethroid (fenpropathrin)	No
Carboximide (hexythiazox)	Yes
Tetrazine (clofentezine)	?
Carbonitrile (pyrrol)	Yes
Organophosphates (ethion, dimethoate, methidathion)	No
Carbamates (aldicarb, carbaryl)	Yes/No
Organotin (fenbutatin oxide)	Yes
Sulfite Ester (propargite)	Yes
Macrocyclic Lactone (abamectin)	No/?
IGR (dimilin)	No
Pyridazinone (pyridaben)	Yes

operations. Establish a media campaign (television, radio, extension meetings, meetings with various church and other local political organizations, schools, as well as direct letter and poster notifications) to educate landowners, growers and the local populace about the disease, the vectors and the ultimate need for destruction of infected trees. Not only must the populace become educated about this disease, they must also become involved and active participants such as in the screwworm program. Citrus leprosis in Central America will effectively eliminate dooryard production of oranges and tangerines in areas where leprosis becomes established because of their known susceptibility to the virus. For commercial operations, multiple acaricide applications will be required annually to maintain suppression of viruliferous mites.

5. Define and establish a minimum 1 km buffer zone (outer perimeter) around each infected area as soon as it is identified. Begin spraying citrus trees from the outer perimeter edges inward and move towards the center of infection. The purpose of spraying an acaricide is to substantially reduce motile populations of *Brevipalpus* mites and reduce the potential for further distribution of infected mites by the eradication crews. Spray commercial grove sites using high volume/medium pressure spray equipment (tractor-drawn 1,000 to 2,000 liter capacity tanks) or high volume airblast sprayer equipment (i.e. 2,000 to 2,500 L/ha). Only use backpack ulv (ultra low volume) sprayers (5-8 L/tree) in dooryard or hillside conditions not accessed with larger equipment. It is imperative that thorough coverage of the infected plants is achieved. Convective movement of spray can easily occur with moderate temperatures and windy conditions. When using ulv equipment one must be aware of this phenomenon.

Within 24 hours following acaricidal treatment, cut the treated trees and immediately burn them. Immediately following tree removal, paint each exposed tree stump with an appropriate registered herbicide using an extended handled brush. Many herbicides can be dangerous to applicators and cause severe eye and/or skin irritation as well as dermal or inhalation toxicities. Substantial care must be provided for the safety of the applicators including provision of a respirator, protective clothing and gloves when using any herbicide. Also,

provisions must be taken for the protection and safety of the residents around treated areas. In addition, extreme caution must be taken when using herbicides to avoid phytotoxicity of adjacent plants in dooryard situations.

6. Develop a payment or citrus tree replacement program to dooryard citrus owners to assure their support in the area-wide effort.

#### **Research needs for *Brevipalpus* vectors of leprosis and related virus-like diseases**

Most taxonomic specialists have reported morphological variation between different populations of *B. phoenicis*, *B. californicus*, and *B. obovatus* (Gonzales 1975, Smith Meyer 1979, Baker and Tuttle 1987, Evans *et al.* 1993, Ochoa *et al.* 1994). Possible species complexes are suspected. *Brevipalpus* mites from citrus in Panama were collected in July 2000 by the senior author. The mites were identified as *B. phoenicis* by Dr. Ronald Ochoa, USDA ARS Systematic Entomology Laboratory in Beltsville, Maryland. He found distinct morphological differences among the specimens examined.

A basic question needs to be resolved regarding the presence of one or more species of *Brevipalpus* on citrus. We need to know if there are one, two or several species of *Brevipalpus* involved in the transmission of citrus leprosis and other related viruses of coffee, passion fruit and various ornamental plants. If different *Brevipalpus* species are present, then what are their host ranges? Alternative control strategies cannot be effectively developed until these questions are resolved. Molecular techniques are needed to evaluate populations of mites collected from citrus, coffee and other crops in South, Central and North America. Results from these studies will provide further data to the mite taxonomists in evaluating a possible species complex within or between populations of *Brevipalpus* mites from different regions and/or commodities. Confirmation of host plant data would be included. Results are needed to address possible control approaches such as breaking the virus-vector cycle in a particular area of Costa Rica or another area within Central or South America. Additional research is needed to clarify differences between *Brevipalpus* feeding injury and citrus leprosis virus symptoms in citrus (Childers 1994). The development of efficient molecular and/or serological tools for characterization and identification of virus are also needed.

Provided that current taxonomic and host range data for *B. phoenicis* are correct, then risk of citrus leprosis spreading throughout Central and North America is high. Several factors must be considered with regard to the mite vector and its movement. First, longevity of *Brevipalpus* species from larval through adult longevity can exceed 40-60 days. Second, once the mite is infected with leprosis it can transmit the disease for the remainder of its life. Third, species found on citrus are difficult to remove from fruit because of their tendencies to favor blemished areas on the rind or to locate beneath the sepals. Fourth, many phytophagous mite species disperse aerially. If current host range data are

correct, then viruliferous mites could be moved on one or more woody ornamentals or other non-citrus hosts occurring in proximity to infected citrus plants from Panama or another country with the disease to other Central American or Caribbean countries and eventually to Mexico and the United States. This combination of factors should be considered relative to their potential in spreading the disease from countries with citrus leprosis.

### References cited

- Baker, EW; Tuttle, DM. 1987. The false spider mites of Mexico (Tenuipalpidae: Acari). USDA ARS Tech. Bull. 1706.
- Chagas, CM; Rossetti, V; Colariccio, A; Lovisollo, O; Kitajima, EW; Childers, CC. 2000. *Brevipalpus* mites (Acari: Tenuipalpidae) as vectors of plant viruses. In Halliday, RB; Walter, DE; Proctor, HC; Norton, RA; Colloff, MJ. Eds. Int. Congress Acarology (10, 1998, Melbourne). Proceedings. CSIRO Publ. (In press).
- Childers, CC. 1994. Feeding injury to 'Robinson' tangerine leaves by *Brevipalpus* mites (Acari: Tenuipalpidae) in Florida and evaluation of chemical control on citrus. Florida Entomol. 77:265-271.
- Dean, HA; Maxwell, NP. 1967. Spotting of grapefruit as associated with false spider mites. Proc. Rio Grande Valley Hort. Soc. 21:35-45.
- Denmark, HA. 1984. *Brevipalpus* mites found on Florida citrus. Florida Dept. Agric. Consumer Serv., DPI. Entomol. Circ. 69.
- Dominguez, FS; Bernal, A; Childers, CC; Kitajima, EW. 2001. First report of the citrus leprosis virus in Panama. Plant Disease 85(2):228 (Disease Notes).
- Evans, GA; Cromroy, HA; Ochoa, R. 1993. The Tenuipalpidae of Honduras (Tenuipalpidae: Acari). Florida Entomol. 76:126-155.
- Fawcett, HS; Lee, HA. 1926. Citrus diseases and their control. New York, McGraw-Hill.
- Ferreira, CRRP. 1999. Defensivos agrícolas. Informacoes Economicas 29:11-13.
- French, JV; Rakha, MA. 1994. False spider mite: damage and control on Texas citrus. Subtropical Plant Sci. 46:16-19.
- Gonzalez, RH. 1975. Revision of the *Brevipalpus phoenicis* "complex" with descriptions of new species from Chile and Thailand (Acarina: Tenuipalpidae). Acarologia 17:81-91.
- Kitajima, EW; Muller, GW; Costa, AS; Yuki, VA. 1972. Short, rodlike particles associated with citrus leprosis. Virology 50:254-258.
- Kitajima, EW; Rosillo, MA; Portillo, MM; Muller, GW; Costa, AS. 1974. Microscopia electronica de tecidos foliares de laranjeira infetadas pela lepra explosiva da Argentina. Fitopatologia (Perú) 9:55-56.
- Knorr, LC; DuCharme, EP. 1950. A comparison of Argentina's lepra explosiva and Florida's scaly bark-with implications for the Florida citrus grower. Citrus Magazine 12(7):28-32.
- Knorr, LC; DuCharme, EP. 1951. The relationship between Argentina's lepra explosiva and Florida's scaly bark, with implications for the Florida citrus grower. Plant Disease Reporter 35:70-75.
- Knorr, LC; Price, WC. 1958. Leprosis. In Pratt, RM Ed. Florida guide to citrus insects, diseases and nutritional disorders (in color). Univ. Florida Agric. Exp. Sta. Gainesville p. 112-114.
- Knorr, LC. 1968. Studies on the etiology of leprosis in citrus. Proc. Conf. Int. Org. Citrus Virol., Univ. Florida Press. Gainesville. 4:332-341.
- Knorr, LC; Denmark, HA; Burnett, HC. 1968. Occurrence of *Brevipalpus* mites, leprosis and false leprosis on citrus in Florida. Florida Entomol. 51:11-17.
- Ochoa, R; Aguilar, H; Vargas, C. 1994. Phytophagous mites of Central America: an illustrated guide. CATIE. Turrialba, Costa Rica. 234 p.
- Omoto, C. 2000. Management of *Brevipalpus phoenicis* (Acari: Tenuipalpidae) resistance to acaricides in Brazilian citrus. Int. Soc. Citriculture, Orlando, Fla. (In press).
- Rodrigues, JCV. 2000. Relacoes patogeno-vetor-planta no sistema leprose dos citros. Ph.D. dissertation. Piracicaba, Brasil, Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de Sao Paulo.
- Rodrigues, JCV; Machado, MA; Kitajima, EW; Muller, GW. 2000. Transmission of citrus leprosis virus by *Brevipalpus phoenicis* (Acari: Tenuipalpidae). Proc. Conf. Int. Org. Citrus Virol. 14:174-178.
- Smith Meyer, MKP. 1979. The Tenuipalpidae (Acari) of Africa with keys to the world fauna. Republic of South Africa. Dept. Agric. Tech. Serv. Entomology Memoir 50.

## Sección Informativa

**Tesis de Posgrado**

**Mendoza, GR. 2000. Aislamiento selectivo y pretamizado en bioensayos de micoparásitos contra *Rosellinia* spp. Tesis MSc. Turrialba, Costa Rica, CATIE. 91 p.**

El presente estudio se realizó en CATIE, Turrialba, Costa Rica con el objetivo de establecer una colección de micoparásitos promisorios para el control biológico de *Rosellinia* spp. El estudio constó de cuatro fases: 1) Colección del patógeno *Rosellinia* spp. y hongos micoparásitos, 2) Pretamizado de los micoparásitos, mediante el cual se determinó el ámbito de hospedantes, 3) Evaluación de la compatibilidad entre micoparásitos seleccionados en bioensayos y 4) Evaluación de la eficiencia de mezclas de los micoparásitos para el control de *Rosellinia* spp. dependiendo del pH y del contenido de materia orgánica del suelo. Para la segunda y tercera fase se utilizó un diseño completamente aleatorizado (OCA), con cinco repeticiones. En la cuarta fase se utilizó un diseño factorial completamente aleatorizado de la forma 4x3 (factor A=4 tratamientos: dos testigos y las dos mejores mezclas de antagonistas; factor B=3 diferentes contenidos de materia orgánica o pH, con cinco repeticiones. La unidad experimental consistió de una planta de cacao. Las variables de respuestas evaluadas en todos los experimentos fueron: severidad de los síntomas como el área bajo la curva (ABC), mortalidad de plántulas (%), días de sobrevivencia de plantas, altura de plantas (cm), número de hojas, área foliar (cm<sup>2</sup>), longitud de raíces (cm), peso seco de hojas (g) y peso seco de raíz (g).

Los datos fueron analizados a través de programa estadístico SAS (Statistical Analysis System). Antes de los análisis se realizaron pruebas univariadas para determinar si los datos se ajustaban a los supuestos del análisis de varianza (ANDEVA). Para las variables severidad, días de sobrevivencia de la planta, altura de la planta (cm), número de hojas, área foliar (cm<sup>2</sup>), longitud de raíces (cm), peso seco de hoja (g) y peso seco de raíz (g), su distribución tendió hacia una distribución normal. Por lo tanto, fueron comparados a través del ANDEVA, seguido por la prueba de Tukey (P < 0,05). La mortalidad de plantas en la prueba de compatibilidad de antagonistas se analizó según la prueba de Cochran para datos binarios. Para el ensayo con arreglo factorial para materia orgánica

y pH, se tenían dos factores que constituyeron una repetición oculta, los datos de mortalidad de plantas fueron transformados al ARCSEN ( $y_2 = \arcseno \sqrt{y_1}$ ) y luego se realizó un ANDEVA.

Se presentan protocolos para el aislamiento y manejo del patógeno. Los resultados demuestran que *Rosellinia* es un hongo con variabilidad entre cepas, incluso en la susceptibilidad a micoparásitos. La mezcla de tres antagonistas presentó mejor eficacia de control de *Rosellinia*, en pruebas en invernadero en comparación con los tratamientos de un antagonista y de dos de ellos. Además su respuesta fue más consistente en todas las variables evaluadas. La enfermedad fue más severa en suelos con alto contenido de materia orgánica y pH ácido. El control biológico fue más eficaz en suelos con bajo contenido de materia orgánica y niveles más altos de pH. Con base en los resultados se discuten las implicaciones para el manejo integrado de *Rosellinia* spp. en relación a prácticas agrícolas comunes.

**Zúñiga Pereira, C. 2000. Tipologías cafetaleras y desarrollo de enfermedades en los cafetales de la reserva Natural Miraflores-Moropotente, Estelí, Nicaragua. Tesis MSc. CATIE, Turrialba, Costa Rica. 68 p.**

El trabajo se realizó en la reserva natural Miraflores-Moropotente ubicada a 13° 3' y 13° 7' N y 86° 29' y 86° 29' O, a 25 km de la ciudad de Estelí, Nicaragua. El estudio incluyó 10000 ha, en un área con predominio de bosque de neblisilva y una gran variedad de microclimas. El objetivo fue evaluar el desarrollo de enfermedades en cafetales con diferentes tipos de sombra, en la reserva natural Miraflores Moropotente.

Se estudiaron 40 fincas clasificadas como cafetales con sombra de bosque raleado, bosque raleado y musáceas, cafetales con guaba (*Inga* spp.) y cafetales con musáceas. En cada finca se estableció una parcela temporal de 50 X 20 m, en esta se seleccionaron al azar 15 plantas de café. En cada planta se marcó una bandola en el estrato superior y en el estrato inferior de la planta. Mensualmente se evaluó la incidencia de roya (*Hemileia vastatrix*), ojo de gallo (*Mycena citricolor*), chasparria (*Cercospora coffeicola*), derrite (*Phoma costarricensis*) y antracnosis (*Colletotrichum* spp.) y se registró la humedad relativa y temperatura.

También se hicieron análisis foliares y de suelos en las parcelas evaluadas. Se utilizó un diseño en parcelas sub-subdivididas en el tiempo.

Se desarrollaron estudios tipológicos utilizando variables del dosel de sombra (porcentaje de sombra, riqueza, diversidad, poblaciones totales de árboles maderables, cítricos, musáceas, frutales y leñosas); de la finca y del productor (área del cafetal, producción, número de fincas, número de actividades realizadas, altitud, pendiente, pedregosidad, densidad de cafetos, meses de verano y años de experiencia) y del manejo (costos totales de fertilizantes, fungicidas, herbicidas, insecticidas, mano de obra y materiales). Los análisis se realizaron mediante una matriz de correlación para eliminar multicolinealidad, selección de variables, componentes principales, distancia de Gower entre pares de fincas, análisis de conglomerados, análisis discriminante y discriminante canónico.

La incidencia de *C. coffeicola* y *M. citricolor* varió dependiendo del tipo de sombra evaluado, *C. coffeicola* fue más importante en cafetales con sombra de musáceas y con mayor incidencia de luz, mientras que *M. citricolor* fue compatible con sombra de bosque, con mayor porcentaje de sombra. *C. coffeicola* presentó la mayor incidencia en la bandola del estrato superior de la planta, mientras que *M. citricolor* en la bandola del estrato inferior. *H. vastatrix* varió su incidencia de acuerdo a la fecha de evaluación, determinándose un aumento después del inicio de las lluvias y en mayor proporción en el estrato inferior de la planta.

Se identificaron cinco tipologías cafetaleras: 1) cafetales con muchas especies maderables, en zonas altas y altos insumos (productores orgánicos); 2) con muchos árboles para leña, alta densidad de siembra y bajos insumos; 3) con muchas musáceas en el dosel, menos diversos, menor riqueza, menor densidad de plantación, y de bajos insumos; 4) con mayor porcentaje de sombra, mayor riqueza y menor producción; 5) con cítricos y frutales como parte del dosel, los más diversos, mayor producción y de bajos insumos. Las variables del dosel de sombra, del manejo, de la finca y el productor fueron importantes en la determinación de las tipologías cafetaleras.

**AYUSO, F. 2000. Influencia de enmiendas orgánicas y un hongo endomicorrízico sobre el nematodo *Radopholus similis* en banano *Musa* (AAA). Tesis MSc. Turrialba, Costa Rica, CATIE. 114 p.**

Se evaluó el efecto de enmiendas orgánicas y de la micorriza arbuscular *Glomus* sp. sobre el ataque del ne-

matodo *Radopholus similis* en plantas de banano. La investigación incluyó dos experimentos, uno bajo condiciones de invernadero con plantas de banano cv. 'Gran Enano' *Musa* (AAA), en el que se evaluó el efecto de las enmiendas orgánicas compost y ácido húmico, con y sin la adición de *Glomus* sp. En el segundo experimento se estudió el efecto de tres tipos de enmiendas orgánicas, el compost, la gallinaza y el bokashi, en presencia y ausencia de *Glomus* sp. para el control de la población y daño ocasionado por *R. similis*. El experimento se llevó a cabo en una plantación comercial de trópico húmedo de la zona Atlántica de Costa Rica, con plantas de banano cv. Valery' *Musa* (AAA), durante un año de experimentación.

En el experimento de invernadero se utilizaron vitroplantas del banano 'Gran Enano' sembradas en macetas que contenían sustratos de enmiendas de compost y ácido húmico en diferentes tratamientos. Se inició una primera etapa de aclimatación de las vitroplantas durante 21 días, luego se aplicó 4 g de inóculo de *Glomus* sp. y se permitió la micorrización por un período de 70 días. A los 91 días, todos los tratamientos se infestaron con  $1000 \pm 30$  de *R. similis* por planta. Las plantas se cosecharon a los 210 días después de la siembra y se evaluó el ataque del nematodo en el sistema radical así como algunas variables biométricas de crecimiento. Se determinó que las plantas sembradas en la enmienda orgánica con mayor nivel nutricional como el compost, toleraron mejor el ataque del nematodo que las plantas de los tratamientos con ácido húmico y el testigo.

*Glomus* sp. logró la mayor reducción del porcentaje de raíz muerta cuando se inoculó en la enmienda de compost, con respecto a la enmienda con ácido húmico. También se observó que la enmienda con ácido húmico presentó un alto porcentaje de raíces muertas cuando las plantas no fueron inoculadas con *Glomus* sp. No obstante, esto no ocurrió con la enmienda con compost, la cual no mostró diferencias significativas al actuar sólo o en combinación con *Glomus* sp. El testigo (suelo estéril), no mostró diferencias significativas en presencia o ausencia de la micorriza, éste testigo presentó el mayor porcentaje de raíz muerta en comparación con los tratamientos con enmiendas de compost y ácido húmico. El tratamiento que mostró menor porcentaje de raíz muerta fue el de compost, aunque no presentó diferencia significativa con el tratamiento con compost y *Glomus* sp.

*Glomus* sp. no redujo la población de *R. similis*, y no se determinaron diferencias significativas al comparar

el tratamiento de compost en presencia o ausencia de *Glomus* sp., lo mismo ocurrió con el tratamiento de ácido húmico con y sin *Glomus* sp. Cuando se comparó la acción del hongo entre enmiendas diferentes como compost y ácido húmico, no mostró diferencia significativas. El testigo no mostró efecto en el control de la población de *R. similis* con o sin *Glomus* sp. La menor población del nematodo se determinó para el tratamiento que combina compost, ácido húmico e inoculado con *Glomus* sp., pero sin ser diferente significativamente al testigo. No obstante, el testigo fue muy diferente en cuanto a las variables de crecimiento cuando se comparó con los tratamientos de compost y ácido húmico.

*Glomus* sp. no mostró un efecto en la estimulación del crecimiento, en cuanto a la altura de la planta, diámetro del pseudotallo, número de hojas, peso fresco total y materia seca total cuando actuó en la enmienda con compost (de alto nivel nutricional), ni en el testigo (de bajo nivel nutricional); sin embargo, si mostró efecto en cuanto a peso de raíz funcional y porcentaje de raíz muerta, cuando actuó en la enmienda con ácido húmico (nivel nutricional intermedio).

El experimento en condiciones de campo se realizó en una plantación comercial de banano cv. 'Valery' *Musa* (AAA), establecida en la región tropical húmeda de la zona Atlántica de Costa Rica. Se evaluó el efecto de 21,6 t/h por año de tres enmiendas orgánicas, compost, gallinaza y bokashi, en combinación con la micorriza arbuscular *Glomus* sp., en dosis de 10 g de inóculo/planta/mes; para controlar la población y el daño ocasionado por *R. similis* en el sistema radical de las plantas de banano. La evaluación se realizó durante 12 meses.

Mensualmente, en todos los tratamientos se evaluó la

influencia de la población de *R. similis* en el sistema radical de las plantas, así como las variables peso de raíz funcional y porcentaje de raíz muerta. Se realizaron 12 análisis de varianza, uno por mes y se encontró que existieron diferencias significativas entre los tratamientos para los meses 6 ( $p=0,0008$ ), 9 ( $p=0,0228$ ) y 12 ( $0,0001$ ) en cuanto a la población de *R. similis*/100g de raíz. Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas entre tratamientos, en cuanto al peso de raíz funcional y porcentaje de raíz muerta, durante el periodo de experimentación.

Las enmiendas orgánicas afectaron significativamente la población de *R. similis*/100g de raíz en los meses 6 ( $p=0,0193$ ), 9 ( $0,0366$ ) y 12 ( $p=0,0277$ ), teniendo la enmienda bokashi en el mes 6 un mejor efecto. Sin embargo, en los meses 9 y 12 el compost y la gallinaza, tuvieron mejores efectos que el bokashi, en cuanto a la reducción de la población de *R. similis*. Al final del experimento, el compost y la gallinaza no mostraron diferencias significativas en cuanto al efecto de control del nematodo. En cuanto al factor micorriza no se detectó efecto significativo sobre la población de *R. similis* y sus dos niveles no mostraron diferencias durante el estadio.

En los últimos cuatro meses del experimento se evaluaron variables de crecimiento y producción como el número de manos y peso del racimo, circunferencia de la planta madre a la cosecha y altura del hijo a la cosecha. En este lapso de tiempo, no se encontraron efectos significativos de las enmiendas orgánicas, la micorriza ni la interacción entre ambas. Esto obedeció al corto tiempo de experimentación, lo cual no permitió observar los efectos que hubiesen tenido esos factores a largo plazo.

AHORA EN VERSIÓN  
MULTIMEDIA

## Plagas invertebradas de cultivos anuales alimenticios en América Central

Joseph L. Saunders, Daniel T. Coto, Andrew B.S. King

La versión multimedia de esta obra, disponible en disco compacto, incorpora las ventajas de la informática para facilitar el acceso interactivo a la información sobre ciclo de vida, distribución, importancia, hospedantes, enemigos

naturales y recomendaciones de manejo de insectos plagas, mediante la capacidad de búsqueda por múltiples temas. Esto la convierte en una herramienta muy útil y práctica para la enseñanza, la investigación y la extensión.

# Futuros Eventos

2 – 5 Agosto, 2001

## **Symposium on the Practice of Biological Control Importation and Management of Natural Enemies in the New Millennium**

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

5-10 Agosto 2001

## **XXXIV Congreso Brasileiro de Fitopatología y XI Congreso Latinoamericano de Fitopatología**

**Información:** Sergio F. Pascholati  
Sociedad Brasileira de Fitopatología  
Email: www.sbfito.com.br

6-8 Agosto 2001

## **4. Curso Práctico Internacional de Hidroponía**

**Información:** Centro de Investigación de Hidroponía y Nutrición Mineral  
Universidad Agraria La Molina  
Lima, Perú  
Tel. (51-1)349 5669 Fax (51-1)349 5670  
Email: redhidro@lamolina.edu.pe

8-10 Agosto 2001

## **XXVIII Congreso de la Sociedad Colombiana de Entomología**

**Información:** Patricia Marín, Cenicafé  
Chinchiná, Caldas, Colombia  
Tel. (6)8506550 Ext. 358 -329 Fax (6)850663<sup>a</sup>  
Email: Patricia.Marin@cafedecolombia.com

11-14 Setiembre 2001

## **Dynamics of forest insect populations (IUFRO)**

**Información:** A.D. Watt, Banchory Resch. Stn.,  
Hill of Brathens, Glassel Banchory AB31 4BY, UK  
Aberdeen, Scotland, UK.  
E-mail: ADW@ite.ac.uk  
Web: iufro.boku.ac.at/iufro/iufro.net/d7/wu70307/  
aberdeen\_firstannounce.htm

8-20 Octubre 2001

## **Curso Internacional de Agroecología y Agroforestería Tropical**

**Información:** Reinhold Muschler  
CATIE  
Turrialba, Costa Rica  
Tel. (506) 5566431  
Email: muschler@catie.ac.cr  
ó Ernesto Méndez  
Email: vemendez@cats.ucsc.edu

7-9 Noviembre 2001

## **XXII Congreso Nacional de Ciencia de las Malezas**

**Información:** Dr. Javier Farías Larios  
Fac. de Ciencias Biológicas y Agropecuarias  
Universidad de Colima  
Colima, México  
Telefax (332)4 4237  
Email: jfarias@volcan.ucol.mx

11-13 Marzo 2002

## **V Workshop, European Weed Research Society Working Group On Physical And Cultural Weed Control**

**Información:** P. Barberi, Scuola Superiore di Studi  
Univ. Perfezionamento  
S. Anna, Via G. Carducci 40, 56127 Pisa, Italia  
Fax: 39-050-883-215  
E-mail: Barberi@sss.it

8-13 Setiembre 2002

## **XI Congreso Internacional de Acarología**

**Información:** J.B. Morales-Malacara  
XI ICA Secretaría, Lab. de Acarología,  
Dept. de Biología, Fac. de Ciencias,  
Universidad Nacional Autónoma de México,  
Coyoacán 04510 DF, México  
E-mail: JBMM@hp.fciencias.unam.mx  
Fax: 52-5-622-4828

# MOSCA BLANCA AL DIA



No. 35

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



Junio, 2001



## Nota editorial

Con nuestra participación en el simposio realizado en Sicilia por la *Red Europea para el Estudio de las Moscas Blancas* (EWSN), tuvimos la singular oportunidad de contactar y reunirnos con los colegas de España y Portugal, para discutir su participación en el *Plan de Acción*. Con los primeros reafirmamos nuestros vínculos, y con los segundos dimos inicio a éstos, los cuales se materializan con la inclusión, en este número, de un informe sobre el estatus del complejo mosca blanca-geminivirus en Portugal. Damos una efusiva bienvenida a estos colegas, cuya participación nos permite, por fin, darle carácter iberoamericano a nuestro *Plan*, y así proyectar aún más nuestros logros, para beneficio de los agricultores de Iberoamérica.



## X Taller

Está muy pronta la realización del **X Taller Iberoamericano y del Caribe sobre Moscas Blancas y Geminivirus** que se efectuará en Varadero, Cuba, del 11 al 15 de junio de 2001, junto con el **IV Seminario Científico Internacional de Sanidad Vegetal**, el cual abarcará siete eventos paralelos, de dimensión internacional, relacionados con nemátodos, fitopatología, hormigas, musáceas y control biológico.

La estructura del Taller consistirá en charlas magistrales, informes nacionales de los países que participan en el Plan, sesiones de carteles y una gira al campo. Esta vez, los informes nacionales se concentrarán en analizar el nivel real de adopción de las tecnologías disponibles para el manejo del complejo mosca blanca-geminivirus, dando así continuidad al intercambio que hubo en la sesión final del *IX Taller*

Habrà dos charlas magistrales: *Plan de Acción para el Manejo de las Moscas Blancas y Geminivirus en América Latina: Un balance crítico del primer decenio* (Dr. Luko Hilje, CATIE, Costa Rica) y *Transformación de cultivos de tomate hacia la resistencia a geminivirus* (Dra. Jane E. Polston, Universidad de la Florida). En forma complementaria, aprovechando la participación de expertos en el Congreso de la Sociedad Norteamericana de Fitopatología-División

Caribe, se ofrecerán las charlas *Distribución de geminivirus en la región de América Central y el Caribe* (Dr. Douglas Maxwell, Universidad de Wisconsin) y *Perspectivas para el diagnóstico de geminivirus* (Dra. Judy Brown, Universidad de Arizona).

Contacto: Dr. Carlos Murguido. INISAV, Calle 110 # 514. E/ 5ta B y 5ta F. Playa. C.P 11600, La Habana, Fax (537) 240535, [cmurguido@inisav.cu](mailto:cmurguido@inisav.cu), [madeqp@id.censa.edu.cu](mailto:madeqp@id.censa.edu.cu), <http://www.ceniai.inf.cu/ciencia/inisav>



## Portugal

Desde 1995, el virus del rizado amarillo del tomate (TYLCV) representa una seria limitante para la producción de tomate en Algarve (sur del país), cuando se notaron las primeras epidemias causadas por la variante israelita de dicho virus, el TYLCV-Is. En dicha zona, *Bemisia tabaci* se presenta todo el año, con altas poblaciones entre julio-setiembre, cuando comienza la temporada de tomate. Como consecuencia del efecto del TYLCV, se ha reducido notoriamente el área de tomate producido en invernaderos, los agricultores han debido posponer las siembras para octubre-noviembre, y se ha adoptado el uso de malla fina en las ventanas de los invernaderos. El estudio continuo de los aislamientos del TYLCV obtenidos en el campo ha demostrado que el TYLCV-Is es la única variante presente en Portugal; el TYLCV causa una enfermedad severa en el frijol común, aunque ésta es esporádica. Además, recientemente se halló al *Tomato chlorosis virus* (ToCV), un closterovirus bipartito (género Crinivirus, familia Closteroviridae) que también es transmitido por *B. tabaci*, solo o en mezclas con el TYLCV, causando un síndrome de amarillamiento fuerte del follaje; el impacto de este nuevo patosistema sobre la producción de tomate está por determinarse. Asimismo, el *Cucurbit yellow stunting disorder virus* (CYSDV), que es un crinivirus transmitido por *B. tabaci*, recientemente se detectó en pepino, melón, calabaza y sandía. Hasta ahora, todos estos virus están restringidos a la región de Algarve. (*Diamantina Louro. Direcção-Geral de Protecção das Culturas, Quinta do Marquês, 2780-155 Oeiras, Portugal. dgpc.virol@mail.telepac.pt*)



## Sitio en CATIE

Como se anunció en MBDía 34, ya está instalado un sitio sobre mosca blanca en el pórtico electrónico del CATIE. Su dirección es <http://www.catie.ac.cr/moscablanca>. En él ya se cuenta con la versión original del *Plan*, varios números de *MBDía*, los Informes Nacionales del año 2000, resúmenes de las tesis de Postgrado del CATIE, y una lista de vínculos con sitios pertinentes al tema.



## Congreso mundial

Del 28 de febrero al 3 de marzo del 2001 se realizó en Ragusa (Sicilia, Italia), el *European Whitefly Symposium*, organizado por la Red Europea para el Estudio de las Moscas Blancas (EWSN). Fue un evento exitoso, en el que participaron unos 200 investigadores, con 113 presentaciones. Agradecemos a los doctores Ian Bedford (John Innes Centre, Inglaterra) y Carmelo Rapisarda (Universidad de Catania, Ragusa) el apoyo para nuestra participación. Fue una oportunidad extraordinaria para intercambiar puntos de vista y experiencias sobre nuestro *Plan*, las cuales presentamos en la mesa redonda *Towards a global networking*, al final del simposio. Una síntesis, presentada como cartel, aparece a continuación.



## América Latina

**El Plan de Acción para el Manejo de las Moscas Blancas y Geminivirus en América Latina: origen, naturaleza y logros.** Desde mediados del decenio de los 80, unos 18 cultivos han sido afectados por el complejo mosca blanca-geminivirus en América Latina y el Caribe. Aunque se han presentado casos de daño directo en cultivos como el algodón, melón y soya, la mayoría de las situaciones se refieren a la transmisión de geminivirus, especialmente en cultivos alimenticios como el frijol, tomate y chile dulce. Las pérdidas económicas, aunque no han sido determinadas en forma adecuada, han sido realmente altas, causando una seria crisis en varios países.

En respuesta a esta situación de crisis, en 1992 el CATIE promovió la creación del *Plan de Acción para el Manejo de Moscas Blancas y Geminivirus en Latinoamérica y el Caribe*, para coordinar esfuerzos entre países, a través de una red de Comisiones Nacionales. Su eje estratégico es la validación y transferencia de tecnologías de manejo integrado de plagas (MIP) hacia los agricultores, complementadas con actividades de diagnóstico, investigación y capacitación. Las actividades de investigación se priorizaron y se las asignaron responsables, para lo cual se organizaron en las siguientes categorías: bioecología de moscas blancas, epidemiología de geminivirus, diagnóstico de biotipos y geminivirus, tácticas de manejo, capacitación de extensionistas y agricultores, y validación y transferencia de tácticas de MIP.

A pesar de no contar con financiamiento permanente, la Red ha logrado importantes avances, aunque todavía dispares entre los países: a) Cobertura ampliada, de 7 a 20 países, incluyendo a España; b) Publicación de 33 números del boletín *Mosca Blanca al Día* ([www.catie.ac.cr/moscablanca](http://www.catie.ac.cr/moscablanca)); c) Realización de nueve Talleres anuales; d) Publicación de un libro para homogeneizar los procedimientos metodológicos y así facilitar la comparación de resultados entre los países; y d) Gracias a la amplia difusión de información, en general los agricultores están más conscientes de las posibles soluciones al problema, en términos económicos, agrícolas y ambientales, y más dispuestos a adoptar programas de MIP.

No obstante, a pesar de estos logros, es necesario aumentar la cobertura de los programas exitosos de MIP involucrando más a los agricultores, sobre todo mediante enfoques de investigación participativa, para así garantizar el éxito de su adopción e implementación.



## Geminivirus

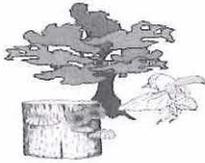
Del 24 al 28 de julio de 2001 se efectuará en el John Innes Centre, Norwich Research Park (Norwich, Inglaterra), el *3rd International Geminivirus Symposium*. Para mayor información, puede acceder las siguientes direcciones: [gemini-2001.enquires@bbsrc.ac.uk](mailto:gemini-2001.enquires@bbsrc.ac.uk) <http://iltab.danforthcenter.org/symposium.html>

**ESTE BOLETIN ESTA DISPONIBLE POR CORREO ELECTRONICO, DENTRO DE LA REVISTA MANEJO INTEGRADO DE PLAGAS, EN LAS SIGUIENTES DIRECCIONES:**  
[http://www.catie.ac.cr/capacitación/Redes\\_Técnicas.html](http://www.catie.ac.cr/capacitación/Redes_Técnicas.html) y <http://www.catie.ac.cr/moscablanca>

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

**CATIE**

# PLAGAS FORESTALES NEOTROPICALES



Jorge Macías (jmacias@tap-ecosur.edu.mx)

Luko Hilje (lhilje@catie.ac.cr)

**EDITORES**

No. 2

Junio, 2001

## NOTA EDITORIAL

Estamos muy satisfechos con la acogida que ha tenido el primer número de este boletín, lo cual demuestra que viene a llenar una necesidad sentida entre los técnicos forestales de nuestro continente. Por tanto, queremos reiterar a nuestros lectores la invitación para que nos remitan sus contribuciones, y así reciban la cobertura deseada. Como notarán, el presente número es un híbrido de sucesos recientes y de información algo añeja pero que, lamentablemente, a veces pasa desapercibida, como sucede con libros y sitios electrónicos de gran valor. Los invitamos a buscarlos, seguros de que allí hallarán valiosa información, tanto teórica como práctica, para mejorar nuestro quehacer profesional en el campo de la protección forestal.

## BROTOS DEL DESCORTEZADOR EN PINOS

Durante los últimos dos años se ha observado un incremento en la incidencia de insectos descortezadores (Coleoptera: Scolytidae) en bosques de pino, desde el sur de México hasta Nicaragua. Este año, las poblaciones de *Dendroctonus frontalis*, conocido como descortezador o gorgojo de los pinos, han aumentado de manera alarmante en América Central, en bosques naturales o plantaciones de *Pinus oocarpa* y *P. caribaea*. En Guatemala se reportan más de 30000 ha muertas y en Nicaragua hay unas 6000 ha infestadas por esta plaga. Asimismo, recientemente los editores de este boletín visitamos Belice, para asesorar al gobierno en el manejo de una superficie mayor de 20000 ha, muy afectadas. De manera análoga, aunque con extensiones menores, ocurren infestaciones importantes en Honduras y México.

Ante esta emergencia de carácter regional, sumada a la carencia de expertos en estos países, se impone la necesidad de concertar una estrategia para el manejo de esta plaga. Dicha estrategia debería basarse en una red de trabajo, que involucre actividades de diagnóstico, capacitación, investigación y transferencia de tecnología. Por tanto, a corto plazo, el CATIE, por su papel de organismo regional, ha manifestado su anuencia para actuar como catalizador para, de común acuerdo con otros organismos regionales y nacionales, organizar una reunión sobre el tema, que culminaría en la estructuración de esta estrategia.

En realidad, aunque ya existe el conocimiento técnico-científico para el manejo de los descortezadores, hace falta diseminarlo ampliamente. Dicha red permitiría organizar cursos de adiestramiento y elaborar publicaciones adaptadas a la región. En este sentido, el Servicio Forestal de Texas y el USDA han publicado manuales para diagnosticar, evaluar y combatir dicha plaga. Estos están escritos en español y disponibles de manera gratuita, contactando al Dr. Ronald Billings ([rbillings@tfs.tamu.edu](mailto:rbillings@tfs.tamu.edu)). Asimismo, hay información relevante en: [www.ento.vt.edu/salom/SPBinfodirect/spbinfodirect.html](http://www.ento.vt.edu/salom/SPBinfodirect/spbinfodirect.html)

No obstante, es importante señalar que los descortezadores, aunque muy aparentes, no son las únicas plagas importantes del pino. Por tanto, pensamos que en nuestra región es necesario realizar un diagnóstico de otros problemas sanitarios de los bosques de pino, como los muérdagos y las pudriciones de raíz, que están muy relacionados con la incidencia de descortezadores.

## NUEVO LIBRO

El CIFOR (Indonesia) acaba de publicar el libro *Insect pests and diseases in Indonesian forests*, cuyo autor es el Dr. K.S.S. Nair, reconocido experto en este campo. Se puede adquirir, contactando la dirección [cifor@cgiar.org](mailto:cifor@cgiar.org)

## RECURSOS DE INTERNET

A continuación aparecen varios pórticos en los cuales se puede obtener información referida a la capacitación en entomología forestal, que esperamos le sean de provecho.

<http://www.bugwood.caes.uga.edu/>

<http://www.fs.fed.us/r6/nr/fid/ento/frame.htm>

<http://www.vsv.slu.se/cec/h.htm>

<http://classes.entom.wsu.edu/348/>

<http://www.forestry.ubc.ca/fetch21/fetch21/FETCH21.html>

[http://www.nrcan-rncan.gc.ca/cfs-scf/science/prodserv/pests/pests\\_e.html](http://www.nrcan-rncan.gc.ca/cfs-scf/science/prodserv/pests/pests_e.html)

## LIBROS

Incluimos una lista de libros y folletos amplios, referidos a plagas forestales neotropicales, algunos de ellos poco conocidos. Esperamos que le sea de utilidad.

Arguedas, M. 1997. Plagas de semillas forestales en América Central y el Caribe. Turrialba, Costa Rica, CATIE. 120 p. Serie Técnica. Manual Técnico No. 25.

Arguedas, M; Hilje, L; Chaverri, P; Quirós, L; Araya, C; Scorza, F. 1997. Catálogo de plagas y enfermedades forestales en Costa Rica. 2 ed. Cartago, Costa Rica, Instituto Tecnológico de Costa Rica. 66 p.

Berti, E. (Ed.). 1993. Manual de pragas em florestas. Cupins ou termitas. Vol. 3. Programa Cooperativo de Monitoramento de Insetos em Florestas IPEF-SIF. Brasil, Instituto de Pesquisas e Estudos Florestais & Sociedade de Investigações Florestais. 140 p.

Browne, FG. 1968. Pests and diseases of forest plantation trees. Oxford, Clarendon Press. 1330 p.

Brugnoni, HC. 1980. Plagas forestales. Buenos Aires, Argentina, Ed. Hemisferio Sur. 216 p.

Cibrián, D; Méndez, JT; Campos, R; Yates III, HO; Flores, JE. 1995. Insectos forestales de México. Universidad Autónoma de Chapingo- Comisión Forestal de América del Norte (COFAN). Publ. No. 6. 453 p.

Ferreira, F. 1989. Patologia florestal; principais doenças florestais no Brasil, Viçosa, Brasil, Centro de Investigações Florestais. 570 p.

Gara, RI; Onore, G. 1989. Entomología forestal. Quito, Ecuador, Proyecto DINAF-AID. 267 p.

Gara, RI; Cerda, LA; Donoso, MA. 1980. Manual de entomología forestal. Valdivia, Chile, Instituto de Defensa Forestal, Universidad Austral. 61 p.

Hilje, L; Araya, C; Scorza, F. 1991. Plagas y enfermedades forestales en América Central. Guía de Campo. Turrialba, Costa Rica, CATIE. Serie Técnica. Informe Técnico No. 4260 p.

Hilje, L; Araya, C; Scorza, F; Viquez, M. 1991. Plagas y enfermedades forestales en América Central. Manual de Consulta. Serie Técnica. Informe Técnico No. 3. Turrialba, Costa Rica, CATIE. 187 p.

Hochmut, R; Manso, DM. 1982. Protección contra las plagas forestales en Cuba. La Habana, Cuba, Editorial Científico-Técnica. 290 p.

Pedrosa-Macedo, JH (Ed.). 1993. Manual de pragas em florestas. Pragas florestais do Sul do Brasil. Vol. 2. Programa Cooperativo de Monitoramento de Insetos em Florestas IPEF-SIF. Brasil. Instituto de Pesquisas e Estudos Florestais & Sociedade de Investigações Florestais. 112 p.

Pinzón, OP. 1997. Guía de insectos dañinos en plantaciones forestales. Bogotá, Colombia, CONIF. Programa de Protección Forestal: Plagas. 99 p.

Ramírez, LA. 1997. Guía de enfermedades en plantaciones forestales. Bogotá, Colombia, CONIF. Programa de Protección Forestal: Plagas. 44 p.

Zanuncio, JC. (Ed.). 1993. Manual de pragas em florestas. Lepidoptera desfolhadores de eucalipto: biologia, ecologia e controle. Vol. 1. Programa Cooperativo de Monitoramento de Insetos em Florestas IPEF-SIF. Brasil. Instituto de Pesquisas e Estudos Florestais & Sociedade de Investigações Florestais. 140 p.

**POR FAVOR, DISTRIBUYA ESTE BOLETÍN A TODOS LOS INTERESADOS QUE CONOZCA**



## Indicadores agro sanitarios de la exposición laboral agrícola a plaguicidas en Nicaragua

Marianela Corriols<sup>1</sup>

El análisis de los datos sobre la exposición a plaguicidas y sus efectos en la salud humana se realiza, generalmente, desde la perspectiva de la estadística y la epidemiología descriptiva, con énfasis en aquellas variables usuales en salud pública: lugar, tiempo y personas.

Pese a los avances en materia de vigilancia epidemiológica en la región Centroamericana, alcanzados con el apoyo del proyecto Plagsalud (OPS/OMS-DANIDA), queda aún un largo camino por recorrer en el campo de la epidemiología analítica.

Otra limitación en el análisis ha sido la falta de asociación de indicadores sanitarios con aspectos específicos de la exposición laboral, particularmente agrícola. Muchas veces, cuando se presentan las estadísticas de intoxicaciones agudas por plaguicidas y sus tendencias, faltan datos para responder con certeza, si realmente las intoxicaciones laborales agrícolas tienden a reducirse o si las cifras reflejan un cambio en los patrones de cultivo, como reducción de áreas de siembra y cambios en la tecnología, etc.

El propósito de este artículo es presentar una propuesta de **indicadores agro sanitarios** que permitan un análisis más integral de las tendencias y cambios del perfil epidemiológico de las intoxicaciones agudas por plaguicidas.

### Antecedentes

El proyecto PLAGSALUD se ejecuta en Nicaragua desde 1994, como apoyo a las acciones de vigilancia epidemiológica de las intoxicaciones agudas por plaguicidas. Entre los resultados esperados de este Proyecto están el fortalecimiento

de las acciones de comisiones locales de prevención y control, del sistema de vigilancia epidemiológica local, de la capacitación a recursos humanos técnicos y profesionales, de la capacitación a usuarios de plaguicidas, desarrollo de investigación aplicada, fortalecimiento de acciones nacionales multisectoriales, incremento de la aplicabilidad de la legislación sobre plaguicidas y la inclusión del tema de plaguicidas en los planes de estudios universitarios.

El sistema de vigilancia epidemiológica de intoxicaciones agudas por plaguicidas en Nicaragua ha tenido varias etapas. Entre 1985 y 1989 se desarrollaron sistemas piloto en los departamentos algodoneros de León y Chinandega, como parte de las acciones de AFSC y CARE Internacional. Entre 1990 y 1995 estos sistemas se extendieron a la costa del pacífico, en los departamentos de Masaya, Granada, Carazo y Rivas, con el apoyo del proyecto *Uso Seguro y Racional de Plaguicidas* de CARE (con financiamiento de NORAD) y desde 1994 se ha contado con el valioso apoyo del proyecto Plagsalud (ejecutado por OPS/OMS con el financiamiento de DANIDA). Durante el período 1996-1997, el proyecto fortaleció la vigilancia epidemiológica en ocho departamentos del país y entre 1998 y 1999 se extendió al resto del país (con excepción de las regiones autónomas Atlánticas, donde la exposición a plaguicidas es muy baja).

Actualmente, existe un programa de vigilancia epidemiológica con cobertura nacional, el cual registró en el último año 1651 intoxicaciones agudas por plaguicidas, incluyendo 238 defunciones por esa causa (OPS-Plagsalud 2000).

<sup>1</sup> Organización Panamericana de la Salud. Managua, Nicaragua. Correo electrónico: corriolm@nic.opsoms.org

Estimaciones preliminares de subregistro de intoxicaciones agudas por plaguicidas indican que el sistema, prácticamente, reporta las intoxicaciones moderadas y graves y que la mayoría de los casos leves no son reportados, porque en casi todos los casos las personas no entran en contacto con el sistema de salud. Una encuesta comunitaria aplicada a 692 personas mayores de 15 años, representativas de 150000 habitantes, de dos municipios del norte de Nicaragua mostró que el 27,5% de personas mayores de 15 años expuestas a plaguicidas tuvieron algún episodio de intoxicación en sus vidas y el 9,4% de expuestos se intoxicaron en el año previo a la encuesta (Corriols *et al.* 1999). La incidencia anual de intoxicaciones agudas fue mayor en áreas rurales (12,4%) y en la población masculina rural (15%). La tasa anual de incidencia de intoxicaciones agudas por plaguicidas en la población general (expuesta y no expuesta) mayor de 15 años fue de 6%. De las personas intoxicadas sólo el 31% buscó atención médica, y de ellos 7% acudieron a un puesto o centro de salud, 19% a un hospital y 5% buscó atención en servicios privados. El 22% no tomó ninguna acción ante su intoxicación y el 44% se automedicó en el hogar. Estos datos reflejan que, en el mejor de los casos, el sistema entraría en contacto con uno de cada tres casos.

### Propuesta de indicadores

En el cuadro 1 se presenta un ejemplo, de los indicadores epidemiológicos usualmente utilizados en el análisis

de los efectos agudos causados por plaguicidas y los indicadores agro sanitarios propuestos (Corriols 2001).

### Uso de indicadores agro sanitarios en Nicaragua

A continuación se presentan algunos ejemplos de indicadores agro sanitarios con base en datos de Nicaragua. No se pretende profundizar en el análisis de las causas del comportamiento de los indicadores sino proporcionar nuevos descriptores de la situación. Con los datos determinados es conveniente realizar un análisis más profundo que explique las causas y las tendencias.

#### Intoxicaciones y datos de las encuestas agropecuarias sobre uso de plaguicidas

Los datos estimados de consumo y valor de agroquímicos, obtenidos de la Encuesta Nacional Agropecuaria<sup>2</sup> de la época de primera 1998-1999 (MAGFOR 2000) muestran que el uso de insumos agrícolas (semillas, fertilizantes y plaguicidas) para granos básicos fue de 60% en Matagalpa, Jinotega, Nueva Segovia, Estelí y Madriz. En el ciclo de primera 98-99 se estimó el valor de los insumos agrícolas utilizados en la producción de granos básicos en US\$9,7 millones<sup>3</sup> de los cuales el 18% (US\$1,74 millones) fueron usados en compra de herbicidas y 15% (US\$1,45 millones) en insecticidas. El porcentaje del costo total por cultivo fue de 58% en maíz, 31% en frijol, 4% en sorgo y 7% en arroz.

#### Intoxicaciones y gasto en plaguicidas por cultivo

En la figura 1 se relaciona el gasto en plaguicidas (in-

**Cuadro 1.** Comparación entre indicadores sanitarios e indicadores agro sanitarios

Indicadores sanitarios	Indicadores agro sanitarios
Tasa de intoxicaciones agudas por plaguicidas	Tasa de intoxicaciones agudas por plaguicidas en 1000 ha cultivadas <sup>4</sup>
Proporción de intoxicaciones agudas por plaguicidas por cultivo	Tasa de intoxicaciones agudas por plaguicidas por cultivo en 1000 ha cultivadas
Proporción de intoxicaciones agudas por plaguicidas por ocupación	Tasa de intoxicaciones agudas por plaguicidas por 1000 trabajadores expuestos (general y por cultivo)
Proporción de intoxicaciones agudas por plaguicidas	Tasa de intoxicaciones agudas por plaguicidas por producto (1000 L o kg de plaguicida) aplicado
	Variación porcentual del uso de plaguicidas de toxicidad la y lb en el tiempo
	Comparación de la proporción de gasto en plaguicidas por región vs proporción de intoxicaciones por región
Tasa de mortalidad <sup>5</sup> general por intoxicaciones agudas por plaguicidas	Tasa de mortalidad específica por producto aplicado
Tasa de letalidad <sup>6</sup> general por intoxicaciones agudas por plaguicidas	Tasa de letalidad específica por producto aplicado

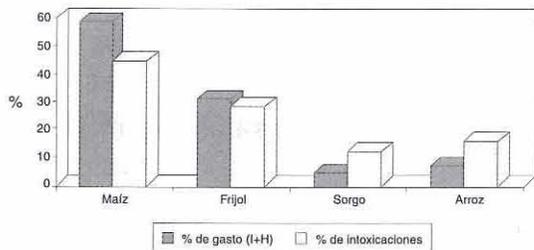
<sup>2</sup> Los datos de la encuesta tienen limitaciones porque existen diferentes unidades de medida (kg y L) y por conveniencia se transformaron las medidas de peso a medidas de volumen tomando el peso de 1 L agua como factor de conversión, para estimar volumen y precio. No se consideran las diferentes concentraciones e ingredientes activos.

<sup>3</sup> Considerando la tasa de cambio vigente en enero de 1998 de US\$1=C\$10.

<sup>4</sup> El valor de 1000 ha es arbitrario y se seleccionó para que la tasa de intoxicaciones sea un número entero.

<sup>5</sup> Tasa que relaciona el número de muertes ocurridas por esa causa con la población total expuesta al riesgo. Se relaciona con la magnitud.

<sup>6</sup> Tasa que relaciona el número de muertes ocurridas por esa causa con el número total de casos ocurridos. Se relaciona con la gravedad.



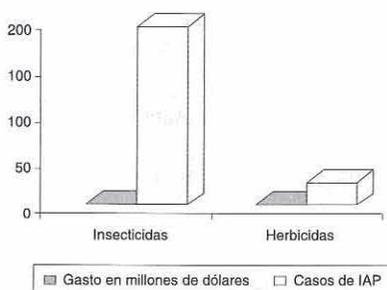
**Figura 1.** Comparación porcentual entre inversión en plaguicidas e intoxicaciones agudas por plaguicidas por cultivo. Nicaragua, 1998-1999.

secticidas y herbicidas) con las intoxicaciones agudas ocasionadas por la exposición a insecticidas y herbicidas según tipo de cultivo.

La proporción de intoxicaciones por cultivo no depende necesariamente del gasto en plaguicidas en ese cultivo, sino que existen otros factores que determinarían dicha relación.

Por ejemplo, en sorgo y arroz se presenta mayor proporción de intoxicaciones con respecto a maíz y frijol, si se comparan la inversión en insecticidas y herbicidas.

En el ciclo 1998-1999 en los cuatro cultivos de granos básicos analizados se produjeron un total de 194 intoxicaciones agudas por insecticidas y 23 por herbicidas. Si se relacionan los gastos totales por granos básicos según tipo de plaguicida se determina una tasa de intoxicaciones agudas en granos básicos por insecticida de 13 casos por cada US\$100000 dólares invertidos y de 1,3 casos por la misma cantidad de dinero invertida en herbicidas (Fig. 2)



**Figura 2.** Relación entre inversión en plaguicidas e intoxicaciones agudas por plaguicidas (IAP). Nicaragua 1998-1999.

En total, en granos básicos se produjo una intoxicación aguda por exposición a insecticidas por cada \$7629 de gastos y una intoxicación aguda por exposición a herbicidas por cada \$82840.

Hay que aclarar que estos datos son relativos. Las estadísticas del sistema de salud sólo reflejan los casos de intensidad moderada y grave que buscan atención médica y son reportados apropiadamente. Si se considera el subregistro estimado, se podría establecer una relación tres veces mayor o sea un caso de intoxicación en granos básicos por insecticida por cada \$2543

y un caso de intoxicación por herbicidas en granos básicos por cada \$27613 gastados.

### **Intoxicaciones, áreas de siembra y litros de producto aplicados**

Corriols *et al.* (2000) en un estudio realizado en Estelí, en el cultivo del tabaco determinaron una relación con las áreas de siembra, reportándose una intoxicación de moderada a grave por cada 18,2 ha cultivadas. Si se relaciona un plaguicida específico como el metamidofós, del cual se recomienda usar en promedio 4 L por ciclo, se produce una intoxicación grave por cada 466 L aplicados.

Existen diferencias de riesgo para la aparición de intoxicaciones agudas por plaguicidas dadas por:

- el tipo de cultivo
- el tipo de plaguicidas: clase química y clase de uso
- el área geográfica (relativos a la pobreza, el analfabetismo, los subsidios, etc)
- las prácticas de higiene y seguridad laboral
- los antecedentes de capacitación

A continuación se presentan algunos ejemplos de factores de riesgo:

#### **Tipo de cultivo**

En la figura 3 se muestran los cultivos y su relación con las intoxicaciones agudas por plaguicidas en Nicaragua.

#### **Tipo de cultivo, área geográfica y productos**

En el Cuadro 2 se presentan los plaguicidas causantes de intoxicaciones agudas según cultivo y área geográfica en Nicaragua.

#### **Tipo de plaguicidas**

En la figura 4 se observan los principales plaguicidas causantes de intoxicaciones agudas en cultivos de importancia en Nicaragua.

#### **Analfabetismo y pobreza**

En un estudio de relación entre analfabetismo y tasas de intoxicaciones agudas por plaguicidas, para todas las causas se encontró relación entre niveles de analfabetismo en hombres de 15 a 49 años y tasas de intoxicación aguda por plaguicida en once departamentos de Nicaragua (Corriols 2001). Si se comparan los mapas de pobreza por departamento y los mapas de incidencia anual de intoxicaciones por plaguicidas se encuentran coincidencias de índole geográfica.

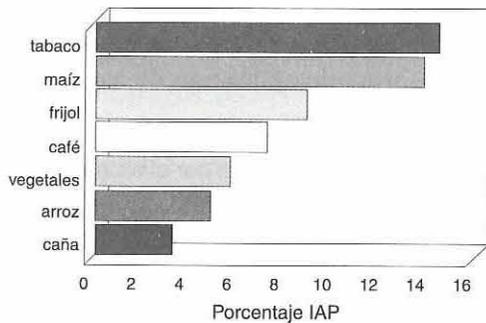
#### **Capacitación**

Una encuesta realizada en 1996 para evaluar los conocimientos, las actitudes y las prácticas de 15669 usuarios de plaguicidas reveló que el 97% utiliza exclusivamente el control químico de plagas, el 88% leen las etiquetas de los productos y el 19% ha recibido alguna capacitación sobre uso de plaguicidas (Centeno y

**Cuadro 2.** Plaguicidas causantes de intoxicaciones agudas según cultivo y área geográfica. Nicaragua.

Cultivo	Area geográfica	Productos
Ajonjolí	León, Rivas y Estelí	metamidofós, malatión, metil paratión, vector, clorpirifos
Arroz	Chinandega	cipermetrina, terbufos, deltametrina, paraquat, edifenfos, lambda cialotrina, metomil, clorpirifos, malatión, mancozeb, metil paratión, endosulfán, metamidofós
Café	Granada, Nueva Segovia, Matagalpa, Jinotega	diazinon, endosulfán, paraquat, ciproconazol, carbofurán, cipermetrina
Caña	Granada, Rivas y León	sal amina, propoxur,
Frijoles	Nueva Segovia, Rivas, Jinotega, Estelí, Matagalpa, Granada, Chinandega, Carazo y León	metamidofós paraquat, metomil, malatión, metil paratión, cipermetrina, clorpirifos, metolaclor, metamidofós, mitoforce, metomil
Frutales	Rivas, Nueva Segovia, Carazo, Granada, León	metomil, metamidofós, malatión, paraquat, oxamil
Hortalizas	Estelí, Matagalpa, León, Granada, Jinotega, Nueva Segovia y Managua.	metomil, cipermetrina, metamidofós, adret, propineb, endosulfán, carbofurán, paraquat, edifenfos, clorpirifos, malatión, butocarboxim, metil paratión,
Maíz	León, Granada, Nueva Segovia, Rivas, Matagalpa, Estelí, Managua, Jinotega	metamidofós, metomil, carbofurán, paraquat, clorpirifos, malatión, metil paratión, propanil, sal amina, propoxur, terbufos, cipermetrina, endosulfán, metafós, triazina
Maní	León	cipermetrina, clorpirifos
Plátano	Rivas	metamidofós, fosfuro de aluminio, paraquat, metomil
Sorgo	Granada, León y Rivas	metomil, metamidofós, endosulfán, malatión
Soya	León	metamidofós, metomil
Tabaco	Estelí, Rivas, Nueva Segovia, Managua, León y Granada.	metomil, metamidofós, benomil, cipermetrina, BT, mancozeb, malatión, aldicarb, endosulfán
Trigo	Granada, Rivas, Estelí, León y Managua.	metamidofós, metomil, carbofurán, 2,4-D, malatión

Fuente: Corriols, M. Intoxicaciones agudas por plaguicidas, 1998-2000. Aspectos ambientales, sanitarios y agrícolas. Inédito.

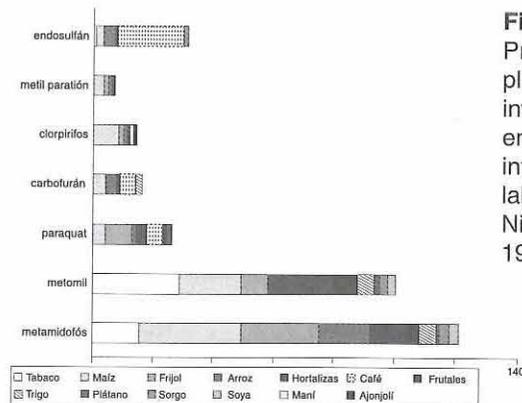


**Figura 3.** Relación de cultivos y el porcentaje de intoxicaciones agudas por plaguicidas (IAP), Nicaragua, 1998-1999.

Amador 2000). En este estudio se encontró una relación estadísticamente significativa entre la falta de capacitación y el desconocimiento de los riesgos que estos productos tienen para la salud humana (OR<sup>7</sup>: 2,0 IC<sup>8</sup>: 1,55-2,58) y el ambiente (OR: 2,4 IC: 1,54-3,89). El antecedente de capacitación estuvo asociado al uso de alternativas al control químico de plagas (OR: 2,2 IC=1,83-2,66). En todo el estudio se estableció una relación positiva entre el antecedente de capacitación y las prácticas para proteger la salud, excepto para las variables uso de envases vacíos y mezcla de plaguicidas.

Aunque el objetivo de este artículo no es el análisis detallado de estas diferencias, se demuestra la ne-

<sup>7</sup> OR = "ODDS RATIO" medida estadística para evaluar asociación.



**Figura 4.** Principales plaguicidas involucrados en intoxicaciones laborales en Nicaragua, 1998.

cesidad de analizar los indicadores en el contexto de cada cultivo.

### Relación entre área sembrada e intoxicaciones agudas por plaguicidas

Para estimar el riesgo de ocurrencia de intoxicaciones agudas por plaguicidas en relación con las áreas cultivadas y las tendencias en los últimos años se construye un indicador que refleja el número de hectáreas cultivadas requeridas para provocar, en las actuales condiciones, un caso de intoxicación moderado o grave por estos productos (los que reporta el sistema de vigilancia del MINSA). La fuente de los datos agrícolas está

<sup>8</sup> IC = Intervalo de confianza.

constituida por los reportes oficiales del MAGFOR sobre áreas cultivadas en el período 1995-2000 y para los datos de intoxicaciones, los reportes oficiales del programa de plaguicidas durante el mismo período.

A pesar de que se reportan datos desde 1995, se recomienda tomar como línea basal la información de 1998, cuando el sistema de vigilancia epidemiológica estaba establecido y a partir del cual existe menos subregistro. Una comparación entre 1998 y 2000 es apropiada para estos fines.

En el Cuadro 3 se presenta el número de hectáreas cultivadas por año requeridas para registrar un caso de intoxicación aguda por plaguicidas. Si se toma como referencia el año 1998 y se compara con el 2000 se observan cambios positivos que indican una reducción del riesgo laboral agrícola para los siguientes cultivos: ajonjolí (7,4 veces menos), caña de azúcar (4,7 veces menos), arroz (2,8 veces menos), banano (3,21 veces menos), frijol (1,2 veces menos), maíz (1,5 veces menos) y soya (10 veces menos). La tendencia es negativa, o sea que el riesgo se ha incrementado para el cultivo de maní (1,2 veces más) y tabaco (1,7 veces más).

La peligrosidad de la exposición a plaguicidas en los cultivos, por la combinación de múltiples factores tecnológicos, educativos, etc. determinan el número de hectáreas cultivadas que se requieren para producir un caso de intoxicación moderado a grave, como puede apreciarse en el Cuadro 4.

**Cuadro 3.** Relación del área cultivada (en hectáreas) por intoxicación aguda por plaguicidas reportado por el sistema de salud de Nicaragua, 1995 a 2000.

Cultivo	Ha. cultivadas/No. intoxicaciones reportadas					
	1995	1996	1997	1998	1999	2000
Ajonjolí	1275,4	2286,9	1060,5	930,9	2986,9	6860,0
Arroz	916,3	1079,4	644,0	2044,0	2028,6	5744,9
Caña	1740,9	1948,1	2172,8	2373,7	3565,1	11172,0
Banano	42,7	102,9	54,6	130,9	420,0	*
Frijoles	8485,4	6352,5	4452,0	3663,1	5385,1	5160,4
Maíz	4667,6	8054,2	4096,4	3131,1	2951,2	4667,6
Maní	4497,5	2870,0	856,1	1640,8	2279,9	1371,3
Soya	1388,1	3126,9	233,1	968,8	4144,0	9870,0
Tabaco	23,8	47,6	19,6	30,1	79,1	17,5

Fuente: Elaboración propia a partir de datos de MINSA y MAGFOR. \*No se obtuvo la información para el año 2000.

## Literatura citada

- Centeno, J; Amador, R. 2000. Conocimientos, actitudes y prácticas de usuarios de plaguicidas en Nicaragua. Nicaragua, OPS/OMS-Proyecto Plagsalud.
- Corriols, M; Ríos, F; Cáceres, O; Leyva, F; Baca, P. 1999. Estudio piloto de exposición e incidencia de intoxicaciones agudas por plaguicidas en los municipios de Estelí y Jalapa. OPS, MINSA, PROMIPAC.
- Corriols, M; Ríos, F; Cáceres, O; Leyva, F; Baca, P. 2000. Impac-

**Cuadro 4.** Clasificación de plaguicidas según riesgo de intoxicaciones agudas por plaguicidas.

Peligrosidad	Ambito de exposición (ha)	Cultivo
Baja	Más de 7350 ha	Caña y soya
Mediana	3675 - 7349,3 ha	Ajonjolí, arroz, frijol, maíz
Alta	700 - 3674,3 ha	Maní
Extremada	Menor 700 ha	Banano y tabaco

Fuente: elaboración propia a partir de datos de MINSA y MAGFOR

## Tendencias y relaciones agrosanitarias por tipo de cultivos

En general, se aprecia que los cultivos de granos básicos representan un riesgo mediano (Cuadro 4) y que los cultivos de exportación como tabaco y banano representan un riesgo extremadamente alto de provocar intoxicaciones agudas por plaguicidas. En el caso de la caña de azúcar, ésta ha experimentado una reducción notable de la peligrosidad en los últimos años, debido a la implementación de un programa intensivo de seguridad laboral con los trabajadores expuestos, la incorporación de sistemas cerrados de aplicación, cambios en el tipo de plaguicidas utilizados, incluyendo la adopción de alternativas al uso de productos sintéticos. En arroz se ha producido un cambio en la forma de aplicación de aspersión aérea a aspersión manual.

to sanitario y ambiental del cultivo de tabaco en Estelí y Jalapa. OPS, MINSA, PROMIPAC.

- Corriols, M. 2001. Evaluación de impacto ambiental de los plaguicidas y alternativas para el manejo de plagas. Apuntes para la evaluación de impacto ambiental en proyectos de USAID. Zamorano.
- MAGFOR. 2000. Encuesta Nacional Agropecuaria, Epoca Primera 1998/1999. Managua, Nicaragua. p. 81-87.
- OPS- Plagsalud. 2001. Boletines epidemiológicos e informativos del programa de plaguicidas. MINSA 1995-2001 (no.18)



## Cría masiva de *Trichogramma pretiosum*, *Sitotroga cerealella* y *Chrysoperla externa*\*

Enilda Cano Vásquez\*\*

### Introducción

En el Occidente de Nicaragua, el cultivo del algodón alteró la ecología de la zona debido al uso excesivo de plaguicidas. Como consecuencia, los insectos plagas desarrollaron resistencia a estos productos (Salamanca 1986) y resurgieron plagas secundarias que anteriormente no tenían importancia económica. Entre estas están: el bellotero (*Helicoverpa zea*), la langosta medidora (*Alabama argillacea*) y especies del género *Spodoptera* (Falcón 1971).

Con el fin de buscar una alternativa al control químico de plagas de importancia económica en Nicaragua, a partir del año 1982, la Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua (UNAN) inició investigaciones sobre *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae), parasitoide de huevos de lepidópteros, específicamente, de la familia Noctuidae.

Flander, fue el primero que estableció crías de *Trichogramma* usando huevos de *Sitotroga cerealella* (Lepidoptera: Gelechiidae) como hospedante. Posteriormente, en otros países, como Alemania Federal, Perú y Colombia se desarrollaron técnicas de producción de este parasitoide, usando el mismo insecto hospedante.

Navarro y Zenner (1976) en estudios básicos y de parasitismo y emergencia de *Trichogramma*, en condiciones de laboratorio, determinaron, un porcentaje promedio de parasitismo y emergencia de 83,7% y 78%, respectivamente.

De la Torre y Díaz (1982) en evaluaciones, en condiciones de laboratorio, sobre el control del barrenador de las plantas aromáticas (*Corcyra cephalonica*, Lepidoptera: Galleriinae) mediante *Trichogramma oatmani* determinaron un parasitismo del 100% de los huevos de la plaga. De la Torre (1971) también señaló la capacidad de

*Trichogramma* para el control biológico de *Erinnyis ello*.

Con base en las experiencias con *Trichogramma* se estableció una cría de este parasitoide en el laboratorio de Control Biológico de la UNAN, con el propósito de realizar investigación básica, y producir masivamente el parasitoide para posteriores liberaciones en el campo, como parte de control de plagas importantes de cultivos de la región.

El parasitoide fue recolectado en la región II de El Viejo, Chinandega e identificado en los Estados Unidos como *Trichogramma pretiosum* Riley, por el Dr. David Vincent del Beltsville, Maryland, Estados Unidos. En Estelí, Nicaragua se recolectaron otras muestras de *Trichogramma* identificadas posteriormente por el Dr. J. D. Pinto, de la Universidad de California, Riverside, Estados Unidos.

Los estudios básicos mostraron la importancia de realizar periódicamente pruebas de control de calidad de la cepa, lo cual se realiza mediante el análisis de una tabla de vida. Además, en el laboratorio, deben realizarse evaluaciones periódicas del parasitoide para asegurar la calidad reproductiva de la hembra de *Trichogramma*.

En Nicaragua, la producción masiva del parasitoide ha sido exitosa, permitiendo realizar liberaciones en varios cultivos en León y Chinandega y evaluar el porcentaje de parasitismo de huevos de varios insectos plagas de cultivos de importancia económica (Cuadro 1).

Los resultados demuestran que el parasitoide ha sido eficaz, alcanzado hasta 100% de parasitismo de huevos de *H. zea* en tomate durante el ciclo de cultivo de 1990-2001 (Cuadro 1).

\* Presentado en el Curso sobre Formulación y Control de Calidad de Productos No-Sintéticos, auspiciado por el Proyecto Fomento de Productos Fitosanitarios No-Sintéticos de CATIE/GTZ. Nicaragua 2001.

\*\* Proyecto Producción y Aplicación masiva de *Trichogramma* y otros agentes biológicos. Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua. León, Nicaragua.

**Cuadro 1.** Plagas controladas por *Trichogramma*, cultivo y porcentaje de parasitismo.

Plaga		Cultivo	Parasitismo
Nombre común	Nombre científico		(%)
Bellotero	<i>Helicoverpa zea</i>	Maíz	85
Gusano de fruto de cucurbitáceas	<i>Diaphania</i> spp.	Melón	65
Gusano de soya	<i>Anticarsia gemmatalis</i>	Soya	60
Barrenador de la caña	<i>Diatraea saccharalis</i>	Caña de azúcar	100
Falsa langosta medidora	<i>Trichoplusia ni</i>	Frijol	70
Gusano cachudo de la yuca	<i>Manduca sexta</i>	Tomate	100
Langosta medidora	<i>Alabama argillacea</i>	Algodón	95

La experiencia de la UNAN con *Trichogramma* y su hospedante *S. cerealella*, le permitió obtener financiamiento del fondo de Contravalor del Japón-Nicaragua, para la construcción de laboratorios para la producción de este parasitoide, y de *Chrysopa* spp. para ofrecerlos a precios más accesibles para los productores y productoras de Nicaragua y otros países de América Central.

### Cría de *T. pretiosum*

El método básico para la cría masiva de esta especie consiste en colocar parejas de adultos en un vaso de cristal o en una jaula, la cual contiene huevos de *S. cerealella* donde permanecen aproximadamente 48 h. En estas jaulas la luz debe estar orientada para asegurar una respuesta fototrópica del adulto hacia los huevos del insecto hospedante.

Se ha adaptado la técnica de Morrison *et al.* (1978), junto con el método que sustituye los huevos fijos con almidón preparado con goma arábiga, colocadas sobre trozos de cartulina y el uso de tubos o vasos de cristal de 30 cm de largo por 12 cm de diámetro para los pie de cría. La metodología de Morrison consiste en colocar en un vaso de cristal 6,5 cm<sup>2</sup> de *Trichogramma* x 12,7 cm de huevos de *S. cerealella*. Los insectos son alimentados con una disolución de miel de abeja y agua al 50%. A los 3 días se traslada a otro vaso de cristal y a los 6 días se refrigeran a una temperatura de 8 – 10°C, o se permite que los adultos nazcan y mantengan el pie de cría de *Trichogramma*.

### Producción comercial de *T. pretiosum*

Los huevos de *S. cerealella* se colocan en una caja para la parasitación (caja o jaula de oviposición) que debe tener el 50% iluminado y el 50% restante oscuro. En el lado oscuro se introducen las pupas del parasitoide, sobre una pequeña división o estante auxiliar y en el lado iluminado los huevos de *S. cerealella*; las puertas o ta-

pas de las jaulas de oviposición se sellan herméticamente para evitar el escape de los insectos.

Para la iluminación de las cajas se utilizan tubos fluorescentes de 40 Watts, colocados a 30 cm de distancia de las ventanas de vidrio, en ambos lados de la caja.

### Cría de *S. cerealella*

La recolección de especímenes de esta especie se efectuó alrededor de los silos de granos almacenados, en la Empresa Nacional de Granos Básicos (ENABAS) en León, Nicaragua. Estos fueron llevados al laboratorio y las generaciones subsecuentes formaron el pie de cría en el laboratorio. En mayo de 1982, se recibieron huevos de *S. cerealella*, de la cría del Ministerio de Agricultura y Ganadería de Costa Rica, para mejorar la cría del laboratorio de la UNAN. En junio de 1983, se recibió una donación de 100 g de huevos del laboratorio Rincon-Vitova, Ventura, California, la cual también fue incorporada a la cría.

Una vez que se estableció la cría se realizaron algunos estudios básicos para establecer una tabla de vida y obtener información sobre su reproducción. La larva de este insecto se alimenta de maíz, sorgo y trigo y el adulto sale de un orificio que hace en el grano.

Para la cría de *S. cerealella* se usa sorgo blanco o trigo; no se debe utilizar sorgo rojo porque contiene sustancias que inhiben el crecimiento del insecto.

### Control de calidad de *T. pretiosum* mediante una tabla de vida

Para conocer el ciclo de vida y los parámetros de reproducción de un insecto es fundamental el cálculo de una tabla de vida. En ella se registra la fertilidad, la tasa neta de reproducción, la proporción de sexos, la proporción de hembras estériles, el tiempo de generación y la tasa intrínseca de crecimiento.

En el laboratorio de la UNAN, las pruebas de control de calidad se realizan cada 6-8 meses. Para es-

to se colocan 1000 huevos blancos de *S. cerealella* junto con 150 adultos de *Trichogramma*, de 24 h de haber emergido. Los huevos, de *S. cerealella* se colocan en una caja de cartón de 3,8 cm de longitud x 2,5 cm de superficie x 1,3 cm de ancho. Veinticuatro horas después se retiran los huevos evitando que algún espécimen de *Trichogramma* permanezca sobre los huevos dispersos. Los huevos se trasladan a otro recipiente de cristal limpio y seco donde permanecen hasta que se tornen negros, lo cual indica que están parasitados. Posteriormente, se colocan dos huevos parasitados en un tubo de ensayo de 5 ml de capacidad, y se cubre la parte superior del tubo con tela y algodón. Los tubos rotulados con la fecha y un número se colocan en bandejas donde permanecen hasta la emergencia de los adultos del parasitoide. En cada tubo se deja una pareja de adultos del parasitoide y se alimentan con una disolución de miel de abeja y agua al 50%. El resto de huevos se dejan y se observan para registrar su emergencia y mortalidad diaria.

En trozos de cartulina (6 mm de ancho x 25 mm de longitud) se colocan 100 huevos blancos de *S. cerealella* y se colocan con la pareja de *Trichogramma*, donde permanecen hasta que la hembra del parasitoide muere.

Cada trozo de cartulina con huevos se rotula con la fecha y el número del tubo de ensayo correspondiente a la pareja de *Trichogramma*, y se transfiere a otro tubo de ensayo. Diariamente se registra el número de huevos parasitados; se dejan que emerjan los adultos y que mueran. Luego se identifica y se registra el número de hembras y número de machos emergidos cada día. La tabla de vida para un grupo de hembras se calcula usando las fórmulas siguientes:

$$lx = \frac{\text{No. de individuos vivos}}{\text{No. de individuos vivos iniciales}}$$

$$Mx = \frac{\text{No. de huevos}}{\text{No. de hembras}}$$

$$Ro = \sum lxmx$$

$$Tg = \frac{\sum Xlxmx}{\sum lxmx}$$

$$r = \frac{\text{Lng } Ro.}{G}$$

$$TD = \frac{\text{Lon}^2}{r}$$

Donde:

X: Edad en días

lx: Número de individuos de una población que sobreviven después de un intervalo de tiempo. Se divide el número de individuos vivos en un tiempo determinado entre el número de individuos iniciales.

mx: Índice de fertilidad específica de la edad. Se calcula el número de huevos entre el número de hembras.

Ro=lxmx: Tasa neta de reproducción, también llamada tasa de reemplazo, es el número promedio de progenie hembra capaz de ser producido por cada hembra de la población durante toda su vida. Para calcularla se toma la fracción de las hembras que viven hasta una edad (lx) y se multiplica por el promedio de progenie hembra que se produce a esa misma edad (mx), y posteriormente se suman para todas las edades. Esto se expresa como Ro=lxmx.

Tg= Tiempo de generación

r= Tasa intrínseca de crecimiento

TD= Tiempo de duplicación

## Uso de *Chrysoperla externa*

Este insecto, generalmente es verde, con ojos dorados, antenas muy delgadas, con alas del mismo tamaño, el par de alas anterior son angostas en la base y con venas verdes.

Los huevos son ovipositados sobre las hojas de las plantas, sostenidos por un pedúnculo. Cuando están recién ovipositados son verdes pero después de unos días se tornan grisáceos.

Las larvas de esta especie miden de 7 mm en pro-

medio y son conocidas como leones de áfidos por su hábito de comer estos organismos. La pupa tiene forma de esfera blanca que se adhiere a los árboles, hojas y frutos. El ciclo de vida de *C. externa* es de 60 - 80 días.

En países como Estados Unidos se ha usado *C. externa* para el control biológico de plagas de algodón, en los primeros 60 días del cultivo. En Nicaragua, se han realizado liberaciones de este insecto, usando de 3000 - 5000 larvas / 0,7 ha.

*C. externa* puede depredar las siguientes plagas: *Helicoverpa zea*, *Heliiothis virescens*, *Diaphania* sp., *Anticarsia gemmatalis*, *Diatraea saccharalis*, *Aphis gossypii*, *Spodoptera frugiperda* y *Aspidiotus destructor*.

En el caso de áfidos en melón, el porcentaje de depredación ha sido muy significativo, siendo el control de 100% en la mayoría de las estaciones (Cuadro 2) y el más bajo de 60%.

**Cuadro 2.** Porcentaje de control por depredación de *C. externa* en áfidos en el cultivo del melón

Estaciones	Áfidos*		Control por depredación (%)
	Antes de la liberación	Después de la liberación	
1	25	10	60
2	30	0	100
3	25	0	100
4	28	0	100
5	18	3	83
6	13	0	100

\* 23 áfidos pulg<sup>2</sup>.

### Literatura consultada

- Cooperativa Algodonera Salvadoreña, 1981. Introducción del control biológico a base de *Trichogramma* contra *Helicoverpa* ssp. y *Alabama argillacea* en El Salvador.
- CCIPPA. 1979. Manual integrado de plagas del algodón. Managua, Nicaragua, Banco Nacional de Desarrollo.
- Cano, E. 1988. Cría Masiva y Liberación de *Trichogramma pretiosum* Riley con técnica mejorada en Nicaragua. Tesis MSc. León, Nicaragua, Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua.
- Cano, E. 1994. Control de calidad y liberaciones en el campo de *Trichogramma pretiosum* Riley en Nicaragua.
- De la Torre, SM; Díaz 1973. Estudios analíticos de la longevidad y fecundidad del *Trichogramma fasciatum* (Perkins) (Hymenoptera Trichogrammatidae) en función del alimento y número de huevos disponibles de *Corcyra cephalonica* (Stainton) (Lepidoptera, Galleriinae). Universidad de La Habana. La Habana, Cuba.
- FAO. 1977. Informe al Gobierno de Nicaragua, sobre control integrado de plagas del algodón. Managua, Nicaragua.
- Morrison, RK; Hoffman, JD. 1976 An improved method for rearing the *Angoumois*, Grain Moth. USDA - ARS. 104 p.
- Morrison, RK. 1985 Effective mass production of eggs of the *Angoumois*, Grain Moth, *Sitotroga cerealella* (Olivier). The Southwestern Entomologist Suppl. 8:28-37.
- Navarro, A; Zenner, I. 1976. Estudios básicos tendientes a mejorar el uso de *Trichogramma* sp. en el control integrado de plagas en Colombia. Revista Colombiana de Entomología 2 (1):13-24.
- Reyes, B. 1995. Crianza masiva de *Chrysoperla externa* y liberación en el campo. Tesis Lic. León Nicaragua, UNAM.

## Próximos Cursos y Eventos

El Proyecto de Fomento de Productos Fitosanitarios No-Sintéticos del CATIE/GTZ, continua las capacitaciones en alternativas al uso de plaguicidas sintéticos, en países de la Región Centroamericana.

El próximo curso se llevará a cabo del 16-17 de octubre en Honduras. Este evento está dirigido al Sector Público. En él se ofrecerán charlas sobre control biológico y microbiológico de plagas, producción, formulación y control de calidad de productos biológicos y botánicos y legislación y registro de este tipo de productos.

También el Proyecto participará en la Feria del Sector Agrícola, a celebrarse en Nicaragua del 1-7 de agosto.

# 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)



**Proyecto Plagsalud  
Organización Panamericana de la Salud**

San José, Costa Rica  
Tel: (506) 223-1686  
Fax: (506) 258-5830



**Del Monte  
Oficinas Centrales**

Barrio Tournón, San José, Costa Rica  
Tel: (506) 212-9000, Fax: (506) 225-0158

**PINDECO**

Buenos Aires, Puntarenas  
Tel: (506) 730-0155, Fax: (506) 730-0113

**BANDECO**

Siquirres, Limón  
Tel: (506) 710-3630, Fax: (506) 710-3632



**Fomento de Productos  
Fitosanitarios No-Sintéticos**

Ministerio de Agricultura y  
Ganadería, San José, Costa Rica  
Tel: (506) 296-5715  
Fax: (506) 232-0735

Programa de Educación para el Desarrollo y la Conservación

## Escuela de Posgraduados

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: Agricultura Tropical y Manejo de Recursos Naturales en Cooperación con Universidades Asociadas:

#### Estados Unidos de Norteamérica

- Universidad Estatal de Colorado
- Universidad de Florida (Gainesville)
- Universidad de Idaho
- Universidad de Purdue
- Universidad Estatal de Louisiana
- Universidad Texas A&M

#### Europa

- Universidad de Gales (Reino Unido)
- Universidad de Göttingen (Alemania)
- Universidad de Freiburg (Alemania)
- Universidad de Hohenheim (Alemania)

### Maestría (M.Sc.) en:

#### Agroforestería Tropical con especialización en:

- Agroforestería con Cultivos Anuales
- Agroforestería con Cultivos Perennes
- Sistemas Silvopastoriles

Subespecialización con varias opciones.

#### Manejo y Conservación de Bosques

#### Tropicales y Biodiversidad con especialización en:

- Manejo de Sistemas de Producción Forestal Diversificado
- Conservación de la Biodiversidad

Subespecialización con varias opciones.

#### Agricultura Ecológica con especialización en:

- Recursos Fitogenéticos y Biotecnología
- Manejo Integrado de Plagas

Subespecialización con varias opciones.

#### Manejo de Cuencas Hidrográficas con especialización en:

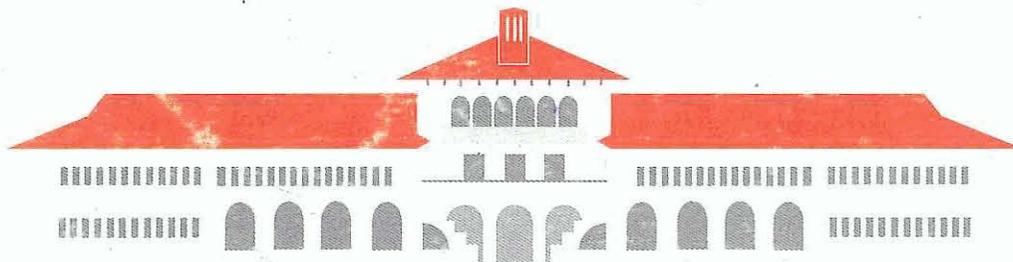
- Manejo de Desastres Naturales
- Manejo de Recursos Hídricos

Subespecialización con varias opciones.

#### Socioeconomía Ambiental con especialización en:

- Administración y Gerencia Ambiental
- Economía Ambiental
- Sociología Ambiental

Subespecialización con varias opciones.



Producir conservando, conservar produciendo®

#### Solicite información a:

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