

ISSN 1016-0469

# Manejo Integrado de Plagas

Diciembre 2001

No. 62



**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 contribuir a 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) de Costa Rica, el Departamento de Recursos Naturales y Ambientales (DRNA) de Puerto Rico, PALMAVEN de Venezuela, la Municipalidad de Zamora de Ecuador, el Instituto Norteamericano de Investigación en Caño (ACRI) y España.

### 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:** Los cítricos son un cultivo de importancia económica en muchos países de América Latina, tanto para consumo nacional como internacional. Sin embargo, en algunos países **la leprosis de los cítricos**, una enfermedad viral que puede llegar a causar la muerte de los árboles, constituye un serio problema que limita la producción y exportación (Revista MIP 60 p. 61-65). En Costa Rica se han implementado acciones para prevenir la entrada de esta enfermedad (p. 81-84). En el inserto izquierdo se observa el ácaro *Brevipalpus*, vector de la leprosis. En el inserto derecho se aprecian los síntomas de la enfermedad en frutos de naranja dulce.

**Fotos:** Acaro, Carl Childers, Universidad de Florida.

**Síntomas:** Jorge Araya. **Plantación de cítricos:** Luko Hilje.

## Comité Editorial Operativo

Elkin Bustamante, Presidente

Manuel Carballo

Daniel Coto

Eduardo Hidalgo

Luko Hilje

Wilberth Phillips M.

Galileo Rivas Platero

Joseph L. Saunders

Laura Rodríguez, Editora

### Dirección Técnica

Elkin Bustamante

### Coordinación y edición

Laura Rodríguez

### Diseño y diagramación

Unidad de Comunicación CATIE

La producción y administración de esta revista se encuentra bajo el Área de Comunicación e Informática. 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 1632/558-2633

Fax: (506)556 0606/556 6282

EMail: [irodrigu@catie.ac.cr](mailto:irodrigu@catie.ac.cr) ó

[cicmip@catie.ac.cr](mailto:cicmip@catie.ac.cr)

# Manejo Integrado de Plagas

No. 62

Diciembre 2001

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



## CONTENIDO

### BIOGRAFIA

Eddie Echandi Zürcher

Luis Carlos González .....1-3

### FORO

Control biológico en comunidades microbianas del suelo: un fenómeno de dependencia de sustrato. HAJ Hoitink, MJ Boehm .....4-17

### INFORMES DE INVESTIGACION

Control biológico de la marchitez bacterial en tomate con el uso de enmiendas orgánicas

Libia Hernández Garboza, Elkin Bustamante Rojas .....18-28

El papel de las malezas en la reducción de la lixiviación de nutrientes en cultivos de banano en el trópico húmedo

Ramiro de la Cruz, Carlos Eduardo Rojas, Herbert Luis Lobón, Carlos Burgos .....29-37

Caracterización de aislamientos de *Beauveria bassiana* para el control de la broca del café

Patricia E. Vélez-Arango, María N. Estrada-Valencia, María T. González-García, Ana M. Valderrama-Fonseca, Alex E. Bustillo-Pardey .....38-53

Evaluación de *Beauveria bassiana* para el control del picudo del chile en laboratorio

Manuel Carballo V, Ligia Rodríguez, Joaquín Durán .....54-59

Fotoprotección de preparaciones del virus de la poliedrosis nuclear (VPNAg) en condiciones de campo y laboratorio

Luis F. A. Alves, A. Batista Filho, B. Nilson T. Augusto .....60-64

Relación entre la incidencia de escolítidos y la necrosis del cacao en Aragua, Venezuela

William Goitía, Carlos Julio Rosales .....65-71

Influencia de los procesos de investigación participativa sobre la experimentación campesina

Jennifer Wiegel, Falguni Guharay .....72-80

### EXPERIENCIAS DE MANEJO DE PLAGAS

Acciones de prevención contra la leprosis de los cítricos en Costa Rica

Jorge Araya González .....81-84

### HOJA TECNICA

Un nuevo método para la cría masiva de *Hypsipyla grandella*

Carlos Vargas, Philip J. Shannon, Rosina Taveras, Francisco Soto, Luko Hilje .....i-iv

### SECCION INFORMATIVA

Tesis de Posgrado .....85-86

Futuros eventos .....87

Mosca Blanca al Día .....88-89

Plagas Forestales Neotropicales .....90-91

### Agromedicina

Tratado fundamental para el control y eliminación de contaminantes orgánicos persistentes (COPs)

Samuel Henao .....92-95

Avances en el Fomento de Productos Fitosanitarios No-Sintéticos

Microorganismos antagonistas para el control fitosanitario

Orietta Fernández-Larrea Vega .....96-100

### Agricultura Orgánica

Génesis, fundamentos y situación actual de la agricultura orgánica

Gabriela Soto, R. G. Muschler .....101-105

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.

## REPRESENTACIONES NACIONALES DEL CATIE

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

### COLOMBIA

MSc. John Mario Rodríguez  
Asesor de Relaciones  
Externas del CATIE  
Convenio Universidad  
Tecnológica de Pereira-  
CATIE  
Apartado Postal 097  
Pereira, Colombia  
Tel. directo (00576) 321-8738  
Telefax: (57) 63212443  
Correo electrónico:  
engide@utp.edu.co  
jrodrigu@telesat.com.co

### COSTA RICA

Edificio de la FAO, Sabana  
Sur, 500 metros al oeste del  
Ministerio de Agricultura  
carretera a Escazú, San José,  
Costa Rica  
Tel: (506) 296-5816  
Fax: (506) 232-0735  
E-Mail: manfred@catie.ac.cr

### GUATEMALA

MBA Viviana Sánchez  
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:  
catiegua@intelnet.net.gt

### 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  
Calle del Ejército  
Nacional. 311 Primer Piso  
Colonia El Tecolote  
Tepic, Nayarit, México  
Tel: (52) 32 100807/149967  
Fax: (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

### VENEZUELA

Universidad de Yacambú,  
Calle 41 entre carreteras 15  
y 16, Barquisimeto, Estado  
de Lara 3001, Venezuela.

## REPRESENTACIONES NACIONALES DEL IICA

### 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

### 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

## GRUPO ASESOR DE REVISION

### CENIBANANO

Luis Fernando Patiño

### CATIE

Elkin Bustamante  
Manuel Carballo  
Daniel Coto  
Eduardo Hidalgo  
Luko Hilje  
Kees Prins  
Joseph Saunders

### CATIE. Proyecto

MIP/Nicaragua  
Falguni Guharay

### CIAT

Carlos Arturo Quirós

### ECOSUR, México

Jorge Macías

### EMBRAPA

Daniel Sosa

Ministerio de Agricultura y  
Ganadería. Dirección de  
Sanidad Vegetal  
(Costa Rica)  
Arnoldo Merayo  
Sergio Abarca

Ministerio de Agricultura y  
Ganadería. Estación  
Experimental Diamantes  
Antonio Bogantes

### Universidad de Córdoba, España

Cándido Santiago Alvarez

### Universidad de Costa Rica

Helga Blanco  
Adolfo Soto

### Universidad de Costa Rica.

Sede del Atlántico  
Ana Tapia

### Universidad de Sao Paulo, Brasil

Sergio Alves

### USDA

Ronald Ochoa



## Eddie Echandi Zürcher: Científico, educador y promotor del desarrollo agrícola del trópico americano

Luis Carlos González<sup>1</sup>

Eddie Echandi fue uno de esos agrónomos latinoamericanos que no sólo dejaron huella en su país sino en gran parte del continente, en su caso, gracias a su aporte como científico, como educador y como integrador de iniciativas internacionales dirigidas al desarrollo agrícola del trópico americano.

Nació en San José, Costa Rica, en noviembre de 1926. Se graduó como Ingeniero Agrónomo en la Universidad de Costa Rica en 1950. Trabajó brevemente en el Ministerio de Agricultura de Costa Rica, pero pronto inició estudios de Posgrado en Fitopatología en el Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas (IICA), en Turrialba, bajo la guía del pionero tropical F.L. Wellman. Obtuvo su maestría en 1952, con una tesis sobre enfermedades bacterianas de la papa.

Poco después continuó su especialización en Fitopatología en la Universidad de Wisconsin, donde obtuvo su doctorado en 1955, trabajando en enfermedades de hortalizas, bajo la dirección de J.C. Walker, uno de los grandes líderes del Siglo XX en el estudio de las relaciones hospedante-patógeno-ambiente, y formador de una legión de fitopatólogos que a su vez desarrollaron esa disciplina en sus países, entre los cuales están Carlos Garcés en Colombia, Eugenio Schieber en Guatemala y Eddie Echandi en Costa Rica.

El Dr. Echandi regresó a trabajar en la Facultad de Agronomía de la Universidad de Costa Rica. Inte-

gró uno de esos grupos visionarios que aspiraban transformar la enseñanza de la Agronomía en América tropical, siguiendo el patrón de la universidad norteamericana: profesores especialistas, dedicados a tiempo completo a la investigación de los problemas de la agricultura del país, en interacción con diversos científicos de la institución tales como botánicos, químicos, fisiólogos, microbiólogos, entomólogos y nematólogos, involucrando la ciencia en la agricultura, y viceversa.

En la década de los 50s, Eddie formó la segunda generación de fitopatólogos: entre los cuales están Rodrigo Gámez, José Antonio Salas, Oscar Esquivel, Manuel Salas, entre otros. Con sus estudiantes investigó sobre varias enfermedades del cultivo del café, como *Hemileia vastatrix*, *Phoma costarricensis* y *Cercospora coffeicola*, así como los complejos nematodos-hongos de la raíz. Dió así un aporte significativo a la tecnología cafetalera de Centroamérica, ya que publicó todo en revistas internacionales como Turrialba, Biología Tropical, Plant Disease Reporter y Phytopathology, algo poco usual para esa época en nuestros países.

Para entonces el IICA empezó a desarrollar sus programas de granos básicos, y en 1961 contrató a Eddie Echandi para laborar en su sede de Turrialba, base de la proyección a Centroamérica. Eddie fue uno

<sup>1</sup> Consultor. San José, Costa Rica. cgonzale@raicsa.co.cr

de los fundadores del Programa Centroamericano para el Mejoramiento de los Cultivos Alimenticios (PCCMCA). Como director de este programa fortaleció la colaboración con instituciones académicas, gubernamentales e internacionales del istmo y países vecinos.

Desde Turrialba impulsó la todavía joven enseñanza de posgrado en Ciencias Agrícolas en América Tropical. Con Eddie estudiaron en el IICA jóvenes agrónomos de Brasil, Colombia, Chile, Perú, Ecuador, Costa Rica, El Salvador y Guatemala. A la vez, fue un promotor del intercambio profesional entre fitopatólogos del área, particularmente dentro de la División del Caribe de la American Phytopathological Society (APS-CD). De esta división fue presidente en 1963-1964, y periodo en el cual organizó la primera reunión de APS-CD en Centroamérica, celebrada en San José, Costa Rica en 1964.

En 1964, el Dr. Echandi hizo un sabático en la Universidad de California, Berkeley, con J.R. Parmer, sobre la telaraña causada por *Thanatephorus cucumeris*, con lo que cual inició una permanente lucha contra este patógeno polífago.

Con esa y otras enfermedades de frijol trabajó varios años, principalmente dentro del Programa Centroamericano de Frijol, que tuvo gran impacto en la seguridad alimentaria de la región durante los años 60. Muchos nos beneficiamos de los puentes que Eddie Echandi tendió entre especialistas y entre países, para aprovechar al máximo los entonces escasos recursos humanos y materiales disponibles para impulsar la agricultura mediante la investigación, la extensión y la enseñanza de posgrado. Promovió la colaboración internacional, gestionó recursos para becas y viajes de capacitación, coordinó congresos, editó memorias, coadyuvó en textos y manuales, y en general impulsó a sus jóvenes colegas latinoamericanos a fijarse metas ambiciosas, y a superarse para cumplirlas.

En 1971, Eddie se incorporó al Proyecto de Apoyo de North Carolina State University (NCSU) a la Universidad Agraria de La Molina, Perú, a cargo del desarrollo de la Fitopatología a nivel de posgrado. Ya para entonces lo acompañaban, además de su esposa Mildred, sus hijas Diana e Ivonne. Hizo una meritoria labor en enfermedades de papa, en colaboración con el CIP, a la vez que abrió las puertas de NCSU a la fitopatología tropical.

Terminada su misión en Perú, pasó al campus de NCSU en Raleigh, donde trabajó desde 1971 hasta

1993 como profesor de posgrado e investigador en el Departamento de Fitopatología, uno de los más prestigiosos de Estados Unidos. Su responsabilidad principal fueron las enfermedades de hortalizas, y desarrolló un programa importante en tomate; en especial trabajó con el cancro bacteriano, causado por *Corynebacterium michiganense*, desarrollando métodos de detección temprana y combate de esta severa enfermedad. También se distinguió, en los últimos años de su carrera, por la utilización de mutantes binucleados de *Rhizoctonia* para el control biológico de *R. solani* en papa y otras hortalizas.

En Raleigh, fue profesor de muchos estudiantes latinoamericanos, de países como Argentina, Brasil, Perú y Costa Rica; éstos últimos forman parte de la "tercera generación" de los fitopatólogos ticos entre los cuales están Ronald Romero, Felipe Aráuz y Gregorio Leandro. En esa universidad, dirigió 45 tesis de maestría y 20 de doctorado a candidatos de 22 países. Siempre fue un gran amigo de sus estudiantes, a la vez que un guía crítico y estimulante.

Como miembro de la American Phytopathological Society (APS), Eddie Echandi participó con su característica motivación en numerosos congresos, como organizador, moderador, y expositor, durante más de 30 años. También integró diversas comisiones de APS, tales como Enseñanza, Cooperación Internacional, Regulaciones y Enfermedades Foráneas de Plantas, Patología de Semillas y Fitopatología Tropical. También fue Editor Asociado de la revista *Phytopathology*, principal medio de difusión científica de APS. Ya en el pasado había integrado los Consejos Editoriales de la Revista de Biología Tropical, Turrialba y *Plant Disease Reporter*. Su labor distinguida dentro de APS le valió su elección como "Fellow" (miembro distinguido) de la Sociedad, un honor de reconocimiento universal.

A pesar de su ubicación definitiva en Carolina del Norte, Eddie siempre mantuvo vínculos productivos con sus colegas latinoamericanos, en especial de Centroamérica. Además de su apoyo a la División del Caribe de APS y a la Asociación Latinoamericana de Fitopatología, fue el inspirador y principal colaborador del primer libro de texto de Fitopatología publicado en el istmo (González y Echandi 1975)<sup>2</sup>.

En 1987 formó parte del grupo de evaluadores del Proyecto Manejo Integrado de Plagas para América Central, financiado por ROCAP/AID.

Cuando falleció, en 1995, poco después de jubilar-

se, sus compañeros en NCSU y muchos amigos en todo el mundo crearon, en su memoria, el "Eddie Echandi Travel Fund", administrado por APS Foundation, que desde entonces se utiliza para facilitar el viaje de jóvenes estudiantes latinoamericanos con limitaciones económicas a universidades de Estados Unidos.

Su permanente disposición a colaborar con colegas, estudiantes y productores, su contagioso optimismo, su constructiva franqueza, su prestigio científico internacional, su familiaridad con la agricultura tropical, se combinaron para que Eddie Echandi creara un puente norte-sur de doble vía, que continúa sirviendo

a la Fitopatología de América tropical, aún después de su muerte.

#### **Agradecimiento**

*A José A. Salas, Luis Felipe Aráuz, Ronald Romero, Elmer Bornemisza y Gregorio Leandro por su valiosa colaboración en la preparación de esta biografía.*

---

<sup>2</sup> González, LC; Echandi, E. 1975. Introducción a la Fitopatología. San José, Costa Rica, IICA.

FORO

# Control biológico en comunidades microbianas del suelo: un fenómeno de dependencia de sustrato<sup>1</sup>

HAI Hoitink<sup>2</sup>  
MJ Boehm<sup>2</sup>

**RESUMEN.** Gran parte del control biológico de enfermedades causadas por patógenos del suelo como *Pythium*, *Phytophthora*, y *Rhizoctonia solani* requiere la introducción o la presencia de fuentes edáficas de nutrientes orgánicos en el suelo, como sustento para los agentes de control biológico. El nivel de descomposición de la materia orgánica afecta críticamente la *taxa* bacteriana así como las poblaciones de estos agentes. La competencia, la antibiosis, el parasitismo y la resistencia sistémica inducida son afectados. Las fuentes de turba de esfagno estabilizadas adecuadamente fallan constantemente como apoyo para el sustento de control biológico, incluso cuando son inoculadas con agentes de control biológico. Los composts, por otro lado, pueden funcionar como una fuente ideal de alimentación para estos agentes y ofrecen la oportunidad para introducir y establecer en el suelo agentes específicos, los cuales logran un control sostenible basado en la actividad de las comunidades microbianas.

**Palabras clave:** Materia orgánica, Composición de especies bacterianas, Biomasa microbiana del suelo, Resistencia sistémica inducida.

**ABSTRACT. Biocontrol within the context of soil microbial communities: A substrate-dependent phenomenon.** Broad spectrum biological control of diseases caused by soilborne plant pathogens such as *Pythium*, *Phytophthora*, and *Rhizoctonia solani* requires the introduction into or presence of edaphic sources of organic nutrients in soil for sustenance of biocontrol agents. The decomposition level of organic matter critically affects the composition of bacterial *taxa* as well as the populations and activities of biocontrol agents. Competition, antibiosis, parasitism and systemic induced resistance are all affected. Highly stabilized sources of Sphagnum peat consistently fail to support sustained biological control, even when inoculated with biocontrol agents. Composts, on the other hand, can serve as an ideal food base for biocontrol agents and offer an opportunity to introduce and establish specific biocontrol agents into soils. which in turn leads to sustained biological control based on the activities of microbial communities.

**Key Words** Soil organic matter, Bacterial species composition, Fluorescein diacetate, Soil microbial biomass, Systemic induced resistance.

## Introducción

Durante los últimos 30 años, una gran diversidad de microorganismos del suelo han sido descritos, caracterizados, y evaluados como agentes de control biológico de enfermedades causadas por fitopatógenos del suelo. Se han desarrollado varias estrategias de control basadas en la introducción de agentes de con-

trol biológico, tanto de manera individual como en mezclas. Desafortunadamente, este enfoque de control de enfermedades no ha sido ampliamente adoptado por varias razones. Algunos de los microorganismos introducidos controlaron solo una de las enfermedades importantes de un cultivo. Otros proporcio-

<sup>1</sup> Publicado con permiso de The Annual Review of Phytopathology, volumen.37, 1999 by Annual Reviews www.AnnualReviews.org

<sup>2</sup> The Ohio State University and Ohio Agricultural Research and Development Center. Ohio, USA. hoitink.1@osu.edu

Traducción al Español por Laura Rodríguez



nan solamente un control parcial de la enfermedad o simplemente no sobrevivieron el tiempo suficiente para tener un efecto significativo (Weller 1988).

Para solucionar estas limitaciones, se han estudiado los factores que regulan la habilidad de los agentes de control biológico para establecerse en las raíces. La competencia en la rizosfera es uno de esos factores (Harman 1992). Este enfoque, al menos en teoría, ubica los agentes de control biológico donde son más necesarios y donde las fuentes de nutrimentos (exudados de la raíz, mucílago, células desprendidas de la raíz, etc.) están disponibles. Otro enfoque es la incorporación de un suplemento alimenticio junto con el agente de control biológico para mantener su actividad sin estimular la de los patógenos (Lewis *et al.* 1998, Steinmetz y Schönbeck 1994). Un factor limitante es la calidad y cantidad del sustrato que debe incorporarse y la dificultad de hacer estos tratamientos económicamente atractivos a productores y usuarios finales.

Las enmiendas orgánicas, tales como estiércoles frescos, estiércoles fermentados, y composts pueden proporcionar esta base alimenticia y han sido ampliamente reconocidos como facilitadores del control cuando son aplicados mucho antes de la siembra (Baker y Cook 1974, Hodges y Scofield 1983, Lumsden *et al.* 1983). Estas prácticas de manejo fitosanitario pueden ser muy eficaces para el control de enfermedades causadas por muchos fitopatógenos del suelo, que van desde *Pythium*, *Phytophthora*, *Fusarium* spp. hasta *Rhizoctonia solani*. Los microorganismos edáficos estimulados por esas enmiendas contribuyen a la actividad supresora de los suelos, mediante los cuatro mecanismos principales de control biológico: (a) competencia, (b) antibiosis, (c) parasitismo/depredación, y (d) resistencia sistémica inducida (Lockwood 1988). Este tipo de control está basado en la actividad de los agentes de control biológico dentro del contexto de comunidades microbianas y su respuesta al suelo y las reservas de energía incorporadas por la planta. La concentración y disponibilidad de nutrimentos (carbohidratos en sustancias lignocelulosa, quitina, lípidos, etc.) en la materia orgánica del suelo juega un rol clave en la regulación de estas actividades (Baker y Cook 1974, Cohen *et al.* 1998, Hoitink *et al.* 1997).

Los avances en agricultura generados a principios de este siglo, entre los cuales están la introducción de fertilizantes inorgánicos y de fungicidas sintéticos, las variedades resistentes a enfermedades y las prácticas

culturales mejoradas permitieron a los productores romper el vínculo entre las enmiendas orgánicas y la fertilidad del suelo. Como resultado, subproductos como estiércoles se convirtieron en desechos en lugar de recursos valiosos. Los patógenos de animales aumentaron en el entorno y se presentaron problemas de contaminación de aguas debido a prácticas inadecuadas de desecho (Bruns 1996, Concil for Agricultural... 1995, 1996, 1998). La materia orgánica del suelo mineralizada en el tiempo, la pérdida de la estructura del suelo, y numerosas enfermedades causadas por fitopatógenos del suelo, eventualmente se desarrollaron en proporciones epidémicas. Esto se dio especialmente en aquellos sistemas de cultivo en los cuales no había disponibilidad de prácticas de manejo adecuadas, como la resistencia genética del hospedante, la aplicación de fungicidas, o de prácticas culturales. La pudrición de la raíz del aguacate causada por *Phytophthora* es uno de los ejemplos más conocidos de este problema (Baker y Cook 1974). Situaciones similares se presentaron en plantas producidas en mezclas preparadas con turba como único componente orgánico, dado que la mayoría de las turbas, tal como los suelos altamente mineralizados, tienen bajas reservas de energía disponible y no suprimen estas enfermedades (Hoitink *et al.* 1991).

Actualmente, la creciente cantidad de desechos sólidos deben ser tratados, almacenados y usados de una manera correcta para evitar muchos tipos de problemas ambientales. La producción de compost tiene ventajas sobre otras prácticas de manejo y su popularidad está creciendo como proceso para el tratamiento de desechos que no afectan al ambiente (Brown *et al.* 1998, Hoitink y Keener 1993), y proporciona productos de calidad perdurable para la agricultura (de Bertoldi *et al.* 1996, Hoitink *et al.* 1991, Rynk 1992).

Un control biológico persistente y sostenible de enfermedades causadas por varios tipos de fitopatógenos del suelo puede lograrse al diferir en el medio de crecimiento las enmiendas de compost usadas, en tanto se controlen variables tales como la consistencia de la fuente del material orgánico, el nivel de humedad, la salinidad, la proporción de carbono a nitrógeno, y el control de los parámetros en el proceso de compost (Cohen *et al.* 1998, Hoitink *et al.* 1997, Quarles y Grossmann 1995). Actualmente, los viveros y la industria de la floricultura utilizan con éxito la enmienda de compost como medio de cultivo así como una alternativa al uso de bromuro de metilo o a la aplicación

rutinaria de fungicidas al suelo (Hoitink 1980, Quarles y Grossmann 1995). Craft y Nelson (1996) informaron sobre un éxito similar en la supresión de la pudrición de la raíz causada por *Pythium* en el césped que rodea el hoyo de un campo arenoso de golf. Resultados similares se han obtenido en suelos cultivados (Bruns *et al.* 1996, Sekiguchi 1977, Workneh y van Bruggen 1994b).

Una gran diversidad de microorganismos contribuye al control biológico provisto por composts (Alvarez *et al.* 1995, Boehm *et al.* 1997, Kwok *et al.* 1987, You y Sivasithamparam 1995). Sin embargo, la composición de la microflora activa en el control cambia a medida que la materia orgánica se descompone, la capacidad de carga microbiana de la enmienda se reduce y la supresión se pierde. En estos sustratos de enmiendas varios mecanismos de supresión de enfermedades pueden operar al mismo tiempo contra diferentes patógenos. Esta revisión se enfoca en parte a las contribuciones recientes a este campo complejo del control biológico.

En sustratos complejos o aquellos con enmiendas de compost, el análisis de como el consorcio microbiano interactúa entre sí, con el patógeno, o con el hospedante para facilitar la supresión de la enfermedad siempre ha sido un desafío. Los recientes avances sobre la naturaleza y la complejidad de las poblaciones microbianas, la química del sustrato, y las interacciones de esos dos componentes del sistema suelo han contribuido a un mejor entendimiento de estos sistemas dinámicos. La biomasa microbiana total, basada en la concentración de fosfato fosfolípido, y la actividad microbiana, conocida por la tasa de hidrólisis de diacetato de fluoresceína (FDA) o la incorporación de  $^{14}\text{C}$ -acetato en los fosfolípidos, ha proporcionado una visión nueva y útil sobre los mecanismos por los cuales los microorganismos suprimen la actividad de los patógenos del suelo (Boehm *et al.* 1997, Bruns 1996, Chen *et al.* 1996, Chen y Hoitink 1988, Mandelbaum y Hadar 1990, Marull *et al.* 1997, Tunlid *et al.* 1989, Workneh *et al.* 1993, You y Sivasithamparam 1994). Además, aplicaciones novedosas en espectroscopía como la infrarroja de reflectancia difusa no destructiva transformada de Fourier (DRIF) y la resonancia magnética nuclear  $^{13}\text{C}$  de ángulo gíatorio de polarización-mágica cruzado (CPMAS  $^{13}\text{C}$ -NMR), respectivamente, han permitido la caracterización de los cambios en la composición química de la materia orgánica del suelo. A medida que se incrementa la actividad de patógenos, la contribución del consorcio microbiano en el control biológico es menos activa y la enfermedad se

incrementa (Boehm *et al.* 1997, Hu *et al.* 1997, Stone *et al.* 1997). Aunque estos campos de la ciencia son aún incipientes, pueden hacerse algunas conclusiones generales sobre el papel de la disponibilidad de los sustratos para mantener los agentes de control biológico en el contexto de las comunidades microbianas, la discusión de esas conclusiones constituyen la base de esta revisión.

### **Visión general del proceso de compostaje y el desarrollo de una comunidad microbiana supresora de la enfermedad**

El proceso de compostaje comúnmente está dividido en tres fases (Golueke 1972). Durante la primera fase, la temperatura se incrementa rápidamente entre 40-60 °C, cuando son utilizadas el azúcar y otras sustancias fácilmente biodegradables. Durante la segunda fase, cuando prevalece una temperatura entre 40-70 °C, las sustancias celulósicas y otras menos biodegradables son descompuestas (Chen y Inbar 1993). Las ligninas y otros componentes recalcitrantes se descomponen aún más despacio. Las sustancias húmicas se acumulan en cantidades siempre crecientes por la continua descomposición. Los patógenos de plantas, animales, y humanos, semillas de malezas y desafortunadamente, los microorganismos benéficos así como la fijación de nitrógeno y organismos de control biológico también son destruidos durante el periodo del tratamiento con calor (Bollen 1993, Hoitink y Fahy 1986). *Bacillus* spp. y otros facultativos termoresistentes sobreviven al proceso de altas temperaturas (Strom 1985). Recientemente, ha aumentado considerablemente el conocimiento de microorganismos que colonizan los composts a altas temperaturas (Beffa *et al.* 1996).

La tercera fase o fase curativa del proceso de compostaje se inicia cuando las concentraciones de materiales de fácil biodegradación comienzan a ser limitadas para la microflora presente en el compost. Como resultado, se reduce la actividad microbiana y la producción de calor. Después la temperatura se reduce hasta llegar a 40 °C, los microorganismos mesofílicos, algunos con capacidad para el control biológico colonizan el ahora semipasteurizado compost desde las capas exteriores con baja temperatura hacia el centro del montículo (Hoitink y Fahy 1986). Durante esta fase del proceso, el voltear frecuentemente el compost y mantener un nivel óptimo de humedad mejora la recolonización por los mesófilos y el desarrollo de la supresión natural de enfermedades (Hoitink *et al.* 1991).

Una gran diversidad de agentes de control biológico colonizan naturalmente los composts. Esto se da principalmente con microorganismos eficaces contra los Oomycetos, patógenos del suelo (Boehm *et al.* 1997, Hardy y Sivasithamparam 1995). La composición de géneros de hongos parece ser afectada por los compuestos químicos del material orgánico usado para preparar el compost. La preparación con sustancias lignocelulósicas, tales como corteza de árboles son colonizados principalmente por *Trichoderma* spp. (Kuter *et al.* 1983). En contraste, el bagazo de uva, el cual es bajo en sustancias celulósicas y alto en azúcares, es colonizado por *Penicillium* y *Aspergillus* spp. (Gorodecki y Hadar 1990). Por consiguiente, no es una sorpresa que se considere a *Trichoderma* spp. como un agente de control biológico especialmente eficaz para *R. solani* en composts preparados con desechos lignocelulósicos (Cohen *et al.* 1998, Grebus *et al.* 1994, Hardy y Sivasithamparam 1995, Kwok *et al.* 1987, Nelson *et al.* 1983). Por otro lado, *Aspergillus* y *Penicillium* son los parásitos fungosos predominantes en la erradicación de la podredumbre causada por *Sclerotium rolfisii* mediante composts de bagazo de uva como sustrato de enmienda (Hadar y Gorodecki 1991).

Géneros bacterianos copiotróficos recolonizan los composts más rápidamente (24-48 h) después del pico máximo de calor (Chen *et al.* 1988, Kwok *et al.* 1987). Los agentes de control biológico predominantes en este grupo incluyen cepas de *Bacillus*, *Pseudomonas*, y *Pantoea* spp. (Boehm *et al.* 1993, Cohen *et al.* 1998, Kwok *et al.* 1987). Las bacterias oligotróficas no llegan a su población máxima hasta 18-24 días en la fase curativa (Chen *et al.* 1988). Oligotróficos obligados parecen ser ineficaces para el control biológico del mal de talluelo causado por *Pythium* cuando son aplicados a las semillas después de ser aislados de composts supresores de la pudrición de la raíz causada por este hongo (Sugimoto *et al.* 1990). Sin embargo, su actividad a largo plazo en la parasitación de los propágulos inactivos de patógenos del suelo no ha sido aún bien definida. En contraste con los obligados, las cepas facultativas de oligotróficos tales como las pertenecientes al género *Pseudomonas* son muy eficaces cuando son utilizadas como tratamiento de semillas. Los Actinomicetos también contribuyen significativamente al control biológico provisto por los composts (Hardy y Sivasithamparam 1995, You y Sivasithamparam 1995). La interacción entre todas las cepas es necesaria para lograr la máxima eficacia en el control de un amplio ámbito de patógenos del suelo, como los hongos o

organismos similares a los hongos (Hardy y Sivasithamparam 1995, Kwok *et al.* 1987, Trillas-Gay *et al.* 1986).

En la práctica, los composts no son consistentemente colonizados por microorganismos muy diversificados como para inducir la supresión de enfermedades causadas por fitopatógenos del suelo. El análisis del espectro de control biológico proporcionado por sustratos con enmiendas de composts identificó tres niveles de especificidad. Más adelante examinaremos las evidencias de como la mayoría de los composts suprimen naturalmente las pudriciones de la raíz causadas por *Pythium* y *Phytophthora*. En contraste, solo un 20% de los composts evaluados suprimen el mal del talluelo causado por *Rhizoctonia* (Krause *et al.* 1997). Finalmente, muy pocos composts (< 10%) inducen resistencia sistémica en plantas (Zhang *et al.* 1996, 1998).

### **Ejemplos de estrategias exitosas de control biológico mediante sustratos con enmiendas de composts**

Muchos informes muestran que las podredumbres de la raíz causadas por *Pythium* y *Phytophthora* son rápidamente controladas por composts naturales, si son aplicados como cobertura al suelo (You y Sivasithamparam 1994), incorporados como enmiendas al suelo (Ellis *et al.* 1986, Lumsden *et al.* 1983, Schüller *et al.* 1989, 1993, Workneh y van Bruggen 1994a), o como un componente de mezclas para macetas (Hardy y Sivasithamparam 1991, Hoitink *et al.* 1977, Mandelbaum y Hadar 1990, Ownley y Benson 1991, Widmer *et al.* 1998) o en mezclas con arena para césped (Craft y Nelson 1996).

Muchos tipos de agentes de control biológico logran este efecto contra *Pythium* y *Phytophthora* spp. (Boehm *et al.* 1993, 1997, Hardy y Sivasithamparam 1991, 1995, Kim *et al.* 1997, You y Sivasithamparam 1994). Boehm *et al.* (1993) informaron que 20% de todas las cepas bacterianas recuperadas en agar de soya triptica al 0,1 (TSA) de la rizosfera de pepino sembrado en una mezcla para macetas a partir de enmienda de compost preparado con corteza de pino, indujeron el control biológico de mal del talluelo causado por *Pythium*, cuando este se aplicó como tratamiento de semilla. *Pseudomonas* fluorescentes *Pantoea* y *Bacillus* spp. fueron los más eficaces y también las especies más abundantes, tanto en la rizosfera como en la mezcla circundante no rizosférica (Boehm *et al.* 1997).

La supresión de la podredumbre de la raíz causada por *Phytophthora* mediante enmienda de compost, tanto en condiciones de campo como en mezcla para

macetas parece también ser resultado de interacciones entre muchos tipos de microorganismos (You y Sivasithamparam 1995). El fenómeno de supresión general *sensu* Gerlagh (1968) y discutido por Baker y Cook (1974), describe mejor este tipo de control biológico de podredumbres de raíz causadas por *Pythium* y *Phytophthora*.

### Supresión específica

El control con compost de enfermedades causadas por patógenos como *R. solani* es mucho más variable en la naturaleza (Kwok *et al.* 1987, Phae *et al.* 1990, Tuitert *et al.* 1998). Solo 20% de 71 lotes comerciales de mezclas con enmiendas de composts, producidas con corteza de pino, evaluadas en Estados Unidos lograron un control adecuado del mal del talluelo producido por *Rhizoctonia* en rábano, aunque con todas ellas se logró un control durable de *Pythium* (Krause 1997). La diferencia básica es que *R. solani* es controlado por un número menor de agentes de control biológico y esa microflora no coloniza consistentemente los composts (Grebus *et al.* 1994, Kuter *et al.* 1983, Kwok *et al.* 1987, Nelson *et al.* 1983). El parasitismo es crítico para el control biológico de *R. solani* y *Sclerotium rolfsii* en sustratos supresivos con enmiendas de compost (Gorodecki y Hadar 1990, Nelson *et al.* 1983).

Se ha informado de un control no consistente de *R. solani* mediante composts preparados con varios tipos de materia prima, incluso los usados en agricultura (Lumsden *et al.* 1983, Nelson *et al.* 1983, Tuitert *et al.* 1998). Este problema puede solucionarse curando los composts durante un tiempo largo (Kuter *et al.* 1988, Tuitert *et al.* 1998), incorporándolo al suelo varios meses antes de la siembra (Lumsden *et al.* 1983), o a través de la inoculación del compost con agentes de control biológico específicos durante o inmediatamente después del pico máximo de calor y antes de que ocurra una colonización sustancial por parte de otros microorganismos mesofílicos (Grebus *et al.* 1994, Hoitink *et al.* 1991, Kwok *et al.* 1987, Phae *et al.* 1990, Róckeboer *et al.* 1998). Un procedimiento de inoculación similar se ha descrito para el control de *R. solani* en remolacha azucarera mediante estiércoles de digestión anaeróbica (Kok *et al.* 1996).

El grado de control del mal de talluelo causado por *Rhizoctonia* obtenido con composts naturalmente supresivos no puede explicarse con base en la actividad de un solo agente de control biológico. Kwok *et al.* (1987) mostraron que un inóculo binario consistente en por lo menos una de varias cepas bacterianas y

de cualquiera de los aislamientos parasíticos de *Trichoderma harzianum* o de *T. hamatum* fue necesario para inducir un grado de supresión en mezclas con composts de corteza, equivalente al presente en la mayoría de los composts naturales. Se ha determinado que se requiere un inóculo binario similar para el control de la marchitez del rábano causado por *Fusarium* (Trillas-Gay *et al.* 1986).

Se conoce poco sobre como los composts inducen la resistencia sistémica en plantas. Tränkner (1992) fue el primero en informar que los composts inducen resistencia sistémica al mildew polvoso del trigo. Clulow *et al.* (1995) observó que cubrir los tubérculos con composts protege a la planta de papa del tizón tardío, con el uso de la técnica de raíz dividida. Zhang *et al.* (1996) demostró que al exponer una parte de la raíz de pino a una mezcla con enmiendas de compost supresivos de la podredumbre de la raíz causada por *Pythium*, se indujo la protección radical total a esta enfermedad. Además, ellos mostraron que el follaje de plantas de pepino producidas en algunos composts también puede ser protegido de la antracnosis en comparación con el de plantas sembradas en una mezcla de turba de esfagno (*Sphagnum*), predeciblemente favorable a varias enfermedades causadas por fitopatógenos del suelo (Boehm y Hoitink 1992, Hoitink y Fahy 1986).

Los lotes de composts eficaces incrementan la actividad de las proteínas relacionadas con la patogenénesis,  $\beta$ -1,3 glucanasa y peroxidasa en pepino y *Arabidopsis* pero la mayor parte del incremento de la actividad no ocurre hasta después de que la planta es infectada con el patógeno (Zhang *et al.* 1996, 1998). Esto ha llevado a la conclusión de que los lotes de composts activos parecen preparar a las plantas para defenderse mejor contra un patógeno dado.

Recientemente, Han *et al.* (1998) identificaron varios microorganismos en composts supresivos capaces de inducir resistencia sistémica en rábano y pepino. *T. hamatum* 382 y *Pantoea agglomerans* 278a, aplicados a las raíces de semilleros de rábano indujeron resistencia a la mancha bacteriana foliar causada por *Xanthomonas campestris* pv. *armoraceae*. Varios tipos de microorganismos de la rizosfera pueden inducir este efecto en plantas (van Loon *et al.* 1998). Desafortunadamente, menos del 10% de los lotes y tipos de composts evaluados parecen ser capaces de activar la respuesta de la resistencia sistémica inducida en plantas (Krause *et al.* 1998), lo cual sugiere la necesidad de estrategias de inoculación específicas para asegurar consistencia del producto.

## Calidad de la materia orgánica del suelo y su relación con la actividad de los agentes de control biológico

**Incremento de la enfermedad en enmiendas de materia orgánica fresca.** Siempre ha existido el desafío de caracterizar la calidad de la materia orgánica o la concentración en relación a la supresión de enfermedades. Las enmiendas orgánicas como los composts comúnmente poseen uno de tres efectos sobre los agentes de control biológico y, por consiguiente, sobre este tipo de control. Los composts inmaduros o estabilizados inadecuadamente no solo sirven como base alimenticia para los agentes de control biológico, sino que también benefician a los patógenos de plantas con alta capacidad de competencia saprofítica, y esto a menudo lleva al incremento de la enfermedad. En la siguiente fase durante su utilización, la materia orgánica es colonizada totalmente por microorganismos del suelo y los patógenos no pueden competir de manera eficaz por los recursos, este periodo se caracteriza por la supresión de la enfermedad. Durante la tercera fase, cuando la materia orgánica comienza a humedecerse mucho, su disponibilidad para los agentes de control biológico se vuelve limitada; durante este periodo el control biológico empieza a fallar. A continuación se describen las fases:

La materia orgánica fresca no colonizada totalmente por microorganismos del suelo capaces de inducir microbiostasis estimula no solamente a los microorganismos del suelo, sino también beneficia a los patógenos de las plantas, lo cual ocasiona el incremento de la enfermedad (Garrett 1955). Por ejemplo, la incorporación de arvejas al suelo como abono verde estimula a las poblaciones de *Pythium* spp. e incrementa el mal del talluelo causado por *Pythium* en lechuga, si el cultivo es sembrado inmediatamente después de la incorporación de la enmienda (Watson 1973). Poco tiempo después, cuando el abono verde incorporado ha sido colonizado adecuadamente por microorganismos del suelo para establecer microbiostasis, la enfermedad es suprimida aunque la población del patógeno sea elevada.

Chen *et al.* (1988a, 1988b) desarrollaron un método directo para la evaluación de los efectos de los nutrientes de disponibilidad inmediata en composts para supresión de la pudrición de la raíz causada por *P. ultimum*. Ellos rastrearon la concentración de glu-

cosa libre en una mezcla para maceta que usaba como enmienda un compost maduro pero todavía con una temperatura alta (60°C). Concentraciones altas de glucosa libre fueron acumuladas después de que éstos composts se incubaran a bajas temperaturas, como resultado de la incapacidad de los termófilos de asimilar la celulosa a 25°C (McKinley y Vestal 1983). En las primeras 48 h después de que el sustrato es incubado a 25°C, las concentraciones de nutrientes disponibles disminuyen rápidamente a concentraciones cercanas a las de un hábitat oligotrófico, mientras los microorganismos mesofílicos colonizan la mezcla. Durante el corto periodo cuando prevalecen altas concentraciones de glucosa, la población de *P. ultimum* aumenta y se desarrolla el mal del talluelo causado por *Pythium*. Después de que la mezcla ha sido colonizada por mesófilos para establecer microbiostasis, la población de *P. ultimum* se estabiliza y la enfermedad es suprimida (Chen *et al.* 1988a).

**El papel de nutrientes libres en control biológico no exitoso.** En mezclas para macetas, la corteza fresca de madera dura, la cual es alta en sustancias celulósicas, no sólo estimula a *R. solani* sino también a las poblaciones de *Trichoderma*, aislamientos capaces de parasitar este patógeno (Chung *et al.* 1988). Aun así, el mal del talluelo causado por *Rhizoctonia* no es controlado con corteza fresca a pesar de las poblaciones elevadas de *Trichoderma* spp. (Nelson *et al.* 1983). En comparación, la corteza compostada, aunque son colonizados por poblaciones más bajas de aislamientos de *Trichoderma* ( $10^5$  en compost a diferencia de  $10^7$  cfu/g de peso seco en corteza fresca), logra el control y el patógeno es rápidamente erradicado. Cabe destacar que la enmienda con composts supresivos (colonizados por *Trichoderma*) más un suministro exógeno de celulosa, de concentración similar a la presente en la corteza fresca, hace al sustrato favorable a *Rhizoctonia*. Esto ocurre aunque la población del parásito se incrementa en dos veces su magnitud, por la celulosa exógena agregada (Chung *et al.* 1988).

La falta de control de *R. solani* por *Trichoderma* spp. tanto con corteza fresca como con compost de corteza enriquecida con celulosa puede explicarse mejor por la actividad transcripcional de las enzimas degradadoras de quitina (quitinasa,  $\beta$ -1,3- y glucanasa  $\beta$ -1,6-glucanasas, proteasas, y lipasas) de *Trichoderma* la cual se reprime en los sustratos con mayor can-

tividad de celulosa (Benhamou y Chet 1997, Cruz *et al.* 1993, 1995, Harman *et al.* 1993, Lorito *et al.* 1994, 1996, Ulhoa y Peberdy 1991). Durante el crecimiento y colonización en corteza fresca o en sustratos altos en celulosa, las poblaciones de ambos, el patógeno (*R. solani*) y el agente de control biológico (*T. hamatum*) se incrementan, posiblemente debido a la hidrólisis de la glucosa. Bajo estas condiciones, la síntesis de las enzimas líticas involucradas en el parasitismo de *R. solani*, probablemente es inhibida mediante la represión catabolítica y este permanece activo como un patógeno. En la medida que la concentración de celulosa disponible en forma inmediata disminuye y el grado de competencia saprofítica aumenta, la represión de los genes que controlan la producción de quitinasa de *Trichoderma* son revertidos y la habilidad para parasitar *R. solani* se restablece, lo cual resulta en la restauración de la capacidad supresora del sustrato.

### **Mantenimiento del control biológico en materia orgánica parcialmente precolonizada y descompuesta**

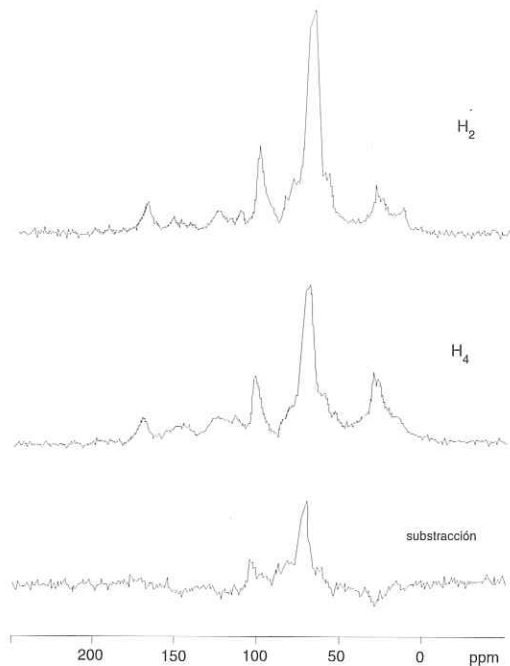
Después de que la materia orgánica ha sido estabilizada adecuadamente y la microbiostasis prevalece, la duración de la supresión es determinada por cualquiera de varios factores ambientales, y éstos a su vez regulan la capacidad microbiana relacionada con el control biológico (Boehm *et al.* 1997). Estos efectos de la materia orgánica del suelo sobre el patógeno y las poblaciones de agentes de control biológico y la severidad de la enfermedad han sido evaluadas de dos maneras. Algunos estudios comparan la severidad de la enfermedad entre fincas convencionales y orgánicas (Workneh *et al.* 1993), mientras que otros evalúan tendencias en el tiempo después de la aplicación de enmiendas en recipientes o en el suelo de plantaciones (Boehm *et al.* 1997, Stone *et al.* 1997, You y Sivasithamparam 1994). En ejemplos presentados en este artículo, también se analizó la química de la materia orgánica del suelo. Ambos enfoques han generado información similar sobre el papel de la materia orgánica del suelo en el control biológico, pero se analizan en forma individual.

La turba de esfagno utilizada en mezclas para macetas ha funcionado como un modelo ideal para el estudio de la sostenibilidad del control biológico. Por esta razón, la química de la turba es analizada en este artículo. La turba de esfagno recolectada bajo la su-

perficie de plantas vivas de esfagno en pantanos es clasificada como H<sub>2</sub> según la escala de descomposición de von Poste (Puustjarvi y Robertson 1975). Esta turba, aunque baja en nutrientes solubles libres, contiene una cantidad considerable de sustancias celulósicas y tiene un color claro. Después de la formulación en mezclas para maceta, cuando el pH de la turba supera 5,3, ésta se hace consistentemente supresiva a la pudrición de la raíz causada por *Pythium*, mientras es colonizada por microorganismos mesófilos. La turba de esfagno H<sub>3</sub>, según la escala de descomposición dada por von Post, está más descompuesta y contiene pocas sustancias celulósicas de degradación rápida, también llega a ser supresiva al inicio, pero entre 6 y 12 semanas después de colocada en los recipientes, pierde su capacidad para suprimir la pudrición de la raíz causada por *Pythium* (Boehm y Hoitink 1992, Tahvonen 1982, Wokffhechel 1988). La turba de esfagno H<sub>4</sub> recolectada de zonas pantanosas más profundas, aunque todavía clasificada como una turba liviana, tiene un color más oscuro, está más humedecida y presenta una concentración más baja de sustancias celulósicas de degradación rápida. Las mezclas para macetas preparadas con turba H<sub>4</sub> favorecen consistentemente la pudrición de raíz causada por *Pythium* en varios cultivos (Boehm y Hoitink 1992, Mandelbaum y Hadar 1990).

El espectro CPMAS - <sup>13</sup>C de NMR de la turba de esfagno (H<sub>2</sub>, H<sub>3</sub>, y H<sub>4</sub>) refleja las diferencias en el nivel de descomposición (Hammond *et al.* 1985). La substración del espectro para esas turbas cuantifica la diferencia en el contenido de carbohidratos (Fig. 1). El carbono en la fracción del carbohidrato está presente como sustancia celulósica protegida y, por consiguiente, de liberación lenta y esto lo convierte en un sustrato ideal para estudiar la actividad de consorcios microbianos en el control biológico.

La tasa de hidrólisis de diacetato de fluoresceína (FDA), aparentemente simula el nivel de descomposición de la materia orgánica y el potencial supresor que poseen las mezclas para maceta o las enmiendas de materia orgánica en el suelo de cultivos para el control de enfermedades causadas por gran cantidad de fitopatógenos del suelo. Esta relación se ha establecido para la supresión de enfermedades de la raíz causadas por *Pythium* spp. (Bruns 1996, Chen *et al.* 1988a, 1988b, Cohen *et al.* 1998, Mandelbaum y Hadar 1990), *Phytophthora* spp. (Bruns 1996, Workneh *et al.* 1993, You y Sivasithampara 1994) *R. solani*, y *Pyrenochaeta*



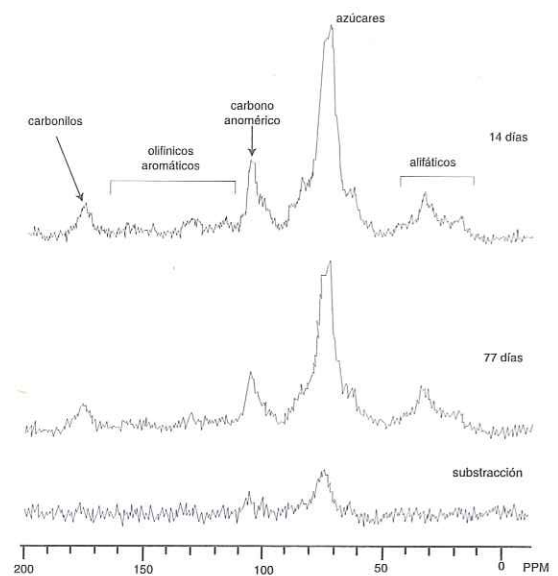
**Figura 1.** La espectroscopía de resonancia magnética nuclear (CPMAS  $^{13}\text{C}$ NMR) revela las diferencias en el contenido de carbohidratos en fracciones de partículas finas (105-250 mm de diámetro) de una turba de esfagno canadiense clara, ligeramente descompuesta ( $\text{H}_2$ ) y una despompuesta oscura ( $\text{H}_4$ ). El espectro de sustracción corresponde a la diferencia entre el espectro de la turba  $\text{H}_2$  menos la  $\text{H}_4$ .

*lycopersici* (Workneh *et al.* 1993) y también para varias enfermedades causadas por nematodos (Marull *et al.* 1997). Sin embargo, esta prueba, no es totalmente confiable, porque las sustancias húmicas absorben fluoresceína y así la actividad de FDA en algunos sustratos es subestimada, la cual hace identificar un suelo supresor como favorable para las enfermedades (Inbar *et al.* 1991). De manera similar, fuentes de materia orgánica no estabilizadas en forma adecuada, que estimulan a los patógenos y reprimen la actividad de control biológico, presentan valores FDA altos aunque ellos son favorables a las enfermedades.

La actividad de FDA disminuyó en la medida que la supresión de la pudrición de la raíz causada por *Pythium* disminuyó en una mezcla para maceta preparada con turba de esfagno  $\text{H}_3$ , donde la materia orgánica se descompone hasta alcanzar el umbral de 3,2 ug el FDA hidrólizada/min/g de peso seco, el cual separa las mezclas supresivas de las conductivas (Boehm y Hoitink 1992). Por debajo de este nivel de actividad, la población de *P. ultimum* aumenta y se de-

sarrolla la pudrición de la raíz. Durante este periodo, cuando se pierde la supresión, la concentración de carbohidratos en la mezcla de turba  $\text{H}_3$ , como se determinó mediante espectroscopio de NMR (Fig. 2), también se reduce el nivel de la mezcla de turba  $\text{H}_4$ , predeciblemente conductiva y más descompuesta, la cual también tiene una actividad más baja en FDA de 3,2 ug FDA/min/g de peso seco de la mezcla.

La dinámica de la relación negativa entre la actividad de FDA y la supresión también ha sido encontrada en el suelo de plantaciones de aguacate donde la supresión de la pudrición de la raíz causada por *Phytophthora* era favorecida por el uso de cobertura (You y Sivasithamparam 1994). Estos mismos autores informaron que la infección de la raíz causada por *Phytophthora cinnamoni* aumenta a medida que la actividad de FDA disminuye, hasta el eventual desarrollo de una pudrición severa de la raíz. Stone *et al.* (1997) demostraron que la actividad de FDA se reduce después de 500 días en una mezcla de compost de estiércol de vaca con arena, al tiempo que la composición del consorcio microbiano del suelo cambia y las poblaciones de *Pythium* aumentan y se desarrolla la



**Figura 2.** Espectros CPMAS  $^{13}\text{C}$ -NMR que muestra el volumen de carbohidratos dentro de fragmentos de partículas finas (105-250 mm de diámetro) de muestras de turba  $\text{H}_3$ , recolectadas 14 y 77 días después de la siembra. La diferencia del espectro es del día 14 menos el espectro del día 77. La mezcla suprimió la pudrición de la raíz causada por *Pythium* el día 14 y conductiva el día 77.

putrición de la raíz. Con el uso de espectroscopía de DRIFT, ellos caracterizaron los cambios en la composición química de la fracción orgánica en el compost de camas de aserrín con estiércol de vaca, a medida que la capacidad supresiva disminuía. Se ha determinado que las concentraciones de celulosa y ligninas en compost de estiércol define la longevidad del efecto supresor.

En resumen, la actividad de FDA parece proporcionar una imagen de la cantidad y calidad de sustancias orgánicas de degradación biológica presentes en el suelo y requeridas para un control biológico sostenible. La hidrólisis del FDA se realiza a través de varias hidrolasas, incluyendo lipasas, esterasas, y proteasas (Schnürer y Rosswall 1982). Lo que falta por determinar es cuales hidrolasas contribuyen a la actividad de FDA en suelos supresores, aunque una hipótesis es que, por lo menos en el sistema de la turba, puede ser una medida adecuada de la actividad microbiana de la celulasa, dada la similitud con las tendencias observadas por Boehm *et al.* (1997) en la FDA de la turba H<sub>3</sub> y en datos de CPMAS <sup>13</sup>C-NMR.

La actividad de FDA también afecta la biomasa microbiana del suelo y esto ha sido relacionado con la supresión de pudriciones de la raíz causadas por *Pythium* y *Phytophthora* spp. (Bruns *et al.* 1996, Chen *et al.* 1988a). Sin embargo, la biomasa microbiana y la actividad de FDA en conjunto predicen mejor el efecto supresor que cualquiera de los procedimientos en forma individual (Bruns 1996, Chen *et al.* 1988). Los composts preparados con materiales biodegradables rápidamente, con un alto contenido de biomasa microbiana y actividad de FDA, como los composts preparados con sedimentos de aguas residuales y estiércoles, inducen supresión en mezclas para maceta con una tasa volumétrica de enmienda baja (10–15%) (Chen *et al.* 1988a). En comparación, los composts que contienen más ligninas recalcitrantes (p.e. corteza de pino y corteza de árboles de madera dura), los cuales son bajos en biomasa microbiana y actividad de FDA, deben ser incorporados a concentraciones más altas (50%). Finalmente, una turba conductiva H<sub>4</sub> de esfagno bien estabilizada o ceniza de corteza de pino pirolizada, en la cual el carbono de rápida biodegradación ha sido destruido, están por debajo de la actividad de FDA y el nivel de biomasa requeridos para inducir la supresión del mal de talluelo causado por *Pythium*, incluso cuando no son usados en forma de enmiendas (Boehm y Hoitink 1992, Chen *et al.* 1988a). Otros in-

formes recientes han confirmado la importancia de la cantidad y actividad de la biomasa en la supresión (Hu *et al.* 1997a, 1997b, Stone *et al.* 1997).

La microbiostasis, la cual produce la competencia por nutrimentos, es crítica para el control biológico en sistemas de enmiendas de residuos orgánicos (Lockwood 1988). Nosotros evaluamos nuevamente esto en bioensayos a largo plazo de pudrición de la raíz usando flor de pascua (*Euphorbia pulcherrima*) y *P. ultimum* en una mezcla para maceta de turba H<sub>3</sub> en la cual la supresión de la pudrición de raíz de esta planta causada por *Pythium* se redujo en un periodo de 80 días hasta que la pudrición de la raíz se desarrolla. Fue interesante observar que la tasa de incorporación de <sup>14</sup>C-acetato en fosfolípidos no se redujo cuando se perdió la supresión (Boehm *et al.* 1997). Sorprendentemente, la actividad microbiana específica (la captación de <sup>14</sup>C-acetato incorporado en fosfolípidos por unidad de biomasa) aumentó en la medida que la supresión se perdió. Dado que la concentración de biomasa sólo disminuyó ligeramente, se podría asumir que la mezcla también se volvería menos competitiva a medida que las poblaciones de *P. ultimum* aumentarían y la pudrición de la raíz se desarrollara. Sin embargo, esto no ocurrió, lo cual implica que la pérdida de la capacidad de supresión en este sistema no puede ser explicada por una falta de competencia por los nutrimentos *per se*. Tampoco es probable que la disminución del parasitismo del patógeno por agentes de control biológico pueda explicar el colapso en la supresión de la enfermedad en este sistema, porque en general, poblaciones de *Pythium* y *Phytophthora* no se reducen rápidamente en turbas supresivas o en medios que contienen enmiendas de compost (Chen *et al.* 1988a, Hardy y Sivasithamparan 1991, Mandelbaum y Hadar 1990). Las observaciones anteriores sugieren que la falta de antibiosis o de resistencia inducida sistémica explica mejor la pérdida de la supresión de las poblaciones de *Pythium* en el sistema de turba H<sub>3</sub>. Liebman y Epstein (1992) coinciden en parte, al señalar que la inhibición causada por compuestos fungistáticos más que la competencia por nutrimentos *per se* explica mejor la fungistasis del suelo. Un cambio en la composición de las especies de bacterias y una reducción en las poblaciones de agentes de control biológico explica mejor la pérdida de la supresión del mal del talluelo causado por *Pythium*, en la mezcla con turba H<sub>3</sub>.



## Cambios en la composición de agentes de control biológico y su relación con la calidad de la materia orgánica del suelo

El sistema de turba de esfagno H<sub>3</sub> descrito anteriormente ofrece una panorámica interesante sobre la dinámica de los cambios en las poblaciones de agentes de control biológico como supresores de la pudrición de la raíz de flor de pascua causada por *Pythium*, la cual se reduce en un periodo de 80 días (Boehm *et al.* 1997). Este cambio de la población se resume en el Cuadro 1. Las poblaciones del *taxa* bacterianos copiotróficos, principalmente recuperado en TSA 0,1 (*Pseudomonas* y *Pantoea* spp.), los cuales también fueron los agentes de control biológico más eficaces (para el mal de talluelo causado por *Pythium*) en la mezcla, disminuyeron a medida que las concentraciones de carbohidratos en la turba decrecieron y la supresión se perdió. Estos microorganismos podrían todavía ser recuperados en TSA 0,1; sin embargo, las poblaciones de *P. ultimum* empezaron a aumentar primero y se desarrolló la pudrición de la raíz. No fue hasta después de un largo tiempo (100 días) después donde una pudrición radicular severa se había desarrollado en las mezclas infestadas, que esta microflora benéfica finalmente se redujo hasta llegar a poblaciones muy bajas.

Bacterias supuestamente oligotróficas, aisladas en

un medio diluido (agar nutriente al 0,01), una microflora que como se mencionó anteriormente, no puede inducir el control biológico de la pudrición de la raíz causada por *Pythium* (Sugimoto *et al.* 1990), aumentó su población en la medida que se perdió la supresión. La *taxa* bacteriana recuperada en TSA 0,1 en ese momento fue similar a la obtenida de nichos de suelos muy mineralizados (Kanazawa y Filip 1986). Es interesante ver que la diversidad de especies bacterianas, basada en la riqueza y uniformidad de especies, no cambió. En conclusión, la composición del *taxon* cambió y la biomasa microbiana disminuyó al declinar la actividad de FDA y la concentración de sustancias celulósicas en la materia orgánica se redujo a medida que se perdió la supresión (Boehm *et al.* 1997).

Las poblaciones en el rizosfera fueron diferentes a las de la mezcla edáfica, pero los cambios en la composición del *taxon* dados con el tiempo, así como la descomposición de la materia orgánica y la pérdida de la supresión fue similar en las mezclas sin la influencia la rizosfera. Los productos de sedimentación de la rizosfera son, por consiguiente, inadecuados para mantener poblaciones de *taxa* bacterianos activos en control biológico.

Lo anterior sugiere que los agentes de control biológico cultivables todavía presentes en la mezcla, cuando la población de *P. ultimum* comenzó a incre-

**Cuadro 1.** La dinámica temporal en la composición de la especies bacterianas a media que la materia orgánica se descompuso y la supresión colapsó, durante la producción de flor de pascua en un sustrato de turba con nivel de descomposición H<sub>3</sub>.

| Grupo                            | Densidad relativa de la población <sup>a</sup> |       |                       |                       |
|----------------------------------|--|-------|-----------------------|-----------------------|
|                                  | 8 Días <sup>b</sup>                            |       | 172 Días <sup>c</sup> |                       |
|                                  | Promedio                                       | Rango | Promedio              | Rango                 |
| <b>Rizosfera</b>                 |  |       |                       |                       |
| Gram-                            | 72   | 49-84 | 19                    | 14-22 <sup>***d</sup> |
| Gram+                            | 7  | 0-17  | 16                    | 4-36 <sup>**</sup>    |
| <i>Pseudomonas</i> spp.          | 38   | 23-61 | 6                     | 5-6 <sup>***</sup>    |
| GC grupos similares <sup>e</sup> | 13   | 5-23  | 47                    | 34-54 <sup>***</sup>  |
| Pérdidos <sup>f</sup>            | 8  | 3-11  | 21                    | 8-30 <sup>**</sup>    |
| <b>Mezcla de turba</b>           |  |       |                       |                       |
| Gram-                            | 27   | 26-30 | 23                    | 11-32                 |
| Gram+                            | 13   | 10-16 | 7                     | 4-10 <sup>*</sup>     |
| <i>Pseudomonas</i> spp.          | 8  | 4-13  | 11                    | 7-13                  |
| GC grupos similares              | 53   | 49-60 | 65                    | 54-79 <sup>**</sup>   |
| Pérdidos                         | 7  | 2-10  | 8                     | 4-13 <sup>*</sup>     |

<sup>a</sup>La densidad relativa de la población de la *taxa* bacteriana en segmentos de raíces y muestras de turba se calcularon de la siguiente forma:

$100n/N$ , donde  $n$ , es el número de cepas asignado a los  $i^{\text{th}}$  *taxon* y  $N$  es el total de cepas aisladas de un segmento de raíz dado o una muestra de turba

<sup>b</sup>Turba H<sub>3</sub> 8 días de colocada en recipientes, antes de la reducción en la supresión de la enfermedad.

<sup>c</sup>H<sub>3</sub> turba 172 días de colocada en recipientes, después de que la supresión de la enfermedad se presenta.

<sup>d</sup>Cepas con índice de valores similares <0,1 fueron incluidas en GC grupos similares

<sup>e</sup>Cepas perdidas durante el subcultivo.

<sup>f</sup>Cambio significativo en la frecuencia de cepas con un carácter dado (Gram+, etc) entre 8 y 172 días, según \* (P = 0,05), \*\* (P = 0,01), o \*\*\* (P = 0,001).

[Reimpreso de Boehm *et al.* (1997) con permiso. De la Am. Soc. Microbiol.]

mentarse y se desarrolló la pudrición de la raíz, fueron incapaces de funcionar como agentes de control biológico en una mezcla de turba de baja actividad de FDA y más descompuesta. Este posible efecto del nivel de descomposición de la materia orgánica en la actividad de los agentes de control biológico fue evaluado primero con agentes de control biológico representantes de varias *taxa* bacterianas, incluyendo *Pseudomonas* y *Pantoea* spp. Estos fueron agregados a mezclas de turba de esfagno H<sub>2</sub> y H<sub>4</sub> como tratamientos de semilla de pepino en bioensayos para el control del mal de talluelo causado por *Pythium*. El nivel de descomposición de la turba afectó significativamente (P= 0,05) la eficacia, y la actividad fue mucho más baja en la mezcla de la turba H<sub>4</sub> (Boehm *et al.* 1997).

El impacto de la calidad de la materia orgánica en la eficacia de los agentes de control biológico fue evaluada con mayor detalle para el control de la pudrición de la raíz causada por *Pythium* en flor de pascua de cuatro meses, producidas en turba H<sub>2</sub>, turba H<sub>4</sub> y mezclas de enmiendas de compost de corteza de pino. Los agentes de control biológico *Flavobacterium balustinum* 299 y *Trichoderma hamatum* 382 (Kwok *et al.* 1987) lograron un control sostenible de la pudrición de la raíz causada por *Pythium* en la mezcla con enmienda de compost de corteza de pino (Krause *et al.* 1997). *Pythium* también fue controlado por la turba H<sub>3</sub> pero no con la mezcla de turba H<sub>4</sub>. La falta de control de la pudrición de la raíz por *Pythium* mediante la mezcla de turba H<sub>4</sub> puede explicarse por la no sobrevivencia de los agentes de control biológico *F. balustinum* 299 y otras bacterias copiotróficas.

Así, una reducción en la capacidad microbiana de la mezcla, principalmente debido a la pérdida de sustancias celulósicas en turba H<sub>3</sub>, lleva a un eventual cambio en las comunidades microbianas, una disminución en la actividad y población de agentes de control biológico, y, por último, una reducción de la capacidad supresora de la pudrición de la raíz causada por *Pythium*.

### Conclusiones y consideraciones futuras

Los agentes de control biológico requieren fuentes edáficas de materia orgánica para el control sostenible de pudriciones de la raíz causadas por *Pythium* y *Phytophthora*. Además, la literatura muestra que ambas, la calidad y la cantidad de materia orgánica son críticas para la supervivencia y eficacia de agentes bacterianos de control biológico como *Pseudomonas*

y *Pantoea* spp. Los productos de sedimentos de la rizosfera y exudados de la raíz no proveen las cantidades adecuadas de fuentes de energía biodegradables, de liberación lenta, para la introducción de agentes bacterianos de control biológico para el manejo sostenible de *Pythium* y *Phytophthora*. Un umbral mínimo en la cantidad de energía biodegradable, en forma de materia orgánica, aún con una inadecuada identificación, parece ser esencial para un control eficaz.

La tasa de hidrólisis de FDA ofrece una buena indicación de la supresividad de los suelos aunque no muy confiables. Aunque la competencia por nutrientes es requerida para la supresión, la medida de ésta a través de la tasa de incorporación de acetato <sup>14</sup>C en la biomasa microbiana, no parece ser un indicador. El tamaño de la biomasa microbiana en el suelo también parece ser un buen indicador de la capacidad supresora. Finalmente, la espectroscopia de CPMAS <sup>13</sup>C-NMR y DRIFT permiten realizar una mejor caracterización de los requerimientos de esta energía.

Los composts y las turbas usadas en mezclas para maceta sirven como modelos ideales para los estudios de control biológico comparados con el sistema más complejo de suelos de campo. El sistema de turba H<sub>3</sub> ofrece la oportunidad única de estudiar los requerimientos de energía, el estrés, señales, y otros aspectos relacionados al control biológico. En estudios futuros, donde se aprovechen los avances tecnológicos recientes en ecología microbiana molecular se deben incluir el uso *in situ* de genes como indicadores y detección con base en ácido nucleico y técnicas de identificación. Por último, sistemas de plantas indicadoras para genes de resistencia sistémica inducida también deben considerarse en estos estudios para establecer una mejor relación entre los requerimientos de calidad de la materia orgánica del suelo y el control biológico.

### Agradecimientos

Se reconoce el gran apoyo técnico ofrecido por Carol A Muselman y Matthew S Krause. Los salarios y el apoyo para la investigación fue cubierto parcialmente con fondos del Estado y Federales ofrecidos por Ohio Agricultural Research and Development Center, de Ohio State University.

### Literatura citada

- Alvarez, B; Gagné, S; Antoun, H. 1995. Effect of compost on rhizosphere microflora of the tomato and on the incidence of plant growth-promoting rhizobacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 61:194-199.
- Baker, KF; Cook, RJ. 1974. Biological control of plant pathogens. *In The Biology of Plant Pathogens.* Kelman, A; Sequeira, L. San Francisco, USA, Freeman. 433 p.

- Beffa, T; Blanc, M; Marilley, L; Lott-Fischer, J; Lyon, P-F; Aragno, M. 1996. Taxonomic and metabolic microbial diversity during composting. *In* The Science of composting. London, Blackie. p. 149-161.
- Benhamou, N; Chet, I. 1997. Cellular and molecular mechanisms involved in the intersection between *Trichoderma harzianum* and *Pythium ultimum*. *Appl. Environ. Microbiol.* 63:2095-2099.
- Boehm, MJ; Hoitink, HAJ. 1992. Sustainance of microbial activity in potting mixes and its impact un severity of *Pythium* root rot of poinsettia. *Phytopathology* 82:259- 264.
- Boehm, MJ; Madden, LV; Hoitink, HAJ. 1993. Effect of organic matter decomposition level on bacterial species diversity and composition in relationship to *Pythium* damping-off severity. *Appl. Environ. Microbiol.* 59:4171-4179.
- Boehm, MJ; Wu, T; Stone, AG; Kraakman, B; Iannotti, DA. 1997. Crosspolarized magic-angle spinning <sup>13</sup>C nuclear magnetic resonance spectroscopic characterization of soil organic matter relative to culturable bacterial species composition and sustained biological control of *Pythium* root rot. *Appl. Environ. Microbiol.* 63:162-68.
- Bollen, GJ. 1993. Factors involved in inactivation of plant pathogens during composting of crop residues. *In* Hoitink, HAJ; Keener, HM. Ed. Science and Engineering of Composting: design, environmental, microbiological and utilization aspects. Worthington, OH, Renaissance Publ. p. 301-318.
- Brown, S; Angle, JS; Jacobs, L. Eds. 1998. Beneficial Co-Utilization of Agricultural, Municipal and Industrial By-Products. Dordrecht, Kluwer. 430 p.
- Bruns, C. 1996. Suppressiv Effekte von Komposten aus der getrennten Sammlung organischer Abfälle und von Rindermistkompost gegenüber bodenbürtigen Schaderregern. Thesis PhD. Germany, Univ. Kassel. 125 p.
- Bruns, C; Ahlers, S; Gattinger, A; Schüler, C; Vogtmann, H; Wolf, G. 1996. The suppressive effects of composted separately collected organic waste and yard waste compost on two important soilborne plant pathogens. *In* The Science of composting. London, Blackie. p. 1094-1095.
- Chen, W; Hoitink, HAJ; Madden, LV. 1988a. Microbial activity and biomass in container media for predicting suppressiveness to damping-off caused by *Pythium ultimum*. *Phytopathology* 78:1447-1450.
- Chen, W; Hoitink, HAJ; Schmitthenner, AF; Tuovinen, OH. 1988b. The role of microbial activity in suppression of damping-off caused by *Pythium ultimum*. *Phytopathology* 78:314-322.
- Chen, Y; Inbar, Y. 1993. Chemical and spectroscopical analyses of organic matter transformations during composting in relation to compost maturity. *In* Hoitink, HAJ; Keener, HM. Ed. Science and Engineering of Composting: design, environmental, microbiological and utilization aspects. Worthington, OH, Renaissance Publ. p. 551- 600.
- Chung, YR; Hoitink, HAJ; Dick, WA; Herr, LJ. 1988. Effects of organic matter decomposition level and cellulose amendment on the inoculum potential of *Rhizoctonia solani* in hardwood bark media. *Phytopathology* 78:836-840.
- Clulow, SA; Stewart, HE; Dashwood, EP; Wastie, RL. 1995. Tuber surface microorganisms influence the susceptibility of potato tubers to late blight. *Ann. Appl. Biol.* 126:33-43.
- Cohen, R; Chefetz, B; Hadar, Y. 1998. Suppression of soil-borne pathogens by composted municipal solid waste. *In* Brown, S; Angle, JS; Jacobs, L. Eds. 1998. Beneficial Co-Utilization of Agricultural, Municipal and Industrial By-Products. Dordrecht, Kluwer. p. 113-130.
- Council for Agricultural Science and Technology. 1995. Waste Management and Utilization in Food Production and Processing. Ames, IA, Counc. Agric. Sci. Technol.
- Council for Agricultural Science and Technology. 1996. Integrated Animal Waste Management. Ames, IA, Counc. Agric. Sci. Technol.
- Council for Agricultural Science and Technology. 1998. Foodborne Pathogens. Review of Recommendations. Ames, IA, Counc. Agric. Sci. Technol.
- Craft, CM; Nelson, EB. 1996. Microbial properties of composts that suppress damping-off and root rot of creeping bentgrass caused by *Pythium graminicola*. *Appl. Environ. Microbiol.* 62:1550-1557.
- Cruz, J; de la Rey, M; Lora, JM; Hidalgo-Gallego, A; Dominguez, F. *et al.* 1993. Carbon source control on  $\beta$ -glucanases, chitinase and chitinase from *Trichoderma harzianum*. *Arch. Microbiol.* 159:3 16-22.
- Cruz, J; de la Pintor-Toro, JA; Benítez, T; Llobell, A; Romero, LC. 1995. A novel endo- $\beta$ -1,3-glucanase BGN 13.1, involved in the mycoparasitism of *Trichoderma harzianum*. *J. Bacteriol.* 177:6937-6945.
- de Bertoldi, M; Sequi, P; Uemmes, B; Papi, T. Eds. 1996. The Science of Composting London, Blackie. 1405 p.
- Ellis, MA; Ferree, DC; Madden, LV. 1986. Evaluation of metalaxyl and captafol soil drenches, composted hardwood bark soil amendments and graft union placement on control of apple collar rot. *Plant Dis.* 70:24-26.
- Garrett, SD. 1955. A century of root-disease investigation. *Ann. Appl. Biol.* 42: 211-219.
- Gerlagh, M. 1968. Introduction of *Ophiobolus graminis* into new polders and its decline. *Neth. J Plant Pathol.* 749(Suppl. 2): 1-97.
- Golueke, CG. 1972. Composting, the Studies of the Process and his Principles. Emmaus, PA, Rodale Press. 110 p.
- Gorodecki, B; Hadar, Y. 1990. Suppression of *Rhizoctonia solani* and *Sclerotium rolfsii* in container media containing composted separated cattle manure and composted grape marc. *Crop Prot.* 9:271-274.
- Grebus, ME; Watson, ME; Hoitink, HAJ. 1994. Biological, chemical and physical properties of composted yard trimmings as indicators of maturity and plant disease suppression. *Comp. Sci. Util.* 2:57-71.
- Hadar, Y; Gorodecki, B. 1991. Suppression of germination of sclerotia of *Sclerotium rolfsii* in compost. *Soil Biol. Biochem.* 23:303-306.
- Hammond, TE; Cory, DG; Ritchy, WM; Morita, H. 1985. High resolution solid state <sup>13</sup>C NMR of Canadian peats. *Fuel* 64:1687-1695.
- Han, DY; Coplin, DL; Hoitink, HAJ. 1998. Partial characterization of systemic acquired resistance induced in radish by *Pantoea agglomerans* strain E278Ar. *Phytopathology* 88:S36 (Abstr.)
- Hardy, GESJ; Sivasithamparam, K. 1991. Sporangial responses do not reflect microbial suppression of *Phytophthora drechsleri* in composted eucalyptus bark mix. *Soil Biol. Biochem.* 23:756-765.
- Hardy, GESJ; Sivasithamparam, K. 1995. Antagonism of fungi and actinomycetes isolated from composted eucalyptus bark to *Phytophthora drechsleri* in a steamed and non-steamed

- composted eucalyptus bark-amended container medium. *Soil Biol. Biochem.* 27:243-246.
- Harman, GE. 1992. Development and benefits of rhizosphere competent fungi for biological control of plant pathogens. *J. Plant Nutr.* 15:835-843.
- Harman, GE; Hayes, CK; Lorito, M; Broadway, RM; Di Pietro, A. *et al.* 1993. Chitinolytic enzymes of *Trichoderma harzianum*: purification of chitobiosidase and endochitinase. *Phytopathology* 83:313-318.
- Hodges, RD; Scofield, AM. 1983. Effect of agricultural practices on the health of plants and animal produce: a review. *In Environmentally Sound Agriculture*, Lockeretz, W. Ed. New York, Praeger. p. 3-34.
- Hoitink, HAJ. 1980. Composted bark, a lightweight growth medium with fungicidal properties. *Plant Dis.* 64:142-147.
- Hoitink, HAJ; Fahy, PC. 1986. Basis for the control of soilborne plant pathogens with composts. *Annu. Rev. Phytopathol.* 24:93-114.
- Hoitink, HAJ; Inbar, Y; Boehm, MJ. 1991. Status of compost-amended potting mixes naturally suppressive to soilborne diseases of floricultural crops. *Plant Dis.* 75:869-73.
- Hoitink, HAJ; Keener, HM. Eds. 1993. *Science and Engineering of Composting: Design, Environmental, Microbiological and Utilization Aspects*. Worthington, OH, Renaissance Publ. 728 p.
- Hoitink, HAJ; Stone, AG; Han, DY. 1997. Suppression of plant diseases by composts. *Hort. Science* 32:184-87.
- Hoitink, HAJ; VanDoren, DM; Schmitthenner, AF. 1977. Suppression of *Phytophthora cinnamomi* in a composted hardwood bark potting medium. *Phytopathology* 67:561-565.
- Hu, S; van Bruggen, AHC; Wakeman, RJ; Grünwald, NJ. 1997. Microbial suppression of *in vitro* growth of *Pythium ultimum* and disease incidence in relation to soil C and N availability. *Plant Soil* 195:43-52.
- Hu, S; Grünwald, NJ; van Bruggen, AHC; Gamble, GR; Drinkwater, LE; *et al.* 1997. Short-term effects of cover crop incorporation on soil carbon pools and nitrogen availability. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 61:901-1011.
- Inbar, Y; Boehm, MJ; Hoitink, HAJ. 1991. Hydrolysis of fluorescein diacetate in sphagnum peat container media for predicting suppressiveness to damping-off caused by *Pythium ultimum*. *Soil Biol. Biochem.* 23:479-83.
- Kanazawa, S; Filip, Z. 1986. Distribution of microorganisms, total biomass, and enzyme activities in different particles of brown soils. *Microb. Ecol.* 12:205-215.
- Kim, KD; Nemecek, S; Musson, G. 1997. Effects of composts and soil amendments on soil microflora and *Phytophthora* root and crown rot of bell pepper. *Crop Prot.* 16:165-172.
- Kok, CJ; Hageman, PEJ; Mass, PWT; Postma, J; Roozen, NJM; Van Vuurde, IWL. 1996. Processed manure as carrier to introduce *Trichoderma harzianum*: population dynamics and biocontrol effect on *Rhizoctonia solani*. *Biocontrol Sci. Technol.* 6:147-161.
- Krause, MS; Musselman, CA; Hoitink, HAJ. 1997. Impact of sphagnum peat decomposition level on biological control of *Rhizoctonia* damping-off of radish induced by *Flavobacterium balustinum* 299 and *Trichoderma hamatum* 382. *Phytopathology* 87:S55 (Abstr.).
- Krause, MS; De Cuester, TJJ; Han, DY; Musselman, CA; Hoitink, HAJ. 1998. Systemic acquired resistance induced by composts: a highly specific phenomenon. *Phytopathology* 88:549 (Abstr.).
- Kuter, GA; Hoitink, HAJ; Chen, W. 1988. Effects of municipal sludge compost curing time on suppression of *Pythium* and *Rhizoctonia* diseases of ornamental plants. *Plant Dis.* 72:751-756.
- Kuter, GA; Nelson, EB; Hoitink, HAJ; Madden, LV. 1983. Fungal populations in container media amended with composted hardwood bark suppressive and conducive to *Rhizoctonia* damping-off. *Phytopathology* 73:1450-1456.
- Kwok, OCH; Fahy, PC; Hoitink, HAJ; Kuter, GA. 1987. Interactions between bacteria and *Trichoderma hamatum* in suppression of *Rhizoctonia* damping-off in bark compost media. *Phytopathology* 77:1206-1212.
- Lewis, JA; Larkin, RP; Rogers, DL. 1998. A formulation of *Trichoderma* and *Gliocladium* to reduce damping-off caused by *Rhizoctonia solani* and saprophytic growth of the pathogen in soilless mix. *Plant Dis.* 82:501-506.
- Liebman, JA; Epstein, L. 1992. Activity of fungistatic compounds from soil. *Phytopathology* 82:147-153.
- Lockwood, JL. 1988. Evolution of concepts associated with soilborne plant pathogens. *Annu. Rev. Phytopathol.* 26:93-121.
- Lorito, M; Hayes, CK; Di Pietro, A; Woo, SL; Harman, GE. 1994. Purification, characterization, and synergistic activity of a glucan 1,3- $\beta$ -glucosidase and an N-acetyl-b-glucosaminidase from *Trichoderma harzianum*. *Phytopathology* 84:398-405.
- Lorito, M; Frakas, V; Rebuffat, S; Bodo, B; Kubicek, CP. 1996. Cell wall synthesis is a major target of mycoparasitic antagonism by *Trichoderma harzianum*. *J. Bacteriol.* 178:6382-6385.
- Lumsden, RD; Lewis, JA; Millner, PD. 1983. Effect of composted sewage sludge on several soilborne plant pathogens and diseases. *Phytopathology* 73:1543-1548.
- Mandelbaum, R; Hadar, Y. 1990. Effects of available carbon source of microbial activity and suppression of *Pythium aphanidermatum* in compost and peat container media. *Phytopathology* 80:794-804.
- Marull, J; Pinochet, J; Rodríguez-Kábana, R. 1997. Agricultural and municipal compost residues for control of root-knot nematodes in tomato and pepper. *Comp. Sci. Util.* 5:6-15.
- McKinley, VL; Vestal, JR. 1983. Biokinetic analyses of adaptation and succession: microbial activity in composting municipal sewage sludge. *Appl. Environ. Microbiol.* 47:933-941.
- Nelson, EB; Kuter, GA; Hoitink, HAJ. 1983. Effects of fungal antagonists and compost age on suppression of *Rhizoctonia* damping-off in container media amended with composted hardwood bark. *Phytopathology* 73:1457-1462.
- Ownley, BH; Benson, DM. 1991. Relationship of matric water potential and air-filled porosity of container media to development of *Phytophthora* root rot of rhododendron. *Phytopathology* 81:936-941.
- Phae, CG; Sasaki, M; Shoda, M; Kubota, H. 1990. Characteristics of *Bacillus subtilis* isolated from composts suppressing phytopathogenic microorganisms. *Soil Sci. Plant Nutr.* 36:575-586.
- Puustjarvi, V; Robertson, RA. 1975. Physical and chemical properties. *In Peat in Horticulture*. Larsen, FO; Joyner, BG. Ed. New York, Academic Press. p. 23-28.
- Quarles, W; Grossmann, J. 1995. Alternatives to methyl bromide in nurseries. *Disease suppressive media*. *IPM Pract.* 17:1-13.
- Róckeboer, JK; Deprins, K; Coosemans, J. 1998. Compost onderdrukt de kiemplantenschimmels *Pythium ultimum* en *Rhizoctonia solani*: Veredele compost doet beter! *VlacoVaria* 3:20-26.
- Rynk, R. Ed. 1992. *On-Farm Composting Handbook*. Ithaca, New York, NE Reg. Agric. Eng. Serv., NRAES-54. 187 p.

- Schnürer, J; Rosswall, T. 1982. Fluorescein diacetate hydrolysis as a measure of total microbial activity in soil and litter. *Appl. Environ. Microbiol.* 43:1256-61.
- Schüler, C; Biala, J; Bruns, C; Gottschall, R; Ahlers, S; Vogtmann, H. 1989. Suppression of root rot on peas, beans, and beet roots caused by *Pythium ultimum* and *Rhizoctonia solani* through the amendment of growing media with composted organic household waste. *Phytopathology* 127:227-238.
- Schüler, C; Pikny, J; Nasir, M; Vogtmann, H. 1993. Effects of composted organic kitchen and garden waste on *Mycosphaerella pinodes* (Berk. et Blox) Vestergr., causal organism of foot rot on peas (*Pisum sativum* L.). *Biol. Agric. Hort.* 9:353-360.
- Sekiguchi, A. 1977. Control of *Fusarium* wilt on Chinese yam. *Ann. Rep. Dep. Plant Pathol. Entomol. Veg. Floric. Exp. Stn. Nagana (Japan)* 1:10-11.
- Steinmetz, J; Schönbeck, F. 1994. Conifer bark as growth medium and carrier for *Trichoderma harzianum* and *Gliocladium roseum* to control *Pythium ultimum* on pea. *J. Plant Dis. Prot.* 101:200-211.
- Stone, AG; Trama, SJ; Hoitink, HAJ. 1997. Changes in mass and chemical composition of a composted dairy manure during decomposition to relationship to the collapse of suppression to *Pythium* root rot. *Phytopathology* 87:S94 (Abstr.)
- Strom, PF. 1985. Effect of temperature on bacterial species diversity to thermophilic solid-waste composting. *Appl. Environ. Microbiol.* 50:899-905.
- Sugimoto, E; Hoitink, HAJ; Tuovinen, OH. 1990. Oligotrophic pseudomonads in the rhizosphere: suppressiveness to *Pythium* damping-off of cucumber seedlings (*Cucumis sativus* L.). *Biol. Fertil. Soils* 9:231-234.
- Tahvonen, R. 1982. The suppressiveness of Finnish light coloured sphagnum peat. *J. Sci. Agric. Soc. Finland* 54:345-356.
- Tränkner, A. 1992. Use of agricultural and municipal organic wastes to develop suppressiveness to plant pathogens. In *Biological Control of Plant Diseases*. Tjamos, EC Ed. New York, Plenum. p. 35-42.
- Trillas-Gay, MI; Hoitink, HAJ; Madden, LV. 1986. Nature of suppression of *Fusarium* wilt of radish in a container medium amended with composted hardwood bark. *Plant Dis.* 70:1023-1027.
- Tuiter, G; Szczech, M; Bollen, GJ. 1998. Suppression of *Rhizoctonia solani* to potting mixes amended with compost made from organic household waste. *Phytopathology* 88:764-773.
- Tunlid, A; Hoitink, HAJ; Low, C; White, DC. 1989. Characterization of bacteria that suppress *Rhizoctonia* damping-off to bark compost media by analysis of fatty acid biomarkers. *Appl. Environ. Microbiol.* 55: 1368-1374.
- Ulhoa, CJ; Peberdy, JF. 1991. Regulation of chitinase synthesis to *Trichoderma harzianum*. *J. Gen. Microbiol.* 137:2163-2169.
- van Loan, LC; Bakker, PAHM; Pieterse, CMJ. 1998. Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria. *Annu. Rev. Phytopathol.* 36:453-483.
- Watson, AG. 1973. Lutte biologique contre la fonte des semis de la laitue causée par *Pythium ultimum* Trow. *Rev. Suisse Vitic. Arboricul. Hortic.* 5:93-96.
- Weller, DM. 1988. Biological control of soilborne plant pathogens in the rhizosphere with bacteria. *Annu. Rev. Phytopathol.* 26:379-407.
- Widmer, TL; Graham, JH; Mitchell, DJ. 1998. Composted municipal waste reduces infection of citrus seedlings by *Phytophthora nicotianae*. *Plant Dis.* 82:683-688.
- Wolffhechel, H. 1988. The suppressiveness of sphagnum peat to *Pythium* spp. *Acta Hort.* 221:217-222.
- Workneh, F; van Bruggen, AHC; Drinkwater, LE; Sherman, C. 1993. Variables associated with a reduction in corky root and *Phytophthora* root rot of tomatoes in organic compared to conventional farms. *Phytopathology* 83:581-589.
- Workneh, F; van Bruggen, AHC. 1994a. Microbial density, composition, and diversity in organically and conventionally managed rhizosphere soil in relation to suppression of corky root of tomatoes. *Appl. Soil Ecol.* 1:219-30.
- Workneh, F; van Bruggen, AHC. 1994b. Suppression of corky root of tomatoes in organically managed soil associated with soil microbial activity and nitrogen status of soil and tomato tissue. *Phytopathology* 81:688-694.
- You, MP; Sivasithamparam, K. 1994. Hydrolysis of fluorescein diacetate in an avocado plantation mulch suppressive to *Phytophthora cinnamomi* and its relationship with certain biotic and abiotic factors. *Soil Biol. Biochem.* 26:1355-361.
- You, MP; Sivasithamparam, K. 1995. Changes in microbial populations of an avocado plantation mulch suppressive to *Phytophthora cinnamomi*. *Appl. Soil Ecol.* 2:33-43.
- Zhang, W; Dick, WA; Hoitink, HAJ. 1996. Compost-induced systemic acquired resistance in cucumber to *Pythium* root rot and anthracnose. *Phytopathology* 86:1066-1070.
- Zhang, W; Han, DY; Dick, WA; Davis, KR; Hoitink, HAJ. 1998. Compost and compost water extract-induced systemic acquired resistance in cucumber and arabidopsis. *Phytopathology* 88:450-455.

# Control biológico de la marchitez bacterial en tomate con el uso de enmiendas orgánicas<sup>1</sup>

Libia Hernández Garboza<sup>2</sup>

Elkin Bustamante Rojas<sup>3</sup>

**RESUMEN.** Se estudió la marchitez bacterial causada por *Ralstonia (Pseudomonas) solanacearum*, una de las enfermedades más importantes a nivel mundial. Las enmiendas orgánicas fueron evaluadas por su efecto sobre la severidad de la enfermedad, y la fluctuación poblacional de *R. solanacearum* en el suelo. La broza de café, cachaza y tres tipos de composts se utilizaron como enmiendas orgánicas mezcladas con suelo. En condiciones de casa de mallas, fueron sembradas plantas de tomate en las mezclas de suelo. La severidad de la enfermedad se redujo con el uso de compost. La población de *R. solanacearum* fue reducida en ausencia del hospedante con el uso de broza de café y dos tipos de compost. El mejor efecto en el control de la enfermedad se observó al usar materia orgánica en forma de abonos orgánicos fermentados, en comparación al uso de sustratos como broza de café y cachaza.

**Palabras clave:** *Ralstonia solanacearum*, Control biológico, Bacterias antagonistas, Abono orgánico, *Bacillus* spp., Tomate.

**ABSTRACT. Biological control of bacterial wilt in tomato with organic amendments.** Bacterial wilt caused by *Ralstonia (Pseudomonas) solanacearum*, worldwide one of the most important diseases, was studied. The effects of organic amendments on the severity of the disease and population fluctuation of *R. solanacearum* in the soil were evaluated. Coffee pulp, sugar cane filter cake and three types of compost were utilised as organic amendments mixed with soil. Tomato plants were planted in the mixtures of soil. The severity of the disease decreased with the use of compost. The population of *R. solanacearum*, was reduced in the absence of the host with coffee pulp and two types of compost. The greatest effect on disease control was observed with organic material in the form of fermented organic fertilisers compared to using substrates such as coffee pulp or sugar cane filter cake.

**Key word:** *Ralstonia solanacearum*, Biological control, Antagonistic bacteria, Organic amendment, *Bacillus* spp., Tomato.

## Introducción

La marchitez bacterial causada por *Ralstonia (Pseudomonas) solanacearum*, es una de las enfermedades bacterianas más destructivas y de gran importancia económica, ya que afecta muchos cultivos (tomate, papa, tabaco, musáceas, etc.) y es endémica de países de zonas tropicales y subtropicales (Hayward 1991, Trigalet *et al.* 1994).

Las prácticas de manejo propuestas han tenido poco éxito, dado que la biología de la bacteria no está bien definida. El control químico, ha sido una alternativa poco viable para pequeños productores de muchos países. Ha sido difícil obtener cultivares resistentes bajo condiciones de alta temperatura y humedad (Bustamante 1994, CATIE 1990, Grimault *et al.* 1994).

Ante esta situación, el control biológico de la enfermedad puede tener un gran potencial con el uso de razas avirulentas del patógeno (Trigalet *et al.* 1994).

Ante las variantes que presenta el manejo eficaz de la enfermedad y la dificultad de conocer el comportamiento de la bacteria, el potencial que representa el control biológico de este microorganismo constituye una de las alternativas más apropiadas para lograr su control.

Una de las herramientas del control biológico que puede contribuir en el manejo de *R. solanacearum* es el uso de abonos orgánicos, los cuales favorecen el crecimiento y la biodiversidad de microorganismos existentes en la rizosfera de las plantas, ayudando a dismi-

<sup>1</sup> Parte de la tesis de M.Sc del primer autor, CATIE. Escuela de Posgrado. Turrialba, Costa Rica.

<sup>2</sup> Maracay, Venezuela

<sup>3</sup> Consultor. San José, Costa Rica. elkinbustamante@hotmail.com

nir las poblaciones del patógeno en el suelo. Un ejemplo de equilibrio biológico dinámico con una baja incidencia de enfermedades es el agroecosistema de chinampas en México. Estas se construyeron con lodos ricos en nutrimentos del fondo de los lagos, más malezas acuáticas y estiércol de animales (Thurston 1992).

Dada la importancia que presenta la marchitez bacterial en varios cultivos y la necesidad de métodos de control, que incluyan sanidad y rotación del cultivo, selección de materiales libres de plagas, los objetivos principales de este estudio fueron determinar la supresión de la marchitez bacterial en el cultivo de tomate, y medir la supervivencia de las poblaciones de *R. solanacearum* con el uso de enmiendas orgánicas.

## **Materiales y métodos**

### **Ubicación de los experimentos**

Los experimentos se realizaron en los laboratorios e invernaderos de la Unidad de Fitoprotección del Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE), ubicado en Turrialba, provincia de Cartago a 602 msnm, entre los 9° 55' 21" N y 83° 39' 40" O, con precipitación, temperatura y humedad relativa promedio anual de 2650 mm, 21,7° C y 87%, respectivamente.

### **Enmiendas orgánicas utilizadas**

Los materiales utilizados como enmiendas orgánicas fueron: broza de café, cachaza, bokashi, compost tipo 1, compost tipo 2, y mezclas entre los tres primeros (broza de café + cachaza, broza de café + bokashi, cachaza + bokashi, broza de café + cachaza + bokashi). Estas se mezclaron con suelo desinfectado en una proporción con base en volumen de 1:4.

La broza o pulpa de café corresponde al epicarpio o cubierta roja del fruto de café junto con el mesocarpio o tejido blando, hialino, que rodea al endocarpio. La cachaza es uno de los residuos del proceso de extracción del azúcar de la caña.

El bokashi es un compost preparado con una variante del proceso general, mediante el cual es posible obtener el producto de la descomposición de los materiales orgánicos en un período de dos semanas. Los composts tenían una composición similar pero el no. 1 tenía además un sedimento o lodo orgánico del fondo de un lago artificial del CATIE y gallinaza. El número 2 tenía estiércol de vacunos en vez de gallinaza. Los

composts fueron suministrados por el Proyecto de Frutas y Hortalizas Tropicales CATIE-USDA.

### **Suelo y análisis físico-químico**

El suelo utilizado fue obtenido del área de colecciones del CATIE. Este se desinfectó con dazomet (40 g/m<sup>2</sup>), dejando actuar el producto durante 17 días. Cinco días después fue mezclado con cada una de las enmiendas orgánicas en las cuales se sembraron las plantas. Esta mezcla se analizó en el Laboratorio de Análisis de Fertilidad de Suelos, Tejido Vegetal y Aguas del CATIE. Se determinó el contenido de N, P, K, Ca, Mg, Na, Cu, Zn, Mn, pH, materia orgánica (MO), textura (text) y capacidad de intercambio catiónico (CIC) presentes en los mismos.

### **Material vegetal evaluado y manejo del cultivo**

Se utilizó la variedad de tomate Hayslip, por la susceptibilidad a *R. solanacearum*, y por su uso común como tomate de mesa en Costa Rica y en América Central. Esta variedad posee características deseables como hábito de crecimiento determinado, tamaño mediano y resistente a enfermedades producidas por *Verticillium*, *Fusarium* (razas 1 y 2), *Alternaria* y *Stemphyllium* (CATIE 1990).

En la mezcla de suelo con la materia orgánica preparada dos semanas antes y colocada en macetas de polietileno Polyplast no. 1000 de 5 kg de capacidad, se sembraron tres semillas por punto. Para la evaluación de las variables se seleccionaron dos plántulas por maceta.

Las plantas se fertilizaron 15 días después de la emergencia (dde) con Bayfolan. El suelo se mantuvo a capacidad de campo, lo cual requirió hacer el riego cada dos o tres días.

### **Preparación del inóculo e inoculación de *R. solanacearum***

El inóculo de *R. solanacearum* se obtuvo de plantas de tomate con síntomas de marchitez bacterial en condiciones de campo. Las colonias típicas de *R. solanacearum* seleccionadas (Kelman 1954) fueron purificadas y mantenidas en viales con agar nutritivo (AN) inclinado y aceite mineral estéril. También se dejaron las cepas seleccionadas en agua destilada estéril a 21°C. Estas cepas se reprodujeron en TZC a 28°C, 48 h antes de hacer la inoculación en las plantas.

### Supervivencia de *R. solanacearum*

La supervivencia de *R. solanacearum* en el suelo fue determinada por su comportamiento poblacional en el tiempo, por efecto de la materia orgánica mezcladas al suelo.

Para determinar su presencia se prepararon macetas con mezclas de enmiendas orgánicas y suelo, igual a las utilizadas en la primera parte del experimento. El suelo de cada maceta fue inoculado con 25 ml de una suspensión de  $10^8$  ufc/ml (ufc=unidades formadoras de colonias) de *R. solanacearum*. Durante un período de 3 meses, se evaluó a intervalos de 30 días, la supervivencia del patógeno presente en la mezcla de suelo mediante el conteo de ufc/g de suelo.

Se hicieron aislamientos tomando una muestra de 10 g de suelo en 90 ml de agua destilada estéril, con diluciones hasta  $10^{-3}$  y se cultivaron en medio TZC a  $30^\circ\text{C}$  durante 48 h. La virulencia de las cepas aisladas se verificó por medio de la inoculación en plantas de tomate sanas. La suspensión de *R. solanacearum* inoculada al suelo se tomó como la población del patógeno en el tiempo cero, y esta correspondió a  $5 \times 10^5$  ufc/g de suelo en cada maceta.

### Procedimiento experimental y tratamientos

Las plantas de 45 días de sembradas (dds) o 40 días después de la emergencia (dde) se inocularon con 25 ml de una suspensión ( $10^8$  ufc/ml), preparada con la mezcla de cepas de *R. solanacearum* provenientes de las localidades de Guayabo, Turrialba y Alajuela, Alajuela, Costa Rica. Se utilizó el método de absorción por el hospedante con corte de raíz (French y Hebert 1982, Grimault y Prior 1993, Grimault *et al.* 1994).

Los tratamientos evaluados fueron las diferentes mezclas de las enmiendas orgánicas indicadas, con suelo estéril, más un testigo absoluto, que consistió de suelo sin enmienda. Estos se identificaron de la siguiente forma:

|                  |  |
|------------------|--|
| <b>SE:</b>       | suelo estéril (testigo);                           |
| <b>SEBr:</b>     | suelo estéril + broza de café;                     |
| <b>SECh:</b>     | suelo estéril + cachaza;                           |
| <b>SEBk:</b>     | suelo estéril + bokashi;                           |
| <b>SEC1:</b>     | suelo estéril + compost 1;                         |
| <b>SEC2:</b>     | suelo estéril + compost 2;                         |
| <b>SEBrCh:</b>   | suelo estéril + broza de café + cachaza;           |
| <b>SEBrBk:</b>   | suelo estéril + broza de café + bokashi;           |
| <b>SEChBk:</b>   | suelo estéril + cachaza + bokashi y                |
| <b>SEBrChBk:</b> | suelo estéril + broza de café + cachaza + bokashi. |

### Diseño experimental, variables evaluadas y análisis estadístico

Se aplicó un diseño completamente aleatorizado (DCA), con diez tratamientos y cinco repeticiones por tratamiento. La unidad experimental estuvo constituida por cada una de las macetas, y la unidad de muestreo fue cada una de las plantas.

En el experimento de supervivencia, las cajas de Petri con medio de cultivo y con los aislamientos a nivel de laboratorio se les asignó un diseño de parcelas divididas en el tiempo, con diez tratamientos y tres tiempos de evaluación. La unidad experimental correspondió a cada una de las macetas de la cual se obtuvo la muestra de suelo. Los resultados se sometieron a un análisis de varianza y se determinó el efecto de los tratamientos, de los tiempos de evaluación y la interacción de dichas variables.

La altura de la planta se midió en centímetros desde la base hasta el ápice principal del tallo, mientras que el diámetro se obtuvo en milímetros con ayuda de un vernier, a 15 cm por encima del cuello de las plantas. Estas evaluaciones se realizaron semanalmente, 15 días después de la siembra y hasta el momento que las plantas alcanzaron los 80 días de edad.

Una vez inoculadas las plantas de cada tratamiento, se mantuvieron bajo observación hasta la aparición de síntomas de marchitez bacterial. A partir de la primera manifestación de enfermedad, las evaluaciones de severidad se efectuaron diariamente durante 40 días consecutivos, utilizando la escala de Kempe y Sequeira (1983), donde los grados de severidad de la enfermedad fueron:

- 0: planta sin síntomas;
- 1: 0-25% en promedio de la planta con marchitez;
- 2: 25-50% de planta con marchitez;
- 3: 50-75% de planta con marchitez y
- 4: del 75 al 100% de la planta con marchitez.

También se determinó el peso seco y el contenido de humedad de la parte aérea de la planta, además del análisis de tejido foliar en cada tratamiento al final de la prueba, transcurrido un tiempo de 80 días después de la siembra.

Se determinó la supervivencia de *R. solanacearum* en cada tratamiento a través del método de dilución y siembra en cajas de Petri con medio TZC. La variable evaluada fue el número de ufc/g suelo para cada uno de los tratamientos.



Los resultados fueron procesados asumiendo que la severidad era un continuo, se calculó el área bajo la curva de progreso de cada una de las variables (ABCP) para cada uno de los tratamientos durante el período de estudio. Se consideró lo descrito por Shaner y Finney (1977), para las variables de acuerdo con la ecuación:

$$ABCPE = \text{SUM} [(Y_{t+1} + Y_t) / 2] [(t_{t+1} - t_i)]$$

donde: SUM = sumatoria de n observaciones  
 = severidad de la enfermedad en la iésima observación  
 = tiempo (días) después de la inoculación en la iésima observación

El ABCP de cada variable es un método de integración trapezoidal que ayuda a determinar la cantidad de enfermedad acumulada durante el tiempo del estudio, permitiendo mejor información de la respuesta de los tratamientos estudiados.

Las variables se analizaron con la prueba de Bonferroni, la cual permite una comparación para establecer criterios de selección entre los tratamientos.

Se seleccionaron para las pruebas posteriores las mejores enmiendas orgánicas por su efecto supresivo (menor severidad) a la marchitez bacteriana y buen desarrollo de las plantas.

## Resultados y discusión

### Contenido de nutrimentos en la mezcla de suelo

El análisis de suelo indicó que todas las enmiendas orgánicas le aportaron nutrimentos al suelo, con excepción del Cu con un valor menor en todos los tratamientos con enmienda orgánica y el Mn en algunos casos disminuyó sus valores con relación al suelo testigo sin enmendar (Cuadro 1).

El tratamiento SEC 1 fue el que mayor aporte presentó en MO, N, Ca y Mg. Esta característica puede deberse a la presencia de gallinaza, la cual es uno de los componentes presentes en el compost 1, dado que ésta presenta altos contenidos de N y Ca (Guerrero 1993).

El compost tipo bokashi seguido por el sustrato cachaza le aportaron el menor contenido de N al suelo. El incremento en el contenido de P del suelo con los tratamientos SEBk, SEC1 y SEC2 fue considerable, llegando a superar el contenido del testigo en más de 10 veces. Los aportes de Na y Zn fueron superiores cuando se aplicó Bokashi y compost 1.

El contenido de Ca, Mg, K y Zn se incrementó en los tratamientos dentro de los ámbitos óptimos de nutrimentos en el suelo (Bertsh 1995), con valores más altos para el Mg, K, Zn en los tratamientos SEC1 y SEC2.

También la relación de bases se mantuvo dentro del ámbito recomendado en suelos, con la excepción

**Cuadro 1.** Resultados del análisis físico-químico de los sustratos preparados con la mezcla de suelo estéril y las enmiendas orgánicas. Turrialba, Costa Rica.

| Mezclas <sup>1</sup> | pH  | M.O.<br>% | N<br>% | P<br>mg/kg | Ca   | Mg  | K   | Na  | Cu   | Zn Mn |     | Text. |
|----------------------|-----|-----------|--------|------------|------|-----|-----|-----|------|-------|-----|-------|
|                      |     |           |        |            |      |     |     |     |      | mg/kg |     |       |
| SE                   | 5,8 | 5,72      | 0,26   | 15,7       | 10,3 | 2,9 | 0,6 | 0,2 | 24,8 | 7,7   | 4,3 | A     |
| SEBr                 | 5,4 | 11,16     | 0,52   | 21,2       | 16,4 | 3,6 | 0,6 | 0,2 | 21,1 | 10,6  | 3,8 | FA    |
| SECh                 | 7,2 | 11,20     | 0,45   | 21,8       | 23,4 | 3,6 | 1,0 | 0,2 | 17,5 | 9,3   | 6,0 | FA    |
| SEBk                 | 7,5 | 7,64      | 0,38   | 121,8      | 22,5 | 4,6 | 2,6 | 0,6 | 16,8 | 10,6  | 4,6 | FA    |
| SEC1                 | 6,2 | 16,40     | 0,76   | 233,4      | 27,5 | 9,4 | 1,6 | 0,5 | 14,5 | 25,1  | 3,3 | FA    |
| SEC2                 | 6,2 | 10,49     | 0,49   | 375,5      | 21,8 | 8,1 | 2,1 | 0,2 | 19,5 | 28,1  | 3,3 | FA    |
| SEBrBk               | 6,7 | 9,57      | 0,40   | 81,2       | 23,7 | 4,7 | 1,8 | 0,4 | 17,2 | 10,6  | 3,1 | FA    |
| SEBrCh               | 6,5 | 9,04      | 0,39   | 18,5       | 21,8 | 3,6 | 0,8 | 0,2 | 20,1 | 9,3   | 3,0 | FA    |
| SEChBk               | 7,3 | 9,19      | 0,40   | 68,3       | 23,3 | 4,1 | 2,0 | 0,4 | 17,8 | 10,6  | 4,4 | FA    |
| SEBrChBk             | 6,7 | 8,61      | 0,40   | 60,2       | 20,9 | 3,9 | 1,4 | 0,3 | 18,5 | 10,2  | 3,6 | FA    |

<sup>1</sup>SE: suelo estéril (testigo); SEBr: suelo estéril + broza; SECh: suelo estéril + cachaza; SEBk: suelo estéril + bokashi; SEC1: suelo estéril + compost 1; SEC2: suelo estéril + compost 2; SEBrBk: suelo estéril + broza + bokashi; SEBrCh: suelo estéril + broza + cachaza; SEBrChBk: suelo estéril + broza + cachaza + bokashi; A: arcillosos; FA: franco-arcilloso.

**Cuadro 2.** Variación de la relación de bases del análisis de suelo en los tratamientos con aplicación de abonos orgánicos, Turrialba, Costa Rica.

| Tratamiento              | Ca/Mg   | Ca/K     | Mg/K     | Ca+Mg/K   |
|--------------------------|---------|----------|----------|-----------|
| Suelo estéril (SE)       | 4,5     | 17,1     | 4,8      | 22,0      |
| SE+broza                 | 4,5     | 27,3     | 6,0      | 20,0      |
| SE + cachaza             | 6,5     | 23,4     | 3,6      | 27,0      |
| SE+bokashi               | 4,8     | 8,6      | 1,7      | 10,4      |
| SE + compost 1           | 2,9     | 17,1     | 5,8      | 23,0      |
| SE + compost 2           | 2,6     | 10,3     | 3,8      | 14,2      |
| SE+Broza+Bokashi         | 5,0     | 13,1     | 2,6      | 15,7      |
| SE + Broza + Cachaza     | 6,0     | 27,5     | 4,5      | 31,7      |
| SE + Cachaza + Bokashi   | 5,6     | 11,6     | 2,0      | 13,7      |
| SE+Broza+Cachaza+Bokashi | 5,3     | 14,9     | 2,7      | 17,7      |
| Recomendado              | 2,0-5,0 | 5,0-25,0 | 2,5-15,0 | 10,0-40,0 |

Fuente: Bertsh (1995).

Testigo: suelo estéril.

de SEBr y SEBrCh para la relación Ca/K (Cuadro 2). El tratamiento SEBk fue el que presentó los menores valores de las relaciones Ca/K, Mg/K y Ca+Mg/K. Los tratamientos con compost tipo 1 y 2 presentaron la relación menor en cuanto a Ca/Mg.

Una de las consideraciones atribuidas a los abonos orgánicos además del enriquecimiento de la biótica microbiana es el aporte de nutrientes al suelo (Hoitink *et al.* 1997). En este experimento se confirma una vez más esta afirmación, presentándose mayor contenido de nutrientes en las mezclas de suelo con abonos orgánicos fermentados, además de un pH y un contenido de materia orgánica mayor.

#### Efecto de enmiendas orgánicas sobre las variables de crecimiento

La variable altura de planta no presentó diferencias estadísticas ( $P>0,05$ ) entre tratamientos. El mayor valor promedio de área bajo la curva de progreso de altura (ABCPA) se obtuvo con SEC2 y el menor se observó en el tratamiento con el sustrato SEBrBkCh. Durante el período de evaluación, los tratamientos SEBk, SEC1, SEC2 y SEBrBk se comportaron en promedio mejor que el testigo.

Al comparar los tratamientos, la mejor respuesta para la variable diámetro se obtuvo con los tratamientos que incluyeron composts (tipo bokashi y tipo 2) en relación al testigo. Esta diferencia fue estadísticamente significativa al 5% (Cuadro 3 y Figura 1). Los sustratos broza y cachaza fueron estadísticamente diferentes entre sí; el sustrato broza presentó un mejor comportamiento que la cachaza, pero fue igual al testigo. Los tratamientos que incluyeron compost tipo 1

y 2 no fueron estadísticamente diferentes entre ellos.

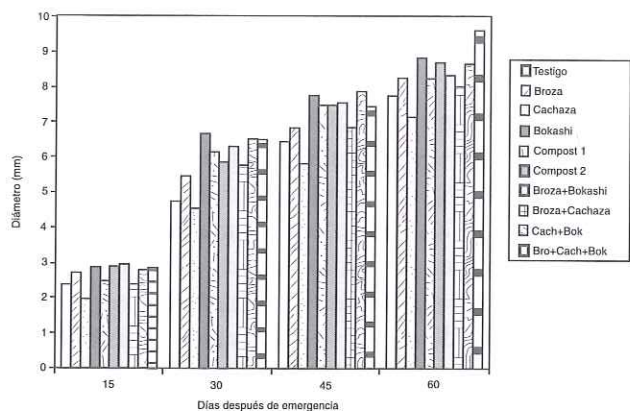
Comparando los tratamientos con compost (bokashi, compost 1 y 2) con los sustratos aplicados solos (broza y cachaza) se observó diferencias entre aquellos y la cachaza, mientras la broza solo presentó diferencias con el bokashi. Los tratamientos que presentaron bokashi solo o en combinación no presentaron diferencias significativas entre sí. El mayor diámetro correspondió al tratamiento con la mezcla SEBrBkCh y el menor al sustrato SECh.

Los valores promedio de peso seco fueron mayores en comparación al testigo en los tratamientos que presentaron composts 1 y 2, bokashi solo y en combinación con broza (Cuadro 4 y Fig. 2). Estas diferencias fueron estadísticamente significativas al 5%. Al igual que para la variable diámetro, la broza y la cachaza fueron diferentes estadísticamente para la variable

**Cuadro 3.** Valores promedio de Area bajo la curva de progreso de diámetro (ABCPD) de plantas de tomate expuestas a nueve tratamientos a base de sustratos orgánicos bajo condiciones de casa de mallas. Turrialba, Costa Rica.

| Tratamiento                    | ABCPD      |
|--------------------------------|------------|
| Suelo estéril (SE)             | 443,1 de   |
| SE + broza                     | 470,1 cd   |
| SE + cachaza                   | 401,7 e    |
| SE + bokashi                   | 525,9 a    |
| SE + compost 1                 | 492,4 abcd |
| SE + compost 2                 | 508,7 abc  |
| SE + Broza + Bokashi           | 500,7 abc  |
| SE + Broza + Cachaza           | 472,3 bcd  |
| SE + Cachaza + Bokashi         | 520,8 ab   |
| SE + Broza + Cachaza + Bokashi | 529,9 a    |

Medias con letras iguales no difieren significativamente entre sí por la prueba de Bonferroni ( $P<0,05$ ).



**Figura 1.** Diámetro de tallo de plantas de tomate en respuesta al uso de enmiendas orgánicas, 15, 30, 45 y 60 días después de la emergencia del cultivo bajo condiciones de casa de mallas, Turrialba, Costa Rica.

peso seco, siendo la broza superior a la cachaza, pero igual al testigo.

Los mayores valores promedio de peso seco lo presentaron los tratamientos con abonos fermentados (bokashi y compost) y el menor al tratamiento con cachaza. Al comparar los primeros, SEC1 y SEC2 no tuvieron diferencias entre sí, pero si hubo diferencias estadísticas entre los tratamientos SEC1 y el SEBK.

Al comparar los sustratos solos (broza y cachaza) con los abonos fermentados se encontraron diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) entre estos dos grupos de tratamientos.

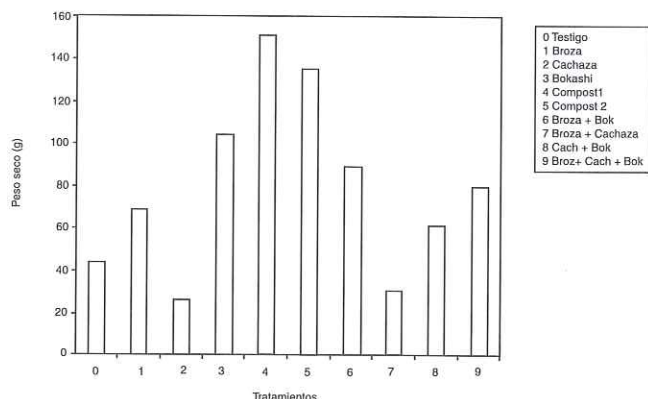
**Cuadro 4.** Valores promedio de peso seco de la parte aérea de las plantas de tomate de acuerdo a su crecimiento en diferentes tratamientos con sustratos orgánicos bajo condiciones de casa de mallas. Turrialba, Costa Rica.

| Tratamiento                    | Peso seco (g) |
|--------------------------------|---------------|
| Suelo estéril (SE)             | 44,1 efg      |
| SE + broza                     | 68,8 cde      |
| SE + cachaza                   | 26,2 g        |
| SE + bokashi                   | 103,8 bc      |
| SE + compost 1                 | 151,3 a       |
| SE + compost 2                 | 135,5 ab      |
| SE + Broza + Bokashi           | 89,7 cd       |
| SE + Broza + Cachaza           | 30,7 fg       |
| SE + Cachaza + Bokashi         | 64,2 def      |
| SE + Broza + Cachaza + Bokashi | 80,2 cde      |

Medias con letras iguales no difieren significativamente entre sí por la prueba de Bonferroni ( $P < 0,05$ ).

Los valores más bajos en contenido de humedad lo presentaron los tratamientos con abono orgánico fermentado (Fig. 3). Dentro de este grupo, el contenido de humedad del compost 2 fue estadísticamente diferentes al testigo (Cuadro 5). Los sustratos broza y

cachaza no mostraron diferencias estadísticas entre sí. No se observó ninguna diferencia estadística en los tratamientos que presentaron bokashi, ni en los que llevaron broza en su composición.



**Figura 2.** Peso seco de la parte aérea de plantas de tomate en respuesta a nueve tratamientos con base en enmiendas orgánicas inoculadas con *R. solanacearum* y mantenidas en condiciones de casa de mallas, Turrialba, Costa Rica.

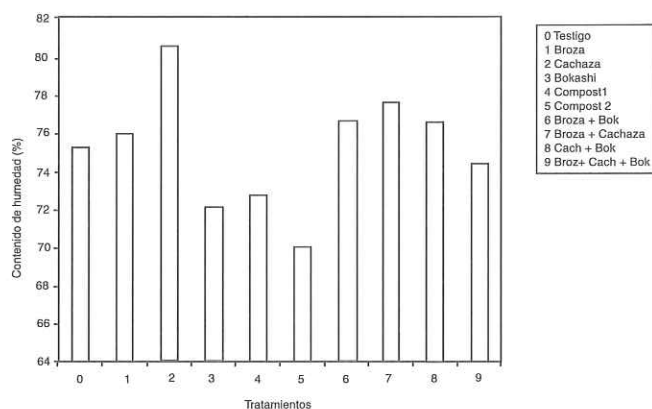
**Cuadro 5.** Valores promedio del contenido de humedad en plantas de tomate sometidas al inóculo de *R. solanacearum* en tratamientos con base en sustratos orgánicos, en casa de mallas. Turrialba, Costa Rica.

| Tratamiento              | Contenido de humedad |
|--------------------------|----------------------|
| Suelo estéril (SE)       | 75,2 abc             |
| SE + broza               | 76,0 abc             |
| SE + cachaza             | 79,9 a               |
| SE + bokashi             | 71,5 cd              |
| SE + compost 1           | 72,7 bcd             |
| SE + compost 2           | 69,9 d               |
| SE + Broza + Bokashi     | 76,5 abc             |
| SE + Broza + Cachaza     | 77,6 ab              |
| SE + Cachaza + Bokashi   | 76,5 abc             |
| SE+Broza+Cachaza+Bokashi | 74,2 bcd             |

Medias con letras iguales no difieren significativamente entre sí por la prueba de Bonferroni ( $P < 0,05$ ).

Los mayores valores de diámetro y peso seco se encontraron cuando se aplicaron al suelo los abonos fermentados (bokashi y composts). Estas materias orgánicas presentaron buenos contenidos nutricionales en comparación a los demás tratamientos, especialmente en los elementos N, P, K, Ca y Mg a excepción del N en el tratamiento con bokashi.

En condiciones de suelos centroamericanos se considera que el N y el P son los elementos con los cuales se obtiene una mayor respuesta de crecimiento en el cultivo de tomate (CATIE 1990). Sin embargo,



**Figura 3.** Contenido de humedad de la parte aérea de plantas de tomate en respuesta a nueve tratamientos de sustratos orgánicos con inoculación de *R. solanacearum* y mantenidas bajo condiciones de casa de mallas. Turrialba, Costa Rica.

en este ensayo el efecto en la respuesta del diámetro y el peso seco puede estar más relacionado con un balance general del contenido de nutrimentos que con el incremento de algún elemento en particular

#### Contenido de nutrimentos en el tejido foliar

El análisis foliar se hizo para comprobar el aprovechamiento de los nutrimentos presentes en el suelo por parte de las plantas en presencia del patógeno.

La presencia de *R. solanacearum* en la planta interfiere en la absorción y traslocación de los nutrimentos suplidos y absorbidos por la planta, y en la producción de materia seca (Cavalcante *et al.* 1996). El patógeno puede causar desbalances nutricionales en las plantas por utilización de los nutrimentos para su propio desarrollo o por la inducción de síntesis de otras sustancias por parte de las plantas.

El contenido de nutrimentos en el follaje de las plantas inoculadas con *R. solanacearum* fue igual o su-

perior al testigo en los tratamientos con enmiendas orgánicas, para los elementos P, Ca, Mg y Zn (Cuadro 6). Los tratamientos que presentaron compost tipo 1 y 2 mostraron los mayores contenidos de estos elementos, además de N.

Muchos de los elementos minerales requeridos en el crecimiento de las plantas se han reportado también como factores responsables del incremento o reducción de la severidad de algunas enfermedades (Huber 1981, Palti 1981). Por ejemplo, la presencia de concentraciones adecuadas de K y Ca ha tenido éxito en la disminución de la marchitez bacterial en el cultivo del tomate. El K puede ayudar en la reducción de la marchitez bacterial, dado que este elemento interviene entre otras funciones, en la síntesis de proteínas y en la traslocación y movimiento de agua en las plantas.

En este experimento, los tratamientos con más altos contenidos de K y Ca, presentaron los menores valores de severidad de la marchitez bacterial. Es posible que la presencia de estos elementos en concentraciones adecuadas haya contribuido en la obtención de esta respuesta.

El contenido de Ca en el testigo fue menor al 1%, y la deficiencia de este elemento en las plantas es considerada como un factor de predisposición a la marchitez bacterial (Tanaka y Noda 1973). El Ca estimula la síntesis de proteínas en las plantas y participa en la composición de las paredes celulares del hospedante, dando una mayor resistencia al ataque de patógenos (Palti 1981).

El contenido de N, K, Cu y Mn en algunos tratamientos fue más bajo que en el testigo (suelo sin enmendar). Los tratamientos que incluyeron al compost tipo bokashi presentaron los menores valores de N, Cu y Mn. Para el elemento K, los valores más bajos co-

**Cuadro 6.** Contenido de nutrimentos en el tejido foliar de las plantas de tomate sometidas al inóculo de *R. solanacearum* tratadas con enmiendas orgánicas. Turrialba, Costa Rica.

| Tratamiento        | Ca  | Mg  | K   | P   | N   | Cu   | Mn Zn |      |
|--------------------|-----|-----|-----|-----|-----|------|-------|------|
|                    |     |     |     |     |     |      | mg/kg |      |
| Suelo estéril (SE) | 0,9 | 0,3 | 2,0 | 0,2 | 1,6 | 12,4 | 127,5 | 28,6 |
| SE+broza           | 2,1 | 0,7 | 1,4 | 0,2 | 1,9 | 16,5 | 138,6 | 38,8 |
| SE + cachaza       | 2,1 | 0,5 | 2,8 | 0,2 | 1,8 | 14,5 | 100,2 | 40,1 |
| SE + bokashi       | 2,1 | 0,4 | 2,9 | 0,3 | 1,4 | 10,3 | 97,8  | 37,0 |
| SE + compost 1     | 2,8 | 1,0 | 2,4 | 0,5 | 2,0 | 12,4 | 127,5 | 58,1 |
| SE + compost 2     | 2,6 | 0,8 | 2,7 | 0,4 | 2,0 | 12,4 | 69,3  | 50,6 |
| SB+Broza+Bokashi   | 1,6 | 0,4 | 1,6 | 0,2 | 2,0 | 10,3 | 78,0  | 28,6 |
| SE+Broza+Cachaza   | 1,6 | 0,4 | 2,6 | 0,3 | 1,4 | 14,5 | 73,0  | 38,3 |
| SE+Cachaza+Bok     | 2,1 | 0,4 | 2,9 | 0,3 | 1,3 | 10,3 | 53,2  | 32,6 |
| SE+Broza+Cach+Bok  | 1,5 | 0,3 | 1,9 | 0,3 | 1,5 | 10,3 | 81,7  | 34,0 |

respondieron a los tratamientos que incluyeron broza de café.

Los elementos como N, K, Ca, Mg y Zn se encontraron en mayor proporción tanto en el suelo como en el follaje de las plantas de los tratamientos que incluyeron abonos fermentados.

### Efecto de enmiendas orgánicas sobre la severidad de la marchitez bacterial.

Las plantas desarrolladas en SEBk, SEC1, SEC2 y SEBrBk tuvieron diferencias altamente significativas ( $P < 0,05$ ) al testigo (Cuadro 7). Estos tratamientos presentaron el menor grado de severidad de la marchitez bacterial (Fig. 4). Los tratamientos con sustrato de cachaza y de cachaza en mezcla con broza no mostraron diferencias con el testigo y el grado de severidad de la enfermedad fue el más alto. Mientras, los abonos fermentados no fueron diferentes estadísticamente entre ellos, los sustratos orgánicos broza y cachaza si mostraron diferencias entre si.

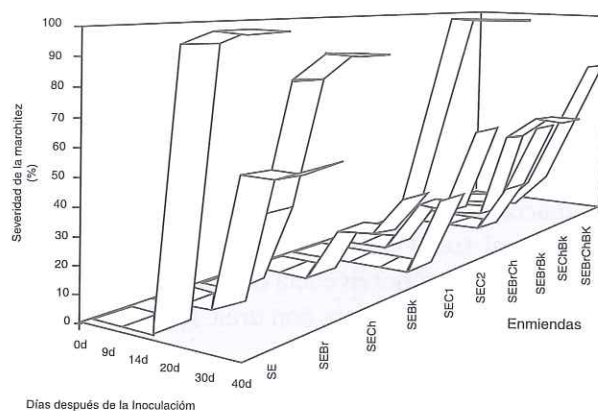
**Cuadro 7.** Valores del área bajo la curva de progreso de la marchitez bacterial en plantas de tomate en invernadero inoculadas con *R. solanacearum* en respuesta al uso de enmiendas orgánicas en el suelo. Turrialba, Costa Rica.

| Tratamiento              | Severidad (ABCPE) |
|--------------------------|-------------------|
| Suelo estéril (SE)       | 94,8 a            |
| SE + broza               | 46,9b             |
| SE + cachaza             | 89,8 a            |
| SE + bokashi             | 26,8 bc           |
| SE + compost 1           | 4,2 c             |
| SE + compost 2           | 23,1 bc           |
| SE + Broza + Bokashi     | 22,8 bc           |
| SE + Broza + Cachaza     | 110,8 a           |
| SE + Cachaza + Bokashi   | 42,9 b            |
| SE+Broza+Cachaza+Bokashi | 36,1 b            |

Medias con letras iguales no difieren significativamente entre sí por la prueba de Bonferroni ( $P < 0,05$ ).

La marchitez bacterial producida por *R. solanacearum* fue reducida de forma considerable cuando se añadió al suelo abono fermentado. Esta respuesta en el desarrollo de la enfermedad, además de estar relacionada con los aportes de nutrimentos hechos por las enmiendas orgánicas puede ser influido por el factor biológico, dado por la incorporación de microorganismos controladores biológicos por parte de los composts tanto antagonistas como inductores de resistencia o el balance que existente entre éstos y la nutrición del suelo lo cual favorecería la microbiostasis (Hoitink y Boehm 2001).

Los contenidos de N, P, K, Ca y Mg fueron mayo-



**Figura 4.** Comportamiento de la severidad de la marchitez bacterial en plantas de tomate tratadas con enmiendas orgánicas al suelo, 9, 14, 20, 30 y 40 días después de la inoculación con *R. solanacearum*. Turrialba, Costa Rica.

res cuando se incorporó composts tipo 1 y 2 al suelo. Esta misma tendencia fue observada en los contenidos de estos elementos en el tejido foliar de las plantas inoculadas con *R. solanacearum*.

El efecto principal del nitrógeno se reflejó en el vigor y en la tasa de crecimiento de las plantas. Los mayores contenidos de N lo presentaron los tratamientos con composts tipo 1 y 2. En muchos casos, las plantas que se desarrollan con altos niveles de N toleran mejor el ataque de ciertas plagas (Palti 1981).

El P es un elemento esencial en muchas funciones del metabolismo de las plantas, pudiendo afectar su crecimiento, a través de la participación de este elemento en la síntesis de proteínas. Cavalcante *et al.* (1996) evaluaron la reacción de dos cultivares de tomate, uno resistente y otro susceptible a la marchitez bacterial, con diferentes concentraciones de nutrimentos en soluciones nutritivas. Estos autores determinaron que al disminuir los niveles de P en las plantas del cultivar resistente, se redujo también el nivel de resistencia a la marchitez bacterial.

La alta concentración de K favorece la turgencia de las células, proceso que limita la penetración de patógenos a los tejidos de las plantas. Las plantas crecidas en el tratamiento con bokashi presentaron los niveles más altos de este elemento en el suelo y en los tejidos. El K es un elemento presente en los abonos orgánicos y repercute sobre la disponibilidad en el suelo por ser altamente concentrado en los tejidos (Bertsch 1995).

Los tratamientos con abonos orgánicos fermentados presentaron altos contenidos de Ca y Mg en el tejido de las plantas. El efecto del Ca sobre la severidad de la marchitez bacterial ya es conocido. Tanto cultiva-

res de tomate susceptibles como resistentes a la marchitez bacteriana han presentado mayor severidad a la enfermedad cuando crecieron bajo condiciones de deficiencia de Ca y Mg (Cavalcante *et al.* 1996).

Michel *et al.* (1997), estudiando la interacción entre *R. solanacearum*, cultivos intercalados y la aplicación de enmiendas al suelo encontraron que al añadir CaO y MgO se afectó la supervivencia de *R. solanacearum*, y al combinar estos compuestos con urea, se observó un mejor efecto.

Todos los tratamientos donde se aplicaron enmiendas orgánicas aumentaron el pH del suelo, con la excepción del sustrato broza de café, cuyo valor de pH fue menor que el tratamiento testigo. No se presentó una relación directa entre el pH y la severidad de la enfermedad en este experimento. Aunque Michel *et al.* (1997) asociaron el pH del suelo con las condiciones de supervivencia del patógeno, definiendo como suelos adecuados para *R. solanacearum* aquellos con pH 6,0 y menos favorables para el patógeno los suelos con pH iguales o mayores a 7,0.

Las enmiendas orgánicas incorporadas al suelo, frecuentemente influyen sobre las enfermedades mediante las interacciones nutricionales, ya sea supliendo nutrientes de forma directa o aumentando su disponibilidad a través de cambios en la actividad microbiana del suelo (Thurston 1992, Huber y Schneider 1989). Los suelos con contenidos adecuados de nutrientes presentan comunidades de microorganismos abundantes que participan en el reciclaje de los nutrientes que son esenciales para las plantas (INPOFOS 1997).

Cuando se aplican abonos orgánicos al suelo, es difícil separar los efectos de su aplicación sobre la textura, la reacción del suelo o sobre la microbiota existente en el mismo. La información conocida sobre el efecto de elementos en la nutrición de las plantas y el desarrollo de enfermedades se relaciona con investigaciones aplicando fertilizantes minerales, mientras que poco se conoce sobre los aportes de nutrientes por vía orgánica (Palti 1981).

Al relacionar las variables peso seco, diámetro de las plantas y contenido de humedad con el grado de severidad de la marchitez bacteriana se observó una correlación negativa altamente significativa ( $P < 0,01$ ) entre la severidad y las variables peso seco y diámetro (Cuadro 8). Esto indica que mayor diámetro del tallo y mayor biomasa de las plantas, menor severidad de la marchitez.

Se detectó una correlación positiva entre la severidad y el contenido de humedad de las plantas ( $P < 0,01$ ). Las plantas con menor contenido de humedad presentaron el menor grado de severidad de la enfermedad.

Jiménez (1996) estudió la relación entre variables de crecimiento del cultivo de tomate y la severidad del mosaico amarillo, y encontró relación negativa entre el diámetro y la producción de biomasa (peso fresco y peso seco) con la severidad de la enfermedad.

**Cuadro 8.** Correlación entre la severidad de la marchitez bacteriana y variables de crecimiento de plantas de tomate desarrolladas en suelo con aplicación de enmiendas orgánicas, bajo condiciones de casa de mallas. Turrialba, Costa Rica.

| Correlación         | Coefficiente r | Significancia* |
|---------------------|----------------|----------------|
| Severidad-Peso seco | - 0,8486       | 0,0001         |
| Severidad-Diámetro  | - 0,5698       | 0,0001         |
| Severidad-Cont. Hum | 0,3701         | 0,0096         |

\* altamente significativo ( $P < 0,01$ ) bajo la prueba de correlación de Pearson.

#### Supervivencia de *R. solanacearum* en el suelo con el uso de abonos orgánicos

Como tendencia general, la densidad poblacional de *R. solanacearum* (ufc/g suelo) fue menor en los tratamientos con aplicación de enmienda orgánica en comparación al testigo, en cada uno de los períodos de evaluación. Se detectaron diferencias estadísticas significativas ( $P < 0,05$ ) entre los tratamientos y entre los diferentes tiempos de evaluación. También la interacción entre tratamientos por tiempo mostró significancia estadística. Esto indica que dentro de cada tratamiento, las poblaciones determinadas fueron diferentes a través del tiempo.

Los tratamientos que mostraron una disminución progresiva del patógeno en el tiempo fueron broza, compost tipo bokashi y tipo 1 (Cuadro 9). Los menores niveles poblacionales de *R. solanacearum* a los 90 días lo presentaron el compost bokashi y la broza de café. El bokashi presentó una población de 9%, mientras que en la broza fue del 10%, en comparación al testigo en ambos casos.

La cachaza presentó un efecto positivo en la reducción de la población de *R. solanacearum* a los 30 días; sin embargo, a los 60 y 90 días la población bacteriana se incrementó en este tratamiento indicando la importancia de la fuente de materia orgánica a seleccionar.

Aunque todas las enmiendas mostraron densidades del patógeno menores que el testigo para cada pe-

**Cuadro 9.** Población de *R. solanacearum* en suelo tratado con enmiendas orgánicas, a los 30, 60 y 90 días después de la inoculación con  $5,0 \times 10^5$  ufc/g de suelo. Turrialba, Costa Rica.

| Tratamiento | Promedio de la población de <i>R. solanacearum</i> |            |                   |            |                   |            |
|-------------|--|------------|-------------------|------------|-------------------|------------|
|             | 30 días  |            | 60 días           |            | 90 días           |            |
|             | ufc/g  | Porcentaje | ufc/g             | Porcentaje | ufc/g             | Porcentaje |
| Testigo     | $2,4 \times 10^5$                                  | 100        | $5,0 \times 10^4$ | 100        | $8,1 \times 10^4$ | 100        |
| SEBr        | $1,7 \times 10^5$                                  | 71         | $1,9 \times 10^4$ | 38         | $8,1 \times 10^3$ | 10         |
| SECh        | $2,2 \times 10^4$                                  | 9          | $2,3 \times 10^4$ | 48         | $2,8 \times 10^4$ | 35         |
| SEBk        | $3,0 \times 10^4$                                  | 13         | $1,8 \times 10^4$ | 36         | $6,9 \times 10^3$ | 9          |
| SEC1        | $5,6 \times 10^4$                                  | 23         | $1,5 \times 10^4$ | 30         | $1,2 \times 10^4$ | 15         |
| SEC2        | $1,9 \times 10^4$                                  | 8          | $5,8 \times 10^3$ | 12         | $1,1 \times 10^4$ | 14         |
| SEBrBk      | $5,0 \times 10^4$                                  | 21         | $1,4 \times 10^4$ | 28         | $2,1 \times 10^4$ | 26         |
| SEBrCh      | $2,2 \times 10^4$                                  | 9          | $2,2 \times 10^4$ | 44         | $2,3 \times 10^4$ | 28         |
| SEChBk      | $2,8 \times 10^4$                                  | 12         | $1,3 \times 10^4$ | 26         | $1,6 \times 10^4$ | 20         |
| SEBrChBk    | $5,3 \times 10^4$                                  | 22         | $1,4 \times 10^4$ | 28         | $2,5 \times 10^4$ | 31         |

Valores altamente significativos al 5%.

ríodo de tiempo, solo los tratamientos que incluyeron broza, composts tipo bokashi y tipo 1 presentaron una disminución progresiva de la densidad poblacional de *R. solanacearum* a través del tiempo. El comportamiento de la broza en este experimento puede estar relacionado con la presencia de microorganismos antagonistas, los cuales estarían ejerciendo su efecto en ausencia del hospedante susceptible, a diferencia de lo ocurrido en el primer experimento, donde posiblemente la interacción de los exudados radicales con la broza en la rizosfera limitaron la acción de estos microorganismos o de sus metabolitos (antibióticos, enzimas, etc.).

Los compost tipo bokashi y tipo 1, mantuvieron un comportamiento consistente en los diferentes ensayos: efecto supresivo sobre la marchitez bacterial, por vía directa (presencia de antagonistas, de sustancias con efecto antibiótico, competencia de microorganismos por espacio y nutrientes, etc.) o indirecta (mejorando condición nutricional de las plantas); actuando como fuente de bacterias antagonistas al patógeno y ahora confirmados como opciones para reducir el inóculo del patógeno en ausencia del hospedante.

En este experimento, *R. solanacearum* no necesitó una planta hospedante para sobrevivir, dado que a los 90 días las poblaciones del testigo comenzaron a aumentar. Bajo estas condiciones, los resultados coinciden con la tendencia informada por Jackson y González (1981), de que el patógeno puede sobrevivir en el suelo en ausencia del cultivo susceptible.

Rema *et al.* (1981), estudiando la supervivencia de *R. solanacearum* en el suelo, encontraron que la población de ésta disminuyó a la mitad del valor original a los 46 días después de la adición del inóculo al sue-

lo, más no fue significativo el efecto de suelos enmendados con torta de neem, urea y tejido del hospedante sobre la población del patógeno en comparación con el testigo sin enmienda.

Otras experiencias, han demostrado que la aplicación de prácticas de rotación de cultivos, no lograron reducir el inóculo de *R. solanacearum* en el suelo en ausencia de hospedantes susceptibles (Jackson y González 1981), restándole potencial a la rotación de cultivos como medida para disminuir el inóculo del patógeno en suelos infestados.

El retardo en la aparición de síntomas en las plantas con aplicación de composts tipo bokashi, tipo 1 y 2; el mayor aporte de nutrientes por parte de estos tratamientos, la disminución poblacional de *R. solanacearum* con las cepas bacterianas provenientes de los composts tipo bokashi y tipo 1, y finalmente, la reducción del crecimiento de *R. solanacearum* en suelos con enmienda con estos mismos sustratos, fundamentan la importancia que puede tener el componente biológico en el manejo del patógeno, dada la riqueza de microorganismos en la rizosfera (Hoitink y Boehm 2001).

Al comparar los porcentajes (Fig. 9) de disminución, con relación al testigo en cada una de las fechas analizadas, se puede observar que el compost 2 presentó la mayor disminución en la población bacteriana (cercana al 90%) antes de los 30 días y durante el periodo de evaluación. En la cachaza, aunque la población disminuye al principio se incrementa a los 60 y 90 días; con la broza de café ocurre lo contrario.

A través de los resultados obtenidos en este trabajo y conociendo el potencial de persistencia en el suelo de *R. solanacearum*, que es de 4 (McCarter

1976) a 15 años (Drummond 1984), es recomendable hacer estudios a nivel de campo en suelos infestados naturalmente, aplicando abonos orgánicos fermentados con diferentes fuentes de materia orgánica para propiciar un aumento de las poblaciones de microorganismos benéficos que compitan con el patógeno.

En este trabajo se revela el potencial de las enmiendas orgánicas, especialmente de los composts, como herramientas a ser probadas y utilizadas dentro del contexto del manejo integrado de *R. solanacearum*, y también para complementar el uso de variedades resistentes en suelos con bajos niveles de inóculo del patógeno.

### Literatura consultada

- Bertsch, F. 1995. La fertilidad de los suelos y su manejo. Asociación Costarricense de la Ciencia del Suelo. San José, Costa Rica. 157 p.
- Bustamante, E. 1994. La marchitez bacterial del chile y tomate. Hoja Técnica. no. 9: In Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica) 32:i-iv.
- CATIE. (Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza). 1990. Guía para el manejo integrado de plagas del cultivo de tomate. Turrialba, Costa Rica, CATIE. Serie Técnica, Informe Técnico no. 151. 138 p.
- Cavalcante, E; Mariano, R; Leite, J; Coelho, R. 1996. Influence of mineral nutrition on the reaction of tomato cvs Yoshimatsu and Santa Cruz to *Pseudomonas solanacearum*. ACIAR Proceedings.
- Drummond, O. 1984. Investigaciones para el combate de la marchitez bacteriana de la papa realizadas en el período de 1957 a 1982, en Rio de Janeiro. In CIP. Marchitez bacterial (*Pseudomonas solanacearum*) de la papa en América Latina. Lima, Perú, CIP. 120 p.
- French, E; Hebert, T. 1982. Métodos de investigación fitopatológica. Costa Rica, IICA, 289 p.
- Grimault, V; Prior, P. 1993. Bacterial wilt resistance in tomato associated with tolerance of vascular tissues to *Pseudomonas solanacearum*. Plant Pathology 42:589-594.
- Grimault, V; Anais, G; Prior, P. 1994. Distribution of *Pseudomonas solanacearum* in the stem tissues of tomato plants with different levels of resistance to bacterial wilt. Plant Pathology 43:663-668.
- Guerrero, J. 1993. Abonos orgánicos, tecnología para el manejo ecológico de suelos. Lima, Perú, RAAA. 90 p.
- Hayward, A. 1991. Biology and epidemiology of bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum*. Ann. Rev. Phytopathol. 29:65-87.
- Hoitink, H; Stone, A; Han, D. 1997. Supresión de enfermedades mediante el uso de compost. Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica) 43:31-39.
- Hoitink, HAJ; Boehm, MJ. 2001. Control biológico en el contexto de comunidades microbianas del suelo: un fenómeno dependiente del sustrato. Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica) 62: 4-17
- Huber, D; Schneider, R. 1989. The description and occurrence of suppressive soils. In Schneider, RW. Ed. Suppressive soils and disease. Minnesota, USA, APS Press. p. 88.
- Huber, D. 1981. The use of fertilizers and organic amendment in the control of plant of plant diseases. In Pimentel, D. Ed. Handbook of pest management in agriculture. Florida, CRC Press. p. 357-394.
- INPOFOS (Instituto de la Potasa y el Fósforo). 1997. Los fertilizantes y la salud del suelo. Informaciones Agronómicas no. 29:13.
- Jackson, M; González, L. 1981. Persistence of *Pseudomonas solanacearum* (Race 1) in naturally infested soil in Costa Rica. Phytopathology 71:690-693.
- Jiménez, J. 1996. Evaluación de inductores de resistencia a geminivirus y promotores del crecimiento en el cultivo del tomate. Tesis M.Sc. Turrialba, Costa Rica, CATIE. 74 p.
- Kelman, A. 1954. The relationship of pathogenicity in *Pseudomonas solanacearum* to colony appearance on a tetrazolium medium. Phytopathology 44:693-695.
- McCarter, S. 1976. Persistence of *Pseudomonas solanacearum* in artificially infested soils. Phytopathology 66:998-1000.
- Michel, V; Wang, F; Midmore, D; Hartman, G. 1997. Effects of intercropping and soil amendment with urea and calcium oxide on the incidence of bacterial wilt of tomato and survival of soil-borne *Pseudomonas solanacearum* in Taiwan. Plant Pathology 46:600-610.
- Palti, J. 1981. Cultural practices and infectious crop diseases. New York, USA, Springer-Verlag. 243 p.
- Rema, L; Devi, L; Ramanatha, M; Aiyer, R. 1981. Survival of *Pseudomonas solanacearum* in soil. Plant Soil 62:169-182.
- Shaner, G; Finney, R. 1977. The effect of nitrogen fertilization on the expression of slow-midewing resistance in knox wheat. Phytopathology 67:1051-1056.
- Tanaka, Y; Noda, N. 1973. Studies on the factors affecting survival of *Pseudomonas solanacearum* the causal agent of tobacco wilt disease. Review of Plant Pathology 53: 3171.
- Trigalet, A; Frey, P; Trigalet-Demery, D. 1994. Biological control of bacterial wilt caused *Pseudomonas solanacearum*: state of the art and understanding. In Hayward, A; Hartman, G. Ed. Bacterial wilt: the disease and its causative agent, *Pseudomonas solanacearum*. Wallingford, UK, CABI. p.225-233.
- Thurston, H. 1992. Sustainable practices for plant disease management in traditional farmig systems. Boulder, USA, Westview Press. 279 p.



# El papel de las malezas en la reducción de la lixiviación de nutrimentos en cultivos de banano en el trópico húmedo

Ramiro de la Cruz<sup>1</sup>  
Carlos Eduardo Rojas<sup>1</sup>  
Herbert Luis Lobón<sup>1</sup>  
Carlos Burgos<sup>1</sup>

**RESUMEN.** La producción de banano en el trópico húmedo de América Central se caracteriza por la aplicación excesiva de fertilizantes inorgánicos. En este trabajo se evaluó el efecto de las malezas en la reducción de la lixiviación de los nutrimentos aplicados en este cultivo. Durante tres años se mantuvieron parcelas experimentales de 150 m<sup>2</sup>, con seis repeticiones, en un suelo franco arenoso, con cinco niveles de población de malezas: 0, 20, 40, 60 y 70% de cobertura. Semanalmente, se realizaron calificaciones visuales y controles de la cobertura de malezas. Para evitar variaciones importantes de la población de malezas y la dominancia de algunas especies, se realizaron chapias o corte con cuchillo y rotación de herbicidas. Transcurridos tres años se recolectaron muestras de suelo a 40 y a 90 cm de profundidad mediante lisímetros. En la solución del suelo se determinaron las concentraciones de nitrógeno (N - NO<sub>3</sub>), potasio (K<sup>+</sup>), calcio (Ca<sup>2+</sup>) y magnesio (Mg<sup>2+</sup>). Se seleccionaron dentro del ámbito de niveles de cobertura disponibles, tres niveles de cobertura de malezas: 0, 40 y 70%. En estas parcelas y en tres repeticiones se instalaron los lisímetros para determinar los valores de los lixiviados de los fertilizantes aplicados. Las muestras de agua se analizaron semanalmente después de la instalación de los lisímetros. Se determinaron altas concentraciones de K<sup>+</sup> a los 40 y 90 cm de profundidad en los tres niveles de población de malezas, sin diferencias estadísticas entre los niveles. Para el Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup> y (N - NO<sub>3</sub>), las concentraciones más altas en ambas profundidades se encontraron en las parcelas sin malezas. A medida que aumentó la población de malezas disminuyeron las concentraciones de estos elementos en las dos profundidades evaluadas. Con respecto al estado nutricional de las plantas en los diferentes niveles de cobertura de malezas, el tratamiento que presentó las mayores concentraciones de nutrimentos en el tejido foliar fue el de 40% de cobertura. El que tuvo las menores concentraciones fue el 0% de cobertura, posiblemente debido a la gran pérdida de estos elementos por lixiviación. Sin embargo, ningún tratamiento presentó deficiencias foliares de los elementos analizados (K, Ca, Mg y N). En el estudio sobre crecimiento de las plantas de banano no hubo diferencias ni en la altura ni en el diámetro de éstas.

**Palabras clave:** Malezas, Lixiviación de nutrimentos, Banano, Trópico húmedo, Costa Rica.

**ABSTRACT.** The role of weeds in the reduction of nutrient leaching in banana crops in the humid tropics. Banana production in the humid tropics of Central America is characterised by excessive application of inorganic fertilizer. The objective of this work was to evaluate the effect of weeds in the reduction of leaching of fertilizer applied to this crop. Experimental plots of 150 m<sup>2</sup> with 6 repetitions, were maintained for three years in sandy soil with five weed population levels: zero, 20, 40, 60 and 70 cover. Visual evaluations and control of weed cover were realised weekly. In order to avoid important population fluctuations and dominance by some species mowing, cutting with a knife and herbicide rotations were performed. After three years, soil samples were collected at depths of 40 and 90 cm using a lysimeter. The concentrations of nitrogen (N-NO<sub>3</sub>), potassium (K<sup>+</sup>), calcium (Ca<sup>2+</sup>), and magnesium (Mg<sup>2+</sup>) in the soil solution were determined. Three levels of weed cover: zero, 40 and 70%, were selected from the range of available covers. In these plots and in three repetitions, lysimeters were installed to determine the amount of applied fertilizer in leached water. Water samples were analysed weekly after installing the lysimeters. High concentrations of K<sup>+</sup> were found at depths of 40 and 90 cm in the three weed population levels without statistical differences between them. The highest concentrations of Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup> and N-NO<sub>3</sub> at both depths were found in plots without weeds. As the weed population increased the concentration of these nutrients decreased at the two depths evaluated. With respect to the nutritional state of the plants in the different levels of weed cover, the treatment with 40% of cover showed the greatest concentrations of nutrients in the foliar material. The lowest concentrations were found in the treatment with 0% weed cover, possibly due to high loss of these elements through leaching. However, none of the treatments showed foliar deficiencies of the analysed elements (K, Ca, Mg and N). In this study of banana plant growth, there were no significant differences in height or in diameter.

**Key Words:** Weeds, Nutrient leaching, Banana, Humid tropics, Costa Rica.

<sup>1</sup> EARTH, Guácimo, Costa Rica. rdlacruz@earth.ac.cr

## Introducción

Numerosos estudios han demostrado los beneficios de las coberturas vivas asociadas con los cultivos. La salud del suelo (biológica, física y química) es mejorada o protegida por la presencia de este tipo de coberturas. En relación con la vida del suelo, Kabir y Koide (2000) observaron el enriquecimiento de las micorrizas del suelo por el crecimiento de la maleza *Taraxacum officinale*. Resultados similares fueron informados por Villalobos (2000) para el cultivo de banano. También Tilman *et al.* (1996) señalaron que una mayor diversidad en la comunidad no solo redujo las pérdidas de nutrientes como el nitrógeno, sino que además lo hicieron más asimilable por la planta. La presencia de algunas coberturas vegetales, principalmente de algunas especies no leguminosas, pueden contribuir a reciclar el nitrógeno presente en el suelo, evitando que los excesos de este elemento sean lavados del perfil del suelo (Cavigelli *et al.* 1998).

En los sistemas agrícolas, las coberturas más espontáneas son las de malezas. Sin embargo, su manejo por densidad y tipo de especies es una de las actividades más constantes y en algunos casos desgastante, especialmente en aquellos sistemas agrícolas que procuran cultivos sin presencia de malezas, por más insignificantes que sean sus poblaciones. En este tipo de sistema hay desgaste del suelo, así como pérdida y simplificación del grado de diversidad. En condiciones del trópico húmedo, esto tiene consecuencias nocivas para la sostenibilidad de los sistemas. Uno de los cultivos que se ha manejado sin tolerancia de malezas es el banano.

Tradicionalmente, el manejo de las malezas en este cultivo se realiza con un criterio profiláctico, manteniendo siempre el cultivo bajo un sistema cuidadoso de eliminación de cualquier densidad de malezas que emerjan. Durante mucho tiempo se utilizaron los herbicidas pre-emergentes de acción residual (ureas sustituidas y triazinas) que mantienen el suelo sin cobertura, favoreciendo su erosión y la reducción de la materia orgánica, ambos fenómenos dañinos para el suelo. Posteriormente, aparecieron los herbicidas post-emergentes no residuales, que al permitir una capa de vegetación muerta sobre la superficie del suelo ayudan a su protección física, química y biológica. No obstante, éstos últimos provocan fitotoxicidad en el cultivo, son tóxicos para las personas y los costos han limitado su uso. Ante esta problemática Rojas y De la

Cruz (1998) plantean opciones de manejo de malezas en este cultivo, mediante prácticas agronómicas y usando más racionalmente las actividades de control, manejando la densidad de las poblaciones en el tiempo y tolerando ciertos niveles de cobertura de algunas especies que no representan un peligro al sistema.

Otras de las prácticas tradicionales en el cultivo de banano es la fertilización. El banano es una planta de muy rápido desarrollo, que para alcanzar altos rendimientos necesita una buena cantidad de nutrientes disponibles en el suelo. Parte de estos nutrientes pueden ser aportados por el suelo y por residuos de cosecha; sin embargo, para cosechas económicamente rentables es necesario la aplicación de fertilizante en cantidades iguales o equivalentes a los nutrientes extraídos. Una manera de estimar la demanda de nutrientes para la cosecha es la determinación de los contenidos de cada elemento requerido en el tejido foliar de las plantas de banano.

Los niveles críticos de nutrientes en diferentes hojas de la planta según Lahau y Torner (1992) se presentan en el Cuadro 1. Según estos análisis, los programas de fertilización utilizados en las plantaciones de banano localizados en la zona oeste de la cuenca del Río Reventazón, en el Caribe de Costa Rica son demasiado altos, principalmente en nitrógeno (López y Espinosa 1995, Tabares y Falquez 1997). La aplicación de dosis altas de fertilizantes en el tipo de suelo y las condiciones climáticas prevalecientes en esa zona favorecen el fenómeno de lixiviación (Soil Science Society of America 1979). González (1989) y Flores (1994) afirman que la lixiviación en las zonas donde se cultiva banano en el trópico húmedo alcanza valores altos y según Seyfried y Rao (1991) este fenómeno puede variar mucho dependiendo del sistema.

**Cuadro 1.** Niveles críticos de nutrientes en diferentes tejidos de plantas de banano saludables.

| Nutriente (%) | Lámina (Hoja 3) | Nerv. Central (Hoja 3) | Pecíolo (Hoja 7) |
|---------------|-----------------|------------------------|------------------|
| N             | 2,6             | 0,65                   | 0,4              |
| P             | 0,2             | 0,08                   | 0,07             |
| K             | 3,0             | 3,0                    | 2,1              |
| Ca            | 0,5             | 0,5                    | 0,5              |
| Mg            | 0,3             | 0,3                    | 0,3              |

Fuente: López y Espinoza (1995).

Las altas dosis de fertilizantes aplicados para suplir las necesidades de la planta y de la mayor produc-

ción de fruta constituyen la materia prima básica para las pérdidas por lixiviación (Stover y Simmonds 1987). Este proceso, de acuerdo con Soto (1992) es favorecido en los suelos bananeros de nuestros países por su origen y características físicas y químicas que le dan gran permeabilidad, así como por las frecuentes e intensas lluvias en la zona, los patrones de fertilización y el pobre desarrollo del sistema radical del cultivo que además, frecuentemente, es debilitado por el ataque de nematodos.

La importancia del fenómeno de la lixiviación en relación con la sostenibilidad y como fuente de contaminación de aguas subterráneas ha sido estudiada por varios autores (Stout *et al.* 2000, Eriksen y Askegaard 2000, Cameron *et al.* 1996, Imbach 1987).

La determinación del movimiento de los solutos en el suelo (lixiviación) es un fenómeno complejo, cuyos conceptos básicos han sido analizados por Addiscott y Wagenet (1985). El manejo del sistema de producción, obviamente, influye de manera decisiva en el comportamiento de la lixiviación, disminuyendo su magnitud e intensidad en sistemas de cultivos asociados en comparación con monocultivos (Seyfried y Rao 1991).

El objetivo del presente trabajo fue evaluar la capacidad de las malezas para reducir la lixiviación de nutrimentos en plantaciones de banano en el trópico húmedo de Costa Rica.

## Materiales y métodos

### Ubicación del experimento

La investigación se realizó en uno de los proyectos de la finca comercial de la Universidad EARTH, en Guácimo, provincia de Limón, Costa Rica, desde 1996 al 2000. Por su localización, en la zona oeste del río Reventazón, presenta características de suelo particulares, principalmente de baja fertilidad.

El suelo donde se realizó el estudio tiene una textura franca en los primeros 20 cm del perfil y franco

arenoso por debajo de ese perfil, un pH entre 5,2 y 6,3, un contenido de materia orgánica de 3,1% y una capacidad de intercambio catiónico de 7,3. Las características climáticas para la zona, típicas del trópico húmedo se presentan en el Cuadro 2.

Se realizó un análisis de suelo previo al estudio, en una muestra tomada a 1 m de profundidad. Se determinaron los siguientes valores: K 0,28; Ca 0,95; Mg 0,16 (Cmol<sup>+</sup>/kg) y para No<sup>3+</sup> 14,6 mg/L de la solución del suelo.

### Malezas y manejo de porcentaje de cobertura

Las malezas más frecuentes en el área fueron la gramíneas *Paspalum paniculatum*, *Eleusine indica*, *Digitaria horizontalis* y *Setaria geniculata*. Entre las dicotiledóneas más importantes estaban *Borreria* spp., *Acalipha* sp., *Spananthe paniculata*, *Galinsoga* sp., *Phyllanthus niruri* y *Drymaria cordata*. Otro grupo presente fue el de las ciperáceas *Cyperus diffusus*, *C. flavus*, *C. luzulae*, *Fimbristylis littoralis*, *Scleria melaleuca* y *Killinga brevifolia*.

Durante los tres años anteriores a la toma de las muestras de la solución de suelo en las parcelas donde se realizó el estudio se mantuvieron diferentes niveles de cobertura de maleza: 0, 20%, 40%, 60%, y 70%. El nivel de cero malezas se maneja con rotación de herbicidas como el glifosato, paraquat, glufusinato de amonio y en algunos casos se combinó con el corte manual o chapia. El propósito de la rotación de las prácticas de control de malezas fue evitar el dominio de alguna especie, que sobreviviera a un único método, lo cual es muy común en poblaciones de malezas. Los otros niveles de cobertura fueron difíciles de mantener usando subdosis de los herbicidas mencionados y en muchas oportunidades fue necesario combinarlo con el corte manual. Se hicieron evaluaciones semanales del nivel de cobertura con el propósito de aplicar las prácticas de control necesarias para mantener las poblaciones en los niveles propuestos. En al-

**Cuadro 2.** Temperatura del aire (°C), humedad relativa (%), temperatura del suelo (°C) y precipitación promedio en el área de estudio, durante cinco años. Guácimo, Costa Rica.

| Año      | Temperatura aire (°C) | Humedad relativa (%) | Temperatura suelo (°C) | Precipitación (mm) |
|----------|-----------------------|----------------------|------------------------|--------------------|
| 1996     | 25,38                 | 90,15                | 27,58                  | 2472,26            |
| 1997     | 25,24                 | 91,90                | 28,13                  | 4498,00            |
| 1998     | 25,68                 | 92,52                | 31,00                  | 2289,69            |
| 1999     | 24,89                 | 86,55                | 27,25                  | 2734,70            |
| 2000     | 23,90                 | 90,50                | 26,83                  | 2685,22            |
| Promedio | 25,02                 | 90,32                | 28,16                  | 3935,97            |

(Fuente: Estación meteorológica EARTH).

gunas épocas del año y con algunas especies, el manejo de los niveles de la población tenía ámbitos de variación que exigían hasta dos actividades de control por semana. Las fluctuaciones no solo fueron de densidad, sino también del tipo de especies, lo cual dependía de la época del año.

#### **Solución de suelo y determinación de nutrimentos**

Para la toma de las muestras de la solución del suelo se usó un lisímetro sencillo, el cual consta de una unidad de cerámica porosa acoplado en un tubo, donde una bomba de presión ejerce un vacío y mediante mangueras de neopreno se toman las muestras de agua que se acumulan en el tubo. Antes de instalar los lisímetros en las parcelas, estos fueron sumergidos en agua durante 24 h para saturar de humedad la cápsula de cerámica por donde penetra la solución del suelo. Para facilitar el manejo de los muestreos se seleccionaron dentro del área de estudio tres niveles de cobertura de malezas: dos extremos (0 y 70%) y uno intermedio, 40% de cobertura. Igualmente, aún cuando se tenían seis repeticiones de cada nivel de cobertura, los lisímetros se instalaron en las tres repeticiones donde los niveles de cobertura evaluados habían sido más uniformes durante los tres años. En la parte central de cada parcela se instalaron los lisímetros, dos por parcela, a 40 cm y a 90 cm de profundidad. De acuerdo con Soto (1992) entre el 60 y 70% del sistema radical del banano se encuentra en los primeros 30 cm de suelo. Por tanto, las dos profundidades a las que se instalaron los lisímetros fueron seleccionadas para tomar muestras dentro del sistema radical del cultivo y por debajo de la zona de mayor concentración de éste. En total se instalaron 18 lisímetros, utilizando barreras holandesas.

De cada lisímetro, y en cada época de muestreo, se tomaron 200 ml de solución, que se depositaron en botellas plásticas con tapa para su traslado al laboratorio.

Para el nitrógeno se usó el método "Nitrate Electrode Screening Method" que permite medir concentraciones entre 0,14 y 1400 mg/L. Para las determinaciones de Ca, Mg, y K se usó el espectrofotómetro de absorción atómica (Atomic Absorption Spectrophotometer, Model 3100).

#### **Desarrollo del cultivo**

Los estudios de crecimiento de las plantas de banano en las parcelas se realizaron a los tres años de manejo de los niveles de enmalezamiento. En cada parcela se

tomaron al azar 10 unidades de producción y en cada una de ellas se midió la altura y el diámetro de la planta madre. Con el propósito de determinar el estado nutricional de las plantas de banano, en la última semana de las evaluaciones, en las parcelas donde se instalaron los lisímetros, se realizó una medición de los elementos,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$  y N foliar de acuerdo con el método Internacional de Referencia (MIR) (Martín-Prével 1974). Una vez recolectadas las muestras, se limpiaron para eliminar cualquier material contaminante, especialmente polvo, se lavaron y enjuagaron con agua destilada, se secaron en un horno de aire forzado a una temperatura de 50-55 °C y se trituraron en un molino tipo Wiley de acero inoxidable. Posteriormente, se guardaron en un lugar sellado para evitar la humedad hasta que se analizaran.

El propósito del análisis foliar fue determinar el estado nutricional de las plantas de banano en los tres niveles de población de malezas. Para el muestreo foliar se seleccionaron tres plantas por parcela, de cada tratamiento y de cada una de las tres repeticiones. Las muestras por tratamiento fueron mezcladas para obtener así una muestra homogénea de cada uno.

La fertilización del cultivo en las parcelas en estudio se realizó según la recomendación comercial para el cultivo de banano utilizada en la zona. Para un mejor control de esta actividad durante los muestreos de la solución del suelo, la fertilización se realizó individualmente, aplicando a cada unidad de producción 100 g de una mezcla comercial que contenía 18,4% de nitrógeno, 23,4% de  $\text{K}_2\text{O}$ , 6% de  $\text{MgO}$  y 22% de azufre en forma de sulfatos.

En el Cuadro 3 se indican las épocas de fertilización y de toma de las muestras durante las nueve semanas de recolección de la solución del suelo con los lisímetros.

#### **Diseño experimental y análisis de los datos**

El tamaño de las parcelas de investigación fue de aproximadamente 150 m<sup>2</sup>, dispuestas en bloques completos al azar y seis repeticiones. Todas las determinaciones de lixiviados, las de crecimiento de las plantas y los análisis foliares se sometieron a un análisis de varianza. Mediante un análisis de varianza y prueba de Duncan se compararon las concentraciones de los lixiviados a las dos profundidades y en los tres niveles de cobertura.

La calificación semanal de la población de malezas se hizo mediante evaluación visual del porcentaje de cobertura, lo cual fue realizado por dos o tres per-

**Cuadro 3.** Semanas de lecturas de los lisímetros y de las fertilizaciones. Guácimo, Costa Rica.

|                             | N° semanas de la evaluación |   |   |   |   |   |   |   |   |
|-----------------------------|-----------------------------|---|---|---|---|---|---|---|---|
|                             | 1                           | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 |
| Semanas de fertilización    | x                           |   | x | x | x |   | x |   | x |
| Semanas de toma de muestras | x                           | x | x | x | x | x | x | x | x |

sonas con experiencia en dicha actividad. Tanto la calificación como los ajustes correspondientes a la población de malezas se hacían en toda la parcela.

Para la etapa final del estudio, las nueve semanas de lecturas con los lisímetros, la determinación de la población de malezas en cada parcela se hizo en ocho muestras de 0,25 x 0,25 m tomadas al azar en cada parcela. Esta observación no se realizó por especies sino por grupos: gramíneas, dicotiledóneas y ciperáceas.

Algunos problemas con el manejo de la cosecha no permitió registrar los rendimientos del cultivo.

## Resultados y discusión

### Variaciones en la población de malezas durante el año

El seguimiento de la población de malezas durante tres años permitió determinar las variaciones en el tiempo. Los cambios en la población de malezas, no solo fueron del tipo de especies, sino también de su densidad y tasa de crecimiento. Las especies que alcanzaron mayor presencia no lo hicieron simultáneamente; por el contrario, esto ocurrió en diferentes épocas del año y la mayor densidad fue determinada en un tiempo específico. La población en general, tendió a disminuir su densidad a finales de año y principios del siguiente. Las evaluaciones semanales de la población, para el manejo de los niveles de cobertura establecidos, permitieron observar diferencias en el vigor de crecimiento de algunas especies durante el año. Así por ejemplo, desde los últimos días de noviembre hasta los primeros de marzo, la población de las especies dominantes redujo notoriamente su velocidad de crecimiento y la frecuencia de las prácticas de control fueron menores. A partir de mayo y hasta setiembre la población alcanzó su mayor grado de crecimiento y aumentó mayor frecuencia de los ciclos de control. En las parcelas donde se tenían niveles bajos de cobertura (40% o menos), con la especie dominante *P. paniculatum* fue necesario el control semanal, y en algunas oportunidades, el uso de dosis reguladas de glifosato. Posiblemente, las condiciones de luz, temperatura y humedad imperantes en esa época del año

son los factores climáticos que favorecen el crecimiento de esta maleza.

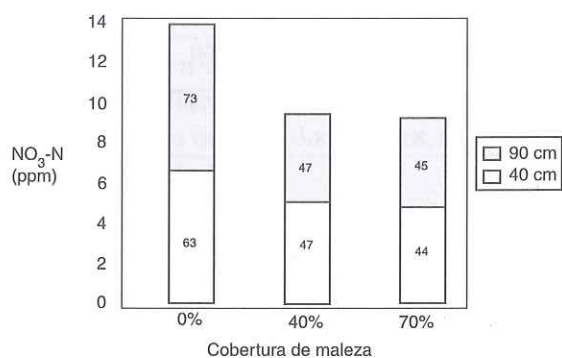
Según los resultados anteriores, es necesario que en las actividades de manejo de la población de malezas en plantaciones de banano se consideren las variaciones determinadas. Además las frecuencias de los ciclos de control y las prácticas de manejo se deben ajustar al tiempo. Si se requiere el uso de herbicidas, éstos deben alternarse durante el año, dependiendo del tipo de malezas dominantes en la época y del vigor de crecimiento observado.

### Lixiviado de nutrimentos en la solución de suelo

Se terminaron variaciones importantes en la concentración de nutrimentos en las parcelas con diferentes niveles de cobertura de malezas y para las dos profundidades evaluadas (Cuadro 4).

La concentración de nitratos en los lixiviados obtenidos a 40 y 90 cm de profundidad fue alta. Sin embargo, la concentración de este elemento disminuyó en los tratamientos con mayor cobertura de malezas. Sin cobertura de malezas, la mayor concentración de nitratos se determinó a los 90 cm de profundidad (Fig. 1). Esto muestra la gran movilidad de nitrógeno en el perfil del suelo y su facilidad para lixiviarse en las aguas de drenaje, favoreciendo su pérdida del sistema y provocando su arrastre y contaminación a las zonas de drenaje.

El potasio fue el segundo elemento con mayor movilidad y concentración en los lixiviados (Fig. 2). La concentración de calcio y de magnesio fue similar en los lixiviados, siendo menor que el nitrógeno y el potasio (Fig. 3 y 4). Las concentraciones de calcio y de magnesio, en ambas profundidades variaron significativamente por efecto del nivel de cobertura de malezas. El análisis de los lixiviados mostró mayor concentración de los elementos estudiados en las parcelas donde no había cobertura de maleza (Cuadro 4). En las parcelas que permanecieron con una cobertura de malezas del 70% durante los tres años anteriores, las concentraciones de los elementos estudiados fueron mucho más bajas que en las parcelas con otros niveles



**Figura 1.** Concentración de N-NO<sub>3</sub> (a) y K (b) en la solución de suelo, a dos profundidades y bajo tres niveles de cobertura de malezas, en el cultivo de banano. Guácimo, Costa Rica.

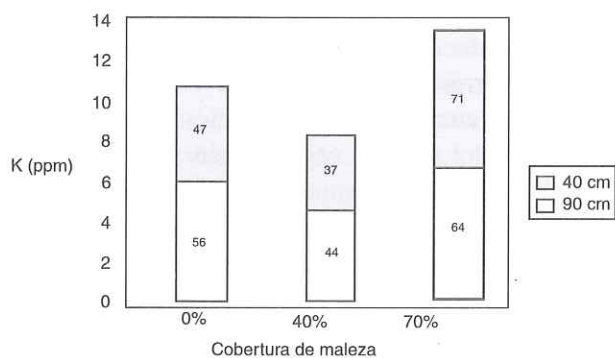
de coberturas, excepto para el potasio, para el cual se registraron valores muy variables durante las nueve semanas de muestreos (Fig. 2). El cultivo de banano es un gran extractor de potasio y como el mayor volumen de raíces absorbentes se encuentran en los primeros 40 cm de profundidad, es posible que la dinámica de este elemento en el suelo requiere de mediciones más frecuentes y precisas para determinar su movimiento en este perfil.

Además la precipitación fluctuó considerablemente, por lo cual sería necesario que las mediciones se realizaran de acuerdo a la presencia de las lluvias. La textura gruesa del suelo donde se realizó el estudio también favoreció la movilidad del fertilizante.

En las lecturas semanales de los lisímetros se presentaron variaciones que no pudieron ser explicadas con base en las épocas de fertilización, los períodos de lluvias o la interacción de estos dos factores. Como se aprecia en el Cuadro 3, la aplicación de los fertilizantes se hizo durante las semanas uno, tres, cuatro, cinco,

siete y nueve del período de lectura de los lisímetros.

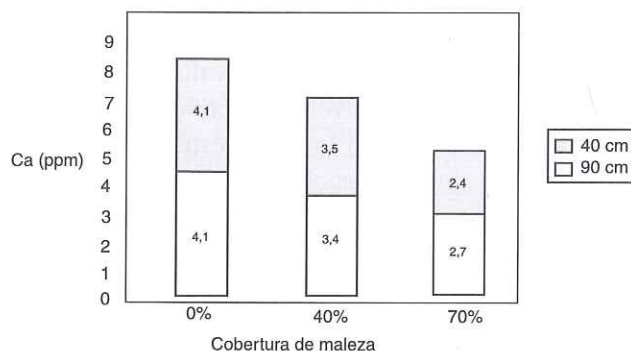
El nitrógeno mostró gran dinamismo en el perfil del suelo a 40 cm de profundidad y para los tres niveles de cobertura de malezas (Fig.5) debido a la aplicación de dosis relativamente altas y sus posibles pérdidas con el consecuente fenómeno de contaminación de aguas de drenaje. El aumento en la concentración de nitratos en la semana quinta está relacionado con la aplicación de fertilizantes en la semana cuatro, lo cual coincidió con el inicio del período de lluvia, o podría deberse a un error de muestreo. Además, como el estudio se hizo en un campo comercial, la semana cinco se vio interrumpida o afectada por movimientos o interferencias en los lisímetros, por lo cual no se registra el valor para esa semana. Por tanto, para efectos del análisis y discusión se consideraron los resultados de las ocho semanas restantes. A partir de la semana sexta, con el aumento de las lluvias, las concentraciones de nitratos a los 40 cm de profundidad aumentaron, principalmente en las parcelas sin cobertura de



**Figura 2.** Concentraciones de N-NO<sub>3</sub> en la solución del suelo a dos profundidades y bajo tres diferentes porcentajes de cobertura por malezas, en el cultivo de banano. Guácimo, Costa Rica.

**Cuadro 4.** Nutrientes (ppm) en el suelo, promedio de las nueve semanas, para los tres niveles de cobertura de malezas y a dos profundidades en el perfil del suelo. Guácimo, Costa Rica.

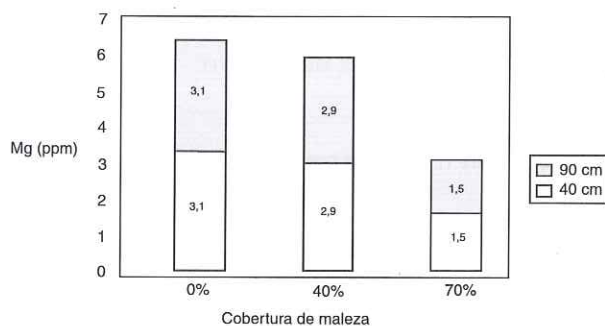
| Profundidad (cm)<br>y cobertura (%) | Nutrientes y concentración (ppm) |        |          |          |
|-------------------------------------|----------------------------------|--------|----------|----------|
|                                     | Potasio                          | Calcio | Magnesio | Nitratos |
| <b>40 cm</b>                        |                                  |        |          |          |
| 0%                                  | 4,7                              | 4,1    | 3,1      | 62,4     |
| 40%                                 | 3,7                              | 3,5    | 2,9      | 46,8     |
| 70%                                 | 7,1                              | 2,4    | 1,5      | 43,9     |
| <b>90 cm</b>                        |                                  |        |          |          |
| 0%                                  | 5,6                              | 4,1    | 3,4      | 72,6     |
| 40%                                 | 4,4                              | 3,4    | 2,7      | 77,4     |
| 70%                                 | 6,4                              | 2,7    | 1,8      | 44,8     |



**Figura 3.** Concentración de Ca en la solución del suelo, a dos profundidades y bajo tres porcentajes de cobertura de malezas, en el cultivo de banano. Guácimo, Costa Rica.

malezas. La concentración de este elemento en la parcela con 70% de cobertura de malezas fue la más baja (Fig. 6). El contraste entre las concentraciones de  $N-NO_3$  en la parcela sin cobertura de malezas y la parcela con un 70% de cobertura podría explicarse por la absorción que el sistema radical de las malezas hace del  $N-NO_3$  lixiviado con las aguas que se percolan, absorbiéndolo e incorporándolo en su biomasa y posteriormente, liberándolo nuevamente al suelo en forma gradual por la descomposición lenta de la materia orgánica. Por tanto, estaría menos expuesto al lavado rápido con el agua de drenaje. Seyfried y Rao (1991) señalan que un sistema radical diversificado puede aumentar el tiempo de retención de los lixiviados.

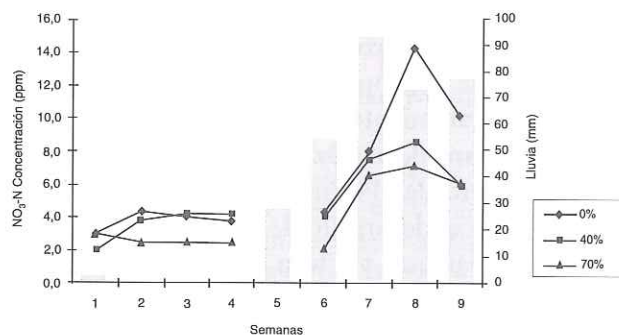
Las concentraciones de nitratos a los 90 cm de profundidad en el perfil del suelo, para los tres niveles de cobertura de malezas se presentan en la figura 6. Similar a lo determinado para la profundidad de 40 cm, la concentración aumentó a partir de la semana



**Figura 4.** Concentraciones de Mg en la solución del suelo a tres profundidades y bajo tres coberturas de malezas, en el cultivo de banano. Guácimo, Costa Rica.

cinco, favorecido quizás por las lluvias y por los períodos de fertilización. Las mayores concentraciones de nitratos se obtuvieron en las parcelas sin cobertura de malezas, las más bajas en las parcelas con un 70% de cobertura y los valores intermedios en las parcelas con un 40% de cobertura.

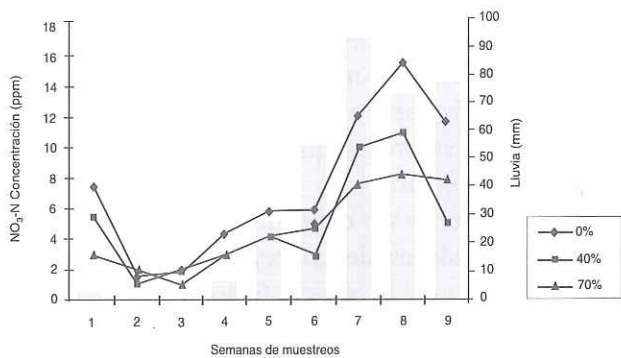
El tratamiento sin cobertura de malezas alcanzó los mayores valores de concentración de  $(N-NO_3)$  (158 ppm), favorecido por el efecto de la alta precipitación y la carencia de cobertura de malezas. Un comportamiento similar se observó con el tratamiento de 40% de cobertura, determinándose un aumento en la concentración desde el inicio de la aplicación del fertilizante nitrogenado, pero siendo la concentración de este elemento menor que en los tratamientos sin malezas. Las mayores fluctuaciones a través del tiempo y



**Figura 5.** Concentración de  $N-NO_3$  a 40 cm de profundidad en el cultivo de banano. Guácimo, Costa Rica

las concentraciones más altas se registraron en las parcelas sin malezas, mientras que estos valores fueron más bajos para las parcelas con 70% de cobertura. Con base en estos resultados se podría considerar que las malezas juegan un papel importante en la retención de nutrientes, que de otra manera se pierden por lixiviación. Esto se aprecia también cuando se comparan las variaciones en las concentraciones de los lixiviados a los 40 y 90 cm. Las variaciones son más amplias con niveles de cobertura de malezas más bajos. La mayor estabilidad de sus nutrientes a 40 cm de profundidad, que corresponde a la zona de mayor concentración de raíces, tanto de malezas como del cultivo, posiblemente contribuye a su mejor utilización por el sistema.

Las diferencias para los valores de  $(N-NO_3)$  determinados para los tratamientos de diferentes pobla-



**Figura 6.** Variaciones semanales del N-NO<sub>3</sub> en la solución del suelo o 90 cm de profundidad y bajo tres porcentajes de cobertura por malezas en el cultivo de banano. Guácimo, Costa Rica.

ciones de malezas fueron significativos en ambas profundidades del suelo.

#### Nivel de nutrición y crecimiento del cultivo con diferentes niveles de cobertura de malezas

A pesar de que se propuso registrar la cosecha de banano, en los tratamientos correspondientes a los niveles de cobertura de malezas, no fue posible por ser parcelas comerciales. Por tanto, el efecto de los tratamientos sobre el desarrollo del cultivo se basó en las medidas de diámetro y altura de cinco plantas seleccionadas al azar en cada parcela. Esta evaluación se realizó un año antes a la del estudio de los lixiviados, y no se observó ninguna diferencia entre tratamientos sobre el desarrollo del cultivo (altura y diámetro) que pueda interpretarse como interferencia de las malezas en el cultivo.

Para determinar el efecto de los tratamientos en el desarrollo del cultivo también se realizó un análisis foliar de las plantas de banano de cada uno de los tratamientos de niveles de coberturas de malezas. Los elementos cuantificados en estos análisis foliares fueron N, K, Ca y Mg.

El tratamiento que presentó las mayores concen-

traciones de nutrimentos en el tejido foliar fue el de 40% de cobertura de malezas (Cuadro 5). En todos los tratamientos se determinaron valores para cada elemento mayores a los niveles críticos de nutrición, lo cual indica que el cultivo tenía un estado nutricional adecuado. Las diferencias observadas entre los tratamientos no fueron estadísticamente significativas, pero si parece existir una tendencia hacia menores niveles de nutrimentos en las parcelas sin cobertura de malezas.

La retención de los nutrimentos por las malezas, su incorporación en la biomasa y su posterior liberación gradual, más que competencia por dichos nutrimentos, constituiría entonces una función de las malezas en el cultivo de banano, en condiciones similares a las de este estudio. Además, la misma presencia de las raíces de las malezas en dicha zona podrían jugar un papel importante en la actividad de las micorrizas, que normalmente pueden ser pobre en el sistema.

Es importante considerar que la retención de los iones en la zona de raíces por las malezas puede ser de mayor contribución en suelos de textura con más contenido de arcillas y limos con respecto a la de los suelos en los que se realizó esta investigación.

#### Conclusiones

El cultivo del banano, en ciertas condiciones en el trópico húmedo, podría crecer asociado con un alto porcentaje de cobertura de malezas sin efectos negativos en su crecimiento, ni en su nivel de nutrición. Esta cobertura puede ayudar a retener de los lixiviados los nutrimentos aplicados al cultivo, y reducir el lavado de éstos en el perfil del suelo. La mayor retención de N-NO<sub>3</sub> se dio en presencia de cobertura de malezas. El manejo de la cobertura de malezas puede incrementar el tiempo de retención de los nutrimentos aplicados con los fertilizantes dentro de la zona de mayor densidad de raíces del cultivo.

**Cuadro 5.** Porcentaje de N, K, Ca y Mg a nivel foliar en plantas de banano, bajo tres niveles de cobertura de malezas. Guácimo, Costa Rica.

| Nutrimento | Nivel de cobertura de malezas (%) |      |      |
|------------|-----------------------------------|------|------|
|            | 0                                 | 40   | 70   |
| N          | 2,6                               | 3,6  | 3,1  |
| K          | 3,00                              | 3,14 | 3,08 |
| Ca         | 0,62                              | 0,83 | 0,78 |
| Mg         | 1,00                              | 1,11 | 1,01 |



## Literatura consultada

- Addiscott TM; Wagenet, RJ. 1985. Concepts of solute leaching in soils: a review of modelling approaches. *Journal of Soil Science* 36: 411 – 124.
- Cameron, KC; Rate, AR; Nooman, MJ; Morre, S; Smith, NP; Kerr, E. 1996. Lysimeter study of the rate of nutrients following subsurface injection and surface application of dairy poud sludge to pasture. *Agric. Ecosyst. and Envirom* 58:187-197.
- Cavigelli, MA; Dening, RS; Krobyn, LK; Harwood, RR. Ed. 1998. Michigan Field Crop Ecology: Managing biological processes for productivity and environmental quality. Michigan State University Extension Bulletin E-2646. 92 p.
- Eriksen, J; Askegaard, M. 2000. Sulphate leaching in an organic crop rotation on Sandy Soil in Denmark. *Agric. Ecosyst. Envirom.* 87:107-114.
- Flores, CL. 1994. Pérdida de Cationes y Aniones en Suelos Bananeros de la Zona Atlántica de Costa Rica. In Reunión ACORBAT (11, 1994, San José, Costa Rica). Resúmenes.
- González, LG. 1989. Determinación de las pérdidas de aniones y cationes en el agua de drenaje subterráneo en un suelo bananero. Tesis Ing. Agr. San José, Costa Rica, Universidad de Costa Rica. 127 p.
- Imbach, A. 1987. Lixiviación de nutrimentos principales en cuatro sistemas agroforestales en cultivos perennes de Turrialba. Turrialba, Costa Rica, CATIE 167 p.
- Kabir, Z; Koide, RT. 2000. The effect of dandelion or a cover crop on mycorrhiza inoculum potential, soil aggregation and yield of maize. *Afric. Ecosyst. Environ.* 78: 167-174.
- Lahau, E; Torner, DW. 1992. Fertilización del banano para rendimientos altos. 2. ed. Sustituto de la potasa y el fósforo. Quito, Ecuador, TIP. Boletín N° 7
- López, A; Espinoza, S. 1995. Manual de Nutrición y Fertilización del Banano. Instituto de la potasa y el fósforo. Quito Ecuador. 81 p.
- Martin-Prevel, P. 1974. Les méthodes d'échantillonnage pour l'analyse foliaire du bananier. Résultats d'une enquête internationale et propositions en vue d'une référence commune. *Fruits* 29: 583-588.
- Rojas, M; de la Cruz, R. 1998. Control de malezas en banano (*Musa spp.*) mediante hojarasca del cultivo. *Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica)* 49:58-67
- Seyfried, MS; Rao PSC. 1991. Nutrient leaching loss from two contrasting cropping systems in the humid tropics. *Trop. Agric. (Trinidad & Tobago)* 68:9-17.
- Soil Science Society of America. 1979. Glossary of Soil Science Terms. Madison, Winconsin, SSSA. 37 p.
- Soto, M. 1992. Bananos. Cultivo y comercialización. 2 ed. San José, Costa Rica, Lil. 674 p.
- Stover, RH; Simmonds, NH. 1987. Bananas. New York, John Wiley & Sons.
- Stout, WL; Fales, SL; Muller, LD; Schnabel RR; Weaver, SR. 2000. Water quality implication of nitrate leaching from intensively grazed pasture sward in the northeast US. *Agriculture. Ecosystems and Environment* 77:203-210.
- Tabares, G; Fálquez, CA. 1997. Contenido nutricional y absorción de nutrientes en plantas de banano (*Musa AAA*), subgrupo "Cavendish" clon "Gran Enano" en diferentes etapas fenológicas de desarrollo. Trabajo de Graduación Guácimo, Costa Rica, EARTH 77 p.
- Tilman, D; Wedin, D; Knops, J. 1996. Productivity and sustainability influenced by biodiversity in grassland ecosystems. *Nature* 379: 718-720.
- Villalobos, C. 2000. Relación Micorrizas-Banano. *Investigación Al Día (Costa Rica)* 4:2-4.
- Williamson, JC; Taylor, MD; Torrens, RS; Vojuodic-Vukovic, M. 1998. Reducing nitrogen leaching from dairy farm effluent – irrigated pasture using dicyandiamide: a lysimeter Study. *Agric. Ecosyst. Envirom.* 69:81-88.

## Caracterización de aislamientos de *Beauveria bassiana* para el control de la broca del café

Patricia E. Vélez-Arango<sup>1</sup>  
María N. Estrada-Valencia<sup>1</sup>  
María T. González-García<sup>1</sup>  
Ana M. Valderrama-Fonseca<sup>1</sup>  
Alex E. Bustillo-Pardey<sup>1</sup>

**RESUMEN.** El conocimiento de la biología, fisiología y genética de los agentes de control biológico permite su selección para uso en programas de manejo integrado de insectos plaga. Con el objetivo de seleccionar variables que permitan la diferenciación de grupos de aislamientos de *Beauveria bassiana* para control de la broca del café, *Hypothenemus hampei*, se caracterizaron 17 aislamientos multiespóricos de este entomopatógeno. Se evaluaron las variables fisiológicas: mortalidad sobre la broca del café, producción de conidios, germinación y tasa de crecimiento diario de las colonias; la variable morfológica tamaño de conidios y las variables moleculares, evaluadas a través de la técnica RAPD's. Los grupos de aislamientos clasificados según el dendrograma del análisis molecular fueron comparados a su vez en las variables fisiológicas y morfológicas. En la clasificación de los grupos de aislamientos según criterios fisiológicos ninguna de las variables consideradas permitió la separación de los tres grupos de aislamientos; sin embargo, la clasificación molecular definió dos grupos de aislamientos según criterios morfológicos y fisiológicos. Dicha separación considera la procedencia geográfica, más que la naturaleza del hospedante sobre el cual se realizó el registro del aislamiento. El estudio realizado sugiere la utilización del criterio de caracterización molecular para definir grupos de aislamientos para uso en el control de la broca del café. Posteriormente, se caracterizaron 77 aislamientos de *B. bassiana* evaluando el comportamiento molecular de los aislamientos y las variables fisiológicas mencionadas, a excepción de la tasa de crecimiento diario. En este grupo de 77 aislamientos, el dendrograma clasificó siete grupos de aislamientos que fueron estadísticamente comparados en las variables fisiológicas. La clasificación molecular mostró un grupo con similaridad en lo que respecta a su fisiología, origen geográfico y hospedante, con aislamientos restringidos a la región cafetera central de Colombia y pertenecientes a familias de insectos del orden Coleoptera. El estudio sugiere la presencia de un genotipo geográficamente restringido al ataque de insectos del orden Coleoptera, pero distribuido posteriormente en el país, mediante insectos de diversos órdenes. La caracterización realizada permite identificar cepas, establecer relaciones entre éstas según biología y localidad, seleccionar genotipos determinados a partir de aislamientos circunscritos geográficamente a una región en particular, definir genotipos a partir de aislamientos con tendencia al ataque de un hospedante en particular y con potencial para el control biológico de la broca y de otros insectos de importancia económica en Colombia.

**Palabras clave:** *Beauveria bassiana*, *Hypothenemus hampei*, Control biológico, Caracterización de aislamientos.

**ABSTRACT.** Characterisation of *Beauveria bassiana* isolates for the control of coffee berry borer. Knowledge of the biology, physiology and genetics of biological control agents allows their selection for use in integrated pest management programmes. Seventeen multispore isolates of the fungus *B. bassiana* were characterised with the aim of selecting variables that allow differentiation of groups of isolates of the entomopathogen for control of the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei*. The physiological variables: mortality of the coffee berry borer, production of conidia, germination and rate of daily colony growth; the variable morphological size of conidia and the molecular variables evaluated through the RAPD technique; were evaluated. The groups of isolates classified according to a dendrogram of the molecular analysis were compared in turn with the physiological and morphological variables. In the classification of the groups of isolates according to physiological criteria none of the considered variables allowed the separation of the three groups of isolates; however the molecular classification defined two groups of isolates according to morphological and physiological criteria. This separation considers geographic origin, more than the locality of the host on which the isolate was recorded. This study suggests using molecular characterisation criteria to define groups of isolates for the control of coffee berry borer. Furthermore 77 isolates of *B. bassiana* were characterised evaluating the molecular behaviour of the isolates and the physiological variables mentioned, with the exception of the daily colony growth rate. In this group of 77 isolates, the dendrogram classified seven groups of isolates that statistically compared the physiological variables. The molecular classification revealed

<sup>1</sup>Centro Nacional de Investigaciones de Café, CENICAFÉ. Chinchiná, Caldas, Colombia.

one group with similarity in respect to physiology, geographic origin and host, with isolates restricted to the central coffee region of Colombia and belonging to insect families of the order Coleoptera. The study indicates the presence of one genotype geographically restricting the attack of insects to the order Coleoptera but distributed further in the country, through insects of diverse orders. This characterisation makes it possible to identify strains, to establish relations between them according to biology and locality, to select genotypes determined from isolates geographically restricted from a particular region, to define genotypes from isolates which tend to attack a particular host and with potential for the biological control of the coffee berry borer and other insects of economic importance in Colombia.

**Key words:** *Beauveria bassiana*, *Hypothenemus hampei*, Biological control, Isolates characterization.

## Introducción

La broca del café *Hypothenemus hampei* (Ferrari), (Coleoptera: Scolytidae) es actualmente el insecto que causa mayor daño al cultivo del café porque ataca la almendra, donde puede reproducirse (Murphy y Moore 1990). *H. hampei* es el insecto plaga de mayor importancia económica en Colombia y en la mayoría de los países productores de café. Desde su detección en Colombia, en 1988, la Federación de Cafeteros a través de Cenicafe ha promovido la investigación de alternativas de control, dentro de un programa de manejo integrado. El control biológico con parasitoides y con el hongo *Beauveria bassiana* constituye un método promisorio de control, teniendo en cuenta que los insectos del orden Coleoptera son conocidos por su susceptibilidad al ataque de entomopatógenos; además, constituye una alternativa al uso de plaguicidas sintéticos que afectan la salud humana y animal (Bustillo y Posada 1996).

La eficiencia de los agentes de control biológico usados en programas de manejo integrado de insectos plaga, depende del conocimiento de su biología, fisiología y genética, del ambiente en el cual se aplican y de los mecanismos de interacción de éstos con el hospedante (Hokkanen y Pimentel 1984, Prior 1992, Hajek y St. Leger 1994). Cenicafe cuenta actualmente con una colección de hongos entomopatógenos conformada por 131 aislamientos de *B. bassiana* de diversos países y órdenes de insectos (Posada y Vélez 1997). En 1996 se inició un estudio de caracterización de estos aislamientos, cofinanciado por el Instituto Colombiano de Ciencia y Tecnología (Colciencias), con el propósito de seleccionar cepas mejoradas de *B. bassiana* y *M. anisopliae* para uso en programas de manejo integrado de la broca. (Valderrama *et al.* 1998, Vélez *et al.* 1999).

El objetivo de este trabajo fue la evaluación morfológica, fisiológica y molecular de dos grupos de ais-

lamientos de la colección, un grupo inicial conformado por 17 aislamientos y otro por 77, con el fin de seleccionar características que permitan establecer diferencias entre éstos, definir grupos según localidad y hospedante y determinar especificidad de hospedantes.

## Materiales y métodos

La caracterización morfológica, fisiológica y molecular de aislamientos de *B. bassiana* se realizó en dos etapas, en la primera se caracterizaron 17 aislamientos y en la segunda 77 aislamientos.

### Aislamientos

Los aislamientos fueron cultivados en Sabouraud Dextrosa Agar (SDA) durante 15 días a 25°C y posteriormente activados mediante la broca del café (Vélez *et al.* 1997).

El grupo de 17 aislamientos y el de 77 de *B. bassiana*, se relaciona en el Cuadro 1 y Cuadro 2, respectivamente, con el número de código, hospedante y localidad.

### Caracterización morfológica

La caracterización morfológica se realizó mediante la evaluación del tamaño de conidios, para lo cual se utilizaron láminas portaobjetos con gotas de una suspensión de concentración conocida de conidios ( $1 \times 10^6$  con/ml) de cada uno de los aislamientos a evaluar, en Tween 80 al 1%. Con la ayuda de un micrómetro incorporado al ocular del microscopio se evaluaron en total 100 conidios por aislamiento, usando un objetivo 100x (Glare e Inwood 1998, Vélez *et al.* 1999). El tamaño de los conidios se midió en micras.

### Caracterización fisiológica

La caracterización fisiológica se realizó mediante la evaluación de las variables o parámetros considera-

**Cuadro 1.** Origen, hospedante, grupo de clasificación (morfológico, fisiológico y molecular) y promedio individual de los aislamientos en las variables fisiológicas evaluadas (Grupo de 17 aislamientos).

| Aislam. Origen | Hospedante      | Grupo |        | Tamaño<br>conidias |      | Mortalidad<br>broca |                        | Producción<br>de conidias |      | Tasa diaria |      | Germinación |       |       |
|----------------|-----------------|-------|--------|--------------------|------|---------------------|------------------------|---------------------------|------|-------------|------|-------------|-------|-------|
|                |                 | Morf. | Fisio. | Molec.             | (TC) | (PPB) %             | (C) (10 <sup>8</sup> ) | (cm)                      | (PG) | Tasa diaria |      | Germinación |       |       |
|                |                 |       |        |                    |      |                     |                        |                           |      | x           | x    | x           | x     |       |
| Bb 9005        | Nariño, Col.    | 1     | 1      | 1                  | 2,04 | 6,30                | 78,28                  | 12,76                     | 23   | 47,05       | 0,19 | 6,42        | 78,40 | 1,45  |
| Bb 9008        | Magdalena, Col. | 2     | 1      | 1                  | 2,42 | 16,91               | 77,50                  | 12,35                     | 14   | 46,64       | 0,18 | 15,90       | 87,00 | 5,86  |
| Bb 9010        | Colombia        | 3     | 3      | 1                  | 2,62 | 12,10               | 15,00                  | 38,49                     | 5    | 111,20      | 0,18 | 12,0        | 86,40 | 3,80  |
| Bb 9012        | Antioquia, Col. | 3     | 1      | 1                  | 2,75 | 9,13                | 91,63                  | 3,65                      | 5    | 56,68       | 0,34 | 18,53       | 84,00 | 6,07  |
| Bb 9021        | Ecuador         | 2     | 1      | 1                  | 2,39 | 9,67                | 91,63                  | 7,00                      | 11   | 69,97       | 0,19 | 7,91        | 80,00 | 1,25  |
| Bb 9023        | Filipinas       | 1     | 1      | 2                  | 2,17 | 16,75               | 61,65                  | 42,65                     | 23   | 68,05       | 0,17 | 22,89       | 82,40 | 5,46  |
| Bb 9101        | Nariño, Col.    | 1     | 3      | 1                  | 2,04 | 6,30                | 31,65                  | 43,34                     | 16   | 59,62       | 0,14 | 31,70       | 73,20 | 3,26  |
| Bb 9108        | Antioquia, Col. | 1     | 3      | 1                  | 2,07 | 10,37               | 15,00                  | 66,66                     | 3    | 80,76       | 0,19 | 5,62        | 83,20 | 3,22  |
| Bb 9116        | Risaralda, Col. | 2     | 1      | 1                  | 2,43 | 10,18               | 95,00                  | 10,52                     | 12   | 65,05       | 0,18 | 5,56        | 77,80 | 1,07  |
| Bb 9117        | Valle, Col.     | 1     | 1      | 1                  | 2,11 | 12,41               | 73,32                  | 7,42                      | 10   | 48,25       | 0,19 | 4,62        | 80,20 | 2,04  |
| Bb 9120        | Risaralda, Col. | 1     | 3      | 1                  | 2,26 | 11,57               | 11,65                  | 71,96                     | 27   | 72,82       | 0,22 | 8,65        | 91,60 | 8,65  |
| Bb 9204        | Santander, Col. | 1     | 1      | 1                  | 2,12 | 10,12               | 90,00                  | 12,83                     | 2    | 51,58       | 0,17 | 3,66        | 89,80 | 2,14  |
| Bb 9207        | Risaralda, Col. | 3     | 1      | 1                  | 2,61 | 11,73               | 86,65                  | 8,86                      | 3    | 58,90       | 0,17 | 14,96       | 74,00 | 3,93  |
| Bb 9209        | Antioquia, Col. | 2     | 1      | 1                  | 2,44 | 10,66               | 64,98                  | 39,63                     | 7    | 83,69       | 0,28 | 18,77       | 75,40 | 4,83  |
| Bb 9212        | Risaralda, Col. | 2     | 1      | 1                  | 2,39 | 12,46               | 86,63                  | 12,58                     | 5    | 80,65       | 0,35 | 8,01        | 93,60 | 3,51  |
| Bb 9305        | Huila, Col.     | 2     | 1      | 1                  | 2,37 | 9,30                | 53,30                  | 10,26                     | 22   | 64,07       | 0,20 | 11,72       | 85,80 | 8,29  |
| Bb 9416        | Risaralda, Col. | 2     | 2      | 1                  | 2,53 | 10,05               | 65,00                  | 15,38                     | 21   | 32,76       | 0,37 | 18,15       | 27,60 | 13,21 |

**Cuadro 2.** Hospedante, localidad y código de los aislamientos del hongo *B. bassiana* evaluados en el grupo de 77 aislamientos.

| Hospedante                      | Localidad             | Aislamiento | Hospedante                     | Localidad             | Aislamiento |
|---------------------------------|-----------------------|-------------|--------------------------------|-----------------------|-------------|
| Coleoptera Scolytidae           |                       |             | <i>Hypothenemus hampei</i>     | Quindío, Colombia     | Bb 9118     |
| <i>Hypothenemus hampei</i>      | Nariño, Colombia      | Bb 9001     | <i>Hypothenemus hampei</i>     | Risaralda, Colombia   | Bb 9119     |
| <i>Hypothenemus hampei</i>      | Nariño, Colombia      | Bb 9002     | <i>Hypothenemus hampei</i>     | Risaralda, Colombia   | Bb 9120     |
| <i>Hypothenemus hampei</i>      | Nariño, Colombia      | Bb 9003     | <i>Hypothenemus hampei</i>     | Quindío, Colombia     | Bb 9202     |
| Coleoptera Curculionidae        |                       |             | <i>Hypothenemus hampei</i>     | Putumayo, Colombia    | Bb 9203     |
| <i>Premnotripex vorax</i>       | Colombia              | Bb 9004     | Lepidoptera Stenomidae         |                       |             |
| Desconocido                     | Nariño, Colombia      | Bb 9005     | <i>Antaeotricha</i> sp.        | Santander, Colombia   | Bb 9204     |
| Coleoptera Scarabaeidae         | Antioquia, Colombia   | Bb 9007     | Lepidoptera Pyralidae          |                       |             |
| Hemiptera Tingidae              |                       |             | <i>Diatraea saccharalis</i>    | Valle Cauca, Colombia | Bb 9205     |
| <i>Leptopharsa gibbicarina</i>  | Magdalena, Colombia   | Bb 9008     | <i>Hypothenemus hampei</i>     | Valle Cauca, Colombia | Bb 9206     |
| Lepidoptera Noctuidae           |                       |             | <i>Hypothenemus hampei</i>     | Risaralda, Colombia   | Bb 9207     |
| <i>Spodoptera frugiperda</i>    | Antioquia, Colombia   | Bb 9009     | <i>Hypothenemus hampei</i>     | Risaralda, Colombia   | Bb 9208     |
| <i>Hypothenemus hampei</i>      | Colombia              | Bb 9010     | Desconocido                    | Antioquia, Colombia   | Bb 9209     |
| Hemiptera Miridae               |                       |             | Desconocido                    | Desconocida           | Bb 9210     |
| <i>Monalonium disimulatum</i>   | Huila, Colombia       | Bb 9011     | <i>Hypothenemus hampei</i>     | Risaralda, Colombia   | Bb 9212     |
| <i>Hypothenemus hampei</i>      | Antioquia, Colombia   | Bb 9012     | <i>Hypothenemus hampei</i>     | Valle Cauca, Colombia | Bb 9213     |
| Desconocido                     | Filipinas             | Bb 9013     | <i>Hypothenemus hampei</i>     | Valle Cauca, Colombia | Bb 9215     |
| <i>Hypothenemus hampei</i>      | Brasil                | Bb 9014     | Coleoptera Curculionidae       |                       |             |
| Homoptera Delphacidae           |                       |             | <i>Metamasius hemipterus</i>   | Antioquia, Colombia   | Bb 9216     |
| <i>Nilaparvata lugens</i>       | China                 | Bb 9015     | Desconocido                    | Desconocida           | Bb 9217     |
| Desconocido                     | Tailandia             | Bb 9016     | <i>Cosmopolites sordidus</i>   | Colombia              | Bb 9218     |
| Desconocido                     | Tailandia             | Bb 9017     | Coleoptera Curculionidae       |                       |             |
| Lepidoptera Cossidae            |                       |             | <i>Rhynchophorus palmarum</i>  | Caldas, Colombia      | Bb 9301     |
| <i>Cossus cossus</i>            | Italia                | Bb 9018     | <i>Hypothenemus hampei</i>     | Huila, Colombia       | Bb 9305     |
| Lepidoptera Pyralidae           |                       |             | <i>Hypothenemus hampei</i>     | Antioquia, Colombia   | Bb 9307     |
| <i>Ostrinia furnacalis</i>      | China                 | Bb 9019     | Hymenoptera Apidae             |                       |             |
| <i>Nilaparvata lugens</i>       | Filipinas             | Bb 9020     | <i>Bombus</i> sp.              | Caldas, Colombia      | Bb 9308     |
| <i>Hypothenemus hampei</i>      | Ecuador               | Bb 9021     | Hemiptera Tingidae             |                       |             |
| Homoptera Cicadellidae          |                       |             | <i>Leptopharsa gibbicarina</i> | Santander, Colombia   | Bb 9312     |
| <i>Nephotettix cincticeps</i>   | China                 | Bb 9022     | Coleoptera Curculionidae       |                       |             |
| Coleoptera Scolytidae           |                       |             | <i>Anthonomus grandis</i>      | Caldas, Colombia      | Bb 9313     |
| <i>Drycoetes confusus</i>       | Canadá                | Bb 9024     | Lepidoptera Saturniidae        | Caldas, Colombia      | Bb 9316     |
| Coleoptera Scolytidae           |                       |             | Desconocido                    | Formulación comercial | Bb 9401     |
| <i>Ips</i> sp.                  | Canadá                | Bb 9025     | Lepidoptera Tortricidae        |                       |             |
| Desconocido                     | Filipinas             | Bb 9026     | <i>Cryptophlebia</i> sp.       | Quindío, Colombia     | Bb 9402     |
| <i>Nilaparvata lugens</i>       | China                 | Bb 9027     | <i>Hypothenemus hampei</i>     | Brasil                | Bb 9403     |
| Coleoptera Curculionidae        | Colombia              |             | Lepidoptera Tortricidae        |                       |             |
| <i>Cosmopolites sordidus</i>    |                       | Bb 9028     | <i>Cryptophlebia</i> sp.       |                       | Bb 9404     |
| Coleoptera Scarabaeidae         |                       |             | <i>Hypothenemus hampei</i>     | Risaralda, Colombia   | Bb 9407     |
| <i>Ancognatha scarabaeoides</i> | Nariño, Colombia      | Bb 9029     | Desconocido                    | Liofilizado, CIAT     | Bb 9409     |
| <i>Hypothenemus hampei</i>      | Nariño, Colombia      | Bb 9101     | <i>Hypothenemus hampei</i>     | Risaralda, Colombia   | Bb 9416     |
| <i>Hypothenemus hampei</i>      | Antioquia, Colombia   | Bb 9102     | <i>Hypothenemus</i> sp.        | Santander, Colombia   | Bb 9417     |
| <i>Hypothenemus hampei</i>      | Antioquia, Colombia   | Bb 9103     | Desconocido                    | Formulación comercial | Bb 9418     |
| Lepidoptera Lyonetiidae         |                       |             | Coleoptera Anthribidae         |                       |             |
| <i>Perileucoptera coffeella</i> | Quindío, Colombia     | Bb 9106     | <i>Araecerus fasciculatus</i>  | Caldas, Colombia      | Bb 9509     |
| Lepidoptera Bombycidae          |                       |             | Lepidoptera Megalopygidae      |                       |             |
| <i>Bombyx mori</i>              | Caldas, Colombia      | Bb 9107     | <i>Megalopyge orsilochus</i>   | Caldas, Colombia      | Bb 9510     |
| <i>Hypothenemus hampei</i>      | Antioquia, Colombia   | Bb 9108     | <i>Hypothenemus hampei</i>     | Valle Cauca, Colombia | Bb 9511     |
| Lepidoptera Geometridae         |                       |             | Lepidoptera Arctiidae          | Valle Cauca, Colombia | Bb 9601     |
| <i>Cargolia arana</i>           | Caldas, Colombia      | Bb 9112     | Coleoptera Coccinellidae       |                       |             |
| <i>Hypothenemus hampei</i>      | Huila, Colombia       | Bb 9114     | <i>Curinus</i>                 | Valle Cauca, Colombia | Bb 9602     |
| <i>Hypothenemus hampei</i>      | Risaralda, Colombia   | Bb 9116     | Coleoptera Curculionidae       |                       |             |
| <i>Hypothenemus hampei</i>      | Valle Cauca, Colombia | Bb 9117     | <i>Compsus</i> sp.             | Quindío, Colombia     | Bb 9604     |

dos, en forma rutinaria, en el control de calidad de formulaciones de hongos entomopatógenos (Vélez *et al.* 1997) y se describen a continuación:

**Viabilidad.** Se midió como porcentaje de germinación de las conidios en agar SDA. Siete alícuotas de cinco microlitros de una suspensión de conidios de concentración  $1 \times 10^6$  con/ml fueron depositadas en cada caja de Petri, para un total de 10 repeticiones por aislamiento. Las cajas fueron incubadas de 24 a 48 h, a 25°C. Posteriormente, se realizó la evaluación microscópica de los conidios germinados. El porcentaje de germinación se determinó mediante el conteo del número de conidios germinados en 100 campos por muestra, considerando como conidio germinado aquel cuyo tubo germinativo fue igual o mayor a su diámetro (Vélez *et al.* 1997).

**Porcentaje de mortalidad de broca en el tiempo.** Se tomaron 60 hembras de *H. hampei* y se dividieron en seis grupos, cada una fue colocada en un vial y mantenida a 27°C y 55% de humedad relativa. Los insectos fueron inoculados sumergiéndolos en una suspensión de conidios con una concentración de  $1 \times 10^7$  con/ml en agua destilada estéril más Tween 80 al 1%. Posteriormente, fueron colocados en un vial de vidrio (4 ml de volumen), el cual contenía una almendra de café con una humedad relativa de 45% y un disco de papel de filtro humedecido; el vial se selló con un tapón de algodón. Diariamente y durante 10 días se realizó una evaluación de los insectos en el microscopio estereoscópico, determinando la mortalidad diaria y la presencia de síntomas y signos de la infección causada por el hongo. Con los datos obtenidos se estimó el porcentaje de mortalidad y el tiempo en el cual el 50% de la población de insectos presentó mortalidad con la concentración evaluada ( $TL_{50}$ ) (González *et al.* 1993).

**Producción de conidios.** Los aislamientos fueron sembrados en cajas de Petri con medio SDA, con el fin de cuantificar la producción de conidios. A los 8, 15, 21 y 30 días de incubación, se preparó una suspensión con el contenido de las cajas de Petri, utilizando 5 ml de una solución acuosa de Tween 80 al 1% y a partir de ésta, se realizaron diluciones sucesivas en un factor de 10. El conteo de conidios por ml se realizó mediante un hemocitómetro o cámara de recuento de conidios. En cada medición se consideró el valor promedio de seis lecturas (Vélez *et al.* 1997). Se utilizaron diez

repeticiones por aislamiento y para cada repetición se consideró el promedio de seis lecturas.

**Crecimiento diametral.** El crecimiento diametral fue evaluado en cajas de Petri con medio SDA, inoculadas en el centro, con 5 microlitros de una suspensión de conidios con una concentración de  $1 \times 10^6$  con/ml. Las cajas se llevaron a una incubadora a una temperatura de 25°C. A partir del quinto día de la inoculación se midió el diámetro de crecimiento de la colonia cada dos días, por un período de 30 días para cada aislamiento (Vélez *et al.* 1999). Para el análisis de la información se consideró la tasa promedio de crecimiento diario de cada uno de los aislamientos evaluados.

#### Caracterización molecular

**Prueba Rapd's:** De cada uno de los aislamientos sembrados en SDA, se obtuvo micelio en medio líquido GYM (medio glucosa-extracto de levadura) incubando en agitación orbital (150 r.p.m.) a 25 °C durante 6 días. El micelio se recuperó por filtración al vacío utilizando papel filtro (Whatman No 1), lavando dos veces el micelio filtrado con agua ultrafiltrada estéril. Este se liofilizó y almacenó a -20°C hasta la extracción de ADN.

Para la extracción se utilizó una modificación del método de extracción con bromuro de acetil-trimetilbromuro de amonio (CTAB) (Zolan y Pukkila 1986). Se pesaron entre 50 y 100 mg del micelio liofilizado y se homogenizó adicionando nitrógeno líquido hasta obtener micelio pulverizado. A éste se le agregaron 5 ml del buffer de extracción (700 mM NaCl; 50 mM Tris-HCl pH 8,0; 10mM EDTA; 2% (p/v) CTAB; 1 % mercaptoetanol). Después de incubar durante 1 h a 60°C, se realizaron dos extracciones consecutivas con 5 ml de cloroformo:isoamilalcohol (24:1). El sobrenadante se recuperó después de centrifugar a 3500 r.p.m (15 min), se adicionaron 0,54 V de isopropanol y se recolectó el precipitado por centrifugación a 14000 r.p.m (15 min a 4°C). Este fue disuelto en 500 µl de buffer TE (10 mM Tris-HCl pH 8,0; 1 mM EDTA pH 8,0), se adicionaron 5 µl de ARNasa A (10 mg/ml) y se incubó por 1 h a 37°C. Después de la digestión del ARN se adicionaron 500 µl de cloroformo: isoamilalcohol (24:1) y se recuperó el sobrenadante después de centrifugar a 3500 r.p.m. por 15 min. El ADN se precipitó con 2 V de etanol absoluto, se recolectó por centrifugación a 3000 r.p.m (2-3 min, a 4°C) y se disolvió en 100 µl de buffer TE. Las extracciones se almacenaron

a  $-20^{\circ}\text{C}$  hasta su uso. Se realizaron como mínimo dos extracciones de ADN por aislamiento, que fueron utilizadas independientemente en las reacciones de amplificación (RAPD). Para determinar la pureza del ADN extraído se hizo mediante espectrofotometría un barrido entre  $A_{220-320}$  nm, determinando la absorbancia a  $A_{260}$  nm con la que se halló la concentración de ADN y se calculó la relación  $A_{260}/A_{280}$  para detectar la contaminación con proteínas. La integridad del ADN se analizó por medio de electroforesis en gel de agarosa al 0,8%, se coloreó con bromuro de etidio (0,5  $\mu\text{g/ml}$ ) y se observó con luz ultravioleta (Sambroock *et al.* 1989).

Para el grupo de los 17 aislamientos se evaluaron tres iniciadores universales aleatorios (MR, GAG GGT GGC GGT TCT; RY, CAG CAG CAG CAG CAG y 71 CGG CTT GGGT) (Gibco-BRL, Life Technologies). Teniendo en cuenta el polimorfismo observado previamente en aislamientos de *B. bassiana* (Valderrama *et al.* 1998), en el grupo conformado por 77 aislamientos se evaluaron cuatro iniciadores universales aleatorios: 14 (CGGCTTGGGT), 36 (TGCCGAGCTG), 42 (ACGGATCCTG) y 47 (ACTTCGC-CAC) (Gibco-BRL, Life Technologies). Las reacciones de amplificación se llevaron a cabo en 25 ml que contenían: 1,25  $\mu$  Taq ADN polimerasa (Gibco-BRL); 200  $\mu\text{M}$  de cada uno de los desoxiribonucleótidos (dCTP, dATP, dGTP, dTTP); 20 mM Tris-HCl pH 8,4; 50  $\mu\text{M}$  KCl; 1,75 mM  $\text{MgCl}_2$ ; 0,6  $\mu$  M iniciador; aproximadamente 50 ng de ADN y agua ultrafiltrada.

La amplificación se realizó en un termociclador MJ-Research PTC-200 con el siguiente programa: una desnaturalización inicial a  $94^{\circ}\text{C}$  por 5 min; seguido por 40 ciclos de 1 min a  $94^{\circ}\text{C}$ , 1 min a  $36^{\circ}\text{C}$ , 2 min a  $72^{\circ}\text{C}$ ; y un último ciclo de extensión a  $72^{\circ}\text{C}$  por 5 min. Se utilizó un control negativo para las reacciones de amplificación, que contenía todos los componentes, excepto el ADN que fue sustituido por agua. Todas las reacciones de amplificación se realizaron como mínimo dos veces utilizando como plantilla el ADN obtenido en dos extracciones independientes, con el objetivo de evaluar la capacidad de reproducción en los patrones de bandeado electroforético.

Los productos de la amplificación se analizaron por medio de electroforesis en gel de agarosa al 1,5 % usando 1X del buffer Tris-Borato-EDTA (TBE) y se corrió durante 2 h a 60V. Los geles se tiñeron con bromuro de etidio y se visualizaron con luz UV.

Con las fotografías de los geles de electroforesis

se verificó la capacidad de reproducción de las bandas y sólo se tomaron en cuenta bandas reproducibles y de fuerte intensidad. El polimorfismo del ADN se identificó cuando se presentaba una banda en un aislamiento, pero estaba ausente en otro. Se elaboró una matriz de datos asignando el valor de 1 cuando estuviera la banda presente y 0 cuando estuviera ausente. Con esta matriz se calculó el coeficiente de similitud de Jaccard ( $S$ ) expresado como:  $S_{ij} = a / a+b+c$ . Donde  $S_{ij}$  es la similitud entre 2 aislamientos,  $i$  y  $j$ ;  $a$  es el número de bandas presentes en los dos aislamientos  $i$  y  $j$ ;  $b$  es el número de bandas presentes en  $i$  y ausentes en  $j$ ; y  $c$  es el número de bandas presentes en  $j$  y ausentes en  $i$ . Este coeficiente de similitud excluye bandas ausentes en dos aislamientos, ya que la mutua ausencia no puede ser atribuida a una causa común y por consiguiente a similitud (Nei y Li 1979). Con este coeficiente se calculó la distancia genética  $D$  con la siguiente ecuación:  $D_{ij} = 1 - S_{ij}$ . Con base en la matriz de distancia genética se elaboró un dendrograma, usando el método de agrupamiento no ponderado para grupos pares UPGMA (Sneath y Sokal 1973). Los cálculos de coeficientes de similitud, distancia genética y dendrogramas fueron realizados con el programa Similit (SAS versión 6.12.).

En el estudio de caracterización de los primeros 17 aislamientos, se evaluaron las variables fisiológicas: mortalidad sobre la broca del café, producción de conidias, germinación y tasa de crecimiento diario de las colonias; la variable morfológica tamaño de conidias y las variables moleculares, evaluadas con la técnica RAPD's mediante el uso de iniciadores universales. En el grupo conformado por 77 aislamientos de *B. bassiana* se evaluaron todas las variables anteriores, excepto la tasa de crecimiento diario de las colonias.

### Análisis estadístico

Para el análisis de la información, se identificaron las variables que determinan los aspectos morfológicos, fisiológicos y moleculares. Se procedió a la separación de las variables en tres grupos: morfológicas, a través de la evaluación del tamaño de conidias; fisiológicas, mediante la evaluación del porcentaje de mortalidad sobre la broca del café, porcentaje de germinación, tasa de crecimiento diario, conteo de conidias y las variables moleculares, mediante el empleo de la técnica Rapd's utilizando iniciadores universales.

Las variables moleculares fueron evaluadas mediante el coeficiente de Jackard, usado para calcular la

distancia genética y el dendrograma fue elaborado mediante el método UPGMA. Los grupos de aislamientos clasificados en el dendrograma fueron comparados estadísticamente en las variables fisiológicas.

## Resultados y discusión

### Grupo de 17 aislamientos

Del conjunto de variables fisiológicas evaluadas en los 17 aislamientos de *B. bassiana*, el análisis multivariado mostró que los componentes que más contribuyen a la variación total son en orden de importancia: el porcentaje de germinación, la tasa de crecimiento diario, la producción de conidias y la mortalidad sobre broca. Por tanto, en este grupo de aislamientos, las variables porcentaje de germinación y tasa de crecimiento diario explican mejor la variación entre los aislamientos.

El dendrograma obtenido con base en el análisis de las variables moleculares permitió la clasificación de dos grupos de aislamientos. El grupo 1 conformado por 16 aislamientos y el grupo 2 conformado por un aislamiento (Fig. 1).

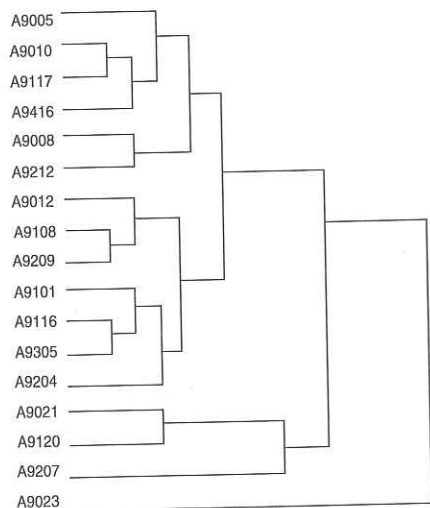


Figura 1. Dendrograma de los 17 aislamientos de *B. bassiana*, según las variables moleculares (Distancias: Jackard, 1908 - Método Cluster: UPGMA).

El análisis de las variables fisiológicas: mortalidad sobre la broca del café, porcentaje de germinación, producción de conidias y tasa de crecimiento diario, permitió la clasificación de tres grupos de aislamientos en una forma descriptiva, según el dendrograma (Cuadro 1). El grupo 1 conformado por 12 aislamientos, el grupo 2 conformado por un aislamiento y el grupo 3 constituido por cuatro aislamientos (Fig. 2).

El aislamiento del grupo 2, obtuvo el mayor promedio de tasa de crecimiento diario, siendo estadísticamente diferente a los grupos 1 y 3 ( $P < 0,05\%$ ); los cuales no fueron diferentes estadísticamente entre sí (Cuadro 3).

El menor promedio de porcentaje de germinación fue el del grupo 2, siendo diferente estadísticamente a los grupos 1 y 3; los cuales no mostraron diferencia estadísticamente entre ellos ( $P < 0,05\%$ ). El mayor promedio para esta variable fue determinada para los aislamientos del grupo 3 (Cuadro 3).

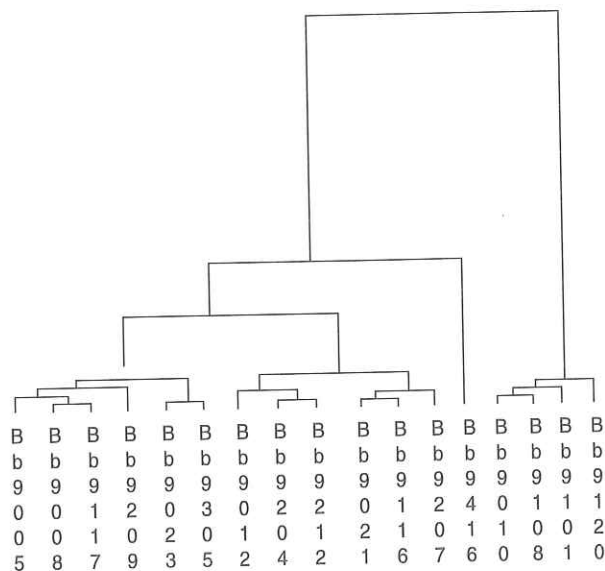


Figura 2. Dendrograma de los 17 aislamientos de *B. bassiana*, según variables fisiológicas evaluadas.

Los aislamientos del grupo 3, causaron la menor mortalidad de broca del café, siendo estadísticamente diferente a los grupos 1 y 2 ( $P < 0,05\%$ ), éstos no mostraron diferencias entre sí. La mayor mortalidad fue provocada por los aislamientos del grupo 1 (Cuadro 3).

Con respecto a la producción de conidias, el grupo 2 mostró el mayor valor, siendo estadísticamente diferente a los grupos 3 y 1 ( $P < 0,05\%$ ), y estos últimos fueron iguales estadísticamente entre sí (Cuadro 3).

Según las variables que explican en mayor grado la variación entre los grupos de aislamientos, el grupo 3 mostró el mayor porcentaje de germinación (83,6%), pero sin ser diferente estadísticamente al grupo 1. El grupo 2 mostró la mayor tasa de crecimiento diario y producción de conidias (Cuadro 3).

El análisis molecular permitió identificar diferencias entre aislamientos según la distribución geográfica (Cuadro 1, Fig. 1), por tanto, el aislamiento Bb 9023



procedente de Filipinas se ubicó en un grupo aparte (Grupo 2), lo que puede atribuirse quizás al insecto del cual fue aislado, *Leptocorisa* sp. (Hemiptera: Coreidae). Sin embargo, otro aislamiento procedente de un insecto del mismo orden pero de otra familia (Bb 9008) se agrupó con los aislamientos provenientes, en su mayoría, del orden Coleoptera, familia Scolytidae (Grupo 1).

Los aislamientos pertenecientes al grupo 1, según la clasificación molecular, son de procedencia colombiana, a excepción del aislamiento Bb 9021, procedente de Ecuador. Considerando que los aislamientos que comparten un grupo poseen similitud en su origen genético, los aislamientos de este grupo podrían confirmar un mismo origen, en virtud del hospedante del cual fueron aislados (*H. hampei*) y de su distribución geográfica (Ecuador y Colombia, Risaralda). De esta manera, es posible que en el proceso de dispersión de la broca en América Latina (Brasil, Ecuador, Colombia, Perú), aquellos insectos que portaban el hongo *B. bassiana* hubieran colonizado nuevas áreas geográficas. De esta premisa se deduce que quizás los aislamientos registrados atacando broca en Colombia, tengan un origen genético similar o igual a aquellos registrados en Ecuador, si se considera el criterio de coevolución del entomopatógeno con el insecto, a medida que éste alcanza nuevas áreas (Hokkanen y Pimentel 1984, Prior 1992, Waage 1990). Con base en ese criterio, es lógico que se encontraran muchas características en común, morfológicas, fisiológicas y moleculares entre los aislamientos registrados en broca de café en Colombia y en otros países de Sur y Centroamérica, tal como se ha informado en trabajos previos de caracterización de aislamientos de *B. bassiana* y *M. anisopliae* (Narváez *et al.* 1977, Poprawski 1988).

Los grupos clasificados según el dendrograma de las variables moleculares fueron a su vez comparados según variables fisiológicas y se observó que la única variable que mostró diferencias estadísticas entre éstos ( $P=0,05$ ), fue la producción de conidias. Para las demás variables fisiológicas evaluadas no se presentaron diferencias estadísticas significativas entre los dos grupos de aislamientos clasificados según el análisis molecular.

Por tanto, la variable producción de conidias permitió identificar la clasificación molecular de los aislamientos, siendo la producción mayor en los aislamientos del grupo 2 y la menor en los aislamientos del grupo 1.

El análisis del tamaño de las conidias, utilizado como criterio de clasificación morfológica, mostró tres grupos de aislamientos según el siguiente criterio de selección: Grupo 1: aislamientos con conidias de tamaño menor de 2,3  $\mu\text{m}$ ; Grupo 2: aislamientos con conidias mayores o iguales a 2,3  $\mu\text{m}$  y menores de 2,6  $\mu\text{m}$ ; Grupo 3: aislamientos con conidias mayores o iguales a 2,6  $\mu\text{m}$  (Cuadro 1). Para esta variable se determinaron diferencias estadísticas significativas entre los grupos, mostrando el mayor valor para los aislamientos del grupo 3 y el menor para los aislamientos del grupo 1. Con base en este resultado los aislamientos del grupo 1 podrían seleccionarse, porque en términos de dosificación de un producto biológico para aplicación en el campo, representarían un mayor número de conidias en un volumen dado.

Los grupos clasificados según la variable morfológica fueron a su vez comparados en las variables fisiológicas evaluadas y se observó que la variable tamaño mostró diferencias entre éstos, con el mayor valor para los aislamientos del grupo 2 y el menor valor para los aislamientos del grupo 3.

Los resultados obtenidos permiten definir 3 grupos de aislamientos, según la clasificación fisiológica y morfológica.

Los grupos clasificados según la variable morfológica fueron comparados en las variables moleculares evaluadas y se observaron diferencias entre éstos, con el mayor tamaño promedio para los aislamientos del grupo 1 y el menor valor para los aislamientos del grupo 2.

El grupo 2 de la clasificación molecular estuvo conformado por el aislamiento Bb 9023, procedente de Filipinas y aislado de *Leptocorisa* sp., y cuyas conidias fueron las de menor tamaño. Esto permite considerar el criterio morfológico en la definición de grupos de aislamientos clasificados molecularmente. Adicionalmente, la variable producción de conidias permitió identificar la clasificación molecular de los aislamientos, con lo cual se establece que la separación de grupos de aislamientos está basada en criterios de clasificación morfológica, fisiológica y molecular.

La mayor parte de los aislamientos comparten el mismo grupo fisiológico y molecular, a excepción de los aislamientos Bb 9010, Bb 9023, Bb 9101, Bb 9108, Bb 9120 y Bb 9416 (Cuadro 1). Entre el grupo de aislamientos que comparten características fisiológicas y moleculares, se destacan tres (Bb 9005, Bb 9117 y Bb 9204), que a su vez comparten el mismo grupo en

la caracterización morfológica (Grupo 1).

El 58,8% de los aislamientos comparten el mismo grupo fisiológico y molecular y han sido registrados en el orden Coleoptera. Un 70% de éstos han sido aislados de la familia Scolytidae, género *Hypothenemus* y especie *hampei* (Posada y Vélez 1998).

Es importante destacar que en la clasificación de los grupos de aislamientos según criterios fisiológicos ninguna de las variables consideradas permitió la separación de los tres grupos de aislamientos, mientras que la variable fisiológica producción de conidias y la variable morfológica tamaño de conidias definieron los dos grupos identificados en el dendrograma de la clasificación molecular.

Los resultados obtenidos no muestran una diferenciación evidente de grupos de aislamientos según los criterios fisiológicos considerados. Sin embargo, la clasificación molecular definió una separación de grupos de aislamientos basada también en criterios morfológicos y fisiológicos. Dicha separación considera la procedencia geográfica, teniendo en cuenta que el aislamiento Bb 9023 es foráneo con respecto a los aislamientos del grupo 1, los cuales son colombianos excepto por un aislamiento procedente de Ecuador, cuya cercanía geográfica permite considerarlo como parte del grupo de aislamientos colombianos. Esta consideración, teniendo en cuenta que la broca del café ingresó a Colombia a través de la frontera con Ecuador y por ende, *B. bassiana*, enemigo natural, transportado a nuevas áreas por el insecto (Bustillo y Posada 1996, Prior 1992).

Si bien, la caracterización molecular permitió definir una separación evidente de aislamientos, según localidad, se sugiere considerar en términos de selección de aislamientos, aspectos fisiológicos que determinan la eficiencia de estos agentes de control biológico en la regulación de poblaciones de la broca en el campo. De esta manera, de los grupos de aislamientos clasificados según el dendrograma de las variables moleculares, deben seleccionarse aquellos que presenten en forma individual altos porcentajes de mortalidad sobre broca, germinación, producción de conidias, tasa diaria de crecimiento, resistencia a la luz ultravioleta entre otras (Hokkanen y Pimentel 1984, Vilas Boas *et al.* 1992).

Una vez realizada la selección según aspectos fisiológicos sería importante considerar, en términos de especificidad, la utilización de aislamientos del orden Coleoptera vs. la utilización de aislamientos de otros

órdenes, que comparten las mejores características fisiológicas, tal como lo sugiere Prior (1992). También sería importante seleccionar aún dentro del mismo orden, aquellos aislamientos provenientes de *H. hampei* que comparten las mejores características fisiológicas (Hokkanen y Pimentel 1984, Charnley 1984).

La variable morfológica tamaño de conidias no debe ser considerada como criterio de selección de aislamientos, por su respuesta variable en estudios de caracterización realizados (Bridge *et al.* 1990, Glare e Inwood 1998, Mugnai *et al.* 1989), tanto en aislamientos de la especie *bassiana* como en otras especies del género *Beauveria*.

Consecuentemente, como resultado de la caracterización realizada se recomienda el uso de los aislamientos Bb 9005 y Bb 9117, pertenecientes al grupo 1, en todas las clasificaciones realizadas y los aislamientos Bb 9021 y Bb 9116 correspondientes al grupo 1 de la clasificación molecular y fisiológica, porque comparten afinidad de hospedante (Coleoptera: Scolytidae, *H. hampei*), a excepción del aislamiento Bb 9005 (hospedante desconocido) y procedencia geográfica (Colombia y Ecuador), dada la similitud en cuanto a clima de estos países.

### Grupo de 77 aislamientos

Se realizó un análisis multivariado al conjunto de variables moleculares evaluadas para los 77 aislamientos. De acuerdo con la agrupación dada por el dendrograma de las variables moleculares, los aislamientos fueron clasificados en cuatro y siete grupos (Fig. 3).

La clasificación inicial, basada en cuatro grupos, mostró dos grupos definidos (1 y 4), los cuales se mantuvieron en la clasificación de los siete grupos (grupos 1 y 7, respectivamente). El grupo 2 estaba conformado por 20 aislamientos, 13 pertenecientes al orden Coleoptera, nueve de éstos registrados en *H. hampei*, familia Scolytidae, y de los principales departamentos productores de café en Colombia. Tres aislamientos registrados en los órdenes Lepidoptera, Homoptera e Hymenoptera, dos de éstos del continente Asiático (Tailandia e India) (Fig. 3, Cuadro 2). El grupo 3 conformado por 48 aislamientos, 29 de Coleoptera, 10 de Lepidoptera, 3 de Hemiptera, 1 de Homoptera y 5 de ellos con hospedante y localidad desconocida. Con relación a la distribución geográfica, la mayoría de los aislamientos provenían del continente Americano, 39 de ellos de Colombia (Fig. 3, Cuadro 2).

**Cuadro 3.** Promedios y variación de los grupos de aislamientos clasificados según aspectos fisiológicos evaluados (Grupo 17 aislamientos).

| Aislamientos  | Grupo | Mortalidad sobre broca (PPB) % |       | Producción de conidias (C) (10 <sup>8</sup> ) |        | Germinación (PG) % |       | Tasa diaria (TCD) (cm) |       |
|---|-------|--------------------------------|-------|---|--------|--------------------|-------|------------------------|-------|
|   |       | x                              | C.V.  | x   | C.V.   | x                  | C.V.  | x                      | C.V.  |
| Bb 9005, Bb 9008, Bb 9012, Bb 9021, Bb 9023, Bb 9116, Bb 9117, Bb 9204, Bb 9207, Bb 9209, Bb 9212, Bb 9305. | 1     | 79,21a*                        | 21.96 | 11 b  | 98,19  | 82,37 a            | 8,01  | 0,21 b                 | 31,54 |
| Bb 9416   | 2     | 65,00 a                        | 15.38 | 21 a  | 32,76  | 27,60 b            | 13,21 | 0,37 a                 | 18,15 |
| Bb 9010, Bb 9101, Bb 9108, Bb 9120  | 3     | 18,3 b                         | 65.36 | 13 b  | 115,16 | 83,60 a            | 9,68  | 0,18 b                 | 21,76 |

\* Promedios seguidos por la misma letra en la misma columna, son iguales estadísticamente, según prueba de Duncan al 5%

Debido a la presencia de subgrupos en estos grupos definidos según la clasificación inicial dada por el dendrograma (2 subgrupos en el grupo 2 y 3 en el grupo 3) (Fig. 3, Cuadro 2), la clasificación basada en los siete grupos fue seleccionada para el análisis estadístico.

Las variables fisiológicas fueron comparadas estadísticamente en los siete grupos (Fig. 3, Cuadros 4 y 5). Los grupos 1, 2 y 6 fueron estadísticamente iguales al grupo 3 en la variable producción de conidias, según prueba de Duncan al 5%.

El grupo 3 fue comparado con los grupos 4, 5 y 7 y se observaron diferencias estadísticas ( $P < 0,05$ ). El mayor promedio de producción de conidias se determinó para el grupo 1 ( $15,67 \times 10^8$ ) y el menor para el grupo 4 ( $10,12 \times 10^8$ ) (Cuadros 4 y 5).

Los grupos 1 y 3 fueron estadísticamente diferentes ( $P < 0,05$ ) en lo que respecta a la mortalidad sobre broca. Los aislamientos del grupo 3 causaron en promedio la mayor mortalidad de la plaga (54,15%), pero sin ser diferente estadísticamente a los grupos 4, 6 y 7 (Cuadro 4 y 5). El mayor promedio de germinación (81,21%) fue alcanzado por los aislamientos del grupo 4, siendo estadísticamente diferente a los grupos 2 y 5 ( $P < 0,05$ ). El grupo 3 no mostró diferencia estadística con los grupos 1, 4, 6 y 7. El promedio más bajo de germinación se presentó en el grupo 2 (70,72%) (Cuadro 4 y 5).

Ninguna de las variables fisiológicas permitió la separación de grupos de aislamientos de la clasificación molecular; sin embargo, la variable producción de conidias definió dos grupos de aislamientos de la clasificación molecular: uno conformado por los grupos 1, 2, 3 y 6, con los mayores promedios de producción

de conidias y otro conformado por los grupos 4, 5 y 7, con los promedios más bajos de esta variable (Cuadros 4 y 5).

El grupo 3 de la clasificación molecular mostró los mayores promedios de mortalidad sobre broca y uno de los mayores promedios de las variables producción de conidias y germinación (Cuadros 4 y 5). Los grupos 4 y 7 mostraron bajos promedios de las variables mortalidad sobre broca y producción de conidias con respecto a los otros grupos de la clasificación molecular; sin embargo, el promedio de germinación fue intermedio, de modo que no se observó ninguna relación entre las variables mortalidad sobre broca, producción de conidias y porcentaje de germinación (Cuadros 4 y 5).

El análisis individual de los aislamientos en cada grupo según hospedante y localidad, mostró una gran similitud de hospedante de los aislamientos del grupo 3, la mayoría pertenecientes a diferentes familias (Scolytidae, Curculionidae, Anthribidae), y géneros de insectos del orden Coleoptera, tales como *Hypothenemus*, *Araecerus*, *Rhynchophorus*, *Cosmopolites* y *Compsus* (Cuadro 2 y 5).

Con relación a la localización geográfica, los aislamientos del grupo 3 fueron registrados en la región cafetera central, específicamente en los departamentos de Caldas, Risaralda y Quindío (Cuadro 2 y 5). Consecuentemente, la agrupación de los aislamientos estuvo en función del hospedante y el origen geográfico.

Maurer *et al.* (1997) estudiaron la diversidad genética de *B. bassiana* y su relación con el ámbito de hospedantes en aislamientos del orden Lepidoptera,

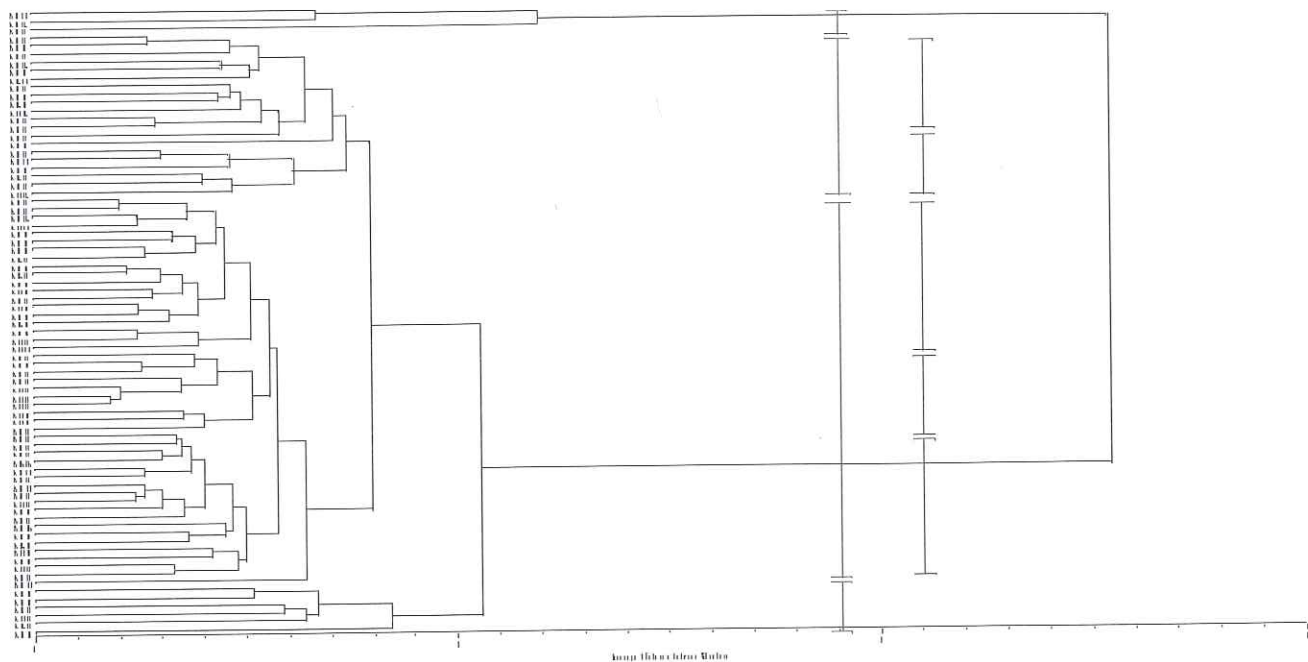


Figura 3. Dendrograma correspondiente al análisis de 77 aislamientos de *B. bassiana*. Las líneas verticales a la derecha, ilustran la clasificación de 4 y 7 grupos respectivamente.

familia Pyralidae, mediante el uso de técnicas RFLP y RAPD. Los dendrogramas mostraron alguna agrupación en relación con el ámbito de hospedantes, tal como fue observado en el presente estudio, pero independientemente de su origen geográfico. Los resultados indicaron que el ámbito de hospedantes fue el factor predominante que afectó la estructura poblacional de *B. bassiana*, pero otros factores fueron incluidos porque algunas cepas no se agruparon con aquellas provenientes del mismo grupo de insectos hospedantes.

Los resultados de este estudio fueron similares a los informados por Castrillo *et al.* (1999) en poblaciones de *B. bassiana* provenientes de *Alphitobius diaperinus*. Se observó en tres localidades una estrecha agrupación de cepas que compartían patrones de bandeo muy similares, mostrando la presencia de un genotipo asociado con este hospedante en dichas localidades.

En los otros grupos de aislamientos evaluados en este estudio no se observó una tendencia definida de agrupación en función del hospedante. Fue así como los grupos 2, 4 y 7 incluyeron aislamientos de los órdenes: Coleoptera, Lepidoptera y Homoptera; y los grupos 5 y 6, aislamientos de Coleoptera, Lepidoptera y Hemiptera. El grupo 1 estuvo conformado por aislamientos registrados en los órdenes Coleoptera y Homoptera (Cuadro 2 y 5).

En los otros grupos de aislamientos tampoco se observó una tendencia definida con respecto a su localización geográfica, aunque prevalecieron los aislamientos de origen colombiano y asiático en los grupos 2 y 5; colombiano, europeo y asiático en el grupo 4 y americano y asiático en los grupos 1, 6 y 7; este último conformado por aislamientos suramericanos (Colombia, Brasil) (Cuadro 2 y 5).

Los aislamientos del grupo 7 al igual que aquellos del grupo 1 mostraron una amplia distribución geográfica, con registros de Asia y Suramérica y diversidad de hospedantes en los órdenes Coleoptera, Homoptera y Lepidoptera. Tal diversidad no permite asignar características comunes a estos aislamientos (Cuadro 2 y 5).

Ocho aislamientos de Coleoptera fueron incluidos en el grupo 2, siete de la familia Scolytidae y 1 de la familia Curculionidae. Todos estos aislamientos fueron registrados en Colombia, con una amplia distribución (departamentos de Nariño, Santander, Huila, Antioquia, Valle, Caldas y Risaralda), con excepción de los aislamientos Bb 9027 de China y Bb 9017 de Tailandia (Cuadro 2 y 5).

La mayoría de los aislamientos del grupo 4 provenían del orden Coleoptera, 8 de *H. hampei*, recolectados en Colombia, con una amplia distribución geográfica.

fica que abarcó los departamentos de Nariño, Antioquia, Valle, Quindío y Risaralda. Dos aislamientos corresponden a otros continentes (Asia y Europa), y de los órdenes Homoptera y Lepidoptera (Cuadro 2 y 5).

La mayoría de los aislamientos del grupo 5 fueron registrados en los órdenes Coleoptera y Lepidoptera, de las familias Curculionidae, Scarabaeidae, Coccinellidae y Scolytidae en el primer orden y las familias Noctuidae, Pyralidae, Lyonetiidae, Bombycidae, Geometridae y Arctiidae en el segundo. Todos los aislamientos fueron registrados en Colombia (Departamentos de Nariño, Santander, Antioquia, Quindío, Caldas, Risaralda y Valle), con excepción del aislamiento Bb 9019, de *Ostrinia furnacalis*, Lepidoptera Pyralidae, proveniente de China (Cuadro 2 y 5).

El grupo 6 incluía 13 aislamientos de Coleoptera, dos de la familia Scarabaeidae y 11 de la familia Scolytidae. Estos aislamientos provienen de Brasil, Ecuador y Canadá, lo cual restringe su distribución al continente americano, excepto por un aislamiento proveniente de Filipinas que por su ubicación en el trópico posee precipitación y temperatura variables, condiciones similares a las de los países del continente Americano (Cuadro 2 y 5).

Considerando la distribución de los aislamientos de *B. bassiana* en Colombia, se concluye que este entomopatógeno tiene una amplia distribución y muestra adaptación a las diferentes regiones agroecológicas, tal como ha sido señalado por Posada y Vélez (1997); pero algunos grupos muestran una tendencia a distribuirse en regiones con características climáticas similares (Grupos 3 y 5) (Cuadro 2 y 5).

Los aislamientos del grupo 1 de la clasificación molecular correspondieron a registros realizados en 1990, con el registro original de la presencia de *B. bassiana* (Bb 9001) en Colombia, atacando *H. hampei* en Ancuyá, Nariño (Vélez y Benavides 1990) y dos registros de aislamientos de la colección del IIBC de Inglaterra (Códigos 325-89 (Bb 9024 Cenicafé) y 138-83 (Bb 9020 Cenicafé). Estos aislamientos presentaron un patrón molecular de bandeo y condiciones climáticas similares por lo cual pueden considerarse en la misma situación geográfica, tal como se ha mencionado previamente.

Por tanto, se asume que puede tratarse del mismo genotipo introducido por el hospedante *N. lugens* desde el continente asiático a América, donde muestra un gran potencial en el control de insectos del orden Coleoptera y de la familia Scolytidae. Estos hallazgos con-

firman la dispersión y coevolución del hongo a través de diversos hospedantes (Prior 1992) (Cuadros 2 y 5).

Castrillo *et al.* (1999) encontraron variación en poblaciones de *B. bassiana* asociadas con *Alphitobius diaperinus*. La variación fue evidente en la separación de cada cepa como un fenotipo multibanda distinto y en la separación de cepas en grupos.

Los aislamientos del grupo 3 de la clasificación molecular presentaron características fisiológicas en común, registrándose altos valores para las variables evaluadas. Por lo tanto, se asume la presencia del mismo genotipo distribuido a través de diversos géneros y familias de insectos del orden Coleoptera y restringido a una región geográfica en particular. Esto puede confirmarse al observar el registro de aislamientos correspondientes a este grupo en los años 1992, 1993, 1994, 1995 y 1996. Con base en lo anterior, se considera que podría ser el mismo aislamiento establecido originalmente mostrando su potencial para el control de otras especies de este orden a través del tiempo. Consecuentemente, estos hallazgos confirman la presencia de un genotipo RAPD para aislamientos del orden Coleoptera y la región cafetera central de Colombia, como ha sido demostrado en aislamientos de *B. bassiana* provenientes de *Ostrinia* (Maurer *et al.* 1997).

Los registros del año 1990 fueron incluidos en la mayor parte de los grupos en aislamientos donados por la colección del IIBC en Inglaterra (Bb 9013 a Bb 9028), de modo que su codificación, en este caso particular, está basada en la fecha de recepción del material más que en la fecha real del registro de los aislamientos en un hospedante o región geográfica dada. Si estos aislamientos fueran excluidos de la clasificación molecular, una distribución más amplia de aislamientos de *B. bassiana* atacando insectos del orden Coleoptera se observaría en regiones que comprenden los Departamentos de Nariño, Antioquia, Risaralda, Caldas, Santander y Huila (Grupo 2); Risaralda, Caldas y Quindío (Grupo 3); Nariño, Antioquia, Risaralda, Valle del Cauca y Quindío (Grupo 4); Nariño, Antioquia, Risaralda y Valle del Cauca (Grupo 5); Antioquia, Risaralda y Valle del Cauca (Grupo 6) y Antioquia (Grupo 7) (Cuadro 2 y 5).

El registro de aislamientos fue realizado simultáneamente con el proceso de dispersión de la broca del café en Colombia y con la dispersión de *B. bassiana* por la población de broca (Bustillo *et al.* 1991). Por esta razón, podría asumirse que la prevalencia de un so-

lo genotipo de este entomopatógeno del orden Coleoptera en cada uno de los grupos moleculares, establecido originalmente en una región geográfica y encontrado posteriormente en regiones cercanas, muestra su potencial para controlar insectos de diversos órdenes, tal como fue encontrado en algunos grupos moleculares.

Los resultados sugieren que el uso de marcadores moleculares más específicos tales como RFLP o microsatélites, suministrará diferencias más específicas entre grupos de aislamientos y definirá grupos del género *Beauveria* a usar en programas de manejo integrado de la broca del café.

Al comparar los grupos de aislamientos clasificados según el patrón molecular en las variables mortalidad sobre broca y porcentaje de germinación, se observó que los aislamientos del grupo 3 mostraron porcentajes de mortalidad entre 65 y 93,3% y porcentajes de germinación entre 68,6 y 88,8 % (Cuadro 4 y 5). Estos resultados permiten asignar características fisiológicas y moleculares específicas a este grupo (Cuadro 4 y 5), puesto que se presentó una relación evidente en-

tre la estructura poblacional de *B. bassiana* y el hospedante y la región geográfica registrada en los aislamientos del grupo al igual que características fisiológicas definidas.

Con respecto a la selección de aislamientos de *B. bassiana* para el control de la broca en programas de manejo integrado, podrían seleccionarse aislamientos según sus valores medios de mortalidad sobre este insecto, producción de conidias y germinación. En consecuencia, el aislamiento Bb 9112, con las mejores características de mortalidad y germinación y los aislamientos Bb 9202, Bb 9212, Bb 9216 y Bb 9418, con promedios de mortalidad sobre broca y germinación mayores o iguales a 85 y menores de 95, parecen ser buenos candidatos para la selección (Cuadro 4). Además, el aislamiento Bb 9027, con alta mortalidad y producción de conidias, y el aislamiento Bb 9022, con alta germinación y producción de conidias (Cuadro 4), son promisorios para ser utilizados en el manejo integrado de esta plaga, una vez se haya evaluado su actividad en condiciones de campo.

**Cuadro 4.** Grupo molecular, promedios y variación de los aislamientos de *B. bassiana* en las variables fisiológicas evaluadas.

| Aislamientos | Grupo molecular | Mortalidad (%) |       | Producción de conidias (10 <sup>8</sup> ) |       | Germinación (%) |      |
|--------------|-----------------|----------------|-------|---|-------|-----------------|------|
|              |                 | X              | C.V.  | X   | C.V.  | X               | C.V. |
| Bb 9009      | 5               | 5,0            | 200,0 | 12,2                                      | 74,1  | 82,0            | 4,9  |
| Bb 9010      | 4               | 15,0           | 38,5  | 5,1                                       | 110,3 | 86,4            | 3,80 |
| Bb 9017      | 2               | 5,0            | 66,7  | 8,4                                       | 57,7  | 85,2            | 4,72 |
| Bb 9020      | 1               | 25,0           | 51,6  | 17,4                                      | 59,5  | 57,4            | 9,3  |
| Bb 9108      | 7               | 15,0           | 66,7  | 3,3                                       | 80,1  | 83,2            | 3,22 |
| Bb 9120      | 6               | 11,7           | 72,0  | 27,2                                      | 72,2  | 91,6            | 8,65 |
| Bb 9307      | 2               | 18,3           | 34,7  | 7,9                                       | 72,8  | 20,4            | 7,43 |
| Bb 9014      | 6               | 40,0           | 27,3  | 4,0                                       | 56,6  | 82,0            | 5,97 |
| Bb 9015      | 4               | 50,0           | 35,3  | 28,2                                      | 61,0  | 79,0            | 1,1  |
| Bb 9119      | 6               | 26,6           | 35,4  | 9,1                                       | 71,2  | 75,6            | 2,0  |
| Bb 9215      | 4               | 40,0           | 35,3  | 7,6                                       | 50,2  | 86,2            | 3,2  |
| Bb 9407      | 4               | 50,0           | 49,0  | 18,8                                      | 24,6  | 56,0            | 7,4  |
| Bb 9001      | 1               | 60,0           | 22,2  | 25,6                                      | 79,8  | 90,4            | 2,5  |
| Bb 9003      | 4               | 72,5           | 17,3  | 8,4                                       | 67,7  | 79,4            | 2,6  |
| Bb 9004      | 4               | 72,5           | 13,2  | 9,0                                       | 57,9  | 89,2            | 5,6  |
| Bb 9005      | 4               | 78,3           | 12,8  | 18,9                                      | 67,8  | 78,4            | 1,5  |
| Bb 9008      | 6               | 77,5           | 12,3  | 14,0                                      | 46,2  | 87,0            | 5,9  |
| Bb 9011      | 6               | 71,6           | 24,5  | 20,7                                      | 73,3  | 86,6            | 8,6  |
| Bb 9013      | 7               | 78,3           | 12,7  | 6,7                                       | 73,4  | 76,0            | 3,4  |
| Bb 9022      | 7               | 61,6           | 28,4  | 33,8                                      | 22,4  | 85,4            | 5,3  |
| Bb 9024      | 1               | 77,5           | 6,4   | 4,0                                       | 83,4  | 74,8            | 3,5  |
| Bb 9026      | 6               | 72,5           | 23,5  | 6,2                                       | 45,7  | 77,2            | 6,8  |
| Bb 9028      | 5               | 76,6           | 11,2  | 14,8                                      | 35,7  | 71,0            | 4,1  |
| Bb 9029      | 5               | 67,5           | 14,2  | 2,1                                       | 65,7  | 81,2            | 4,3  |
| Bb 9114      | 2               | 76,6           | 18,1  | 17,1                                      | 36,1  | 56,6            | 11,1 |
| Bb 9117      | 4               | 73,3           | 7,4   | 10,1                                      | 47,8  | 80,2            | 2,0  |
| Bb 9118      | 4               | 60,0           | 24,0  | 7,6                                       | 91,6  | 83,4            | 8,0  |

| Aislamientos | Grupo molecular | Mortalidad (%) |      | Producción de conidias (10 <sup>8</sup> ) |       | Germinación (%) |      |
|--------------|-----------------|----------------|------|---|-------|-----------------|------|
|              |                 | X              | C.V. | X   | C.V.  | X               | C.V. |
| Bb 9209      | 6               | 65,0           | 39,6 | 3,2                                       | 41,8  | 75,4            | 4,8  |
| Bb 9305      | 2               | 53,0           | 10,2 | 22,3                                      | 63,5  | 85,8            | 8,3  |
| Bb 9308      | 2               | 60,0           | 19,2 | 52,9                                      | 70,9  | 58,0            | 6,6  |
| Bb 9312      | 5               | 55,0           | 31,5 | 4,1                                       | 119,6 | 46,4            | 2,5  |
| Bb 9313      | 2               | 67,5           | 14,2 | 5,6                                       | 62,3  | 63,6            | 1,8  |
| Bb 9316      | 6               | 67,5           | 32,8 | 35,8                                      | 31,0  | 80,0            | 9,0  |
| Bb 9403      | 7               | 55,0           | 10,5 | 5,11                                      | 78,3  | 60,8            | 7,6  |
| Bb 9409      | 3               | 80,0           | 10,2 | 9,1                                       | 111,0 | 88,8            | 7,7  |
| Bb 9416      | 6               | 65,0           | 15,4 | 21,3                                      | 32,5  | 27,6            | 13,2 |
| Bb 9417      | 2               | 65,0           | 15,2 | 5,0                                       | 119,8 | 81,0            | 3,0  |
| Bb 9509      | 3               | 72,5           | 6,9  | 15,1                                      | 55,9  | 83,8            | 4,0  |
| Bb 9510      | 7               | 60,0           | 19,2 | 18,4                                      | 62,2  | 71,0            | 4,1  |
| Bb 9511      | 6               | 75,0           | 17,2 | 15,7                                      | 113,7 | 67,6            | 4,0  |
| Bb 9604      | 3               | 65,0           | 15,4 | 36,0                                      | 46,2  | 68,6            | 6,9  |
| Bb 9002      | 2               | 83,3           | 10,3 | 22,6                                      | 83,2  | 86,6            | 8,6  |
| Bb 9007      | 6               | 95,0           | 6,7  | 6,6                                       | 49,1  | 82,0            | 2,3  |
| Bb 9012      | 2               | 91,6           | 3,6  | 4,5                                       | 56,2  | 84,0            | 6,1  |
| Bb 9016      | 7               | 87,5           | 5,7  | 4,1                                       | 64,5  | 71,4            | 7,5  |
| Bb 9018      | 4               | 81,6           | 18,1 | 10,6                                      | 70,2  | 85,8            | 3,4  |
| Bb 9019      | 5               | 78,3           | 17,6 | 4,7                                       | 47,0  | 78,8            | 3,0  |
| Bb 9021      | 6               | 91,6           | 7,0  | 10,5                                      | 69,4  | 80,0            | 1,3  |
| Bb 9027      | 2               | 90,0           | 4,3  | 30,7                                      | 34,7  | 15,2            | 27,3 |
| Bb 9102      | 5               | 88,3           | 7,2  | 7,8                                       | 56,8  | 82,4            | 3,7  |
| Bb 9112      | 5               | 100,0          | 0    | 5,8                                       | 22,0  | 96,2            | 2,5  |
| Bb 9116      | 5               | 95,0           | 10,5 | 12,3                                      | 64,5  | 77,8            | 1,1  |
| Bb 9202      | 6               | 95,0           | 10,5 | 3,9                                       | 123,6 | 92,0            | 0,8  |
| Bb 9203      | 6               | 82,5           | 18,2 | 19,8                                      | 75,0  | 88,4            | 7,6  |
| Bb 9204      | 2               | 90,0           | 12,8 | 1,7                                       | 51,1  | 89,8            | 2,2  |
| Bb 9205      | 2               | 93,3           | 5,9  | 4,7                                       | 84,4  | 91,6            | 2,1  |
| Bb 9207      | 5               | 86,6           | 8,9  | 3,1                                       | 58,4  | 74,0            | 3,9  |
| Bb 9208      | 3               | 91,6           | 7,0  | 13,1                                      | 73,5  | 74,4            | 4,4  |
| Bb 9212      | 2               | 86,6           | 12,5 | 14,9                                      | 89,6  | 93,6            | 3,5  |
| Bb 9213      | 6               | 85,0           | 13,4 | 10,0                                      | 51,6  | 39,4            | 9,3  |
| Bb 9216      | 4               | 87,5           | 5,7  | 7,6                                       | 39,4  | 87,8            | 1,2  |
| Bb 9217      | 4               | 85,0           | 15,2 | 4,6                                       | 40    | 77,2            | 2,7  |
| Bb 9218      | 3               | 81,6           | 18,1 | 11,2                                      | 101,6 | 84,6            | 4,9  |
| Bb 9301      | 3               | 93,3           | 0    | 5,1                                       | 64,9  | 82,2            | 4,2  |
| Bb 9401      | 2               | 82,5           | 20,7 | 3,2                                       | 75,1  | 79,6            | 1,9  |
| Bb 9101      | 4               | 31,6           | 43,3 | 15,8                                      | 59,1  | 73,2            | 3,3  |
| Bb 9206      | 4               | 72,5           | 28,4 | 1,9                                       | 41,2  | 89,8            | 2,1  |
| Bb 9402      | 4               | 77,5           | 19,3 | 4,9                                       | 99,1  | 78,4            | 3,2  |
| Bb 9418      | 4               | 90,0           | 0    | 2,8                                       | 97,5  | 89,2            | 4,7  |
| Bb 9106      | 5               | 30,0           | 47,1 | 6,2                                       | 104,6 | 8,2             | 20,0 |
| Bb 9107      | 5               | 48,3           | 44,2 | 35,8                                      | 50    | 53,8            | 26,0 |
| Bb 9601      | 5               | 85,0           | 15,2 | 17,1                                      | 44,7  | 84,0            | 3,7  |
| Bb 9602      | 5               | 80,0           | 0    | 34,2                                      | 37,7  | 83,6            | 4,2  |
| Bb 9025      | 6               | 72,5           | 13,2 | 33,9                                      | 24,5  | 77,2            | 7,4  |
| Bb 9103      | 6               | 60,0           | 40,8 | 24,9                                      | 53,1  | 3,8             | 34,3 |
| Bb 9404      | 6               | 62,5           | 24,0 | 3,0                                       | 98,1  | 69,4            | 4,8  |

**Cuadro 5.** Mortalidad sobre broca, producción de conidias y porcentaje de germinación de los grupos de aislamientos de *B. bassiana* clasificados molecularmente.

| Grupo Molecular | Mortalidad sobre broca (%) |      | Producción de conidias (10 <sup>8</sup> ) |       | Germinación (%) |      |
|-----------------|----------------------------|------|---|-------|-----------------|------|
|                 | X <sup>1</sup>             | C.V. | X   | C.V.  | X               | C.V. |
| 1               | 54,2c                      | 45,9 | 15,7a                                     | 102,1 | 74,2ab          | 19,4 |
| 2               | 68,8ab                     | 40,6 | 14,4a                                     | 131,7 | 70,8b           | 35,3 |
| 3               | 80,7a                      | 15,8 | 14,9a                                     | 97,3  | 80,4ab          | 10,0 |
| 4               | 64,8bc                     | 37,5 | 10,1bc                                    | 97,9  | 81,2a           | 10,7 |
| 5               | 68,9ab                     | 41,5 | 12,3b                                     | 107,4 | 70,7b           | 31,9 |
| 6               | 67,0abc                    | 37,9 | 15,6a                                     | 91,7  | 72,2ab          | 32,3 |
| 7               | 59,6bc                     | 42,4 | 11,9b                                     | 106,9 | 74,6ab          | 12,2 |

<sup>1</sup> Promedios en la misma columna seguidos por la misma letra no son significativamente diferentes según prueba de Duncan (P<sub>≥</sub>0,05).

Grupo 1: Bb 9001, Bb 9024, Bb 9020.

Grupo 2: Bb 9002, Bb 9012, Bb 9205, Bb 9204, Bb 9212, Bb 9401, Bb 9027, Bb 9313, Bb 9417, Bb 9114, Bb 9307, Bb 9308, Bb 9305, Bb 9017.

Grupo 3: Bb 9208, Bb 9301, Bb 9218, Bb 9409, Bb 9509, Bb 9604.

Grupo 4: Bb 9003, Bb 9005, Bb 9004, Bb 9101, Bb 9010, Bb 9018, Bb 9216, Bb 9402, Bb 9015, Bb 9407, Bb 9215, Bb 9117, Bb 9206, Bb 9118, Bb 9217, Bb 9418.

Grupo 5: Bb 9312, Bb 9602, Bb 9601, Bb 9009, Bb 9019, Bb 9029, Bb 9028, Bb 9102, Bb 9106, Bb 9107, Bb 9112, Bb 9116, Bb 9207.

Grupo 6: Bb 9007, Bb 9008, Bb 9203, Bb 9404, Bb 9021, Bb 9026, Bb 9011, Bb 9025, Bb 9103, Bb 9316, Bb 9209, Bb 9014, Bb 9210, Bb 9416, Bb 9119, Bb 9213, Bb 9120, Bb 9205, Bb 9511.

Grupo 7: Bb 9013, Bb 9016, Bb 9022, Bb 9108, Bb 9403, Bb 951

## Conclusiones

La caracterización realizada permitió identificar cepas o aislamientos según criterios morfológicos, fisiológicos y patogénicos, establecer relaciones entre éstas según biología y localidad, seleccionar genotipos determinados a partir de aislamientos circunscritos geográficamente a una región en particular, definir genotipos a partir de aislamientos con tendencia al ataque de un hospedante en particular y con potencial para el control biológico de la broca y de otros insectos de importancia económica en Colombia.

## Agradecimientos

A el Instituto Colombiano de Ciencia y Tecnología (Colciencias) y a la Federación Nacional de Cafeteros de Colombia, a través de su centro de investigación, Cenicafé por el apoyo financiero brindado. Al Ing. Gabriel Saldarriaga por su asistencia en el uso del programa UPGMA, a Beatriz Valdés por su colaboración en la elaboración del manuscrito, a Miriam Giraldo por las pruebas fisiológicas y a Silvio Marín por la preparación de material de laboratorio.

## Literatura citada

Bridge, PD; Abraham, YJ; Cornish, MC; Prior, C; Moore, D. 1990. The chemotaxonomy of *Beauveria bassiana* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) isolates from the coffee berry borer *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae). *Mycopathologia* 111:85-90.

Bustillo, AE; Castillo, HA; Villalba, DA; Vélez, PE; Morales, GE. 1991. Evaluaciones de campo con el hongo *Beauveria bassiana* para el control de la broca del café *Hypothenemus hampei* en Colombia. In *Colloque Scientifique International Sur le Café* (14, 1991, San Francisco). p.679-686.

Bustillo, AE; Posada, FJ. 1996. El desarrollo y uso de entomopatógenos en el control de la broca del café. In *Congreso de la Sociedad Colombiana de Entomología, SOCOLEN* (23, 1991, Cartagena, Colombia). Memorias. Cartagena. p. 232-253.

Castrillo, LA; Wiegmann, BM; Brooks, WM. 1999. Genetic variation in *Beauveria bassiana* populations associated with the darkling beetle *Alphitobius diaperinus*. *Journal Invertebrate Pathology* 73:269-275.

Charnley, AK. 1984. Physiological aspects of destructive pathogenesis in insects by fungi: A speculative review. In *Invertebrate Microbial Interactions*. Anderson, JM; Rayner, ADM; Walton, DWH. Ed. British Mycological Society Symposium. 6. Cambridge Univ. Press. London. p. 229-270.

Glare, TR; Inwood, AJ. 1998. Morphological and genetic characterisation of *Beauveria* spp. from New Zealand. *Mycological Research* 102 (2):250-256.

González, MT; Posada, FJ; Bustillo, AE. 1993. Desarrollo de un bioensayo para evaluar la patogenicidad de *Beauveria bassiana* sobre *Hypothenemus hampei*. *Revista Cenicafé* (Colombia) 44(3):93-102.

Hajek, AE; St. Leger, RJ. 1994. Interactions between fungal pathogens and insect hosts. *Annual Review of Entomology* 39:293-322.

Hokkanen, HMT; Pimentel, D. 1984. New approach for selecting biological control agents. *Canadian Entomologist* 116: 1109-1121.

Maurer, P; Couteaudier, Y; Girard, PA; Bridge, PD; Riba, G.



1997. Genetic diversity of *Beauveria bassiana* and relatedness to host insect range. *Mycol. Research*. 2:159-164.
- Mugnai, L; Bridge, PD; Evans, HC. 1989. A chemotaxonomic evaluation of the genus *Beauveria*. *Mycological Research* 92:199-209.
- Murphy, S; Moore, D. 1990. Biological control of the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera, Scolytidae): previous programmes and possibilities for the future. *Biocontrol News and Information*. 11(2):107-117.
- Narváez, M del P; González, MT; Bustillo, AE; Chaves, B; Montoya, EC. 1977. Producción de conidias de los hongos *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* cultivados en arroz y sobre la broca del café. *Revista Colombiana de Entomología* 23 (2-3): 125-131.
- Nei, M; Li, WH. 1979. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proceedings of the National Academy of Science U.S.A.* 76:5269-5273.
- Poprawski, TJ; Riba, G; Jones, WA; Aioun, A. 1988. Variation in isoesterase profiles of geographic populations of *Beauveria bassiana* (Deuteromycotina:Hyphomycetes) isolates from *Sitona weevils* (Coleoptera:Curculionidae). *Environmental Entomology* 17:275-279.
- Posada, FJ; Vélez, PE. 1997. Registro de hospedantes y aislamientos de *Beauveria bassiana* en la colección de hongos entomopatógenos de Cenicafé, Colombia. *Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica)* 46:50-64.
- Prior, C. 1992. Discovery and characterisation of fungal pathogens for locust and grasshopper control. *In Biological Control of Locusts and grasshoppers*. International Institute of Biological Control. Lomer, CJ; Prior, C. Ed. Redwood Press, Melksham, UK. p.230-238.
- Sambrook, J; Fritsch, EF; Maniatis, T. 1989. *Molecular cloning: a laboratory manual*. New York, Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- SAS Institute. 1998. *SAS/STAT user's guide*, release 6.12 ed. SAS Institute, Cary, NC.
- Sneath, PHA; Sokal, RR. 1973. *Numerical Taxonomy*. W. H. Freeman. San Francisco. U.S.A. 450 p.
- Valderrama, AM; Cristancho, MA; Chaves, B. 1998. Variabilidad genética del entomopatógeno *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuillemin. *In Congreso de la Sociedad Colombiana de Entomología SOCOLEN*, (25, 1998, Cali, Colombia). Resúmenes. Cali. p. 46.
- Vélez, PE; Posada, FJ; Marín, P; González, MT; Osorio, E; Bustillo, AE. 1997. Técnicas para el control de calidad de formulaciones de hongos entomopatógenos. *Boletín Técnico No. 17, CENICAFÉ*.
- Vélez, PE; González, MT; Rivera, A; Bustillo, AE; Estrada, MN; Montoya, EC. 1999. Caracterización de aislamientos de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* de la colección de Cenicafé. *Revista Colombiana de Entomología* 25(3-4):191-107.
- Vilas Boas, AM; Paccola-Meirelles, LD; Luna-Alves Lima, EA. 1992. Development and improvement of biological insecticides for pest control. *Arquivos Biologia Technologia*. 35:749-761.
- Waage, J. 1990. Ecological theory and the selection of biological control agents. *In Critical issues in biological control*. Mackauer, M; Ehler, LE; Roland, J. Eds. Intercept, UK. p. 135-157.
- Zolan, ME; Pukkila, PJ. 1986. Inheritance of DNA methylation in *Coprinus cinereus*. *Molecular and Cellular Biology* 6:195-200.

# Evaluación de *Beauveria bassiana* para el control del picudo del chile en laboratorio

Manuel Carballo V\*  
Ligia Rodríguez  
Joaquín Durán

**RESUMEN.** Se realizó un estudio de laboratorio, en el CATIE, Turrialba, Costa Rica, con el objetivo de evaluar diferentes aislamientos de *Beauveria bassiana* (Bals), para seleccionar los más virulentos para el control del picudo del chile, *Anthonomus eugenii* (Coleoptera: Curculionidae). Se evaluaron varias concentraciones del hongo en suspensión de agua y aceite, para determinar la concentración letal media (CL<sub>50</sub>), usando como métodos de aplicación la inmersión y la aspersión. Todos los aislamientos fueron patogénicos para el picudo, determinándose para los aislamientos 447, RL9-1, 113, 9205, 9218, 9006, 35 y 290 el mayor porcentaje de mortalidad, el menor tiempo letal (TL<sub>50</sub>) y el mayor rendimiento de conidios en arroz. Las suspensiones de *B. bassiana*, tanto en agua como en agua mezclada con aceite al 3%, incrementaron la mortalidad del picudo y redujeron la TL<sub>50</sub> conforme aumentó la concentración. La CL<sub>50</sub> en agua fue de 1,2 x 10<sup>6</sup> conidios/ml y en aceite de 2,2 x 10<sup>4</sup> conidios/ml, lo cual indica que la eficacia del hongo aumentó al adicionar aceite a la suspensión.

**Palabras clave:** *Anthonomus eugenii*, *Beauveria bassiana*, Chile, Control biológico, Insectos.

## ABSTRACT

**Evaluation of *Beauveria bassiana* for the control of pepper weevil under laboratory conditions.** A laboratory study was performed at CATIE, Turrialba, Costa Rica, with the objective of evaluating different isolates of *B. bassiana* (Bals), to select the most virulent for control of the pepper weevil *Anthonomus eugenii* (Coleoptera: Curculionidae). Several concentrations of fungus in water and oil suspension were evaluated, to determine the half-lethal concentration (LC<sub>50</sub>), using immersion and aspiration application methods. All the isolates were pathogenic to the weevil, the greatest % mortality, the lowest lethal time (LT<sub>50</sub>) and the greatest yield of conidia on rice was determined for the isolates 447, RL9-1, 113, 9205, 9218, 9006, 35 and 290. The suspensions of *B. bassiana*, both in water and in water mixed with oil at 3%, increased the weevil mortality and reduced the LT<sub>50</sub> in accordance with the increased concentration. The LC<sub>50</sub> in water was 1,2 x 10<sup>6</sup> conidia/ml and in oil 2,2 x 10<sup>4</sup> conidia/ml, indicating that the efficacy of the fungus increased on adding oil to the suspension.

**Key Words:** *Anthonomus eugenii*, *Beauveria bassiana*, Pepper, Biological control, Insects.

## Introducción

El picudo del chile o pimentón *Anthonomus eugenii* Cano, Coleoptera: Curculionidae, es la plaga más importante de este cultivo debido a las pérdidas causadas en la producción y por la gran cantidad de plaguicidas utilizados para su control. *A. eugenii* se encuentra distribuido en el sur de los Estados Unidos, México, América Central y en 1994 se informó su presencia en Costa Rica, donde se ha convertido en la limitante más importante para la producción de chile dulce y pi-

cante, en las principales áreas productoras del país. El daño principal es causado por la alimentación de las larvas dentro de los frutos en desarrollo, provocando la aparición de una mancha necrótica que circunda el área donde se encuentran las semillas; en cada fruto se pueden encontrar hasta tres larvas (Coto 1996). El mayor impacto de la plaga se produce durante las etapas de floración y fructificación del cultivo, principalmente por el daño que producen los instares larvales

\*Unidad de Fitoprotección. CATIE. Turrialba, Costa Rica.: mcarball@catie.ac.cr

dentro del fruto en desarrollo, aunque también provoca la caída de yemas florales, flores y frutos pequeños (Riley y Sparks 1995, Coto 1996).

Cuando las larvas completan su desarrollo emergen los adultos, los cuales se alimentan de hojas tiernas, yemas florales y frutos, donde pasan gran parte de su vida. Los adultos tienen una longevidad que puede alcanzar hasta 80 días y las hembras duran hasta dos meses ovipositando un promedio de 340 huevos (Coto 1996). Considerando el uso desmedido de plaguicidas para el control de la plaga y la tendencia actual de buscar nuevas alternativas de manejo que reduzcan el uso de estos productos, se propone el control mediante el uso de hongos entomopatógenos como una alternativa para el combate de los adultos, los cuales permanecen la mayor parte del tiempo sobre el follaje.

En estudios realizados por Gómez y Jiménez (1991) sobre control biológico de *Anthonomus grandis* mostraron que *Beauveria bassiana* puede infectar pupas, larvas y adultos de este insecto. Asimismo, obtuvieron mortalidades de este insecto mayores al 90% mediante *Metarhizium anisopliae*. Coutinho y Oliveira (1991) en evaluaciones del control de *A. grandis* con *B. bassiana* obtuvieron mortalidades entre 67% y 100%. Gómez y Jiménez (1995) en ensayos de control de *A. eugenii* con diferentes cepas de *B. bassiana*, mediante inmersión en suspensiones acuosas del hongo de  $1 \times 10^8$  conidios/ml, informaron que aunque todas las cepas fueron patógenas a los adultos de este insecto, la cepa 64/88 fue la que causó mayor mortalidad, siendo superior a 80%. Schuster *et al.* (1996), en

la evaluación de tres hongos entomopatógenos (*B. bassiana*, *Paecilomyces fumosoroseus* (Wise) Brown y Smith y *Verticillium lecanii* (Zimmerman Viegas) en concentraciones de  $10^7$ ; determinaron que todos los hongos fueron patógenos a las larvas, pupas y adultos del picudo del chile.

Estos antecedentes demuestran el potencial del control biológico de esta plaga. Por tanto, el objetivo de este trabajo fue evaluar aislamientos de *B. bassiana* para el control de *A. eugenii* con el propósito de seleccionar los más virulentos para pruebas con diferentes concentraciones y en suspensiones en agua y aceite y determinar la concentración letal media ( $CL_{50}$ ).

## Materiales y métodos

### Evaluación de aislamientos de *B. bassiana*

Este bioensayo se realizó en el laboratorio de CATIE, Turrialba, Costa Rica. Se evaluaron doce aislamientos del hongo, de diferentes procedencias, nueve de los cuales están en la colección que posee el CATIE y tres son de la colección CENICAFE, Colombia (Cuadro 1). Los adultos de *A. eugenii* se obtuvieron de chiles caídos, recolectados en plantaciones ubicadas en la provincia de Alajuela, Costa Rica. Los chiles fueron colocados en jaulas de 35 x 35 cm para la emergencia de los adultos, los cuales eran recolectados diariamente y alimentados con hojas de chile dulce. Se usaron los adultos que emergieron en cinco días consecutivos para tener una población de edad uniforme.

Los aislamientos se reprodujeron inicialmente en cajas de Petri con medio PDA y posteriormente, en arroz autoclavado para obtener de allí el polvo de co-

**Cuadro 1.** Características de los aislamientos de *B. bassiana* evaluados para el control de *A. eugenii* y rendimiento de conidios en arroz.

| Aislamiento | Procedencia             | Hospedante                   | g polvo/100g | conidios/g            | conidios/100g         |
|-------------|-------------------------|------------------------------|--------------|-----------------------|-----------------------|
|             |                         |                              | arroz        | polvo                 | arroz                 |
| RL9-1       | Honduras <sup>1</sup>   | <i>Hypothenemus hampei</i>   | 4,03         | $8,4 \times 10^{10}$  | $3,44 \times 10^{11}$ |
| 113         | Nicaragua <sup>1</sup>  | <i>H. hampei</i>             | 2,27         | $5,34 \times 10^{10}$ | $1,21 \times 10^{11}$ |
| 35          | Honduras <sup>1</sup>   | <i>H. hampei</i>             | 1,46         | $4,10 \times 10^{10}$ | $5,56 \times 10^{10}$ |
| 447         | Brasil <sup>1</sup>     | <i>Solenopsis invicta</i>    | 2,65         | $6,87 \times 10^{10}$ | $1,82 \times 10^{11}$ |
| 290         | Brasil <sup>1</sup>     | <i>Anthonomus grandis</i>    | 1,35         | $4,49 \times 10^{10}$ | $6,06 \times 10^{10}$ |
| RL9-2       | Honduras <sup>1</sup>   | <i>H. hampei</i>             | 4,1          | $8,25 \times 10^{10}$ | $3,38 \times 10^{11}$ |
| 84          | Costa Rica <sup>1</sup> | <i>Phyllophaga obsoleta</i>  | 0,63         | $1,87 \times 10^{10}$ | $1,17 \times 10^{10}$ |
| 9205        | Colombia <sup>2</sup>   | <i>Diatraea saccharalis</i>  | 1,28         | $5,2 \times 10^{10}$  | $6,65 \times 10^{10}$ |
| 9218        | Colombia <sup>2</sup>   | <i>Cosmopolites sordidus</i> | 2,8          | $5,3 \times 10^{10}$  | $1,48 \times 10^{11}$ |
| 9006        | Colombia <sup>2</sup>   | <i>Metamasius hemipterus</i> | 1,8          | $6,2 \times 10^{10}$  | $1,12 \times 10^{11}$ |
| 64-1        | Nicaragua <sup>1</sup>  | <i>H. hampei</i>             | 0,67         | $3,28 \times 10^{10}$ | $2,19 \times 10^{10}$ |
| 64-2        | Nicaragua <sup>1</sup>  | <i>H. hampei</i>             | 0,8          | $4,25 \times 10^{10}$ | $3,40 \times 10^{10}$ |

<sup>1</sup> Aislamientos en la colección de CATIE.

<sup>2</sup> Aislamientos en la colección de CENICAFE, Colombia.

nidios. Posteriormente, se cuantificó la cantidad de conidios por gramo de polvo mediante un hemacítometro y se calcularon las concentraciones del hongo. Se prepararon suspensiones del hongo a una concentración de  $10^8$  conidios/ml en agua destilada con Tween 20 al 0,03%.

Se inocularon 10 insectos por aislamiento mediante su inmersión durante tres segundos en la suspensión, se mantuvieron cuatro repeticiones para un total de 40 adultos. La mortalidad se cuantificó diariamente por un período de 10 días. El porcentaje de mortalidad fue obtenido mediante un análisis de varianza y la prueba de Tukey al 5 % mientras que los tiempos letales medios ( $TL_{50}$ ) se determinaron mediante el análisis de Próbitos.

#### Evaluación de concentraciones de *B. bassiana* en dos formulaciones

Este estudio se realizó en el laboratorio de CATIE, utilizando el aislamiento 447 de *B. bassiana* seleccionado en el primer estudio. Se evaluaron cuatro concentraciones del hongo ( $1,5 \times 10^8$ ;  $1,5 \times 10^7$ ;  $1,5 \times 10^6$  y  $1,5 \times 10^5$  conidios/ml) tanto en suspensión en agua como en suspensión en agua + aceite de soya al 5 %. Se mantuvieron dos testigos, uno en agua y otro en agua más aceite al 5 %. Se utilizaron 10 insectos por tratamiento y cuatro repeticiones por tratamiento para un total de 40 adultos por tratamiento. La inoculación de los adultos se realizó mediante la inmersión en la suspensión del hongo durante tres segundos.

Se evaluó la mortalidad diaria acumulada durante 7 días. Los especímenes muertos fueron trasladados a otros recipientes con humedad para permitir la esporulación de los hongos y posteriormente calcular la producción de conidios de *B. bassiana* en los cadáveres. Para determinar la eficacia de cada tratamiento se consideró el porcentaje de mortalidad y el tiempo letal medio ( $TL_{50}$ ) y fue analizada mediante un análisis de varianza. La concentración letal ( $CL_{50}$ ) y el  $TL_{50}$  fueron calculados mediante un análisis de próbitos.

Debido a las problemas en la aplicación de las suspensiones en agua con aceite, se realizó otro bioensayo en el cual se redujo la proporción de aceite al 3% y se varió el método de aplicación, utilizando la aspersión mediante un microaspersor. Se evaluaron cuatro concentraciones del hongo ( $1 \times 10^8$ ,  $1 \times 10^7$ ,  $1 \times 10^6$  y  $1 \times 10^5$  conidios/ml) y un testigo de agua + aceite. Se usó la misma cantidad de insectos por tratamiento y repeticiones. Se consideraron las mismas variables y los datos fueron evaluados en forma similar.

## Resultados y discusión

### Evaluación de aislamientos de *B. bassiana*

Todos los aislamientos evaluados resultaron patogénicos para el picudo (Cuadro 2). La mayor mortalidad fue obtenida con los aislamientos RL9-1, 113 y 35 con 100%, seguida por cinco aislamientos (447, 290, RL9-2, 0084 y 9205) que alcanzaron 95% y otros dos aislamientos (9218 y 9006) que causaron mortalidades de 92,5 y 90%, respectivamente. No se determinaron diferencias estadísticas entre estos aislamientos ( $P > 0,05$ ). Dos aislamientos (64-1 y 64-2) produjeron mortalidades menores a 60%, siendo diferentes estadísticamente a los tratamientos anteriores. Gómez y Jiménez, (1995) habían informado mortalidades más altas para el aislamiento 64, lo cual podría estar asociado a la pérdida de virulencia debido a transferencias sucesivas del hongo en medios artificiales.

**Cuadro 2.** Porcentaje de mortalidad y tiempo medio letal ( $TL_{50}$ ) causado por aislamientos de *B. bassiana* sobre *A. eugenii*.

| Aislamiento | Mortalidad (%) | $TL_{50}$ |
|-------------|----------------|-----------|
| RL9-1       | 100,0 a        | 2,40 a    |
| 113         | 100,0 a        | 2,24 a    |
| 35          | 100,0 a        | 2,37 a    |
| 447         | 97,5 a         | 1,80 a    |
| 290         | 95,0 a         | 3,66 a    |
| RL9-2       | 95,0 a         | 3,12 a    |
| 84          | 95,0 a         | 3,58 a    |
| 9205        | 95,0 a         | 2,25 a    |
| 9218        | 92,5 a         | 2,61 a    |
| 9006        | 90,0 a         | 2,51 a    |
| 64-1        | 60,0 b         | 4,87 b    |
| 64-2        | 20,5 c         | 7,36 c    |
| Testigo     | 20,0 c         | 9,33 c    |

Valores con la misma letra dentro de una misma columna, son iguales entre sí (Tukey al 5 %)

El  $TL_{50}$  fue más bajo con el aislamiento 447 (1,8 días), mientras que los aislamientos 113, 9205, 35, RL9-1, 9006 y 9218 presentaron valores entre 2,24 y 2,61 días (Cuadro 2). Los demás tratamientos alcanzaron valores superior a 3,58 días. Los  $TL_{50}$  obtenidos son bajos comparados con los obtenidos para insectos como *Cosmopolites sordidus* que presentan valores cercanos a 7 días (Brenes y Carballo 1990) pero que son insectos de longevidad más larga que *A. eugenii*. Esto es importante si se considera que la longevidad de los adultos de esta plaga es mayor a dos meses (Cotto 1996) y la posibilidad de control mediante el hongo, en períodos menores a tres días después de su aplicación demuestran el potencial de este entomopatógeno para ser incluido en programas de manejo de esta plaga.

Estos resultados demuestran que todos los aislamientos excepto el 64-1 y el 64-2, son eficaces para el control del picudo del chile. Sin embargo, el mejor tratamiento fue el 447, por presentar el menor  $TL_{50}$  y un porcentaje de mortalidad muy alto, aunque también los aislamientos RL9-1, 113 y 35 mostraron potencial como agentes de control. Con base en estos resultados y en el rendimiento de polvo de conidios en arroz, conidios/g de polvo y conidios/100 g de arroz, en los cuales sobresalieron los aislamientos RL9, 447, 113, 9218, 9006, 9205, 35 y 290 por mayor rendimiento para producción masiva (Cuadro 1), se considera que los aislamientos con mayor potencial son 447, RL-9, 113, 9205, 9218, 9006, 35 y 290. Algunos de estos aislamientos están siendo evaluados en la zona sur de Costa Rica con resultados satisfactorios (*Com pers* Ligia Rodríguez, 2001 Ministerio de Agricultura y Ganadería). No obstante, deben continuarse las evaluaciones en futuros bioensayos y en condiciones de campo.

#### Evaluación de concentraciones de *B. bassiana* en dos formulaciones

Con el método de inmersión, los tratamientos del hongo en agua, causaron una mortalidad del 100% para la concentración más alta y 42,5 % para la más baja (Cuadro 3). Los tratamientos con solución de agua + aceite al 5%, causaron la muerte de los picudos adultos el mismo día de la aplicación, aún en los testigos sin el hongo (Cuadro 3), lo que indica que el método de inmersión no es adecuado cuando se utiliza aceite. Por tanto, la suspensión de agua + aceite se evaluó con aspersión como método de aplicación.

Para los tratamientos del hongo en agua, se determinó un  $TL_{50}$  de 2,81 días con la concentración más alta. Este tiempo aumentó significativamente con la

concentración más baja del hongo, siendo el  $TL_{50}$  de 7,25 (Cuadro 3). Con relación al número de conidios producidos por los cadáveres, se determinaron las mayores cantidades en los tratamientos con hongo en aceite con respecto a la suspensión en agua, a pesar de que los insectos en los tratamientos en un medio con aceite, murieron el mismo día de la aplicación. Esto indica que el aceite podría favorecer la esporulación del hongo, lo cual sería muy importante porque la presencia de cadáveres de insectos esporulados en las plantaciones de chile aumentarían la cantidad de conidios del hongo.

Se determinó una concentración letal media ( $CL_{50}$ ) de  $1,2 \times 10^6$  conidios/ml y una  $CL_{90}$  de  $7 \times 10^7$  conidios/ml para el hongo en agua; en la suspensión con aceite no se logró determinar esta variable. Esta información debe evaluarse en el campo para corroborar los resultados y determinar el potencial del control mediante este entomopatógeno en condiciones naturales.

En la prueba con el hongo en suspensión de agua con aceite en un 3% y usando el método de aspersión, el porcentaje de mortalidad fue de 66,7% con la concentración de  $1 \times 10^5$  y de 100% con una concentración de  $1 \times 10^8$ , mientras que en el testigo con aceite ésta alcanzó un 57% (Cuadro 4). Esto demuestra que el aceite, aún en menor porcentaje, causa un efecto letal sobre los adultos del picudo. El método de aspersión redujo la mortalidad del testigo con respecto a la determinada para este mismo tratamiento cuando se usó la inmersión del insecto en la suspensión (Cuadro 3).

Estos resultados demuestran que el aceite por sí mismo puede contribuir a aumentar la eficacia del hongo, lo cual según Prior *et al.* (1988) puede deberse a que el aceite mejora la penetración gracias a sus pro-

**Cuadro 3.** Porcentaje de mortalidad de *A. eugenii*, tiempo letal medio y número de conidios producidos por los cadáveres de insectos, para diferentes concentraciones del aislamiento 447 de *B. bassiana*, usando el método de inmersión.

| Concentración                  | Mortalidad (%) | $TL_{50}$ | Nº conidios            |
|--------------------------------|----------------|-----------|------------------------|
| $1,5 \times 10^8 + 5\%$ aceite | 100,0 a        | -         | $2,60 \times 10^6$ a   |
| $1,5 \times 10^7 + 5\%$ aceite | 100,0 a        | -         | $2,39 \times 10^6$ ab  |
| $1,5 \times 10^6 + 5\%$ aceite | 100,0 a        | -         | $1,96 \times 10^6$ ab  |
| $1,5 \times 10^5 + 5\%$ aceite | 97,5 a         | -         | $1,63 \times 10^6$ bc  |
| Testigo + 5% aceite            | 100,0 a        | -         | 0,0 e                  |
| $1,5 \times 10^8 +$ agua       | 100,0 a        | 2,81 a    | $1,48 \times 10^6$ bcd |
| $1,5 \times 10^7 +$ agua       | 97,4 a         | 3,21 a    | $0,92 \times 10^6$ cde |
| $1,5 \times 10^6 +$ agua       | 55,0 b         | 9,21 b    | $0,78 \times 10^6$ cde |
| $1,5 \times 10^5 +$ agua       | 42,5 bc        | 7,25 c    | $0,53 \times 10^6$ de  |
| Testigo + agua                 | 20,0 c         | 36,1 d    | 0,0 e                  |

Valores con igual letra dentro de una misma columna son iguales entre sí (Tukey al 5 %).

iedades cutinofílicas, que permiten que un mayor número de conidios alcancen las membranas intersegmentales susceptibles, así como también mejora la adhesión de los conidios a la cutícula del insecto.

Con respecto a los  $TL_{50}$ , éstos disminuyeron desde 6,7 a 3,8 días conforme aumentó la concentración del hongo (Cuadro 4).

**Cuadro 4.** Porcentaje de mortalidad de *A. eugenii*, tiempo letal medio y número de conidios producidos por cadáveres de insectos, usando el método de aspersión.

| Tratamientos                 | Mortalidad (%) | $TL_{50}$ | Nº conidios          |
|------------------------------|----------------|-----------|----------------------|
| $1 \times 10^8 + 3\%$ aceite | 100,0 a        | 3,82 a    | $1,71 \times 10^6$ a |
| $1 \times 10^7 + 3\%$ aceite | 83,3 ab        | 4,82 ab   | $1,70 \times 10^6$ a |
| $1 \times 10^6 + 3\%$ aceite | 75,0 b         | 5,73 b    | $1,65 \times 10^6$ a |
| $1 \times 10^5 + 3\%$ aceite | 66,7 bc        | 6,74 bc   | $1,58 \times 10^6$ a |
| Testigo+3%aceite             | 57,1 c         | 7,81 c    | 0,0 b                |

Valores con igual letra dentro de una misma columna, son iguales entre sí (Tukey al 5 %).

En cuanto a la cantidad de conidios en insectos muertos, las concentraciones más altas produjeron mayor cantidad de conidios, estos resultados coinciden con los del método de inmersión determinándose valores similares a los obtenidos usando suspensiones de agua.

Con este método de aplicación y usando un 3% de aceite, se logró reducir la  $CL_{50}$  a  $2,2 \times 10^4$  conidios/ml, la cual es significativamente menor a la calculada usando solo agua, como se mencionó en la prueba anterior. La  $CL_{90}$  fue de  $1,18 \times 10^7$  conidios/ml que también es menor a la calculada para la suspensión en agua. Esta reducción de la  $CL_{50}$  de la suspensión en aceite, demuestra que la eficacia del hongo mejora con esta formulación y los resultados de esta investigación concuerdan con aspectos que son importantes en la formulación de entomopatógenos, como son mantener la viabilidad y mejorar la eficacia (Daoust *et al.* 1983), facilitar la aplicación de las esporas, mejorar la vida media y su persistencia en el ambiente después de la aplicación, así como incrementar la eficacia de los entomopatógenos (Feng *et al.* 1984). Roberts (1989) señala que otro de los objetivos en las formulaciones de entomopatógenos es reducir el efecto perjudicial de la luz ultravioleta.

Es importante destacar que con el uso de formulaciones de *B. bassiana* en aceite se pretende mejorar la eficacia del control de *A. eugenii*, en condiciones de campo, dado que los adultos de la plaga permanecen sobre el follaje durante las primeras horas de la mañana

o por la tarde, momento propicio para hacer las aplicaciones del entomopatógeno, evitando el efecto de la luz ultravioleta.

## Conclusiones

Se seleccionaron los aislamientos de *B. bassiana* 447, RL9-1, 113, 9205, 9218, 9006, 35 y 290 como los de mayor potencial para el control de *A. eugenii* por su mayor virulencia, menor  $TL_{50}$  y mayor rendimiento de conidios en arroz.

Las suspensiones de *B. bassiana* (aislamiento 447) tanto en agua como en agua mezclada con aceite al 3% incrementaron la mortalidad de picudos conforme aumentó la concentración y redujeron el  $TL_{50}$ . La suspensión del hongo en agua mezclada con aceite mostró mayor eficacia que la preparada en agua.

## Literatura citada

- Alves, SB. 1986. Fungos entomopatógenicos. In Alves, SB. Ed. Controle microbiano de insetos. Sao Paulo, Brasil, Editora Manole. p. 73-126.
- Brenes, S; Carballo, M. 1994. Evaluación de *Beauveria bassiana* (Bals.) para el control biológico del picudo del plátano (*Cosmopolites sordidus* (Germar)). Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica) 31:17-21.
- Contreras, T; Carballo, M; Hidalgo, E; Bustamante, E. 1997. Evaluación de trampas de pseudotallo y formulaciones de *Beauveria bassiana* (Bals.) en el control del picudo del plátano *Cosmopolites sordidus* en Costa Rica. Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica) 46:44-49.
- Coto, D. 1996. El picudo del chile (*Anthonomus eugenii* Cano) su reconocimiento y posible manejo. Hoja Técnica MIP no. 19. In Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica) 42:1-4.
- Coutinho, JL; Oliveira, JV. 1991. Patogenicidade do isolado I-149Bb de *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill a adultos de *Anthonomus grandis* (Coleoptera Curculionidae). Anais da Sociedade Entomologica do Brasil 20(1):199-207.
- Daoust, RA; Ward, MG; Roberts, DW. 1982. Effect of formulation on the virulence of *Metarhizium anisopliae* conidia against mosquito larvae. Journal of Invertebrate Pathology 40:228-236.
- Daoust, RA; Ward, MG; Roberts, DW. 1983. Effect of formulation on the viability of *Metarhizium anisopliae* conidia. Journal of Invertebrate Pathology 41:151-160.
- Feng, MG; Poprowski, TJ; Khachatourians, GG. 1994. Production, formulation and application of entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* for insect control: Current status. Biocontrol Science and Technology 4:3-34.
- Gómez, VM; Jiménez C, CM. 1994. Uso de hongos entomopatógenos para el manejo del picudo del algodón. In Hongos entomopatógenos de plagas en Nicaragua. Informe Final del Proyecto de Hongos Entomopatógenos. Centro Nacional de Diagnóstico Fitosanitario, MAG. Proyecto CATIE-INTA-MIP (NORAD-ASDI) (1991-94).
- Gómez, VM; Jiménez C, CM. 1995. Patogenicidad de *Beauveria bassiana* sobre adultos del picudo del chile (*Anthonomus eugenii*). In Taller Nacional de Control Biológico. (1, 1995, León, Nicaragua). p. 95.

Moore, D; Bateman, RP; Carey, M; Prior, C. 1995. Long-term storage of *Metarhizium flavoviridae* conidia in oil formulations for the control of locusts and grasshoppers. *Biocontrol Science and Technology* 5:193-199.

Prior, C; Jollands, P; Patourel, GL. 1988. Infectivity of oil and water formulations of *Beauveria bassiana* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) to cocoa weevil pest *Pantorhytes plutus* (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of Invertebrate*

*Pathology* 52:66-72.

Riley, DG; Sparks, Jr. AN. 1995. The pepper weevil and its management. Texas Agricultural Extension Service. The Texas A&M University System. 6 p.

Roberts, DW. 1989. World picture of biological control of insects by fungi. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*, Vol 84, Supl. III:89-100.

# Fotoprotección de preparaciones del virus de la poliedrosis nuclear (VPNAg) en condiciones de campo y laboratorio

Luis F. A. Alves<sup>1</sup>  
A. Batista Filho<sup>2</sup>  
B. Nilson T. Augusto<sup>2</sup>

**RESUMEN.** En una plantación de soya (*Glycine max*) se evaluó el efecto de la hora de aplicación sobre la persistencia de preparaciones de VPNAg, comparando la fotoprotección conferida al patógeno por dos formulaciones. Las aplicaciones se realizaron a las 08:00h y a las 12:00h. Una hora después, así como a los tres y seis días después de la aplicación del virus se recolectaron folíolos de cada una de las parcelas tratadas y con ellos se alimentaron larvas de *Anticarsia gemmatalis*, mantenidas en laboratorio. Bajo las condiciones ambientales prevalecientes durante el experimento no hubo relación entre la actividad patogénica de los productos evaluados y la hora de aplicación. La persistencia fue mayor con la formulación del patógeno con respecto al patógeno sin formular. La formulación en aceite emulsionable logró mayor persistencia que la formulación en polvo mojable, determinándose para el aceite emulsionable la mayor reducción en la actividad del patógeno entre los tres y seis días, solamente cuando la aplicación se realizó en el período de mayor incidencia de radiación ultravioleta (12:00h). Para la formulación de polvo mojable la reducción de la actividad ocurrió al tercer día después de la aplicación realizada a las 8:00h, a pesar de tener una menor UV, reduciéndose más para el sexto día. Este resultado coincide con lo observado para esta formulación aplicada a las 12:00h.

**Palabras clave:** *Anticarsia gemmatalis*, Soya, Virus de la Poliedrosis Nuclear, AgVPN, Formulación, Persistencia

**ABSTRACT. Photoprotection of nuclear polyhedrous virus (VPNAg) under field and laboratory conditions.** The effect of the hour of application on the persistence of VPNAg preparations was evaluated on a soybean (*Glycine max*) plantation, comparing the photoprotection conferred by two formulations on the pathogen. The applications were performed at 8:00h and at 12:00h. After one hour, and also three and six days after application of the virus, leaves were collected from each of the treated plots and used as food for *Anticarsia gemmatalis* larvae, maintained in the laboratory. There was no relation between the pathogenic activity of the evaluated products and the hour of application under the prevalent ambient conditions of the experiment. The persistence of the formulated pathogen was greater than the pathogen without formulation. The formulation in oil emulsion achieved greater persistence than the formulation in wettable powder, the greatest reduction in pathogen activity for the oil emulsion was determined between three and six days, only when the application was performed in the period of highest incidence of ultraviolet radiation (12:00h). For the wettable powder formulation the reduction in activity occurred on the third day after the application performed at 8:00h, despite less UV, and was further reduced on the sixth day. This result coincides with the observations of this formulation applied at 12:00h.

**Key words:** *Anticarsia gemmatalis*, Soja, Nuclear Polyhedrosis Virus, AgNPV, Formulation, Persistence.

## Introducción

Un ejemplo del uso de virus para el control de plagas es el programa de control de la oruga de la soya, *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae) mediante VPNAg, desarrollado en Brasil. El Centro Nacional de Pesquisa de Soya de EMBRAPA inició en el decenio de los 70 la evaluación del control de *A. gemmatalis* mediante este virus, y actualmente,

aproximadamente un millón de hectáreas cultivadas con soya en Brasil son tratadas con el virus (Moscardi 1988).

La técnica es sencilla, se recomienda la recolección en el campo y posterior maceración de 50 larvas de *A. gemmatalis* muertas por VPNAg para la aplicación en una hectárea de soya. Los insectos recolecta-

<sup>1</sup>Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde. Cascavel, PR, Brasil, lfaalves@uol.com.br

<sup>2</sup>Instituto Biológico, Centro Experimental de Campinas. Brasil



dos se almacenan a baja temperatura para evitar su descomposición debido a la proliferación de microorganismos saprofitos (Moscardi 1983).

Una vez aplicados en el campo, los entomopatógenos, incluyendo los virus, son afectados directamente por factores ambientales como la radiación solar que puede inactivarlos. Así, Young y Yearian (1974) y Jaques (1985) afirmaron que la fracción ultravioleta (UV) del espectro solar es el principal factor de degradación de la actividad de los microorganismos porque actúa directamente sobre el ácido nucleico, inactivándolo en las primeras 48 h después de la aplicación.

La formulación de los entomopatógenos tiene el propósito de reducir o eliminar los factores que limitan la eficacia del producto, protegiendo los microorganismos mediante la incorporación de otras sustancias. Además es deseable que el producto formulado pueda ser almacenado en condiciones ambientales, evitando el uso de cámaras frigoríficas, las cuales no siempre están disponibles para los agricultores y encarecen el producto biológico.

Estudios realizados por Moscardi *et al.* (1985, 1989) y Batista Filho *et al.* (1992 a,b) mostraron la viabilidad de formular VPNAg, obteniendo resultados favorables con formulaciones como polvo mojable y aceite emulsionable.

Otra alternativa evaluada es la aplicación del insecticida biológico en las horas de menor incidencia de radiación solar, o sea por la mañana o al final de la tarde, para reducir el impacto inicial sobre el patógeno en el campo.

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la formulación en la fotoprotección de VPNAg, evaluando la persistencia de distintas preparaciones a la elevada exposición a radiación ultravioleta, bajo condiciones de laboratorio y campo.

## Materiales y métodos

**Persistencia de la actividad viral en el campo.** El experimento fue realizado en el campo experimental del Instituto Biológico en Campinas, Brasil. El área experimental estaba formada por 32 parcelas de 6 m<sup>2</sup>, cultivadas con soja IAC - 8 en estado vegetativo.

Los tratamientos fueron formulaciones de VPNAg: polvo mojable y aceite emulsionable y la forma impura, normalmente utilizada por el agricultor, preparada a partir de larvas de *A. gemmatalis*, muertas por causa del virus. Estas fueron maceradas y filtradas en una suspensión acuosa. Para las aplicaciones se utilizó un

pulverizador de costado (Brudden P5) con barra; asperjando 300 ml de la suspensión por parcela, equivalente a 500 L/ha. En los tratamientos con el patógeno, se utilizó 80 g o ml del producto formulado y 0,12 g de larvas por parcela, para una concentración proporcional a 1 ha. Como testigo se utilizó agua destilada, que fue el medio en el cual se prepararon las suspensiones de los demás tratamientos.

Las aplicaciones fueron realizadas a las 8:00h y a las 12:00h. Inmediatamente después de las aplicaciones se recolectaron 25 folíolos del tercio superior de las plantas, tomadas aleatoriamente de los surcos centrales. Tres y seis días después de la aplicación, a las mismas horas se recolectaron la misma cantidad de folíolos usando la metodología anterior.

Los folíolos recolectados fueron suministrados a larvas de *A. gemmatalis* de tercer instar. Los especímenes utilizados provenían de una cría en laboratorio, realizada en tubos de vidrio (8,5 cm de altura y 2,5 cm de diámetro) tapados con algodón hidrófobo. Los insectos fueron colocados en una cámara de germinación tipo B.O.D. (Fanem) a 25°C y 14 h de fotoperíodo, donde permanecieron 48 h con el alimento suministrado, para garantizar la ingestión del virus. Después fueron transferidos a otros tubos donde se les suministró dieta artificial (Greene *et al.* 1956). Los tubos permanecieron en una sala con temperatura de 25 ± 2°C y 70 ± 5% de HR.

Diariamente se realizaron observaciones de los insectos para registrar la mortalidad. Para confirmar el agente causal de la mortalidad, los insectos fueron examinados mediante un microscopio óptico de contraste de fase.

En el experimento de campo se utilizó un diseño experimental de bloques al azar, con cuatro bloques y cuatro tratamientos para cada hora de aplicación. En la prueba de laboratorio, cada tratamiento consistió de cuatro repeticiones de 25 insectos, seleccionados al azar. Los datos de mortalidad fueron sometidos a un análisis de varianza y las medias comparadas según la prueba de Tukey al 5%, según un diseño experimental de parcelas subdivididas, con el objetivo de comparar las medias de las variables: efecto de los tratamientos, días y horarios, así como las interacciones tratamiento x días, tratamiento x horas, días x horas, y tratamiento x días x horas. Los valores de mortalidad observada fueron transformados en arcoseno raíz de P/100, donde P= porcentaje de mortalidad.

Los datos climáticos fueron suministrados por la

Sección de Climatología del Instituto Agronómico y la Estación Experimental del Instituto Biológico de Campinas.

### Efecto fotoprotector en condiciones de laboratorio.

Utilizando folíolos de soya de la misma plantación se realizó un análisis en el laboratorio. El material recolectado del tercio superior de las plantas fue llevado al laboratorio donde mediante aplicación en el haz, se aplicaron los tratamientos evaluados en condiciones de campo. Se usaron 20 folíolos por tratamiento, y tres repeticiones. Una vez secos los folíolos correspondientes a cada tratamiento se dividieron en dos partes iguales. Una de las partes fue expuesto a la radiación ultravioleta proveniente de una lámpara germicida (253,7 nm) situada a 25 cm de distancia, durante 5 minutos. Inmediatamente, cada uno fue colocado individualmente en tubos de vidrio (2,5 cm de diámetro x 8,5 cm de altura) que contenían una larva de *A. gemmatalis* de 3° instar. Después de consumir los folíolos, los insectos fueron transferidos a frascos iguales, conteniendo dieta artificial (Greene *et al.* 1976) y mantenidos a  $26 \pm 1^\circ\text{C}$ , fotoperíodo de 14 h y  $70 \pm 5\%$  HR. Para la evaluación de la mortalidad se siguieron los mismos criterios de la prueba anterior. La parte de cada folíolo que no fue irradiada se utilizó como testigo para comparar los efectos de la radiación sobre el virus, en las diferentes formulaciones.

### Resultados y discusión

**Persistencia de la actividad viral en condiciones de campo.** Comparando los valores de mortalidad obtenidos con el virus aplicado a las 8:00h y a las 12:00h, mediante la interacción tratamiento x día x hora de aplicación, no se encontraron diferencias significativas entre ellos ( $F= 0,43$ ;  $P= 0,7866$ ) o sea, la actividad pa-

togénica de los preparados aplicados por la mañana mostró la misma eficacia que cuando fue aplicado a mediodía.

No obstante, según la interacción significativa tratamiento x día ( $F = 15,13$ ;  $P= 0,001$ ) se encontró, que para ambas horas, la virulencia se redujo en el tratamiento no formulado (macerado), siendo ésta aproximadamente 60% menor con respecto a la actividad original, a los tres días de la aplicación. Este valor no varió a los seis días de exposición en condiciones campo (Cuadro 1). De las dos formulaciones evaluadas, la de polvo mojable fue la que presentó mayor reducción en la actividad (cerca de 10% a los 3 días y entre 40 y 50 % después de seis días de aplicación), mientras que la formulación de aceite emulsionable no fue afectada (Cuadro 1 y 2).

Sin embargo, cuando se comparan la mortalidad causada por cada tratamiento el mismo día de la aplicación, se determinó que la formulación en aceite emulsionable presentó la menor actividad inicial de los tres tratamientos (Cuadro 2). Después de tres días, la mortalidad fue mayor con el virus formulado como polvo mojable (79,73% y 87,79%, para la aplicación a las 8:00h y a las 12:00h, respectivamente). Pero en la primera evaluación, solamente el tratamiento no formulado sufrió reducción en la actividad (60 - 70%) y ambas formulaciones mostraron un comportamiento similar.

En la última evaluación, no hubo diferencia de la eficacia de las formulaciones, las cuales fueron superiores al tratamiento no formulado. Si se compara con la evaluación anterior, la formulación en polvo mojable presentó mayor pérdida de la actividad viral, pero ambas tuvieron un buen desarrollo, ocasionando una mortalidad de casi 40 hasta 50% (Cuadros 1 y 2).

Los datos climáticos registrados durante el expe-

**Cuadro 1.** Porcentaje de mortalidad promedio de *A. gemmatalis* por VPNAg, aplicado a las 8:00h y 12:00h. Campinas, Brasil.

| VPNAg                    | Porcentaje de mortalidad dda <sup>a</sup> |           |           |
|--------------------------|---|-----------|-----------|
|                          | 0   | 3         | 6         |
| <b>Aplicación 8:00h</b>  |   |           |           |
| Larvas maceradas         | 79,00 A a                                 | 18,40 B b | 5,40 B b  |
| Aceite emulsionable      | 50,00 B a                                 | 64,14 A a | 55,78 A a |
| Polvo mojable            | 90,00 A a                                 | 79,73 A a | 54,36 A b |
| <b>Aplicación 12:00h</b> |   |           |           |
| Larvas maceradas         | 85,70 A a                                 | 22,09 C b | 21,38 B b |
| Aceite emulsionable      | 52,00 B a                                 | 55,78 B a | 37,98 A a |
| Polvo mojable            | 97,00 A a                                 | 87,79 A a | 48,19 A b |

<sup>a</sup> medias seguidas por la misma letra mayúscula en la columna y minúscula en la línea no son diferentes significativamente entre sí ( $\alpha = 0,5$ ) según Tukey.

**Cuadro 2.** Porcentaje de mortalidad promedio de *A. gemmatalis* causado por VPNAg en diferentes formulaciones sometidas a radiación ultravioleta (253,7 nm) . Campinas, Brasil.

| Preparación         | Porcentaje de mortalidad <sup>a</sup> |           | Reducción de la actividad (%) |
|---------------------|---------------------------------------|-----------|-------------------------------|
|                     | No irradiado                          | Irradiado |                               |
| Larvas maceradas    | 100 Aa                                | 50 Bb     | 50                            |
| Aceite emulsionable | 100 Aa                                | 85 Ab     | 15                            |
| Polvo mojable       | 95 Aa                                 | 70 Ab     | 25                            |
| Testigo             | 0 Ba                                  | 0 Ca      | 0                             |

<sup>a</sup> medias seguidas por la misma letra mayúscula en la columna y minúscula en la línea no son significativamente diferentes entre sí ( $\alpha = 0,05$ ) según Tukey.

rimento de campo se presentan en el Cuadro 3. El día 21 se presentó una precipitación de 8,4 mm, pero esta ocurrió antes de la aplicación de los tratamientos a las 8:00h, por lo cual no removió la película asperjada sobre las hojas. La precipitación fue baja durante el periodo, aún con la precipitación mayor el quinto día, lo cual indica que este no fue el factor principal de la reducción de la persistencia del patógeno. Por tanto, la inactivación inicial del virus en el campo (entre la aplicación y el tercer día de evaluación), especialmente para el tratamiento no formulado, se debió a la radiación UV del espectro solar, la cual incidió fuertemente, con aproximadamente 10 h de radiación por día durante las primeras 48 h de exposición y 7 h en el tercer día, con un promedio de 9,5 h de radiación por día, en los primeros tres días de exposición.

Batista Filho *et al.* (1992a,b) también mencionan a la UV como factor de inactivación de VPNAg, dado que en estudios realizados por estos autores no se presentaron lluvias durante las primeras 48 h después de la aplicación y la radiación solar alcanzó valores similares a los de este estudio. A los tres días, la reducción determinada por ellos fue casi de 20% para las formulaciones en polvo mojable y en aceite emulsionable a base de leucita y aceite de soya, respectivamente. Batista Filho (1997), señaló que la persistencia del virus formulado como aceite emulsionable fue menos afectada que la de polvo mojable cuando la lluvia fue de 49 mm/hora. Este mismo autor obtuvo resultados se-

mejantes con respecto a la persistencia de la virulencia del virus cuando evaluó una formulación en aceite emulsionable a base de aceite de maíz.

El efecto fotoprotector del aceite emulsionable fue también evaluado por Alves *et al.* (1992), bajo condiciones de campo, y aunque en los primeros días del estudio la incidencia de luz fue menor a la registrada durante esta investigación (4,75 y 7,13, respectivamente), la reducción en la actividad de la formulación fue aproximadamente 20% menor que la del virus no formulado, confirmando los resultados de este estudio.

#### Efecto fotoprotector en condiciones de laboratorio.

Las diferentes preparaciones de VPNAg, expuestas a luz germicida fueron afectadas por la radiación UV, determinándose una reducción en la actividad entomopatógena. Sin embargo, las formulaciones en aceite emulsionable y polvo mojable fueron menos afectadas (15 y 26% de reducción, respectivamente) que el virus no formulado (Cuadro 2). Además, el porcentaje de reducción de todos los tratamientos siguió la tendencia observada en el experimento anterior, o sea, la mayor reducción se dio con la suspensión no formulada, seguida de la de polvo mojable y la mayor protección se logró con la formulación en aceite emulsionable. El valor de la reducción en la actividad viral de la formulación en aceite emulsionable fue similar al informado por Alves *et al.* (1997) (16,67%), en un estudio en el cual se expusieron folíolos de soya tratados

**Cuadro 3.** Condiciones climáticas observadas durante el experimento en Campinas, Brasil.

| Día | Temperatura (°C) |      |       | Condiciones climáticas           |                    |
|-----|------------------|------|-------|----------------------------------|--------------------|
|     | Max.             | Min. | Media | Precipitación pluviométrica (mm) | Horas de radiación |
| 21  | 25,2             | 18,6 | 21,9  | 8,4                              | 10,9               |
| 22  | 28,2             | 15,8 | 22,0  | 0,0                              | 10,5               |
| 23  | 27,6             | 16,2 | 21,9  | 0,0                              | 7,1                |
| 24  | 24,0             | 18,2 | 21,1  | 0,3                              | 0,0                |
| 25  | 25,4             | 18,2 | 21,8  | 0,2                              | 0,0                |
| 26  | 28,8             | 17,2 | 23,0  | 7,0                              | 3,2                |
| 27  | 30,0             | 17,0 | 23,5  | 2,0                              | 5,0                |

con VPNAg, conteniendo 50% de aceite de soya en su composición.

Se debe resaltar que las condiciones en que se realizó esta prueba son diferentes a las del ambiente natural, pues la radiación es mayor debido al tamaño de la onda emitida por la lámpara germicida (tamaño de onda inferior a la emitida por el sol), mientras en condiciones de campo además de los filtros naturales de la atmósfera, la propia planta puede ofrecer algún nivel de sombra que protege las partículas de la exposición directa a la luz del sol. Debe destacarse que las condiciones en que se realizó esta evaluación del efecto fotoprotector son diferentes a las del ambiente natural porque la radiación incidente es mayor debido a que el tamaño de la onda emitida por la lámpara es menor a la emitida por el sol, además en condiciones de campo la misma planta ofrece un nivel de sombra que protege las partículas del virus de la exposición directa a la luz solar.

Sin embargo, en otro estudio (Batista Filho 1997) en el cual se comparó la protección a la luz UV de la formulación en aceite emulsionable con la actividad del patógeno no formulado en laboratorio, se determinó que la tendencia observada en el laboratorio fue similar a la obtenida en condiciones de campo, siguiendo la misma tendencia en cuanto a la reducción de la eficacia.

Esto confirma los resultados obtenidos en el campo, donde naturalmente la incidencia de la radiación UV proveniente de la luz solar es menor a la producida por la lámpara germicida, también a la de las aplicaciones realizadas a las 12:00h, horario de mayor incidencia de luz solar.

### Literatura citada

Alves, LFA; Leitão, AEF; Augusto, NT; Leite, LG; Batista Filho, A.

1992. Utilização de adjuvante protetor contra radiação solar e fagoestimulante em mistura com um vírus de poliedrose nuclear de *Anticarsia gemmatilis* (Lepidoptera: Noctuidae). Arquivos do Instituto Biológico (Brasil) 59: 23-27.
- Alves, LFA; Batista Filho, A; Augusto, NT. 1997. Efeito do óleo de soja na proteção de vírus de poliedrose nuclear de *Anticarsia gemmatilis* (VPNAg) à radiação ultravioleta em laboratório. Arquivos do Instituto Biológico (Brasil) 64: 71-74.
- Batista Filho, A; Alves, LFA; Augusto, NT; Leite, LG; Alves, SB. 1992a. Avaliação da persistência de duas formulações de *Baculovirus anticarsia* em campo e laboratório. Anais da Sociedade Entomológica do Brasil 21: 453-462.
- Batista Filho, A; Alves, SB; Augusto, NT; Cruz, BPB. 1992b. Persistência de duas formulações de *Baculovirus anticarsia* sobre folhas de soja, em condições de campo. Pesquisa Agropecuária Brasileira 7: 105-106.
- Batista Filho, A. Desenvolvimento de formulações de *Baculovirus anticarsia*. 1997. Tese de Doutorado. Piracicaba, Brasil, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo. 86 p.
- Greene, GL; Lepla, NC; Dickerson, WD. 1976. Velvetbean caterpillar: a rearing procedure and artificial medium. Journal of Economic Entomology 69: 850-853.
- Jaques, RA. 1985. Stability of insects viruses in the environment. In Viral insecticides for biological control. Maramorosch, K; Sherman, KE. Ed. New York, Academic Press. p. 285-360.
- Moscardi, F; Leite, LG; Zamataro, CEO. 1985. Teste de atividade de formulação pó molhável de *Baculovirus anticarsia* em laboratório. Resultados de Pesquisa da Soja. Londrina, EMBRAPA/CNPSo. p. 125-30.
- Moscardi, F. 1989. Use of viruses for pest control in Brazil: the case of the nuclear polyhedrosis virus of the soybean caterpillar, *Anticarsia gemmatilis*. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz. 84: 51-56.
- Moscardi, F; Sosa-Gomez, DR. 1992. Use of viruses against soybean caterpillars in Brazil. In Pest management in soybean. Copping, LG; Green, MB; Rees, RT. Ed. Elsevier Applied Science p. 98-109.
- Young, SY; Yearian, WC. 1974. Persistence of *Heliothis* NPV on foliage of cotton, soybean and tomato. Environmental Entomology 3: 253-255

# Hoja TECNICA

No. 39

CATIE



## Un nuevo método para la cría masiva de *Hypsipyla grandella*

Carlos Vargas<sup>1</sup>  
Philip J. Shannon<sup>2</sup>  
Rosina Taveras<sup>3</sup>  
Francisco Soto<sup>4</sup>  
Luko Hilje<sup>4</sup>

### Introducción

*Hypsipyla grandella* (Zeller) (Lepidoptera: Pyralidae) es quizás la principal plaga forestal en América Latina y el Caribe, y ataca a varias especies de la familia Meliaceae, entre las que figuran maderas preciosas, como caobas (*Swietenia* spp.) y cedros (*Cedrela* spp.). Su principal daño consiste en la perforación de los brotes nuevos, especialmente el brote terminal, el cual se deforma o ramifica, reduciendo de esta forma el valor comercial del árbol afectado, lo cual ha impedido el establecimiento de plantaciones comerciales en gran escala.

Su gran importancia ha originado amplias iniciativas de investigación, como lo fue el proyecto del *Grupo de Trabajo Interamericano sobre Hypsipyla grandella*, en el CATIE, en el decenio de los 70. Para efectuar muchas de las investigaciones de dicho Grupo, en cuanto a la biología y ecología de dicha plaga, fue necesario desarrollar protocolos para su cría masiva (Grijpma 1973), incluyendo el desarrollo de una dieta artificial (Hidalgo-Salvatierra y Berríos 1973). Sin embargo, hoy se reconoce que existen mejores métodos para lograr esto, uno de los cuales se describe aquí.

### Procedimientos

**Material biológico.** Los experimentos se realizaron en el Laboratorio de Entomología del CATIE, en Turrialba, Costa Rica, y consistieron en múltiples pruebas de combinaciones y proporciones de ingredientes en la dieta,

así como de métodos para favorecer la reproducción y sobrevivencia de los diferentes estadios de *H. grandella*. El material inicial se recolectó en árboles de caoba y cedro, plantados en los predios del CATIE. Este está ubicado a 590 msnm, en la zona de bosque húmedo premontano, donde los valores anuales promedio de las variables climáticas son 22°C, 2479 mm y 87% HR.

**Dieta.** La dieta para criar las larvas consiste en 13 ingredientes (Cuadro 1), la mayoría de los cuales son comunes en las dietas para otros lepidópteros (Hidalgo-Salvatierra 1973a) y se emplearon en una dieta previa utilizada para *H. grandella* (Hidalgo-Salvatierra y Berríos 1973). Los ingredientes más especializados se pueden adquirir en casas comerciales pertinentes, como ICN Biomedicals Inc. (Irvine, California) y BIO-SERV (Frenchtown, New Jersey).

Para su preparación, una vez pesados, los ingredientes secos se deben mezclar bien, excepto la clorotetraciclina (antibiótico) y las vitaminas. Posteriormente se agrega el agua y se agita la mezcla. Esta se coloca en un frasco ("beaker") tapado con un trozo de papel de aluminio, dentro de una autoclave, para ser esterilizada a 121°C y 12 bares de presión, por 20 min, después de lo cual se saca y se homogeniza por agitación del frasco, hasta que se comienza a enfriar. Cuando la mezcla alcanza menos de 65°C, se agregan la clorotetraciclina y la mezcla de vitaminas.

<sup>1</sup> Consultor privado. Guápiles, Limón, Costa Rica.

<sup>2</sup> Natural Resources Institute (NRI), Central Avenue, Chatham Maritime, Kent ME4 4TB, Reino Unido.

<sup>3</sup> Facultad de Agronomía y Veterinaria, Universidad Autónoma de Santo Domingo (UASD), Santo Domingo, República Dominicana.

<sup>4</sup> Unidad de Fitoprotección, Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE), Turrialba, Costa Rica. lhilje@catie.ac.cr

**Cuadro 1.** Ingredientes y cantidades necesarias para preparar un litro de dieta para larvas de *H. grandella*.

| Producto                         | Cantidad |
|----------------------------------|----------|
| Germen de trigo                  | 120 g    |
| Azúcar                           | 30 g     |
| Caseína                          | 20 g     |
| Agar                             | 20 g     |
| Levadura de cerveza              | 15 g     |
| P-hidroxibenzoato metílico (MHP) | 1 g      |
| Colesterol                       | 0,2 g    |
| Sales de Wesson                  | 10 g     |
| Acido sórbico                    | 2 g      |
| Semilla molida de cedro          | 2 g      |
| Agua destilada                   | 850 ml   |
| Clorotetraciclina                | 0,3 g    |
| Mezcla de vitaminas              | 15 g     |

Esta cantidad de dieta permite abastecer unos 160 frasquitos de 30 ml, colocando 6 ml de dieta por frasco, lo cual es suficiente para que la larva de *H. grandella* pueda alimentarse por unas dos semanas. Cuando las características organolépticas de la dieta cambian, al iniciarse su descomposición, las larvas deben trasladarse a otro frasco con dieta fresca. Aunque la dieta no usada puede mantenerse en refrigeración, es preferible utilizar dieta fresca. Asimismo, los residuos de dieta dejados por las larvas y en estado de descomposición, deben descartarse con cuidado, para no provocar una diseminación de hongos o bacterias en el ambiente del laboratorio.

**Cría.** Al obtener pupas, éstas se colocan en el piso de una jaula hecha con malla fina (malín) (Fig. 1), para que al emerger los adultos, unos 10 días después, copulen y ovipositen.

Se trata de una jaula grande (55 x 50 x 45 cm), con una manga que desemboca en una abertura en una de sus paredes, para poder manipular los insectos. Se debe colgar, mediante gazas ubicadas en sus vértices, de las esquinas de un marco fuerte (60 cm de fondo y de ancho, y 65 cm de altura), hecho con varilla de construcción redonda, de  $\frac{1}{4}$  de pulgada.

A su vez, los marcos deben colgarse del techo mediante un hilo de nailon, delgado pero fuerte, para evitar el acceso de las hormigas y que se coman las pupas o adultos de *H. grandella*. Es recomendable colgar estos marcos en un sitio fresco y con muy buena ventilación pues, de otra manera, no se obtienen huevos. En nuestra experiencia,

normalmente se colocaron dentro de un invernadero, a 1,5 m de altura, en una sección cubierta por un techo de láminas de metal, para que la radiación no incidiera directamente sobre la jaula.

Las hembras depositan los huevos en la malla de la jaula; inicialmente son blancos o amarillentos y, si están fértiles, se tornan rojos en unas 24 h. Los huevos se pueden recolectar día de por medio, para la cual se desprende la malla del marco y se sumerge por 3 h en una palangana plástica con agua del tubo, ojalá de un color que contraste bien con el rojo de los huevos. Al agitar la malla suavemente, los huevos se desprenden y, al mover el agua con agitación centrífuga, ellos se concentran en el centro de la palangana, de donde son tomados fácilmente con una jeringa sin aguja, de 10 ml de capacidad.

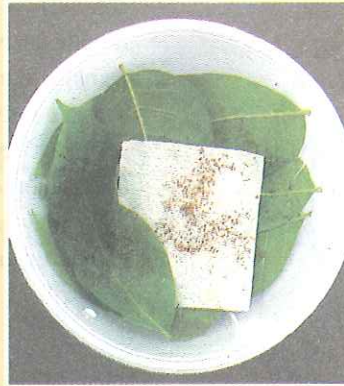
Los huevos se deben dejar acumular cerca del orificio de salida de la jeringa, y se depositan en pequeñas cantidades sobre trozos de papel toalla de 5 x 5 cm. El volumen extraído es suficiente para surtir con huevos cuatro o cinco de estos trozos, los cuales se colocan sobre un papel toalla grande y seco para eliminar el exceso de humedad. Posteriormente, los papeles toalla con los huevos se colocan entre hojas jóvenes de cedro, en forma alterna de un papel por cada cuatro hojas, como un manojo o "sandwich", para que, al nacer, las larvas encuentren alimento; las hojas deben ser tiernas pero bien formadas, y estar frescas. El manojo se coloca dentro de una caja plástica semitransparente, deseablemente hermética (Fig. 2), y se prensa un trozo de papel toalla humedecido, con la tapa de éste.

Las larvas nacen 3-7 días después de depositados los huevos, y unos siete días después alcanzan el instar III. Las hojas se deben reemplazar cada 2-3 días por hojas frescas. Para disponer de hojas frescas siempre, éstas se pueden almacenar envueltas en servilletas húmedas, dentro de bolsas plásticas, en la refrigeradora.

Las larvas en el instar III, cuyo tamaño es de 5-6 mm, se deben transferir a frasquitos con dieta artificial, para que completen su desarrollo. Deben colocarse en forma individual, debido a su fuerte tendencia al canibalismo. Además, es recomendable utilizar frasquitos de vidrio y con tapa de plástico duro y de rosca, como los que se emplean para algunos ungüentos medicinales (Fig. 3). La experiencia ha demostrado que si se utilizan frasquitos plásticos con tapas de cartón o plástico suave, como las usadas



**Figura 1.** Jaula de malín, colgando de un marco de metal, para la cópula y oviposición de *H. grandella* (Foto: Francisco Soto).



**Figura 2.** Dispositivo para la cría de los primeros instares larvales de *H. grandella* (Foto: Francisco Soto).

**Figura 3.** Frasco con dieta artificial, para la cría de las larvas de *H. grandella* (Foto: Francisco Soto).



normalmente para criar otros insectos, las larvas los perforan fácilmente y escapan.

Los frasquitos se debe colocar invertidos, debido al comportamiento de las larvas de caminar en dirección hacia arriba. Para facilitar su manipulación, ellos se deben colocar sobre bandejas plásticas, ya sea a la temperatura del laboratorio o dentro de cámaras bioclimáticas, donde las variables climáticas se pueden manipular. En caso de que la temperatura sea muy alta, se recomienda colocar un trozo de papel toalla humedecido en cada frasquito, prensado con la tapa de éste, para mantener suficiente humedad y evitar la desecación. Puesto que los frasquitos están invertidos, es fácil humedecer periódicamente el papel toalla y mantener la humedad internamente. Dependiendo de la temperatura, se recomienda adicionar 0,5 ml de agua al trozo de papel toalla, ya sea diariamente o día de por medio.

La duración total del estadio de larva es de 66, 39, 19 y 17 días, a temperaturas constantes de 15, 20, 25 y 30°C, respectivamente; por su parte, la pupa dura 29, 19, 13 y 10 días, respectivamente.

## Aplicaciones

Hay numerosos tipos de estudio, referidos a la biología, la ecología y el manejo de *H. grandella*, para los cuales es importante y necesario contar con protocolos para su cría masiva, como el descrito aquí. Por tanto, a continuación se incluyen algunas sugerencias que podrían ser útiles en cuanto a necesidades específicas de algunos tipos de estudio.

Por ejemplo, éste ha sido muy útil y funcional para estudiar en detalle el *ciclo de vida* de dicho insecto en

respuesta a la temperatura, lo cual se hizo en cámaras bioclimáticas (Percival I-35L), en las que se pueden controlar la temperatura y el fotoperíodo. Al respecto, se recomienda mantener un fotoperíodo cercano a 12:12 h (luz: oscuridad), más cercano a la realidad en el campo en los trópicos. No obstante, puesto que la larva en el campo permanece dentro del tallo de los árboles, en un ambiente oscuro, se ha elegido, con éxito, uno de 8:16 h, que a la vez da un plazo amplio de horas de luz para manipular el material en el laboratorio, sin afectar su comportamiento diario. En estos casos, se ha trabajado con valores de humedad relativa de 85-95%.

Debe tenerse presente que, durante su desarrollo, las larvas mudan su piel al cambiar de instar, los cuales normalmente corresponden a seis, aunque a menores temperaturas podría haber hasta ocho instares. En cada instar cambia el tamaño de la cápsula cefálica, el volumen y longitud corporal, y el color. En los primeros instares las larvas son de color crema-rosado, y en el V y VI instares son verde-azuladas.

Para efectuar estudios relacionados con el *comportamiento sexual*, así como con la síntesis de la *feromona sexual* de *H. grandella*, es importante determinar la proporción de sexos en una población. Para hacer esto, a las pupas se les puede examinar su genitalia, externamente. En la hembra, el VIII segmento abdominal está dividido en su mitad por la abertura genital (AG), mientras que en el macho ésta aparece desplazada hacia el IX segmento y está acompañada por dos pequeños abultamientos (Fig. 4).

En cuanto a estudios relativos a la longevidad de ambos sexos y el período de oviposición de las hembras, es

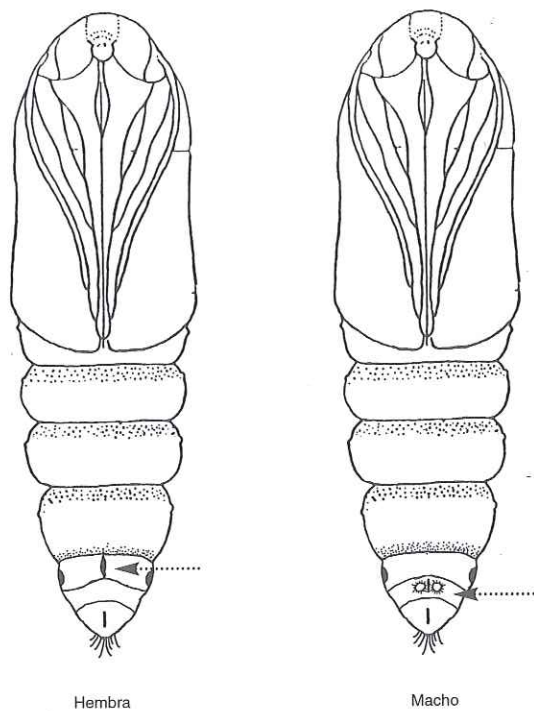


Figura 4. Pupas de ambos sexos de *H. grandella*, resaltando la abertura genital (AG), que es la estructura clave para diferenciar los sexos (Redibujado de Hidalgo-Salvatierra 1973b).

difícil efectuarlos dentro de cámaras bioclimáticas, ya que las parejas de *H. grandella* no copulan cuando están en espacios cerrados, aunque las jaulas sean grandes y bien ventiladas. Al parecer, para lograr la cópula se requiere que haya corrientes de aire dentro de la cámara, pues la actividad de vuelo influye mucho sobre la cópula y la oviposición.

Asimismo, para determinar la actividad de cópula, se puede hacer una disección de la "vagina" (*bursa copulatrix*). La hembra de *H. grandella* copula solamente una vez, durante lo cual el macho le inserta un solo espermátforo en la bursa; ésta se puede abrir con una aguja fina y adentro aparecerá pequeño "saco" o glóbulo endurecido, el cual contiene los espermatozoides.

Finalmente, en cuanto a estudios para el posible manejo de *H. grandella* mediante *sustancias inhibidoras de la alimentación* (fagodisuasivas) de las larvas, no es conveniente utilizar la dieta artificial en forma directa, ya que si dichas sustancias se mezclan con la dieta, podrían afectar a la larva no solo por ingestión, sino también por

contacto, y sería muy difícil distinguir entre sus efectos fagodisuasivo o tóxico. Por tanto, lo recomendable es trabajar con larvas algo grandes (instar III), las cuales se colocan individualmente en frasquitos donde se deposita un pequeño disco de hoja de cedro previamente sumergido en la solución del respectivo tratamiento. Después de 24 h de exposición al disco, cada larva se separa de su disco y se coloca en un frasquito con dieta, para valorar los efectos posteriores de cada sustancia.

## Agradecimientos

A la Dra. Carrie Hauxwell (IERM, Reino Unido), quien incentivó y apoyó el desarrollo del protocolo de cría, así como los aportes de Fernando Mancebo, Douglas Cubillo, Guido Sanabria y Arturo Ramírez.

## Literatura citada

- Grijpma, P. 1973. Observations on a rearing technique and host selection behavior of adults in captivity. In Grijpma, P. Ed. Studies on the shootborer *Hypsipyla grandella* (Zeller). Lep., Pyralidae. San José, Costa Rica. IICA Miscellaneous Publication No. 101. v. 1. p. 50-60.
- Hidalgo-Salvatierra, O. 1973a. Dos dietas aptas para la cría de *Hypsipyla grandella* (Zeller). In Grijpma, P. Ed. Studies on the shootborer *Hypsipyla grandella* (Zeller). Lep., Pyralidae. San José, Costa Rica, IICA Miscellaneous Publication. No. 101. v. 1. p. 91.
- Hidalgo-Salvatierra, O. 1973b. Determinación del sexo en pupas. In Grijpma, P. Ed. Studies on the shootborer *Hypsipyla grandella* (Zeller) Lep., Pyralidae. San José, Costa Rica. IICA Miscellaneous Publication No. 101. v. 1. p. 67.
- Hidalgo-Salvatierra, O; Berrios, F. 1973. Growth of larvae reared on a synthetic diet. In Grijpma, P. Ed. Studies on the shootborer *Hypsipyla grandella* (Zeller). Lep., Pyralidae. San José, Costa Rica. IICA Miscellaneous Publication. No. 101. v. 1. p. 77-80.
- Lara, L. 1974. Algunos aspectos en la biología, desarrollo y reproducción de *Hypsipyla grandella* (Zeller) (Lepidoptera: Pyralidae) en condiciones de laboratorio. M.Sc. Thesis. Seattle, University of Washington. 77 p.
- Mancebo, F. 1998. Efectos de extractos vegetales sobre la alimentación y el desarrollo de larvas de *Hypsipyla grandella* (Zeller). Tesis Mag. Sci. Turrialba, Costa Rica. CATIE. 83 p.
- Soto, F. 2000. Efectos de extractos vegetales sobre larvas de *Hypsipyla grandella* (Zeller) y su sistemicidad en árboles de cedro. Tesis Mag. Sci. Turrialba, Costa Rica, CATIE 104 p.
- Taveras, R. 1999. Aspectos bioecológicos y caracterización del daño de *Hypsipyla grandella* (Zeller) en caoba, en Turrialba, Costa Rica. Tesis Mag. Sci. Turrialba, Costa Rica, CATIE. 83 p.



## Relación entre la incidencia de escolítidos y la necrosis del cacao en Aragua, Venezuela

William Goitía<sup>1</sup>  
Carlos Julio Rosales<sup>2</sup>

**RESUMEN.** El grupo de escolítidos (Coleoptera: Scolytidae) de hábitos xilomicetófagos, establecen simbiosis con hongos, las cuales generalmente afectan en forma negativa las plantas hospedantes. En este trabajo se determinó el porcentaje de plantas de cacao, *Theobroma cacao* L., con escolítidos y el porcentaje de plantas con síntomas de la necrosis del cacao (*Ceratocystis fimbriata* Ellis & Halst), en nueve zonas de la región cacaotera del estado Aragua, Venezuela. En cada una de las zonas se escogió aleatoriamente 1 ha, la cual se muestreó, recolectando los escolítidos de las plantas de cacao afectadas; también se registró el número de plantas con síntomas de la enfermedad, entre setiembre-diciembre (época lluviosa), y marzo-agosto (época seca). Los escolítidos fueron colocados en frascos con alcohol al 70% para su posterior identificación. En todas las localidades evaluadas, se encontraron plantas de cacao con ataque de escolítidos, y con síntomas de la enfermedad, con porcentajes entre 1-39% y 0,5-4%, respectivamente. El mayor porcentaje de plantas con escolítidos se registró en Ocumare de la Costa (39%), seguido por Chuao (4%) y la Trilla (3%); en los otros sitios se determinaron porcentajes menores de ataque, entre 1-2%. Los mayores porcentajes de plantas con síntomas de la enfermedad se encontraron en Chuao (4 y 3,8%) y el menor en Ocumare de la Costa (0,5%). Se determinó un total de siete especies conocidas de escolítidos, además de cuatro morfoespecies no identificadas y un grupo del género *Hypothenemus*. Las especies encontradas con mayor frecuencia en las plantas de cacao fueron *Hypothenemus eruditus* Westwood, *Xyleborus ferrugineus* Fabricius y *Xyleborus vespatorius* Schedl. Las especies *Xylosandrus curtulus* (Eichhoff), *Xyleborus solitarius* Hagerdorn y *X. hagerdoni* Iglesias representan nuevos registros de escolítidos en plantas de cacao para Venezuela.

**Palabras clave:** Escolítidos, Scolytidae, Cacao, *Theobroma cacao*, Necrosis del cacao, Venezuela.

**ABSTRACT. Relation between the incidence of ambrosia beetles and necrosis on cocoa in Aragua, Venezuela.** Ambrosia beetles (Coleoptera: Scolytidae) that are xylomycophagous, form symbiotic associations with fungi, which often have a negative affect on the host plants. In this study the percentage of cocoa (*Theobroma cacao* L.) plants with ambrosia beetles and the percentage with symptoms of cocoa necrosis (*Ceratocystis fimbriata* Ellis & Halst) was determined in nine zones of the cocoa region of Aragua state, Venezuela. One hectare within each plantation was randomly selected in each of the zones and sampled, beetles were collected from affected cocoa plants; also the number of plants with symptoms was recorded, between September – December (wet season) and March – August (dry season). The beetles were placed in containers and stored in 70% alcohol for future identification. In all of the evaluated localities cocoa plants were found attacked by beetles; and with symptoms of the disease, with percentages between 1-39 % and 0.5-4 % respectively. The highest percentage of plants with beetles was found in Ocumare de la Costa (39%), followed by Chuao (4%) and La Trilla (3%); in the other sites lower percentages of attack were found, of between 1– 2%. The highest percentages of plants with symptoms of the disease were found in Chuao (4 and 3.8 %) and the lowest in Ocumare de la Costa (0.5 %). A total of seven species known as ambrosia beetles, as well as four unidentified morphospecies and a group from the genus *Hypothenemus* were found. The species found with greatest frequency in the cocoa plants were *Hypothenemus eruditus* Westwood, *Xyleborus ferrugineus* Fabricius, and *Xyleborus vespatorius* Schedl. The species *Xylosandrus curtulus* (Eichhoff), *Xyleborus solitarius* Hagerdorn, and *Xyleborus hagerdoni* Iglesias represent new records of ambrosia beetles in cocoa plants for Venezuela.

**Key words:** Ambrosia beetles, Scolytidae, Cocoa, *Theobroma cacao*, Cocoa necrosis, Venezuela.

<sup>1</sup>Universidad Nacional Experimental Simón Rodríguez, IDECYT, Laboratorio Ecología y Control de Insectos Plaga. Caracas, Venezuela. wgoitia@mail.com

<sup>2</sup> Universidad Central de Venezuela, Instituto de Zoología Agrícola. Caracas, Venezuela.

## Introducción

Los escolítidos representan un importante grupo de insectos, tanto por su riqueza de especies, se conocen unas 6000 en todo el mundo, como por su función desintegradora de la madera en los bosques (Wood 1982). Estos insectos perforan la madera y construyen galerías, donde cumplen su ciclo biológico, alimentándose de madera (xilofagia) y de hongos asociados (xilomicetofagia) (Crowson 1981, Moya 1970, Wood 1982).

En el caso de las plantas de cacao, algunas especies de escolítidos son uno de los agentes vectores de la enfermedad conocida como necrosis del cacao o mal del machete, causada por el hongo *Ceratocystis fimbriata* Ellis & Halst, que puede ocasionar la muerte súbita de los árboles (Delgado y Echandi 1965, Soria y Salazar 1965, Malaguti 1956, 1952). Aunque recientemente, en esta región, plantas afectadas por *Botryodiplodia theobromae* Pat. presentan los mismos síntomas de esta enfermedad (Salazar 1995).

En Venezuela se han registrado 19 especies de escolítidos que se hospedan en plantas de cacao (Reyes *et al.* 1978), algunas de estas especies actúan como vectores primarios de la necrosis del cacao, la cual como su nombre lo indica ocasiona necrosis en los árboles (Delgado y Echandi 1965, Malaguti 1952, 1956, Salazar 1995, Soria y Salazar 1965). En Venezuela se ha estimado que esta enfermedad causó entre 20 y 50% de mortalidad de árboles de cacao en las regiones cacaoteras de los estados Aragua y Sucre (Knoke 1966, Malaguti 1956). El objetivo de este trabajo fue identificar las especies de escolítidos asociadas al cultivo del cacao para cuantificar su importancia, referente a la incidencia de ataque y a la intensidad de daño sobre la planta y su relación con la necrosis del cacao.

## Materiales y métodos

### Localidades y períodos de muestreo

Se recolectaron escolítidos hospedados en plantas de cacao, en varias localidades y zonas de la región norte costera del estado de Aragua, Venezuela (Cuadro 1).

Las poblaciones de plantas de cacao en estas regiones son heterogéneas, a partir de los tipos "Criollo puro" y Forastero-Trinitario, con predominio de híbridos con carácter Forastero (Ciferri y Cyferri 1949).

Las plantaciones cacaoteras en esta región están restringidas al bosque caducifolio, aledaño a ríos. Esto permite el crecimiento de árboles de sombra, principalmente *Erythrina* spp., *Inga* spp. y *Anacardium excelsum* (Bert. y Balb). Con la excepción de Monasterio, en Ocumare, las demás plantaciones están rodeadas de vegetación arbolada, del Parque Nacional Henri Pittier.

En las plantaciones estudiadas, durante la época seca, se utiliza riego por sistemas de canales que parten de ríos próximos. El manejo del cultivo es poco intensivo, con relación a las prácticas de poda, fertilización y aplicación de agroquímicos, con la excepción de Ocumare de la Costa, donde estas prácticas son realizadas periódicamente dentro del Campo Experimental MAC-INIA.

Los muestreos se realizaron de setiembre a diciembre, correspondiente a la temporada de lluvias, y de marzo a agosto, durante la temporada seca.

### Porcentaje de plantas afectadas

Para cuantificar el porcentaje de plantas afectadas por escolítidos o con síntomas de la enfermedad de necrosis del cacao, en cada sector se seleccionó aleatoriamente 1 ha, y en esta área se inspeccionaron cuidadosamente todas las plantas de cacao.

**Cuadro 1.** Localidades y zonas cacaoteras del estado Aragua, Venezuela donde se realizó el muestreo de escolítidos en plantas de cacao.

| Localidad | Zona             | Altitud (msnm) | Coordenadas geográficas |
|-----------|------------------|----------------|-------------------------|
| Cata      | La Rinconada     | 30             | 10°28'N, 67°44'O        |
| Chua      | Tamaira          | 40             | 10°29'N, 67°32'O        |
|           | La Madre de Dios | 5              | 10°30'N, 67°31'O        |
| Cumboto   | El Encanto       | 360            | 10°22'N, 67°47'O        |
|           | El Paraíso       | 140            | 10°23'N, 67°47'O        |
|           | La Vega          | 15             | 10°24'N, 67°47'O        |
| Cuyagua   |                  | 10             | 10°30'N, 67°42'O        |
| La Trilla |                  | 160            | 10°23'N, 67°44'O        |
| Ocumare   | Monasterio       | 5              | 10°28'N, 67°46'O        |

Aquellas plantas que mostraron síntomas de la necrosis del cacao, ramas o plantas marchitas, perforaciones en la corteza, presencia de aserrín sobre la planta o en el suelo alrededor de la planta, fueron examinadas detenidamente, haciendo cortes de corteza en las secciones que mostraban perforaciones.

Cuando se detectaban escolítidos, se recolectaban y depositaban en frascos que contenían alcohol al 70%, para su posterior proceso de identificación. Cada frasco se rotuló con el número de la planta, localidad, sector y fecha.

Las plantas donde no se encontraron estos perforadores, pero mostraban las galerías características del ataque, se registraban como evidencia del ataque. Toda planta en la que se recolectaban los escolítidos, o se registraba evidencia de su ataque, se marcaba para evitar su muestreo en la siguiente temporada.

Para el cálculo de los valores de incidencia, se consideró una distancia promedio entre plantas de 4x4 m, tomando en cuenta las observaciones de campo. Por lo tanto, se estimó una población máxima de 625 plantas de cacao por hectárea.

#### Análisis estadístico

Se comparó el porcentaje total de plantas atacadas por escolítidos en cada sector con la altitud, utilizando la prueba de rangos de Correlación de Spearman (Siegel 1982). También se compararon los porcentajes de ataque entre ambas temporadas, utilizando una prueba pareada de Wilcoxon (Siegel 1982). Se comparó la frecuencia de ataque de las especies más frecuentes de escolítidos en las distintas localidades con la altitud (Spearman) y entre temporadas (Wilcoxon).

**Cuadro 2.** Porcentaje de plantas con presencia o evidencia de ataque de escolítidos, en distintas localidades del estado Aragua, Venezuela en la época lluviosa y seca.

| Localidad | Zona          | Plantas atacadas por escolítidos (%) |       |       |                           |       |
|-----------|---------------|--------------------------------------|-------|-------|---------------------------|-------|
|           |               | Todos los escolítidos                |       |       | Síntomas de la enfermedad |       |
|           |               | Lluviosa*                            | Seca* | Total | Si                        | No*** |
| Cata      | La Rinconada  | 0,2                                  | 1,1   | 1,3   | 1,1                       | 0,2   |
| Chuao     | Tamaira       | 0,6                                  | 3,4   | 4,0   | 4,0                       | 0     |
|           | Madre de Dios | 1,8                                  | 2,1   | 3,8   | 3,8                       | 0     |
| Cumboto   | El Encanto    | 0,7                                  | 0,3   | 1,0   | 1,0                       | 0     |
|           | El Paraíso    | 1,6                                  | 0,3   | 1,9   | 1,9                       | 0     |
|           | La Vega       | 1,1                                  | 0,3   | 1,4   | 1,4                       | 0     |
| Cuyagua   |               | 1,0                                  | 0,8   | 1,8   | 1,8                       | 0     |
| La Trilla |               | 0,6                                  | 2,3   | 2,9   | 2,2                       | 0,7   |
| Ocumare** | Monasterio    | 0,0                                  | 39,6  | 39,6  | 0,5                       | 39,1  |

\*: Al comparar el porcentaje de plantas de cacao atacadas en la época de lluviosa y seca, no mostraron diferencias significativas (Wilcoxon,  $p > 0,05$ ). \*\*: Mayor porcentaje de plantas atacadas. \*\*\*Plantas con presencia de *Hypothenemus* spp., pero que no mostraron síntomas de la enfermedad.

## Resultados

### Porcentaje de plantas afectadas

En todas las localidades cacaoteras evaluadas se encontraron plantas con síntomas de la necrosis del cacao, o con algunas ramas secas, y todas esas plantas mostraban perforaciones producidas por escolítidos.

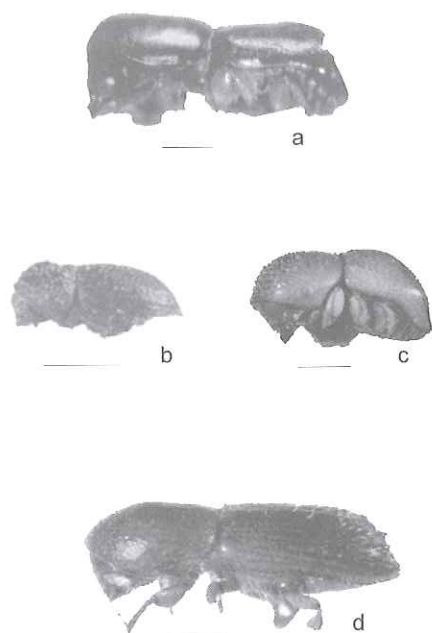
En el Cuadro 2, se presenta el porcentaje de plantas de cacao con presencia o evidencia de ataque de escolítidos, en cada localidad, tanto en la estación lluviosa como en la seca. No se encontraron diferencias significativas de este porcentaje entre las dos estaciones climáticas (Wilcoxon  $P > 0,05$ ).

En el sector Monasterio de Ocumare de la Costa se detectó el mayor porcentaje total de plantas atacadas por escolítidos (39,6%), seguido por Tamaira (4%) y Madre de Dios (3,8%) Chuao y La Trilla (2,9%). En las otras zonas, el porcentaje se mantuvo relativamente bajo (1- 1,9%).

En el muestreo de las nueve zonas estudiadas en ambas estaciones, se encontraron siete especies conocidas de escolítidos, además de cuatro morfoespecies no identificadas, pertenecientes a cuatro géneros, y un complejo de especies no definidas del género *Hypothenemus* (Cuadros 3 y 4). Se determinó un mayor número de plantas atacadas por las especies *Hypothenemus eruditus* Westwood (153), *Xyleborus ferrugineus* Fabricius (38), *Hypothenemus* spp. (26) y *Xyleborus vespatorius* Schedl (22) (Fig. 1).

### Altitud sobre el nivel del mar

El porcentaje total de plantas afectadas por el ataque de escolítidos y con síntomas de la enfermedad no se correlacionó significativamente con la altitud sobre el



**Figura 1.** Escolítidos que representan los distintos géneros recolectados en plantas de cacao del estado Aragua, durante la investigación. a: *Corythylus* sp., b: *Hypothenemus eruditus*, c: *Xylosandrus morigerus*, d: *Xyleborus ferrugineus*. Las líneas corresponden a 0,5 mm, para cada uno de los escolítidos mostrados.

nivel del mar, en las diferentes localidades evaluadas (Spearman  $P > 0,05$ ). Pero cuando se comparó la altitud con relación al número de plantas de cacao atacadas por cada una de las especies y morfoespecies de escolítidos, se encontró una correlación positiva con *X. vespatorius* (Spearman  $P < 0,05$ ), es decir que esta especie se hospedó en un mayor número de plantas en las localidades situadas a mayor altitud (Cuadro 3).

### Comparación del ataque de diferentes especies de Escolítidos entre épocas

En la temporada de lluvias se determinó como huéspedes de plantas de cacao a cuatro especies y cuatro morfoespecies de escolítidos, pertenecientes a tres géneros (Cuadro 3), con un mayor número de plantas como hospedantes de *X. ferrugineus* (14) y de *X. vespatorius* (6). En la temporada seca, se determinaron seis especies, dos morfoespecies, pertenecientes a tres géneros, con un complejo del género *Hypothenemus*. Se determinó un mayor número de plantas afectadas por *H. eruditus* (153), *X. ferrugineus* (24) y *X. vespatorius* (16) (Cuadro 4).

Al comparar el porcentaje de plantas atacadas por las distintas especies y morfoespecies en la época seca y la lluviosa se determinó diferencias significativas en el número de plantas con presencia de escolítidos por hectárea entre las épocas climáticas (Wilcoxon  $p < 0,02$ ). Se encontró un mayor número de plantas con escolítidos en la estación seca (Cuadro 4), con respecto a la estación lluviosa (Cuadro 3).

Las mayores diferencias de plantas atacadas entre épocas, se evidencian entre las especies *H. eruditus*, *Hypothenemus* spp., *X. ferrugineus*, *X. vespatorius* y *X. morigerus* (Cuadros 3 y 4).

En Monasterio, Ocumare de la Costa, el ataque fue casi exclusivamente (99% de los casos) de *H. eruditus*, en 39% de las plantas de la parcela evaluada (Cuadro 4)

Se destaca que los escolítidos del género *Hypothenemus* se detectaron sólo durante la época seca en las plantas de cacao, en ramas terminales de aproximadamente 5 cm de diámetro. *Xylosandrus* sólo se encontró en ramas jóvenes en la base del tronco y *Xyleborus* y *Corythylus* en tronco y ramas principales.

**Cuadro 3.** Número de plantas de cacao con presencia de escolítidos, en distintas localidades del estado Aragua, Venezuela, recolectados entre setiembre-diciembre (época lluviosa).

| Scolytidae                                 | Chuaó   |         | Cata      | La Trilla | Cumboto |      |         | Cuyagua    | Ocumare | TOTAL |
|--|---------|---------|-----------|-----------|---------|------|---------|------------|---------|-------|
|  | M. Dios | Tamaira | Rinconada |           | Paraíso | Vega | Encanto | Monasterio |         |       |
| <i>Xylosandrus morigerus</i> <sup>1</sup>  | 1       |         |           |           |         |      |         |            |         | 1     |
| <i>Xyleborus solitarius</i> <sup>2</sup>   |         |         |           |           |         |      |         | 1          |         | 1     |
| <i>Xyleborus ferrugineus</i> <sup>2</sup>  | 5       | 2       |           |           | 1       | 5    |         | 1          |         | 14    |
| <i>Xyleborus vespatorius</i> <sup>2*</sup> |         | 2       | 1         | 2         |         |      | 1       |            |         | 6     |
| <i>Xyleborus</i> sp. <sup>2</sup>          |         |         |           | 1         |         |      |         | 1          |         | 2     |
| <i>Xyleborus</i> sp.1 <sup>2</sup>         | 1       | 1       |           |           |         |      |         |            |         | 2     |
| <i>Xyleborus</i> sp.2 <sup>2</sup>         | 1       |         |           |           |         |      |         |            |         | 1     |
| <i>Corythylus</i> sp. <sup>2</sup>         |         |         |           |           |         |      |         | 1          |         | 1     |

1= Escolítidos alojados en brote de ramas jóvenes, al pie de la planta. 2= en tronco y/o ramas principales.

\*=  $P < 0,05$  (Correlación de rangos de Spearman), entre el número de plantas atacadas por esta especie y la altitud de las localidades.

**Cuadro 4.** Número de plantas de cacao con presencia de escolítidos, en distintas localidades del estado Aragua, Venezuela, recolectados entre marzo - agosto (época seca).

| Scolytidae                                 | Chuaó   |         | Cata      | La Trilla | Cumboto |      |         | Cuyagua    | Ocumare | TOTAL |
|--|---------|---------|-----------|-----------|---------|------|---------|------------|---------|-------|
|  | M. Dios | Tamaira | Rinconada |           | Paraíso | Vega | Encanto | Monasterio |         |       |
| <i>Xylosandrus morigerus</i> <sup>1</sup>  |         |         |           | 4         |         |      |         |            |         | 4     |
| <i>Xylosandrus curtulus</i> <sup>1</sup>   |         |         |           | 1         |         |      |         |            |         | 1     |
| <i>Xyleborus ferrugineus</i> <sup>2</sup>  | 5       | 17      |           | 1         | 1       |      |         |            |         | 24    |
| <i>Xyleborus vespatorius</i> <sup>2*</sup> |         | 14      | 1         |           |         |      | 1       |            |         | 16    |
| <i>Xyleborus hagedorni</i> <sup>2</sup>    |         |         |           | 3         |         |      |         |            |         | 3     |
| <i>Xyleborus</i> sp. 1 <sup>2</sup>        |         |         | 1         |           |         | 1    |         |            | 2       | 4     |
| <i>Xyleborus</i> sp. 2 <sup>2</sup>        |         | 1       |           |           |         |      |         |            |         | 1     |
| <i>Hypothenemus eruditus</i> <sup>3</sup>  |         |         |           |           |         |      |         |            | 153     | 153   |
| <i>Hypothenemus</i> spp. <sup>3</sup>      | 3       | 6       | 1         | 15        | 1       |      |         |            |         | 26    |

1=Escolítidos alojados en brote de ramas jóvenes, al pie de la planta. 2=en tronco y/o ramas principales. 3= en ramas terminales.

(\*):  $p < 0,05$  (Correlación de rangos de Spearman), entre el número de plantas atacadas por esta especie y la altitud de las localidades.

## Discusión

### Incidencia de escolítidos

Los trabajos relacionados con los escolítidos del cacao en Venezuela se han basado en la cuantificación poblacional, utilizando trampas con atrayentes, tales como troncos de cacao sumergidos previamente en gasoil (Mendoza 1967, Reyes *et al.* 1978, Vale 1987), trampas con etanol o extractos de madera de cacao con etanol (Vale 1987), sólo en un trabajo se ha muestreado directamente los escolítidos en las plantas de cacao (Reyes *et al.* 1978). El empleo de trampas para la captura de escolítidos proporciona un estimado de los niveles de dispersión en un momento dado. Sin embargo, las especies más abundantes, según muestreos basados en la captura con trampas, no necesariamente presentan una mayor incidencia en las plantas de cacao. Muchas especies de escolítidos, principalmente, de los géneros *Xyleborus* e *Hypothenemus*, pueden desarrollarse en cientos de especies de plantas hospedantes (Pedrosa-Macedo y Schönherr 1985, Pedrosa-Macedo *et al.* 1990, Wood 1982). Por el contrario, con el muestreo directo sobre las plantas, se puede precisar las especies de mayor incidencia en el cultivo, así como la importancia económica de cada una de ellas.

Aunque se han registrado 33 especies de escolítidos capturados en plantaciones cacaoteras en Venezuela (Mendoza 1967, Reyes *et al.* 1978, Vale 1987), sólo 19 de ellos se recolectaron directamente en plantas de cacao (Reyes *et al.* 1978).

Los resultados de este estudio se aproximan a lo indicado por este autor, en el muestreo de escolítidos en plantas de cacao. Además se añadieron tres nuevos registros para el cacao en Venezuela: *X. curtulus* (Eichhoff), *X. solitarius* Hagedorn y *X. hagedorni* Iglesias.

### Escolítidos y su relación con la necrosis del cacao

Los trabajos sobre escolítidos del cacao en Venezuela, se han realizado principalmente en la región cacaotera del Estado Aragua, y restringidos prácticamente a la localidad Ocumare de la Costa (Mendoza 1967, Reyes *et al.* 1978, Sánchez y Balderrama 1981, Vale 1987). En esta región, las plantas de cacao, han sido afectadas por la necrosis del cacao, desde 1951 (Malaguti 1952), provocando una mortalidad de 20 a 50% (Knoke 1966, Malaguti 1956).

El porcentaje de plantas con síntomas de necrosis del cacao se restringió al intervalo 0,5-4,0 %, en todas ellas se evidenció la presencia de escolítidos, lo que coincide con lo señalado por Saunders (1965) y Salazar (1995). En otro grupo de plantas, donde sólo se encontraron hospedados especímenes del género *Hypothenemus*, no se evidenciaron los síntomas de la enfermedad.

Este intervalo de porcentaje de plantas con síntomas de la enfermedad coincide con lo señalado por Malaguti (1952) quien reportó de 1-6 % para distintas localidades del estado Aragua, sólo 7 meses después de la primera detección de la enfermedad en esta región. Además indicó para Chuaó, Cepe y Ocumare de la Costa aproximadamente un 1%, mientras que para las plantaciones próximas a Choróní un 6%. Malaguti (1956), estimó entre los años 1951-1956, una mortalidad de más de 20% para los valles de Choróní y Chuaó, y de 2% para Ocumare de la Costa, Turiamo, Cuyagua y Aroa.

Los resultados sobre el número de plantas con síntomas de la enfermedad concuerda con lo obtenido por Malaguti (1956), donde los valores más altos se encontraron en Chuaó, con respecto a los de las otras localidades.

Este resultado parece apuntar, a una mayor susceptibilidad de las poblaciones de plantas del tipo criollo a la enfermedad (Malaguti 1952), considerando lo señalado por Ciferri y Ciferri (1949), quién basado en las características de las almendras y la forma del fruto, determinó un mayor porcentaje de plantas con carácter del tipo "criollo", en Chuao (17%), en comparación con otras localidades, como Ocumare (7%), Cuyagua (8%) y Cata (7%), evaluadas en este trabajo.

#### Escolítidos en diferentes estaciones climáticas

El mayor número de plantas de cacao donde se detectó presencia de escolítidos durante la época seca con respecto a la época lluviosa, indica que los síntomas e indicios del ataque de estos insectos se hicieron más evidentes durante la época seca.

Si se considera que las plantas atacadas pueden albergar varias generaciones de escolítidos antes de que se manifiesten los síntomas de la necrosis, 2-3 meses (Knoke 1966) o de 3-6 meses (Malaguti 1956), los resultados de este estudio estarían indicando que la manifestación de los síntomas de las plantas enfermas y las evidencias de ataque por escolítidos se estarían manifestando en la época seca, de dos a seis meses después de la época de lluvias, siendo en este último período, cuando la dispersión de estos insectos es más frecuente en la región (Vale 1987). Sin embargo, estas consideraciones no serían válidas para las especies pertenecientes a los géneros *Hypothenemus* y *Xylosandrus*, debido que son capaces de completar su ciclo de vida en semanas (Pedrosa-Macedo *et al.* 1990).

#### Altitud y la presencia de escolítidos y necrosis del cacao

Algunos autores han señalado una relación entre el porcentaje de plantas con necrosis del cacao y la altitud sobre el nivel del mar, en diferentes localidades de esta región cacaotera (Malaguti 1952, Orellana 1954), con una mayor incidencia de la enfermedad en haciendas próximas a la Costa (6% de mortalidad), en comparación con las ubicadas hacia los sectores aledaños a las montañas (menos del 1%) (Malaguti 1952). En Colombia, Moncayo (1959) indicó una mayor mortalidad de plantas de cacao entre 500 y 1200 msnm.

En este trabajo, la relación con la altitud no presentó valores significativos, ni con el número total de plantas que hospedaban escolítidos, ni con las plantas con síntomas de la enfermedad. No obstante, cuando se comparó el número de plantas atacadas por cada

una de las especies y morfoespecies de escolítidos con la altitud, se encontró una correlación significativa y positiva para *X. vespatorius*. En el caso de *X. ferrugineus*, aunque presentó una distribución más amplia en esta región (en seis de las nueve zonas) el número de plantas donde se alojó, no se correlacionó con la altitud. Para *H. eruditus* la alta proporción de plantas se restringió a Ocumare de la Costa, atacando 39% de las plantas de la parcela evaluada.

#### Diferencias del comportamiento de las especies de escolítidos

Reyes *et al.* (1978), comprobaron que *H. eruditus*, *H. buscki*, *X. corniculatus* y *X. morigerus*, son capaces de producir ataques primarios en plantas sanas de 18 meses de edad cuando se expusieron durante dos meses (julio-agosto), en una plantación cacaotera.

En el sector Monasterio de Ocumare de la Costa, *H. eruditus* generalmente no se encontró asociado a las plantas con síntomas de la enfermedad (sólo en dos plantas, atacada simultáneamente por *Xyleborus* sp. 1), relacionándose principalmente con muerte de ramas terminales. Sin embargo, esta especie al atacar algunas plantas con síntomas necrosis del cacao podría ser capaz de dispersar la enfermedad, si luego atacara plantas sanas.

La alta incidencia de *H. eruditus* en Ocumare de la Costa, coincide con resultados de trabajos anteriores (Mendoza 1967, Reyes *et al.* 1978, Vale 1987). Esta especie es la más común y de distribución más amplia del género. Su presencia se ha informado desde el sur de California, Estados Unidos hasta Argentina; desde el sur de Europa y Asia hasta Africa y Australia. Se puede desarrollar en la cubierta de libros, cuerpo fructífero de hongos, en el tallo de gramíneas, malezas y en gran cantidad de otras plantas (Pedrosa-Macedo *et al.* 1990).

En el caso de *X. ferrugineus* y *X. vespatorius* se encontró una fuerte relación con la enfermedad, destacándose que aproximadamente el 50% de las plantas fueron atacadas por ambas especies en forma simultánea. Este resultado sugiere que estas especies podrían estar orientándose por los mismos semioquímicos, originados de las plantas hospedandas (kairomonas) y de los insectos implicados (allomonas), como ha sido comprobado con *Dendroctonus brevicomis* LeConte, que responde a componentes de la feromona de *Ips paraconfusus* Lanier (Byers & Wood 1981) e *I. typographus* Linnaeus que responde a exo-brevico-

min (de *D. micans* (Kugelann) y *Dryocoetes* spp.) (Borden *et al.* 1987).

Otra diferencia en el comportamiento, entre los distintos grupos de escolítidos, se refleja en el hábito de alojarse en áreas particulares de la planta. Las especies del género *Hypothenemus* se encontraron en ramas terminales, de aproximadamente 5 cm de diámetro, las del género *Xylosandrus* en ramas jóvenes que emergen de chupones en la base del tronco, mientras que las de *Xyleborus* y *Corthylus* en el tronco y ramas principales. Cada grupo de estos escolítidos mostró diferencias de distribución temporal y espacial (horizontal y vertical), y preferencias de distinto estado fisiológico del sustrato de la planta, lo que sugiere preferencias y limitaciones micro y macroclimáticas, que permiten o dificultan la colonización de plantas susceptibles.

Es posible que otros factores, además de la altitud y las condiciones microclimáticas, puedan estar influyendo en los niveles de incidencia de escolítidos como es el caso de la poda de las plantas, la cual facilita la liberación de sustancias volátiles que pudieran ser detectadas como claves químicas, que los orienten hacia las plantas hospedantes, más susceptibles a ser atacadas con éxito (Byers 1995, Sánchez y Balderrama 1981).

### Agradecimientos

A FUNDACITE-ARAGUA, por la subvención de este trabajo. A la Dra. María Luisa García, Directora del Centro Nacional de Recursos Fitogenéticos del Ministerio del Ambiente y de los Recursos Naturales Renovables. Ing. Forestal Sandro Andriolli, Laboratorio de Proteção Florestal. Universidad Federal do Paraná, Brasil, por la identificación de los escolítidos.

### Literatura citada

Borden, JH; Pierce, AM; Pierce Jr, HD; Chong, LJ; Stock, AJ; Oehlschlager, AC. 1987. Semiochemicals produced by western balsam bark beetle *Dryocoetes confusus* Swaine (Coleoptera: Scolytidae). *J. Chem. Ecol.* 13: 823-836.

Byers, JA; Wood, DL. 1981. Interspecific effects of pheromones on the attraction of the bark beetles, *Dendroctonus brevicornis* and *Ips paraconfusus* in the laboratory. *J. Chem. Ecol.* 7: 9-18.

Byers, J. 1995. Host-tree chemistry affecting colonization in bark beetles. *In* Chemical ecology of insects. New York, Chapman & Hall. 433 p.

Ciferri, RY; Ciferri, F. 1949. Reconocimiento de la explotación cacaoera de los valles de riego del sector central (Estado Aragua). Ministerio de Agricultura y Cría. Dirección de Agricultura. Sección Cacao, Venezuela. 153 p.

Crowson, R. 1981. The biology of the Coleoptera. London,

Academic Press. 802 p.

Delgado, J; Echandi, E. 1965. Evaluación de la resistencia de especies y clones de cacao al mal del machete provocado por *Ceratomyces fimbriata*. Turrialba (Costa Rica) 15(4):286-289.

Knocke, J. 1966. Informe sobre un viaje de estudio entomológico a Venezuela en relación con el complejo *Xyleborus-Ceratomyces* del cacao. Cacao, Boletín informativo 3(1-2):9-25.

Malaguti, G. 1952. *Ceratomyces fimbriata* en el cacao de Venezuela. *Acta Científica Venezolana* 3(3):94-97.

Malaguti, G. 1956. La necrosis del tronco del cacao en Venezuela. *Agronomía Tropical (Venezuela)* 5(4):207-226.

Mendoza, B. 1967. Incidencia de *Xyleborus* spp. (Coleoptera, Scolytidae) en plantaciones de cacao de Ocumare de la Costa, Estado Aragua. Venezuela. Informe final de Problemas Especiales en Zoología Agrícola. 36 p.

Moncayo, MER. 1959. Plagas del cacao en los departamentos Santander y Antioquia, Colombia. *In* Conferencia Interamericana de Cacao (7, 1958, Palmira, Colombia). p. 261-269.

Moya, G. 1970. Some aspects of the biology and nutrition of four species of *Xyleborus* ambrosia beetles. Tesis Ph.D. University of Wisconsin. 129 p.

Orellana, RC. 1954. Enfermedades del cacao en Venezuela, Colombia, Ecuador y Trinidad. FAO. Boletín Fitosanitario 2(4): 49-52.

Pedrosa-Macedo, J; SchÖNherr, J. 1985. Manual dos scolytídeos nos reflorestamentos brasileiros. Curitiba, Brasil, Universidad Federal do Paraná. 69 p.

Pedrosa-Macedo, J; Berti, E; Dos Santos, H; Correa, E; Nunes, E; Peres, O; Mueller, J; Pinto, H; Pereira, M; Pietrowski, V; Nadvorny, E; Figueira, L. 1990. Manual de pragas em florestas. Pragas florestais do sul do Brasil. Folha de Viçosa. Viçosa. 111 p.

Reyes, H; de Reyes, L; Palacios, C. 1978. Insectos perforadores asociados a necrosis del cacao. Publicaciones Científicas N° 2. MAC-FONAIAP-CENIAP. 6 p.

Salazar, M. 1995. Diagnóstico de enfermedades del cacao (*Theobroma cacao* L.) en algunas localidades de la región norte costera del Estado Aragua. Tesis Ing. Agr. Maracay, Venezuela, Universidad Central de Venezuela. 66 p.

Sánchez, PA; Balderrama, N. 1981. Métodos para medir la respuesta de *Xyleborus ferrugineus* F. frente a estímulos alfatóricos provenientes de la hospedera *Theobroma cacao* L. *In* Conferencia Internacional de Investigación en Cacao (8, 1981, Cartagena, Colombia). p. 307-317.

Saunders, J. 1965. El complejo *Xyleborus-Ceratomyces* del cacao. Cacao. Centro Interamericano del cacao 10(2):8-14.

Siegel, S. 1982. Estadística no paramétrica. Editorial Trillas. 7ª reimpresión. México. 344 p.

Soria, J; Salazar, G. 1965. Pruebas preliminares de resistencia a *Ceratomyces fimbriata* en clones híbridos de cacao. Turrialba (Costa Rica) 15(4): 290-295.

Vale, C. 1987. Bioecología y comportamiento de algunos Scolytidae (Coleoptera) en cacaoero (*Theobroma cacao*) en Ocumare de la Costa, Aragua, Venezuela. Tesis M.Sc. Maracay, Venezuela, Universidad Central de Venezuela. 126 p.

Wood, S. 1982. The bark and ambrosia beetles of North and Central America (Coleoptera: Scolytidae), a taxonomic monograph. Great Basin Naturalist Memoirs (GBNM). Griggham Young University N° 6. Utah. 1359 p.

# Influencia de los procesos de investigación participativa sobre la experimentación campesina

Jennifer Wiegel<sup>1</sup>  
Falguni Guharay<sup>1</sup>

**RESUMEN.** Se realizó un estudio en dos comunidades del norte de Nicaragua para determinar si los agricultores involucrados en actividades de investigación participativa experimentan de la misma manera que aquellos que no han sido parte de este proceso. Se entrevistaron 31 agricultores quienes se consideran a sí mismos experimentadores; además, cada uno había realizado entre 1 y 19 experimentos durante los dos últimos años. La mayoría de los experimentos fue sobre manejo de plagas (42%) y mejoramiento de la fertilidad del suelo (26%). Dieciséis agricultores pertenecían a grupos de investigación participativa en sus comunidades; estos grupos eran promovidos por especialistas. Los otros 15 agricultores no habían estado involucrados en estos grupos y realizaban sus experimentos por sí mismos. Los agricultores que pertenecían a grupos de investigación participativa señalaron que la mayoría de las temáticas de sus trabajos surgieron a partir de las ideas discutidas en las sesiones de capacitación, y mencionaron a los científicos y agentes de extensión involucrados en esos grupos como la principal fuente de temas para investigar. Estos agricultores también registraron los datos de sus experimentos en forma más sistemática, anotaron sus observaciones y las discutieron con otros agricultores. Por el contrario, los agricultores que no participaron en estos grupos se basaron en observaciones visuales para evaluar los resultados de sus experimentos, y muy pocas veces los discutieron con otros miembros de su comunidad. Los agricultores que participaban en los grupos de investigación comentaron más sobre los experimentos con otras personas, promovieron activamente la investigación y animaron a otros productores a integrarse a los grupos de investigación.

**Palabras clave:** Investigación participativa, Transferencia de tecnología, Manejo Integrado de Plagas, Nicaragua.

**ABSTRACT. The influence of participatory research processes on farmer experimentation.** A study of two communities of Northern Nicaragua was performed to determine if the farmers involved in participative research activities experimented in the same way as those who have not been part of this process. Thirty-one farmers who consider themselves experimenters were interviewed; also each one had conducted between 1 and 19 experiments during the last two years. Most (42%) of these experiments were related to pest management and to improving soil fertility (26%). Sixteen farmers belonged to participatory research groups in their communities; scientists supported these groups. The other 15 farmers had not been involved in these groups and performed their experiments by themselves. The farmers who belonged to participative research groups indicated that most of the themes for their experiments originated from the ideas discussed in the training sessions, and mentioned the scientists and extension agents involved in these groups as the main source of ideas for experimenting. These farmers also recorded the data of their experiments more systematically, noted down their observations and discussed them with other farmers. In contrast, the farmers who did not participate in these groups used visual observations to evaluate the results of their experiments and seldom discussed them with other members of the community. The farmers that participated in the research group commented more with other persons about experiments, actively promoted research and encouraged other producers to integrate into the research groups.

**Key Words:** Participative research, Technology transfer, Integrated Pest Management, Nicaragua.

<sup>1</sup> CATIE. Programa Regional MIP-AF (NORAD). Managua, Nicaragua. matilda@mipafcatie.org.ni



## Introducción

La experimentación campesina ha sido un tema de interés para un grupo limitado de antropólogos e historiadores desde hace mucho tiempo. Sin embargo, recientemente ha aumentado el interés sobre la investigación participativa, y por tanto, ha recibido mayor atención de científicos sociales (Veldhuizen *et al.* 1997).

Las experiencias a nivel de campo y los estudios formales señalan que las familias campesinas tienen conocimientos detallados y valiosos sobre su entorno. Estos conocimientos les ayudan a escoger las prácticas para el manejo de las fincas, basados en sus necesidades y criterios propios. La mayoría de los agricultores<sup>2</sup> acostumbran a realizar pruebas o experimentos que les permiten incorporar cambios en los sistemas de manejo de sus fincas. Desde el punto de vista de extensión agrícola, esta experimentación con nuevas estrategias de manejo y la observación, análisis e interacción con diferentes actores son elementos claves para mejorar la toma de decisiones sobre el manejo de fincas (CATIE 1998, Braun *et al.* 1999). Los agricultores experimentadores son claves para la introducción de nuevos conocimientos en la red de comunicación entre campesinos (Hocdé 1997).

Sin embargo, la contribución de los agricultores experimentadores al mejoramiento de los sistemas productivos es afectada por las limitaciones de su habilidad para experimentar, el acceso limitado a nuevos temas, a materiales biológicos y tecnologías, y por la falta de estructuras de organización y redes de comunicación a escala local que faciliten el proceso y la difusión de los resultados. Por lo tanto, se considera que la integración de los procesos de investigación formal local o en centros experimentales y la experimentación realizada por los agricultores podría mejorar las contribuciones al desarrollo de sistemas sostenibles de producción (Braun *et al.* 1999). Los científicos y los grupos de agricultores, manteniendo una relación horizontal, podrían desarrollar un trabajo participativo con el propósito de generar conocimientos y tecnologías locales (Sumberg y Okali 1997). En los últimos años, muchas organizaciones involucradas en investigación y desarrollo están buscando los mecanismos para lograr este objetivo.

Desde 1991, en diferentes zonas de Nicaragua, especialistas en manejo integrado de plagas, extensionistas y grupos de campesinos han desarrollado procesos

de investigación participativa tendientes a generar conocimientos y tecnologías locales para el manejo de plagas en cultivos como café, tomate, repollo y musáceas. Los grupos de campesinos participantes en estos procesos están formados por voluntarios que atendieron una invitación general. Estos procesos contemplan encuentros participativos durante las diferentes etapas fenológicas del cultivo. En los encuentros, los grupos de productores, extensionistas y los especialistas observan, analizan y evalúan el cultivo en forma integral (Fig. 1), lo cual le permite a todos el aprendizaje sobre las relaciones entre cultivo-plagas-clima-enemigos naturales y con base en estos conocimientos desarrollar nuevas opciones de manejo de plagas (CATIE 1998). Este proceso tiene similitud con el modelo de "escuelas de campo" propuesto por FAO, que consiste de un proceso grupal de observación durante un ciclo completo de cultivo, con el propósito de fortalecer los conocimientos de los participantes para mejorar la toma de decisiones. El proceso de investigación participativa también tiene similitud con el modelo de "comités de investigación agrícola local" del CIAT, el cual contempla la evaluación de opciones tecnológicas de importancia para la comunidad (Braun *et al.* 1999).

El trabajo desarrollado en Nicaragua con grupos de agricultores ha permitido a los especialistas obtener experiencias muy valiosas sobre los procesos de



**Figura 1.** Grupo de campesinos y extensionista participantes en el proceso de investigación participativa en Nicaragua.

<sup>2</sup> El término agricultor, campesino, productor y vecino son usados en este artículo de manera genérica para facilitar la lectura y presentación de los resultados y por tanto incluye tanto a hombres como mujeres.

investigación participativa y sus actores (Monterrey y Guharay1997); no obstante, todavía existen muchos aspectos en los cuales es necesario obtener más información para entender mejor el contexto local, en aspectos tales como: ¿Qué tan generalizada es la práctica de experimentación entre los agricultores?, ¿Quiénes son los agricultores experimentadores?, ¿Por qué experimentan y en qué temas?, ¿Cuáles son las características del proceso de experimentación?, ¿Quiénes son los actores claves del proceso de experimentación?, ¿Qué necesita un buen experimentador? y ¿Los agricultores que mantienen contacto con especialistas en grupos de investigación participativa experimentan de la misma manera que sus vecinos que no mantienen estos contactos? La literatura profundiza sobre muchas de estas interrogantes partiendo de experiencias y contextos socioeconómicos, agroecológicos y culturales diversos. El objetivo de este estudio es validar en el contexto de Nicaragua lo presentado por la literatura sobre el proceso de experimentación de los agricultores con y sin apoyo externo.

### Metodología

El estudio se realizó en las comunidades de Esquipulas, departamento de Matagalpa y San Juan de Río Coco, departamento de Madriz, ubicadas en la zona norte de Nicaragua. En ambas comunidades, especialistas del Proyecto CATIE-INTA/MIP (NORAD) han desarrollado procesos de investigación participativa con grupos de campesinos durante varios años.

Esquipulas es una zona de laderas, dedicada a la producción principalmente de granos básicos como maíz y frijol así como de hortalizas y ganadería. El cultivo de hortalizas es la actividad económica más importante para los agricultores. En esta zona hay dos épocas de siembra y los agricultores utilizan un sistema de producción tradicional, sin uso de maquinaria ni de riego. Algunos campesinos aran con bueyes, pero la mayoría siembran hoyado o al espeque. Las fincas son pequeñas de 0,6 -3 ha, atendidas principalmente con mano de obra familiar. Todos los agricultores cultivan de manera individual, aunque algunos tienen un título de propiedad colectivo, producto de la reforma agraria; otros han comprado o heredado sus fincas.

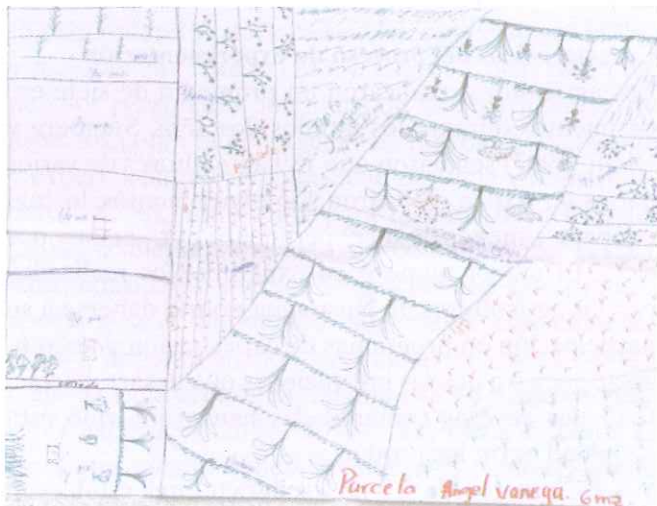
San Juan del Río Coco también es una zona de laderas, dedicada principalmente al cultivo del café. En las fincas se siembran áreas mínimas de granos básicos para autoconsumo, y frutales en asocio con café. Las fincas son pequeñas, entre 0,6 y 9 ha, y el sistema de

producción de café utilizado es de bajos insumos y con sombra. La mayoría de los agricultores entrevistados fueron trasladados a esta zona durante la guerra, cuando se les adjudicaron fincas en calidad de cooperativas. Actualmente, un 40% de los agricultores tienen título de propiedad colectivo pero trabajan su finca de manera individual, un 30% tienen título de propiedad colectivo y producen colectivamente, y un 30% poseen títulos de propiedad individual porque recibieron la tierra como herencia o la compraron. Casi todas las fincas son atendidas principalmente con mano de obra familiar, excepto durante la recolección de la cosecha.

En cada zona, se invitó a participar en el estudio a agricultores que han estado involucrados en los procesos de investigación. A ellos se les pidió que identificaran agricultores vecinos quienes no habían trabajado con especialistas, para formar el otro grupo. En total, ocho productores de tomate de la zona de Esquipulas y 23 caficultores de la zona de San Juan del Río Coco, participaron en el estudio. De los 31 agricultores (27 hombres y 4 mujeres), 16 no habían tenido ningún o muy poco contacto con los especialistas, y 15 habían estado involucrados en forma consistente en los procesos de investigación participativa organizados por los especialistas. Cabe destacarse que ambos grupos eran heterogéneos en cuanto al liderazgo de los participantes y a los conocimientos que cada uno de ellos posee sobre el tema, dado que en el proceso de integración de los grupos el único criterio general establecido fue que los agricultores pertenecieran a la comunidad y fueron ubicados en un grupo u otro según su experiencia en procesos de investigación participativa.

La metodología del estudio fue diseñada en conjunto con ACCP, CIEETS y UNICAM, organismos que promueven la experimentación campesina y mantienen interés en el estudio del tema en las comunidades donde desarrollan actividades (ACCP *et al.* 1998). Se realizaron entrevistas a los agricultores seleccionados, en ocasiones, participaron también otros miembros de la familia del productor. Para las entrevistas se utilizó un formulario como guía. Además para obtener información exacta sobre la finca, uso de la tierra, los problemas que limitan la producción y los experimentos realizados, se elaboraron mapas para lo cual se contó con la participación de los agricultores (Fig. 2). La información sobre las relaciones personales que mantenían los agricultores durante las actividades de

experimentación fue recopilada mediante un diagrama de relaciones y preguntas abiertas recomendado ACCP *et al.* (1998) (Fig. 3).



**Figura 2.** Mapa de una finca de un agricultor participante en el estudio el cual fue una herramienta para la recolección de información.

Los datos recopilados fueron codificados para su análisis siguiendo la metodología propuesta por ACCP *et al.* (1998). Para la caracterización general del proceso de experimentación se utilizó estadística descriptiva, y para analizar las diferencias entre los grupos de agricultores se emplearon pruebas no paramétricas chi-cuadrado y t de estudiante utilizando rutinas de SYSTAT (Wilkinson 1989).

## Resultados y discusión

### Generalización de la práctica de experimentación entre los agricultores

De los 31 agricultores entrevistados, el 100% tenían experiencia en experimentación, y cada uno de ellos había realizado entre 1 y 19 pruebas con un promedio de 7 pruebas por persona, durante los dos años anteriores. Este resultado coincide con los de otro estudio realizado en comunidades del departamento de Nueva Segovia, Nicaragua donde se determinó que el 100% de los agricultores entrevistados (n=31) realizaban experimentos, cuantificándose entre 1 y 13 pruebas por persona, durante los últimos dos años (UNICAM 1998).

Sumberg y Okali (1997), en investigaciones realizadas en diferentes países de Africa encontraron que al menos 55% de los campesinos entrevistados reali-

zaban algún tipo de experimento; no obstante, determinaron variaciones muy grandes entre países (27% - 83%). Estas cifras confirman la idea aceptada por la mayoría de los autores de que la cultura de experimentación es una realidad muy generalizada y probablemente, universal entre campesinos (Rhoades y Bebbington 1988, Scoones y Thompson 1994, Sumberg y Okali 1997, Veldhuizen *et al.* 1997).

### Caracterización de los agricultores experimentadores

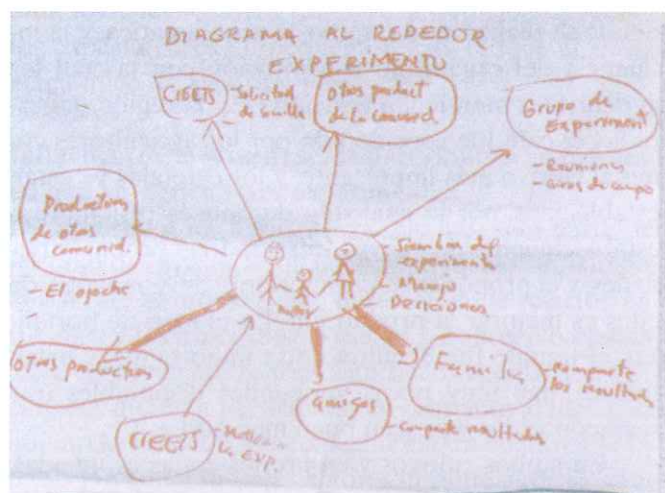
Los agricultores experimentadores participantes en el estudio fueron en su mayoría hombres (84%), de edades entre 22 y 75 años, con un promedio de 40 años. Sus familias están compuestas por 8 miembros en promedio. Un 76% de los participantes nacieron en el mismo municipio donde viven actualmente, y en promedio han vivido en la zona 24 años. En promedio se han dedicado a la agricultura durante 21 años.

La mayoría de los agricultores tienen alfabetización (85%) pero no han concluido la primaria. Sin embargo, un 97% están asociados con gremios o instituciones de servicio y asistencia técnica.

El tamaño promedio de finca es de 7 ha, de las cuales 3 ha son cultivadas. El 71% de las familias cultivan granos básicos y cultivos perennes como café, mientras que un 29% cultivan granos básicos y hortalizas, siendo café el cultivo de mayor importancia para la mayoría.

### Objetivos y temas de la experimentación

Los agricultores experimentan por varias razones, entre las cuales están la prueba de sugerencias técnicas



**Figura 3.** Diagrama de relaciones elaborado con el agricultor, utilizado como herramienta para obtener información.

ofrecidas por los especialistas o extensionistas (39%), búsqueda de solución a problemas que limitan la producción (31%), solución de problemas mediante la prueba de sugerencias técnicas (15%), y satisfacer la curiosidad propia (15%). Es lógico que las sugerencias técnicas ofrecidas por especialistas o extensionistas sean el principal motivo considerado por los agricultores para la experimentación, dado que el 97% de ellos están asociados a alguna organización gremial o de servicio, y 84% reciben algún tipo de capacitación por parte de especialistas o extensionistas de esas instituciones.

Los temas de los experimentos realizados por los agricultores surgen principalmente de extensionistas (60%), de otros agricultores (17%) y de ellos mismos (17%). La mayoría de los aspectos experimentados son escuchados (70%) o observados (20%) en eventos de capacitación (63%) o en conversaciones con otros agricultores o extensionistas. Estos resultados demuestran la gran influencia que tienen las capacitaciones organizadas sobre la experimentación que realizan los productores. La temática de las experimentaciones pueden variar mucho según las condiciones internas de la realidad campesina y la influencia de los actores externos. En este estudio, el 42% de los experimentos realizados por los participantes fueron sobre manejo de plagas y el 26% sobre fertilidad y manejo del suelo. Estos resultados no coinciden con los informados en otros estudios (Sumberg y Okali 1997, Veldhuizen *et al.* 1997, Braun *et al.* 1999), en los cuales el tema principal fue el uso y adaptación de nuevas variedades. Esta diferencia puede explicarse por tres razones: los cultivos principales en las comunidades donde se realizó este estudio, la problemática, y la influencia del organismo o institución con la cual los agricultores mantienen relación. En la región del estudio, el café fue considerado por los agricultores como el cultivo más importante, y los cafetales ya están establecidos, por lo cual sólo durante la resiembra o establecimiento de nuevas áreas podrían probar variedades, y el propósito más importante de la mayoría de ellos es mejorar la producción. En el caso de hortalizas, el tomate fue el cultivo más importante y localmente hay muy pocas variedades disponibles que sean conocidas y posean buen mercado.

En ambos cultivos y en las dos zonas estudiadas, el principal factor limitante de la producción son las plagas, lo cual motiva a los productores a buscar alternativas de control. Con respecto al organismo o insti-

tución, en este caso el CATIE desarrolla actividades en la zona sobre manejo de plagas, y algunos agricultores han estado involucrados en el proceso de investigación participativa (CATIE 1998).

### **Características del proceso de experimentación**

Los agricultores realizaron un promedio de siete experimentos durante los últimos dos años. Sumberg y Okali (1997) señalaron que 189 agricultores de varios países de Africa realizaron 155 experimentos, lo cual equivale a menos de un experimento por persona por ciclo. El mayor número de experimentos realizados por los agricultores de Nicaragua podría deberse a su participación en programas de capacitación y asistencia técnica o a que las instituciones que desarrollan actividades en esas comunidades han promovido esta actividad entre los productores.

En un área de 0,7 ha los agricultores establecen experimentos con 2 tratamientos, realizando comparaciones con parcelas testigo propias (59%), con resultados de años anteriores (21%) o con parcelas de otros agricultores (17%). Solamente 27% de ellos utilizan repeticiones de sus experimentos y éstos repiten los experimentos entre 2 y 3 veces durante diferentes ciclos para confirmar sus resultados. Por tanto, la mayoría de los agricultores realizan una sola vez cada experimento y basan su decisión en los resultados obtenidos, y pocas veces hacen validaciones. Estos resultados coinciden con los de un estudio sobre los Comités de Investigación Agrícola Local (CIAL), que reveló que menos del 60% de los grupos de investigadores dominan conceptos como tratamientos, repeticiones y testigos (Braun *et al.* 1999).

Para comparar sus tratamientos, los agricultores utilizan observaciones no cuantificadas (47%), datos cuantificados (37%) o se basa en resultados que recuerdan (7%). El 53% de ellos realizan observaciones sistemáticas de sus experimentos y 43% llevan registros de sus observaciones. Para evaluar los resultados de sus experimentos, los productores consideran el rendimiento (90%), los daños por plagas (72%), crecimiento y vigor de las plantas (66%), costos (40%), uso de mano de obra (28%) y clima (24%). Estos resultados son contrarios a los informados por Braun *et al.* (1999) quienes determinaron que los productores no registran los datos y no realizan mediciones sistemáticas durante la investigación. Posiblemente, estas diferencias se deban a lo que se considera observación sistemática y a las diferencias entre los grupos de agri-

cultores participantes en los estudios.

Según los productores entrevistados, los principales beneficios de la experimentación a nivel de la finca son mayor producción (83%), reducción de costos (53%), reducción de daños causados por plagas (47%) y mejoras en el suelo (23%). Ellos señalan como beneficios personales obtenidos de la experimentación, aspectos como la generación de mayor conocimiento y experiencia (59%), capacidad de toma y registro de datos (45%), motivación para la toma de decisiones (28%) y mejor capacidad de comunicación (21%). Ellos consideran que los beneficios que este proceso aporta a sus comunidades son mayor conocimiento (59%), implementación de nuevas prácticas (48%), mejoras en la economía familiar (48%) y más productores experimentando (10%). En otros estudios se han determinado beneficios similares como resultado de procesos de investigación participativa (Escalada y Heong 1997, Rugama y Guharay 1998).

#### **Actores claves en el proceso de experimentación**

La familia, los vecinos, y el extensionista son los actores más importantes para el agricultor experimentador, específicamente para el diseño, ejecución, discusión y análisis del experimento así como para compartir los resultados obtenidos.

El 60% de los agricultores mencionaron que la familia tiene un papel importante en la implementación del experimento. Con respecto a la mano de obra para la finca, la mayor fuente es familiar (74%). Además para ellos la familia es importante durante el proceso, 43% de ellos discuten el avance del experimento con ésta y 67% comparte con ellos los resultados.

La mayoría de los agricultores (80%) comentan y discuten los experimentos con sus vecinos y posteriormente comparten los resultados. Ellos también consultan con sus vecinos los problemas que se presentan en su parcela (50%) y analiza con ellos los resultados de sus experimentos para llegar a conclusiones y tomar decisiones futuras (44%). Estos resultados demuestran la fuerte interacción entre los agricultores y sus vecinos durante el proceso de experimentación, lo cual confirma la importancia del modelo de extensión campesino a campesino que procura aprovechar y fortalecer esta red de comunicación.

Con respecto al papel del extensionista, el 67% de los agricultores mencionó que lo consulta sobre problemas de la finca. Como resultado de esas consultas, el extensionista se convierte en una importante fuen-

te de temas para experimentar (60%). También se determinó que los agricultores mantienen una interacción con el extensionista durante la ejecución del experimento para discutir los avances (40%) y compartir los resultados (53%).

#### **Características de un buen experimentador**

Según los agricultores, un buen experimentador debe reunir ciertas características personales como curiosidad (72%), responsabilidad (62%), ambición (45%) y conocimiento (38%). Para ellos las tres cualidades más importantes son propias del carácter de la persona y no aspectos fácilmente adquiridos o aprendidos. Menos de la mitad de los agricultores mencionaron el poseer un grado de escolaridad alto como un requisito importante para un buen experimentador, aduciendo que a pesar de que el conocimiento es útil, ellos experimentan a partir de los conocimientos que poseen, y que adquieren durante el proceso, mientras que si no son curiosos, responsables ni desean superarse probablemente no experimentan, aunque posean muchos otros conocimientos.

Además de las características personales, los agricultores mencionan que la capacitación (64%), la organización comunal (44%), el esfuerzo propio (33%), el intercambio de experiencias con otros agricultores (23%) y el bajo costo de los experimentos (17%) también son aspectos que les permiten experimentar mejor. Ellos señalan que la capacitación les da ideas, la organización les brinda una estructura para intercambiar y dar seguimiento a los experimentos y a los problemas durante el proceso. Además el aprovechamiento de los recursos locales y la implementación de los experimentos en pequeña escala reduce el riesgo económico de experimentar.

#### **Influencia de la investigación participativa en la forma en que los agricultores experimentan**

De acuerdo a los agricultores que han sido parte del proceso de investigación participativa coordinado por el CATIE, el promedio de duración de la relación entre ellos y los especialistas fue de 1,7 años. No obstante, se observan diferencias significativas entre los agricultores que han participado en esas actividades y los que no lo hicieron, específicamente en cuanto a la interacción con diferentes actores durante el proceso de experimentación, las fuentes para los temas de los experimentos, la dinámica de observación durante el proceso y la motivación para continuar experimentan-

**Cuadro 1.** Diferencias entre los agricultores que han formado parte del proceso de investigación participativa y aquellos que no han sido parte de esos grupos, con respecto a la interacción con los diferentes actores del proceso.

| Variable   | Agricultores                                      |   | Probabilidad (Pearson) |
|--|---|---|------------------------|
|  | Experiencia en investigación participativa (n=15) | Sin experiencia en investigación participativa (n=16) |                        |
| Conversan con el especialista sobre los experimentos | 47%   | 7%  | p = 0,013              |
| Analizan los resultados con:                         |   |   |                        |
| Extensionista  | 40%   | 0%  | p = 0,008              |
| Especialista   | 27%   | 0%  | p = 0,037              |
| Grupo de productores organizados                     | 27%   | 0%  | p = 0,037              |
| Comparten los resultados con el especialista         | 53%   | 13%   | p = 0,020              |

do (Cuadro 1, 2 y 3).

Los agricultores que han formado parte del proceso de investigación participativa interactúan con más actores y en diferentes forma que otros agricultores de la misma comunidad que no han formado parte de ese proceso. Los primeros reconocen al extensionista, al especialista y a otros agricultores del grupo como actores importantes en el proceso de experimentación (Cuadro 1). La participación activa de los agricultores en el proceso de investigación se explica porque los especialistas y extensionistas han promovido este proceso en las comunidades donde se realizó el estudio. La metodología de trabajo crea foros de discusión y análisis entre agricultores, y entre agricultores-extensionistas- especialistas lo cual produce este tipo de resultado, a diferencia del caso de los agricul-

tores que no han formado parte de grupos de investigación participativa.

Los agricultores con experiencia en investigación participativa señalan que la mayoría de sus experimentos surgen del contenido de las capacitaciones organizadas por los especialistas y extensionistas e identifican más al extensionista como fuente de los temas de los experimentos (Cuadro 2). También ellos tienden a ser más sistemáticos en sus observaciones, y en el registro de sus observaciones durante el experimento. El impacto más significativo está en que casi todos los agricultores que trabajaron con especialistas analizan sus resultados en grupo, mientras que sólo el 57% de los que no han estado involucrados en los procesos de investigación participativa acostumbran analizar sus resultados con otras personas (Cuadro 2).

**Cuadro 2.** Diferencias entre los agricultores que han formado parte de procesos de investigación participativa y aquellos que no han sido parte de esos procesos, en lo referente a las fuentes de los temas de los experimentos y la dinámica de observación.

| Fuente de ideas para experimentos y método de observación | Agricultores                                      |   | Probabilidad (Pearson) |
|---|---|---|------------------------|
|   | Experiencia en investigación participativa (n=15) | Sin experiencia en investigación participativa (n=16) |                        |
| Temas responden a sugerencias técnicas                    | 59%   | 33%   | p = 0,050              |
| Temas sugerido por un técnico                             | 93%   | 60%   | p = 0,031              |
| Observaciones sistemáticas                                | 73%   | 33%   | p = 0,028              |
| Anotan las observaciones                                  | 66%   | 20%   | p = 0,010              |
| Analizan resultados con otros                             | 93%   | 57%   | p = 0,023              |

### Diferencias entre los agricultores con respecto a las fuentes de los temas de los experimentos y la dinámica de observación

Los agricultores involucrados en los procesos de investigación participativa emplean más mano de obra contratada para las labores de la finca y tienden a invertir una mayor parte de sus ingresos en la finca (Cuadro 3). Ellos demuestran mayor motivación para continuar experimentando y para motivar a otros agricultores a experimentar y formar parte del grupo.

En este estudio se determinaron diferencias entre los agricultores integrados en los procesos de investigación participativa y aquellos que no han participado en este proceso. Sin embargo, es difícil determinar si todas estas diferencias reflejan el cambio de conducta de los agricultores a partir de su participación en esos procesos o son el resultado de características propias de agricultores innovadores, quienes responden voluntariamente a la invitación de los especialistas para participar en estos procesos debido a la naturaleza de su personalidad.

Las experiencias y estudios realizados demuestran que en la mayoría de las comunidades rurales existen estos grupos especiales de innovadores (Sumberg y Okali 1997). En las dos comunidades de Nicaragua donde se realizó el estudio, la convocatoria para formar los grupos de investigación participativa fue abierta. Posiblemente, esto permitió que en forma espontánea los innovadores pudieran unir sus esfuerzos con los especialistas en los procesos de investigación participativa, haciendo los procesos más eficaces.

### Conclusiones

Casi todos los agricultores experimentan en alguna temática y en algún grado de manera sistemática. Esta experimentación logra tener impactos positivos sobre las habilidades de los agricultores experimentadores, la productividad de sus fincas, y las comunidades rurales con quienes comparten sus aprendizajes. Las actividades de extensión, capacitación e investigación participativa promovidas por organismos y agentes de desarrollo agrícola tienen una influencia importante sobre los temas y tipos de experimentos que los agricultores realizan en sus fincas.

El proceso de investigación participativa entre grupos de agricultores, enfocado por etapa fenológica del cultivo, que ha sido promovido por especialistas en MIP en Nicaragua aumenta la cantidad de experimentos realizados por los agricultores en esta temática. Este proceso de observación y análisis grupal durante cada etapa fenológica del cultivo mejora el hábito y calidad de la observación que hacen los productores, aumentando así los conocimientos locales sobre las relaciones cultivo-clima-plaga y por ende la calidad de la experimentación campesina. El proceso también influye sobre los agricultores participantes aumentando su interacción con otros actores alrededor de sus experimentos, mejorando así el contenido y eficiencia de la red de comunicación campesina.

Los cambios positivos mostrados por los agricultores debido a su participación en procesos de investigación participativa muestran la potencialización de la implementación a gran escala del manejo integrado de plagas por parte familias rurales en Nicaragua.

**Cuadro 3.** Diferencias entre los agricultores que han formado parte de procesos de investigación participativa y agricultores que no han sido parte de esos procesos, en lo referente a la inversión en las fincas y motivación para continuar experimentando.

| Fuente de ideas para experimentos y método de observación     | Agricultores                                      |   | Probabilidad (Pearson) |
|---|---|---|------------------------|
|   | Experiencia en investigación participativa (n=15) | Sin experiencia en investigación participativa (n=16) |                        |
| Porcentaje de mano de obra contratada para manejo de la finca | 36%   | 16%   | p = 0,005              |
| Porcentaje de ingreso reinvertido en la finca                 | 52%   | 28%   | p = 0,006              |
| Continúan experimentando a partir de resultados               | 85%   | 39%   | p = 0,016              |
| Motivan a otros agricultores a:                               |   |   |                        |
| Experimentar  | 29%   | 0%  | p = 0,026              |
| Integrarse al grupo   | 42%   | 0%  | p = 0,009              |

## Agradecimientos

A la Asociación Campesina Conociéndonos y Produciendo, el CIEETS-ICOAMA, y la Universidad Campesina por la oportunidad de colaborar en este estudio conjunto, a los agricultores participantes en el estudio por su disposición para compartir sus conocimientos y experiencias. Al SIMAS-HIVOS por financiar parcialmente este estudio.

## Literatura citada

- ACCP; CATIE; CIEETS; UNICAM. 1998. Una caracterización de la experimentación campesina en Nicaragua. Informe Técnico. Managua, Nicaragua, SIMAS-HIVOS.
- Braun, AR; Thiele, G; Fernández, M. 1999. La escuela de campo para MIP y el comité de investigación agrícola local: plataforma complementarias para fomentar decisiones integrales en agricultura sostenible. Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica) no. 53:1-23.
- CATIE. 1998. Final report. CATIE-INTA/IPM Project. February 1995-July 1998. Managua, Nicaragua, CATIE.
- Escalada, M; Heong, KL. 1997. Changing farmer's perceptions of pests through participatory experiments. ILEIA Newsletter 13 (2): 10-11
- Hocdé, H. 1997. Crazy but not mad. *In* Farmer's Research in Practice: Lesson from the field. Veldhuizen, L Ed. London, UK, Intermediate Technology Publications. p. 49-67
- Monterrey, J; Guharay, F. 1997. Proceso Investigación-Transferencia Participativa con Comunidades de Productores Hortícolas. *In* Taller de Investigación Participativa: Generación e Intercambio de Conocimientos por y con Familias Campesinas. (1997, Turrialba, Costa Rica). Memoria. CATIE. p 42-59.
- Rhoades, R; Bebbington, A. 1988. Farmers who experiment: an untapped resource for Agricultural research and development. *In* The Cultural Dimension of Development. Warren, Slikkerveer & Brokensha.
- Rugama, R; Guharay, F. 1988. Participación de las familias rurales en los procesos de capacitación y sus conocimientos sobre plagas y plaguicidas *In* Congreso Internacional de Manejo Integrado de Plagas (7, 1988, Managua, Nicaragua). Memoria. p. 178.
- Scoones, I; Thompson, J. 1994. Beyond Farmer First. London, UK, Intermediate Technology Publications.
- Sumberg, J; Okali, C. 1997. Farmer's experiments: Creating local knowledge. Boulder, USA, Rienner Publishers.
- UNICAM. 1998. Qué Variedad! Informe Institucional: Universidad Campesina" en Una caracterización de la experimentación campesina en Nicaragua. Estelí, Nicaragua, UNICAM-INSFOP.
- Veldhuizen, L; Waters-Bayer, A; Ramírez, R; Johnson, D; Thompson, J. 1997. Farmer's Research in Practice: Lesson from the field. London, U.K, Intermediate Technology Publications.
- Wilkinson, L. 1989. SYSTAT: The System for Statistics. SYSTAT Inc, Evanston, IL.



# Acciones de prevención contra la leprosis de los cítricos en Costa Rica

Jorge Araya González<sup>1</sup>

**RESUMEN.** La producción de naranja dulce (*Citrus sinensis*) en Costa Rica se ha incrementado considerablemente en el último decenio. A partir de 1990, esta actividad ofrece empleo y genera divisas por concepto de exportación de concentrado de jugo de naranja. Sin embargo, la producción de este cultivo se encuentra amenazada por la presencia de una enfermedad viral llamada leprosis de los cítricos, la cual se encuentra en localidades de la provincia de Chiriquí, Panamá; muy cercanas a la frontera de Costa Rica. Por tanto, la Dirección de Servicios de Protección Fitosanitarios del Ministerio de Agricultura y Ganadería de Costa Rica, ha desarrollado un plan de acción para la prevención del ingreso de esta enfermedad, que además contempla actividades de erradicación y de convivencia, las cuales incluyen medidas de cuarentena, adiestramiento, legislación, capacitación, prospección y seguimiento.

**Palabras clave:** Leprosis de los Cítricos, Plan de acción, Naranja, Costa Rica.

**ABSTRACT.** Preventative actions to control citrus leprosis in Costa Rica. The production of sweet orange (*Citrus sinensis*) has increased considerably in Costa Rica in the last decade. **Began in 1990.** This activity offers employment and generates foreign exchange through the exportation of concentrated orange juice. However the production of this crop is now threatened by the presence of a viral disease known as citrus leprosis, which is found in locations in the province of Chiriquí, Panamá; very close to the Costa Rican border. Therefore the Plant Health Protection Direction of the Ministry of Agriculture and Livestock of Costa Rica, has developed an action plan to prevent the entry of this disease, that also considers eradication and coexistence activities, which includes quarantine, training, legislation, instruction, exploration and continuation measures.

**Key words:** Citrus leprosis, Action plan, Sweet orange, Costa Rica.

## Introducción

La leprosis de los cítricos, es una enfermedad de naturaleza viral, transmitida por una o más especies de ácaros del género *Brevipalpus* (Acari: Tenuipalpidae). Entre los principales daños que ocasiona esta enfermedad están la disminución en el vigor de los árboles, la reducción en el rendimiento y eventualmente la muerte de árboles (Fig. 1 y 2). Además, representa un problema económico por los costos de control y las medidas cuarentenarias impuestas a las exportaciones de los países donde se encuentra esta enfermedad.

La leprosis de los cítricos ha causado pérdidas económicas en países como Argentina, Brasil, Paraguay, Venezuela. La enfermedad afectó áreas cítrico-

las en los estados de Florida, Estados Unidos antes de 1962. En Panamá fue introducida a finales de los años noventas.

El ácaro *B. phoenicis* es reconocido como el principal vector de la leprosis de los cítricos. Los principales hospedantes de esta enfermedad son las naranjas dulces (*Citrus sinensis*), sin que hasta el momento se halla reportado en otras especies de cítricos.

Actualmente en Costa Rica, principalmente en la zona norte, el cultivo de naranja ha alcanzado un rápido desarrollo por la instalación de plantas extractoras de jugo, las cuales lo comercializan como concentrado.

<sup>1</sup> Programa de Prevención de la Leprosis de los Cítricos. MAG. San José, Costa Rica. araya@protecnet.go.cr



**Figura 1.** Síntomas de leprosis de los cítricos en hojas de árboles de naranja.

En 1992, el área dedicada al cultivo de naranja en Costa Rica era de 15 000 ha, en 1994 se incrementó a 22 893 ha, en 1998 pasó a 25000 ha y actualmente hay aproximadamente 35000 ha de este cultivo.

A pesar de que en Costa Rica este cultivo está en una etapa de consolidación, se ha convertido en una actividad de gran importancia socioeconómica, la cual genera entre 14000 y 16000 empleos e involucra aproximadamente a 4000 agricultores, de los cuales se estima que el 95% son pequeños productores. La producción estimada de naranja dulce es de 185000 ton, con un valor de más de US \$ 2,5 en exportaciones y US \$10 millones por consumo interno.<sup>2</sup>

En 1999, se comprobó la presencia de la leprosis de los cítricos en localidades panameñas muy cercanas a la frontera sur de Costa Rica, lo cual motivó la preparación de un plan de acción con la finalidad de impedir o retrasar el ingreso de la enfermedad al país.

## **Acciones realizadas**

### **Plan de acción**

El primer paso fue la elaboración de un plan de acción nacional, el cual contempla actividades de tipo preventivo, erradicativo y de convivencia, abarcando todas las fases involucradas en la introducción y establecimiento de una plaga.

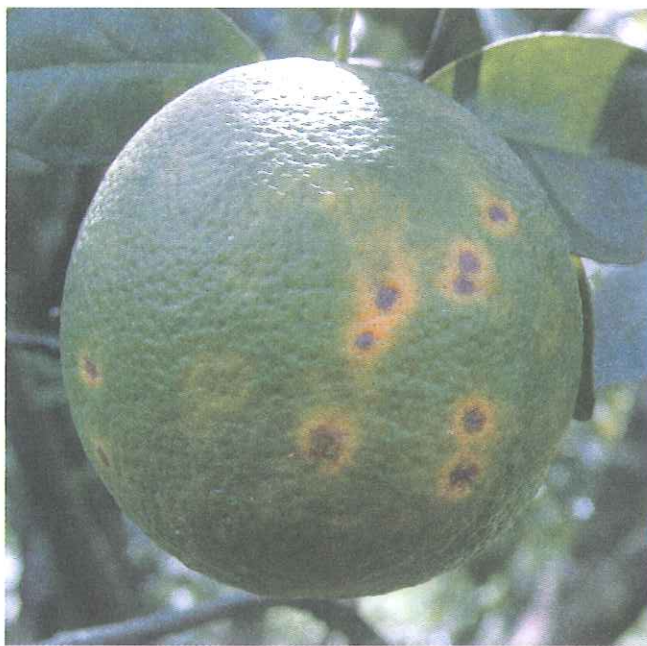
Las principales medidas preventivas fueron de cuarentena, actividades de capacitación, diagnóstico y legales. Como actividad tendiente a la erradicación si la enfermedad llegará a ingresar al país es la eliminación de brotes localizados. La actividad de convivencia considerada es el control de la leprosis en caso de su establecimiento.

### **Puntos de ingreso**

Se alertó a las Estaciones de Cuarentena y sitios de inspección portuaria del país sobre la presencia de la enfermedad en Panamá y se dieron instrucciones de tipo cuarentenario para la revisión de los materiales provenientes de los países donde se ha confirmado la presencia de la enfermedad, principalmente de Panamá.

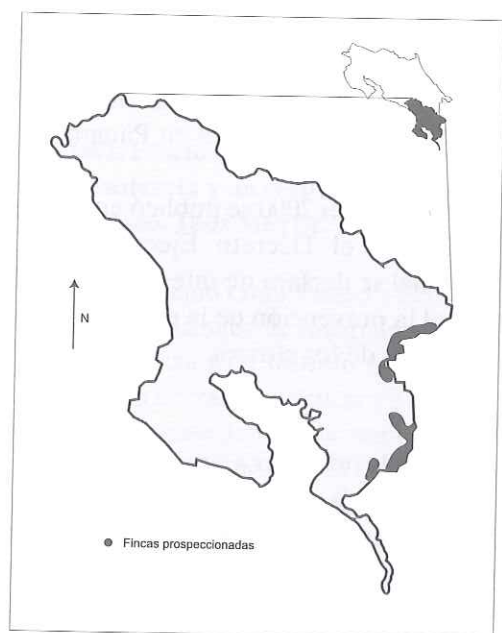
### **Capacitación**

Se capacitó a un grupo de técnicos costarricenses en Panamá, los cuales recibieron cursos ofrecidos por especialistas panameños, estadounidenses y brasileños en las localidades de Boquete, Potrerillo Arriba y Potrerillo Abajo, principales zonas afectadas en la provincia de Chiriquí, Panamá. La capacitación consistió en la identificación de la enfermedad, tanto a nivel de campo como de laboratorio, acciones preventivas cuarentenarias para evitar el ingreso a zonas no afectadas



**Figura 2.** Síntomas de leprosis de los cítricos en frutos de naranja.

<sup>2</sup> Fuente: PROCOMER.



**Figura 3.** Mapa del área prospeccionada en la zona limítrofe sur de Costa Rica.

y control de la misma.

Para la visita a la zona infectada por la leprosis en Panamá, se tomaron medidas preventivas como el uso de overoles desechables, los cuales se quemaron a la salida del lugar.

Además, no se introdujo ningún vehículo a la zona afectada. No obstante, al regreso a Costa Rica, el vehículo fue sometido a un tratamiento doble; un lavado a presión con agua y un tratamiento con un insecticida-acaricida en el arco de fumigación ubicado en la frontera de Paso Canoas.

Los técnicos asistentes a la capacitación en Panamá ofrecieron una capacitación en Costa Rica a funcionarios gubernamentales, productores, técnicos de empresas privadas y ciudadanía en general. Inicialmente, se dió énfasis en la capacitación para el reconocimiento de los síntomas y requisitos cuarentenarios en los puntos de ingreso al país.

Además, se han realizado seminarios a nivel nacional con funcionarios del Ministerio de Agricultura y Ganadería, funcionarios del Poder Judicial incluyendo jueces y fiscales, técnicos de empresas privadas, productores y público en general con la finalidad de dar a conocer la enfermedad, sus consecuencias, la legislación vigente y sus implicaciones.

## Prospección

De acuerdo al plan de acción, durante el año 2000 se realizaron cuatro prospecciones en la zona fronteriza sur de Costa Rica (Fig. 3), en las cuales se dio prioridad a las zonas más cercanas a Río Sereno y Quebrada Grande (lugares donde se encontraban en ese momento los focos más cercanos de la enfermedad). Dicha prospección se realizó mediante la utilización de sistema de información geográfica y una encuesta que permitió registrar todos los datos de las fincas inspeccionadas, su propietario y el estado fitosanitario de los árboles de cítricos.

En la primera prospección realizada entre el 27 de enero y el 3 de febrero del 2000 se encontró a 15 m del límite fronterizo, dentro del territorio costarricense, en la localidad llamada San Marcos de Sabalito, un árbol con síntomas de la enfermedad, por lo que se remitieron muestras al laboratorio del Centro de Investigación en Biología Celular y Molecular de la Universidad de Costa Rica (CIBCM) para su respectivo análisis, el cual fue positivo a leprosis de los cítricos. Inmediatamente, se procedió a realizar las acciones de erradicación pertinentes.

Durante el año 2001 se han realizado tres prospecciones, de las cuales en la primera prospección realizada del 27 de febrero al 2 de marzo del 2001 se encontraron dos árboles con síntomas de la enfermedad, los cuales se encontraban a 100 metros del límite fronterizo dentro del territorio costarricense en la localidad de San Marcos de Sabalito y a una distancia de 300 m del primer árbol detectado con síntomas de la enfermedad. Luego de la ratificación de la enfermedad por parte del CIBCM se procedió a su erradicación. Las demás prospecciones han tenido resultados negativos.

## Erradicaciones

La metodología utilizada en las erradicaciones fue la siguiente:

Antes de cortar los árboles infectados y los que se encontraban junto a ellos, se procedió a asperjar tanto los árboles como el suelo en un área de 10 m a su alrededor con un acaricida (óxido de fembutatín). La aplicación se realizó de acuerdo con las recomendaciones técnicas y de seguridad, con el propósito de brindar una cobertura homogénea del área tratada. Después de siete días se procedió a cortar los árboles, los cuales se derribaron con una motosierra procurando no dis-

persar el material. Inmediatamente se recogió el material y se incineró en una fosa ubicada a 10 m del lugar. Se realizó nuevamente una aplicación de acaricida al suelo donde estuvieron los árboles cortados.

En la primera erradicación (1 árbol con síntomas visibles) se cortaron un total de 14 árboles mientras que en la segunda (2 árboles con síntomas visibles) se cortaron de 80 que correspondían a la totalidad de árboles presentes en la propiedad. Durante el seguimiento posterior a las erradicaciones no se han encontrado síntomas de la enfermedad en la misma localidad.

### **Visitas de observación técnica**

Durante los años 2000 y 2001 se realizaron cinco visitas de observación técnica por parte de funcionarios costarricenses a las localidades de Boquete, Potrerillos Arriba, Potrerillos Abajo, Río Sereno, Palmarito en la provincia de Chiriquí, Panamá; las cuales presentan las áreas con una mayor presencia de la enfermedad.

En estas visitas se intercambiaron experiencias sobre el manejo y prevención de la enfermedad, además se aprovechó la presencia de expertos internacionales que han realizado prospecciones en Panamá.

### **Legislación**

El 13 de diciembre del 2000 se publicó en el diario oficial "La Gaceta" el Decreto Ejecutivo N° 29133-MAG, en el cual se declara de interés y necesidad pública nacional la prevención de la enfermedad conocida como leprosis de los cítricos.

### **Divulgación**

Con el objetivo de informar a profesionales, productores y a la ciudadanía en general sobre esta enfermedad se confeccionó un afiche y una ficha técnica sobre los principales síntomas de la leprosis de los cítricos en el follaje, fruto y ramas. Este material ha sido distribuido especialmente a agencias de extensión en zonas productoras de cítricos.

# Tesis de Posgrado

**Patño, LF. 2001. Efecto de una fuente de energía, tres inductores de resistencia y un sustrato foliar sobre Sigatoka negra en banano. Tesis Mag Sc. Turrialba, Costa Rica, CATIE.**

Los cultivares de banano Gran Enano y FHIA 23 fueron evaluados bajo condiciones de invernadero con tres inductores de resistencia y un sustrato foliar contra la enfermedad Sigatoka negra, en ausencia y presencia de una fuente de energía a base de lombricompost y melaza. La resistencia inducida fue mayor en FHIA 23 que en Gran Enano. El lombricompost mostró un efecto significativo sobre la inducción de la resistencia, además incrementó la defensa de la planta. La melaza no favoreció la inducción de resistencia. La capacidad de inducción resultó afectada por las condiciones de inoculación. Asm produjo alta inducción de resistencia en ambos cultivares, la rizobacteria pudo inducir resistencia en FHIA 23 cuando la fuente de energía estuvo presente. El fluido de esporas en germinación indujo resistencia en FHIA 23 en presencia de la fuente de energía, luego de la inoculación artificial. Se obtuvo un control importante de la enfermedad mediante la aplicación de un sustrato foliar.

En condiciones de campo para el cultivar Gran Enano, Asm incrementó el control de la enfermedad ofrecido por el sistema convencional de aplicación de fungicidas. El lombricompost más una fuente de fósforo no mostraron efecto sobre la inducción vía Asm. La rotación de fungicidas con el sustrato foliar produjo un menor control que el sistema el control químico. En presencia de la fuente de energía, la combinación de fungicidas con Asm en rotación con el sustrato foliar presentó un nivel de control estadísticamente similar al control químico convencional.

**AGUIAR, ACF. 2001. Efecto de especies usadas como abono verde en el enriquecimiento de la fertilidad del suelo y en el manejo de plagas. Tesis Mag. Sc. Turrialba, Costa Rica, CATIE.**

El primer estudio fue realizado bajo condiciones de invernadero para determinar la contribución de la incorporación de los residuos de las especies *Cajanus cajan*, *Tithonia diversifolia*, canavalia (*Canavalia ensiformis*) y guandul (*Tephrosia vogelii*) en el aumento de la disponibilidad de nutrimentos, así como para cuantificar los cambios causados por estas especies en las fracciones de P. Cuatro suelos de Costa Rica fueron utilizados, un Andic Palehumult (Ultisol-Grecia), Acrudoxic Hydric Me-

lanudand (Andisol), Plinthic Paleudult (Ultisol-San Isidro) y un Oxyaquic Argiudoll (Molisol). De la combinación de las cuatro especies y de los cuatro suelos, se hicieron 16 tratamientos en un diseño en bloques al azar en factorial 4x4, con ocho repeticiones. Se utilizaron macetas de 2 dm<sup>3</sup>. A los 60 días de la germinación, las plantas fueron cortadas y secadas, considerando solo su parte aérea. Luego, la materia seca fue incorporada a cada uno de los suelos y después de 60 días de incubación, se sembró maíz, utilizando diez plantas por maceta, las cuales fueron cosechadas a los 45 días después de la germinación, para la determinación de la materia seca producida. Se realizaron análisis de suelo y foliar de las especies de abono verde y del maíz. Todos los suelos del experimento presentaron una saturación por bases superior al 70% y una retención de P superior al 50%. Entre las especies, la *Tithonia* produjo la mayor cantidad de biomasa. En cuanto al nivel de N en la materia seca, *Tephrosia* fue superior en todos los suelos, lo que confirma su potencial como abono verde. El maíz produce mayor cantidad de materia seca en el Ultisol-Grecia, cuando recibió los rastrojos de *Canavalia*, *Cajanus* y *Tephrosia*. Las especies usadas como abono verde no presentaron efecto estadísticamente significativo en las fracciones de P al final del experimento. En el grupo de suelos usados, la adición de abonos verdes *in situ*, afecta favorablemente la productividad del maíz. *Tephrosia* y *Canavalia* son más promisorias, principalmente para el reciclaje de N, P y Ca; mientras para K fue *Tithonia*. Para mejorar la disponibilidad del P en estos suelos a corto plazo se determinó que *Tephrosia* es la especie más adecuada. Se debe dar preferencia a la combinación de abonos verdes con alta calidad de residuos y con buena producción de materia seca, mediante del aumento de la densidad de las especies en el campo.

El segundo estudio fue realizado en el asentamiento Río Guayabo, Turrialba, Costa Rica, para validar la efectividad de dos leguminosas en asocio con maíz. Las especies usadas fueron *C. cajan* y *C. ensiformis*, se realizaron observaciones de campo y un cuestionario para evaluar la apreciación de los productores sobre esta técnica de asocio. Se utilizó un diseño de bloques completos al azar, con siete fincas como las repeticiones. Los tratamientos fueron: 1) maíz + guandul (porte alto), 2) maíz + guandul (porte bajo), 3) maíz + canavalia, 4) maíz (testigo). El maíz + guandul de porte alto fue el tratamiento preferido por los agricultores, seguido por la canavalia.

El maíz + guandul porte bajo fue el menos seleccionado. El número de mazorcas en los tratamientos no presentó diferencia significativa entre las fincas. Los productores se mostraron muy receptivos a la técnica de cultivo presentada. Todos ellos sembrarían nuevamente sus cultivos asociados con leguminosas, aún con cambios en las parcelas de los tratamientos. Los productores consideraron que este es una práctica valiosa para el manejo de malezas. En el tercer estudio se evaluó la fago y ovidisuasión causadas por extractos vegetales de *C. ensiformis*, *T. vogelii* y *T. diversifolia* sobre adultos de *Bemisia tabaci*, en condiciones de invernadero. Se hicieron dos tipos de experimentos, uno de escogencia restringida y otro de escogencia irrestricta. En el de escogencia restringida, cada extracto se evaluó en cuatro dosis (0,1, 0,5, 1,0 y 1,5% v/v), y se comparó con un tratamiento testigo (aceite mineral Volck 100 Neutral). Se asperjaron plantas de tomate, colocadas dentro de jaulas de manga, donde se liberaron 50 adultos de *B. tabaci* 30 min después. Se utilizó un diseño de bloques completos al azar, con cuatro repeticiones, y cada experimento se hizo dos veces. Para determinar si existía fagodisuasión, se utilizó el número de adultos y huevos de *B. tabaci* a las 48 h y para la mortalidad se contó el número total de adultos vivos en ese intervalo. Todos los extractos causaron fago y/o ovidisuasión a las dos dosis más altas (1,0 y 1,5%). En el experimento de escogencia irrestricta, se utilizaron ambas dosis de cada extracto, y se compararon con dos testigos (agua y Volck), mediante un diseño de bloques completos al azar, con cuatro repeticiones. Se registró el número de adultos posados en las hojas asperjadas, a 1, 2, 8 y 15 días después de la aplicación del extracto, así como el número de ninfas a los 15 días. Ninguno de los extractos causó fago u ovidisuasión, a diferencia del Volck, lo cual posiblemente se debió a la volatilización de los principios disuasivos en el invernadero.

**Barbera, N. 2001. Diversidad de especies de hormigas en sistemas agroforestales contrastantes de café, en Turrialba. Costa Rica. Tesis Mag Sc. Turrialba, Costa Rica, CATIE.**

En el caso de la producción de café, la biodiversidad asociada con la presencia y distribución de la sombra de los cafetales es de gran interés ecológico. El café (*Coffea arabica* L.) se ha sembrado acompañado por árboles de sombra, los cuales cumplen varias funciones importantes,

tales como la creación de un microclima favorable para el cultivo, la incorporación de materia orgánica, la fijación de nitrógeno, la circulación de nutrimentos y la disminución de la erosión del suelo. Además, ofrecen hábitats y alimento que favorecen a varios grupos de insectos, incluyendo muchas especies de hormigas. Algunas evidencias demuestran que las hormigas pueden ser eficaces como depredadoras y realmente contribuyen a la gran estabilidad numérica en las poblaciones de herbívoros comúnmente observada en los cafetales de Mesoamérica. Su manipulación oportuna podría contribuir al control biológico no solamente de plagas primarias, como la broca del café (*Hypotenemus hampei*), sino también de plagas de especies asociadas con el café, como en árboles frutales o maderables.

Es necesario el conocimiento de la funcionalidad de las hormigas en los agroecosistemas cafetaleros, y especialmente de las especies que podrían actuar como agentes de control biológico de plagas, para establecer recomendaciones acerca de su conservación o su incremento. Por tanto, se examinaron los patrones de diversidad de especies de hormigas como complemento de otros estudios sobre dichos sistemas en tres fincas de café, las cuales contenían sistemas de producción representativos de un gradiente que abarcaba desde un sistema totalmente orgánico hasta uno comercial, contrastantes en cuanto al uso de insumos.

En el sistema totalmente orgánico se registró la mayor riqueza, equidad y diversidad de especies de hormigas, debido a la edad del cafetal y a su mayor complejidad estructural. *Solenopsis geminata* fue la especie ampliamente dominante en todos los sistemas, con excepción del sistema totalmente orgánico, donde predominó *Pheidole radoszkowskii*. Algunas especies capturadas en este estudio (*W. auropunctata* y *C. curvispinosus*) o afines a ellas (*Solenopsis* spp. y *Brachymyrmex* spp.) tienen potencial como depredadoras de la broca del café, por lo cual se deben efectuar estudios detallados, tanto de laboratorio como de campo, para determinar las preferencias alimentarias de dichas especies hacia las plagas claves indicadas. Una vez efectuado esto, sería necesario estudiar los requerimientos de hábitats de dichas especies, para tratar de optimizarlos, de modo que se pueda lograr su conservación e incremento y, así, su actividad como agentes de control biológico de plagas.

# Futuros Eventos

**18-22 Marzo 2002**

V Congreso Argentino de Entomología

**Información:**

Dra. Cristina Scioscia  
Museo Argentino de Ciencias Naturales  
Buenos Aires Argentina  
Email: vcae@bg.fcen.uba.ar

**18-22 Marzo 2002**

Simposio Internacional sobre Análisis de Riesgo de Plagas

**Información:**

Alba Campos  
NAPPO Secretariat  
Ottawa, Ontario, Canada  
Tel.: (613) 759-6179  
Fax: (613) 759-6141  
Email: camposa@inspection.gc.ca

**16-21 Junio 2002**

19 Congresso Brasileiro de Entomologia

**Información:**

Orcal Eventos  
Brasil  
Email: orcal@osite.com.br  
www.fua.br/19cbe

**24-28 Junio 2002**

Curso Latinoamericano sobre Control Biológico de Malezas

**Información:**

Julio Medal  
Universidad Nacional Agraria de Nicaragua/  
Universidad de Florida  
Email: medal@gnv.ifas.ufl.edu

**15-28 Julio 2002**

Curso Internacional Agroecología y Agroforestería Tropical

**Información**

Tamara Benjamín  
Area de Agricultura Ecológica, CATIE  
Turrialba, Costa Rica  
Email: tamara@catie.ac.cr

**27-30 Agosto 2002**

Taller Internacional de Inducción de resistencia y uso de tecnologías limpias para el manejo de plagas en plantas

**Información:**

Luis Pocasangre  
INIBAP/CATIE  
Tel. (506) 558 2440, 558 2710  
Fax: (506) 556 0606, 556 2431  
Email: lpoca@catie.ac.cr

**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.fcencias.unam.mx  
Fax: 52-5-622-4828

**7-11 Octubre 2002**

Producción de agentes microbianos para el control de plagas en Agricultura Ecológica

**Información:**

Manuel Carballo  
Unidad de Fitoprotección, CATIE  
Tel. (506) 558 2582  
Email: mcarball@catie.ac.cr

**27 Octubre-2 Noviembre 2002**

XV° Reunión de ACORBAT

**Información:**

Sabina Alvarez E.  
AUGURA  
Colombia  
Tel. (574)321 1333  
Fax (574) 321 4190  
Email: salvarez99@augura.com.co

# MOSCA BLANCA AL DÍA



No. 37

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



Diciembre, 2001



## Nota editorial

Para presentar este número, salen sobrando las palabras: nuevos hallazgos, conocimientos, proyectos, publicaciones actualizadas, reuniones e intercambios personales. Es decir, la labor continua y persistente de numerosas personas y redes, unidas por el interés común de beneficiar a los agricultores del mundo en la lucha contra el complejo mosca blanca-geminivirus. Con esta motivación cerramos el primer año del nuevo siglo y deseamos salud y paz espiritual a todos nuestros lectores, seguros de dar pasos aún más firmes en el año 2002.



## XI Taller

El XI Taller Iberoamericano y del Caribe sobre Moscas Blancas y Geminivirus se efectuará en Barquisimeto (Lara), Venezuela, en noviembre de 2002, sobre lo cual se aportará información detallada en los próximos números de MBDía. **Contacto:** Dr. Jorge Salas ([salasil@hotmail.com](mailto:salasil@hotmail.com) o [fonaiaipb@conicit.vg](mailto:fonaiaipb@conicit.vg)).



## Germoplasma de soya

Se evaluaron 20 genotipos de soya en cuanto a su resistencia a la mosca blanca (*Bemisia tabaci* biotipo B), mediante pruebas de escogencia irrestricta, en el invernadero. Las plantas se infestaron artificialmente y se evaluaron durante las etapas vegetativa y reproductiva. La línea D 75-10169 y los cultivares IAC 17 y IAC 19 no fueron atractivos para la oviposición, por lo que resultaron poco colonizados. Además, en 20 genotipos se evaluó la densidad de tricomas en el envés de hojas trifoliadas ubicadas en tres estratos (superior, medio e inferior) en ambas etapas. Se observó que la línea D 75-10169 tuvo la menor densidad, mientras que el cultivar IAC Holambra Stewart tuvo la mayor densidad de tricomas. Hubo correlaciones significativas tanto entre la atraktividad hacia los adultos y la preferencia de oviposición, como entre dicha atraktividad y el nivel de coloniza-

ción de las plantas. Para confirmar la preferencia de oviposición se realizó una prueba de no escogencia en el invernadero, en la que se evaluaron cinco genotipos (uno muy susceptible y cuatro con los menores niveles de oviposición). Se verificó que la línea PI 227687, aunque posee resistencia múltiple a insectos, recibió mucha oviposición, mientras que los cultivares IAC 19, IAC 17, Coodetec 201 y la línea D 75-10169 fueron resistentes en cuanto a la oviposición. Los resultados sugieren fuertemente que la resistencia observada en estos genotipos es estable. (**Información derivada de la tesis de Mag. Sci. titulada** Resistencia de genotipos de soja a *Bemisia tabaci* biotipo B, **de Giuliana Ettore do Valle (IAC Instituto Agronomico, Campinas, Brasil. Contacto:** Dr. André Luiz Lourenção, [andre@cec.iac.br](mailto:andre@cec.iac.br)).



## Nuevo proyecto

Recientemente, FONTAGRO (entidad del Banco Interamericano de Desarrollo que financia proyectos en el campo agrícola y de recursos naturales), aprobó el proyecto *Desarrollo de micoinsecticidas para el manejo integrado de la mosca blanca (Bemisia tabaci) en cultivos frutales y hortícolas en zonas neotropicales (2002-2004)*. Dicho proyecto es una iniciativa conjunta del CATIE y CORPOICA (Colombia). Congratulamos a los proponentes, pues esta es una oportunidad extraordinaria de potenciar las fortalezas de ambas instituciones en el campo del control microbiológico de las moscas blancas. **Contactos:** Manuel Carballo ([mcarball@catie.ac.cr](mailto:mcarball@catie.ac.cr)) y Alba Marina Cotes ([acotes@corpoica.org.co](mailto:acotes@corpoica.org.co)).



## Plan EE.UU

Del 10 al 12 de febrero de 2002 se efectuará en San Diego, California, la reunión anual sobre mosca blanca (1997-2001: *Third Annual Review of the Second 5-Year Silverleaf Whitefly Research, Action and Technology Transfer Plan*). **Contactos:** Dr. Walker Jones ([wjones@weslaco.ars.usda.gov](mailto:wjones@weslaco.ars.usda.gov)) y Dr. Thomas Perring ([thomas.perring@ucr.edu](mailto:thomas.perring@ucr.edu)), <http://www.slwf.ucr.edu/>





## Status mosca blanca

Como producto del simposio *Challenges and opportunities for pest management of Bemisia in the new century*, realizado en agosto de 2000 en Iguazú (Brasil), se ha publicado recientemente, editado por los doctores Steve Naranjo y Peter Ellsworth, un número especial de la revista *Crop Protection* (Vol. 20, No. 9). Este número sintetiza los mayores avances en el conocimiento básico y aplicado para el manejo del complejo mosca blanca-geminivirus. Para comprarlo, los interesados pueden consultar en: [www.elsevier.com/locate/cropro](http://www.elsevier.com/locate/cropro)

Su contenido es el siguiente:

*History, current status, and collaborative research projects for Bemisia tabaci* (M.R.V. Oliveira, T.J. Henneberry & P. Anderson)

*The Bemisia tabaci species complex* (T. M. Perring)

*Insecticidal control and resistance management for Bemisia tabaci* (J.C. Palumbo, A.R. Horowitz & N. Prabhaker)

*Biological control of Bemisia tabaci with fungi* (M. Faria & S.P. Wraight)

*Biological control of Bemisia tabaci using predators and parasitoids* (D. Gerling, O. Alomar & J. Arnó)

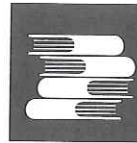
*Cultural practices for managing Bemisia tabaci and associated viral diseases* (L. Hilje, H.S. Costa & P.A. Stansly)

*Host plant resistance to whiteflies with emphasis on cassava as a case study* (A.C. Bellotti & B. Arias)

*Conventional breeding for resistance to Bemisia tabaci-transmitted geminiviruses* (F.J. Morales)

*Conservation and evaluation of natural enemies in IPM systems for Bemisia tabaci* (S.E. Naranjo)

*IPM for Bemisia tabaci: a case study from North America* (P.C. Ellsworth & J.L. Martínez-Carrillo)



## Otras publicaciones

- *La mosca blanca en la agricultura peruana* (2000). Autor: Dr. Luis Valencia. Libro que contiene amplia y valiosa información sobre la bioecología y el manejo de 18 especies de Aleyrodidae, ilustrada con abundantes fotos a colores. **Contacto:** [lvalenciav@hotmail.com](mailto:lvalenciav@hotmail.com)
- *Conozca y combata a la mosquita blanca* (2000). Autores: Dres. Laura Delia Ortega y Casáreo Hernández (Colegio de Postgraduados y CONACYT, México). Folleto ilustrado con dibujos y en lenguaje accesible para agricultores.
- *Manejo de la mosca blanca en espiral en el cultivo de banano* (2000). Autores: CORBANA (Costa Rica). Panfleto muy bien ilustrado con fotografías, sobre *Aleurodicus dispersus*, importante plaga del banano.



## Visitantes

- Durante todo agosto estuvo en Costa Rica el Dr. Dan Gerling (Universidad de Jerusalén, Israel), quien gracias al apoyo de INIBAP estuvo asesorando a la Corporación Bananera Nacional (CORBANA) en el control biológico de la mosca blanca en espiral (*Aleurodicus dispersus*), importante plaga del banano en Costa Rica y otros países. Asimismo, el Dr. Gerling ofreció una charla en el CATIE.

- En noviembre, por dos semanas efectuaron una pasantía en el CATIE (manejo de moscas blancas) y el CIBCM (diagnóstico de geminivirus), los colegas chilenos Pedro Mondaca y Marco Muñoz (SAG, Ministerio de Agricultura). Aparte de su adiestramiento en estos campos, esta interacción ha fortalecido nuestra relación con Chile, miembro de nuestra Red.

**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. 4

Diciembre, 2001

## NOTA EDITORIAL

Una vez más, entregamos esta nueva edición del boletín con la satisfacción de saber que, poco a poco, empieza a ser reconocido como un valioso foro para mantenernos actualizados en aspectos de protección forestal importantes para los productores y técnicos forestales de nuestro continente. Pero, además, esta vez tenemos la buena nueva de la posible realización, dentro de dos años, del *Primer Taller Latinoamericano sobre Plagas Forestales*, el cual nos permitiría intercambiar conocimientos y experiencias de manera más eficaz. Es con esta motivación que cerramos nuestro primer año de labores, deseando salud y paz espiritual a todos nuestros lectores en la Navidad y el Año Nuevo.

## SIMPOSIO

Del 15 al 17 de noviembre se realizó el *XI Simposio Nacional de Parasitología Forestal* en Tapachula, Chiapas, México. Participaron 184 personas, de varios estados del país, así como de Guatemala, Costa Rica y Nicaragua, quienes pertenecen a 42 instituciones. Se presentaron 24 trabajos, los cuales abarcaron tanto aspectos entomológicos y de patología, como de regulación y cuarentena. El evento cumplió con sus objetivos y logró dejar para el siguiente un sistema integral de registro computarizado, el cual además de integrar un directorio, permite la elaboración de reportes de asistentes, ponentes, personal de apoyo, reportes de inscripción, elaboración de diplomas, etc. El próximo simposio se realizará en Guadalajara, en 2003. **Contacto:** Dr. Jorge Macías.

## TALLER LATINOAMERICANO

Uno de los resultados del Simposio antes aludido, fue la posibilidad de ampliarlo, para realizarlo junto con el

*Primer Taller Latinoamericano sobre Plagas Forestales*, el cual se efectuaría en Guadalajara, en 2003, junto con el *IX Congreso Latinoamericano y del Caribe sobre Manejo Integrado de Plagas*, y otros eventos afines. Oportunamente se informará al respecto. **Contactos:** Jorge Macías y Luko Hilje.

## PIOJO DEL EUCALIPTO

En el boletín anterior se informó sobre una nueva plaga exótica, el piojo saltón *Glycaspis brimblecombei* (Homoptera: Psyllidae), conocido como el psílido del eucalipto. A continuación resumimos valiosa y reciente información, aportada por los colegas Gloria Iñiguez y Antonio Rodríguez (Fideicomiso del Programa de Desarrollo Forestal del Estado Jalisco, [fitosanidad@prodefo.org.mx](mailto:fitosanidad@prodefo.org.mx); Universidad de Guadalajara, [arodriguez@amatl.dmcyp.udg.mx](mailto:arodriguez@amatl.dmcyp.udg.mx)).

Este insecto ataca especialmente al eucalipto rojo (*Eucalyptus camaldulensis*) y, proveniente de California, se está extendiendo con rapidez en México, al punto de estar presente en 12 estados, y se teme que durante 2002 abarque todo el país.

En cuanto a sus hospedantes, ataca eucaliptos, y principalmente los de maderas rojas, como *E. camaldulensis*, *E. blakelyi*, *E. nitens*, *E. dealbata*, *E. bridegesiana*, *E. brassiana*, *E. mannifera*, *E. botryoides*, *E. cladocalix*, *E. cornuta*, *E. globulus*, *E. deglupta*, *E. grandis*, *E. marginata*, *E. nitens*, *E. punctata*, *E. rudis* y *E. robusta*.

En ellos succiona la savia de las hojas, provoca caída prematura del follaje, así como una secreción de mielcilla sobre la que crecen fumaginas que dan coloración oscura y desagradable al árbol. En consecuencia, hay pérdida del follaje, reducción del crecimiento y, tras varias defoliaciones sucesivas, mortalidad de pun-

tas y ramas. El vigor del árbol se reduce y queda expuesto a otros insectos, como *Neoclytus* sp. (Cerambycidae) y hongos que podría provocar su muerte. En plantaciones comerciales, las consecuencias son la reducción del crecimiento en diámetro y altura, la prolongación del turno de aprovechamiento y el incremento en los costos de producción.

Puesto que se trata de una plaga exótica, no tiene enemigos naturales que la controlen de manera eficiente. Hay algunos depredadores nativos pero, por ser generalistas, no son eficaces.

En cuanto a su manejo silvicultural, el manejo cuidadoso de los árboles afectados puede ser importante para reducir el estrés causado por la defoliación. Los árboles deben regarse cuando hay períodos prolongados de sequía, y el agua debe aplicarse lentamente fuera del área de goteo (no cerca del tronco, para no saturar el suelo en el sitio donde se encuentran las raíces de absorción). Además, se recomienda la poda de ramas muertas, para evitar riesgos, así como remover y quemar las hojas caídas, puesto que las ninfas de V instar pueden emerger de ahí.

El control químico se puede aplicar solamente a árboles de alto valor, ya que en áreas urbanas es oneroso hacerlo, por la periodicidad de las aplicaciones. Se recomienda hacerlo mediante inyecciones con insecticidas sistémicos o insecticidas-repelentes (como el aceite de nim).

En cuanto al control biológico, hay varias especies de enemigos naturales (pájaros, catarinas, crisopas, etc.) que se alimentan de huevos y ninfas de la plaga. Sin embargo, su consumo es tan bajo que no es eficiente. Por tanto, en los EE.UU. han importado de Australia el parasitoide *Psyllaephagus bliteus* (Encyrtidae), que es muy específico sobre esta plaga.

En México la medida de control más importante y la única que tiene posibilidades a mediano y largo plazo de ser eficiente es el control biológico. Los argumentos a favor de esta técnica son los siguientes: *G. brimblecombei* es un insecto introducido de otro país, que ha llegado sin sus enemigos naturales específicos, su hospedante está ampliamente distribuido en todo el país y crece en ambientes climáticos adecuados para el buen desarrollo de las poblaciones del piojo saltón. También hay informes sobre el control exitoso de otros psílidos exóticos mediante la introducción de enemigos naturales.

Actualmente el Programa de Desarrollo Forestal del Estado de Jalisco (PRODEFO) ha iniciado un pro-

yecto de control biológico, en el cual se está utilizando dicho parasitoide. En mayo se introdujo la primera colonia de parasitoides a Guadalajara, donde se realizó la primera liberación en "El Centinela" de 75 parejas (hembras y machos) y, en conjunto con la Universidad de Guadalajara, se estableció un laboratorio para su cría masiva. Acompañado al programa de liberación de parasitoides se tiene el programa de evaluación, el cual permite monitorear las poblaciones de la plaga y su parasitoide. En el monitoreo subsecuente, que se realiza semanalmente, se ha verificado que después de 24 semanas, hay parasitoides vivos, tanto en el campo como en el laboratorio. Además, se está trabajando con los enemigos naturales que, aunque sean generalistas, como *Chrysoperla* sp. y algunos Coccinellidae, consumen vorazmente los huevos y ninfas del piojo saltón. Asimismo, en este proyecto colaboran los municipios de Zapopán y Guadalajara, y el DMCyP (Departamento de Madera, Celulosa y Papel) de la Universidad de Guadalajara.

## ENFERMEDAD EN PRIMAVERA

La primavera (*Tabebuia donnell-smithii*) es un árbol nativo de excelente madera, de gran importancia en el estado de Chiapas, que junto con el tepemistle, roble, cedro y zope, forma parte de un programa de reforestación de las zonas cafetaleras de la región. Actualmente hay varios viveros gubernamentales y privados que ofrecen esta planta para ser sembrada en grandes extensiones. Por tanto, para diagnosticar y prevenir problemas de plagas, se iniciaron evaluaciones de una roya (*Prospodium* sp., Pucciniaceae). Los árboles afectados presentan atizomamiento y muerte de rebrotes, así como manchas ahusadas pardo-rojizas que causan deformación, hinchamiento y rajaduras en las nervaduras y pecíolos de las hojas. En las ramas se observa una deformación e hinchamiento, así como la rajadura de la corteza, con aspecto de cáncer, en cuya parte central emergen las pústulas de la roya. Los signos encontrados fueron teliósporas bicelulares de 39-42 X 26-28 micras, con un poro apical en la célula superior y otro en posición basal y lateral en la célula inferior. El grosor de la pared de la espora fue de 2,4-3,6 micras, con equinulaciones. No se han detectado otros tipos de esporas. La literatura menciona que *Prospodium* solo ataca árboles de la familia Bignoniaceae; *P. perornatum* ataca a *Tabebuia chrysantha*, *T. palmeri* y *T. pentaphylla*. Otras royas encontradas en dicha familia son *Scopella quadrilobata* y *Dipyxis* sp. **Contactos:** Graciela Huerta-Palacios, Francisco Holguín-Meléndez y Jorge Macías-Sámamo (El Colegio de la Frontera Sur, ECOSUR, Chiapas, México).

**POR FAVOR, DISTRIBUYA ESTE BOLETÍN A TODOS LOS INTERESADOS QUE CONOZCA**



## Tratado fundamental para el control y eliminación de contaminantes orgánicos persistentes (COPs)

Samuel Henao\*

### Antecedentes

En 1992, líderes de más de 100 países se reunieron en Río de Janeiro, Brasil con motivo de la Conferencia Internacional de las Naciones Unidas sobre el Medio Ambiente y el Desarrollo (CNUMAD), y aprobaron el Programa 21 como el plan de acción para enfrentar los problemas urgentes de ambiente y desarrollo en el mundo. El capítulo 19 de este programa se titula "Gestión ecológicamente racional de los productos químicos tóxicos, incluida la prevención del tráfico internacional ilícito de productos tóxicos y peligrosos". La ejecución del Programa 21 compete principalmente a los Estados Miembros, con la cooperación de los organismos internacionales.

En relación a la gestión racional de las sustancias químicas es especialmente importante la resolución WHA50.13 de la Asamblea Mundial de la Salud, titulada "Fomento de la seguridad química, con especial atención a los contaminantes orgánicos persistentes". Esta resolución se formuló en respuesta a la información y las recomendaciones sobre la acción internacional emitidas por el Foro Intergubernamental sobre Seguridad Química (IFCS) a la Asamblea Mundial de la Salud y al Consejo de Administración del Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente (PNUMA). La Asamblea de la Salud, después de haber considerado el informe del Director General acerca de los contaminantes orgánicos persistentes (COPs), hizo suyas las recomendaciones sobre los COPs formuladas a ella por el IFCS y contenidas en dicho documento. El Consejo de Administración del PNUMA aprobó la decisión 19/13C (1997), por

la cual se recomienda promover la acción internacional para proteger la salud humana y el ambiente mediante medidas para reducir o eliminar la liberación de COPs.

En junio de 1988 el Programa de Naciones Unidas para el Medio Ambiente (UNEP) organizó en Montreal-Quebec la primera de cinco sesiones del Comité Intergubernamental de Negociación para iniciar el proceso de definición de un tratado jurídicamente vinculante para limitar o eliminar inmediata o gradualmente la producción, el uso y las fuentes de los COPs.

En su quinto período de sesiones, celebrado en Johannesburgo, Sur Africa en diciembre de 2000, el Comité Intergubernamental de Negociación de un instrumento internacional jurídicamente vinculante, respecto a ciertos contaminantes orgánicos persistentes, estuvo de acuerdo con el texto del Proyecto de Convenio de Estocolmo para su aprobación por la conferencia de plenipotenciarios.

### Importancia de los contaminantes orgánicos persistentes (COPs)

Los COPs son compuestos orgánicos con características particulares de toxicidad. Las más importantes:

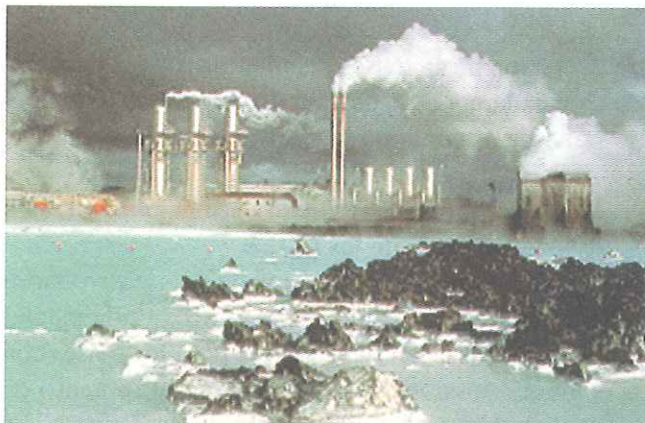
- Sumamente estables y resisten la degradación fotolítica, química y biológica.
- Se acumulan en el tejido adiposo del organismo pasando a través de los alimentos; además, pueden ser transferidos de la madre al feto.

\*Coordinador Subregional del Proyecto PLAGSALUD/OPS. San José, Costa Rica.

- Tóxicos y constituyen un grave riesgo para la salud y el ambiente.
- Persisten en el ambiente.
- Se trasladan largas distancias en el ambiente mediante el viento y las corrientes de agua.
- La mayor parte de la exposición humana a los COPs se atribuye a la cadena alimenticia. La contaminación de los alimentos puede producirse mediante la contaminación ambiental del aire, agua y suelo o por el uso no autorizado de plaguicidas organoclorados en los cultivos alimenticios.

### Efectos

Las pruebas sobre los probables efectos de los COPs en la salud están aumentando en forma considerable. Los seres humanos enfrentan una amplia gama de exposiciones ambientales, que con frecuencia incluyen una combinación de varios productos químicos de manera simultánea. Todavía es necesario continuar las investigaciones de los efectos de la exposición a estos productos en la salud humana, sobre todo debido a la amplia variedad de exposiciones concomitantes que experimentan los seres humanos. De todas maneras, las pruebas científicas existentes han sido suficientemente evaluadas como para adoptar medidas inmediatas tendientes a reducir los riesgos para la salud humana. Existe acuerdo general de que la exposición a ciertos COPs puede tener repercusiones importantes sobre la salud humana a corto o largo plazo. La exposición excesiva a algunos COPs en el lugar donde se usan puede ocasionar efectos agudos, incluso la muerte,



mientras que la exposición a concentraciones menores pueden causar efectos a largo plazo. Aun así, la exposición de niveles bajos es motivo de gran preocupación, pues puede producir efectos a largo plazo en grandes grupos de población.

Entre los muchos efectos de los COPs sobre la salud figuran los defectos congénitos en seres humanos y animales, el cáncer, una amplio ámbito de efectos biológicos, alergias e hipersensibilidad y enfermedades del sistema nervioso central y periférico. Se considera que los trastornos reproductivos son causados por productos químicos que alteran las funciones endocrinas. Existe especial interés en el posible trastorno del desarrollo y del sistema inmunitario en niños.

### Lista de los 12 COPs designados para acción internacional

Hasta el presente se han identificado 12 COPs que exigen atención más urgente:

#### Plaguicidas

- DDT
- Aldrin
- Clordano
- Dieldrin
- Endrin
- Heptacloro
- Hexaclorobenceno (HCB)
- Mirex
- Toxafeno

#### Sustancias Químicas Industriales

- Bifenilos Policlorados
- Furanos
- Dioxinas

### El Tratado para el control y eliminación de COPs.

Este tratado es conocido como "La Convención de Estocolmo" después de su ratificación y firma en mayo 2001 en Suecia. Su objetivo es proteger la salud humana y el ambiente de los contaminantes orgánicos persistentes. Para lograr este objetivo el tratado prevé los siguientes mecanismos:

- **Eliminación de ocho plaguicidas COPs.**  
El tratado establece que ocho plaguicidas COPs (aldrin, endrin, dieldrin, clordano, heptacloro, hexaclorobenceno, mirex y toxafeno) sean prohibi-

dos con efecto inmediato. La prohibición entrará en vigor en cuanto el tratado sea activado. Mientras tanto, cada signatario del tratado deberá pre-disponer medidas legislativas y administrativas apropiadas para fomentar la eliminación y el uso de los plaguicidas COPs.

- **Prohibición de la producción de PCBs**

La producción de PCBs será prohibida con efecto inmediato y los restantes usos serán discontinuados gradualmente. El tratado invita a todos los países a coordinar sus esfuerzos para dismantelar los transformadores eléctricos y otros equipos que contengan PCBs, empezando por los equipos de gran capacidad, con el fin de lograr la discontinuación de los PCB's en el 2025.

- **Uso y producción de DDT limitados**

Sólo se permitirá la utilización de DDT para el control de vectores de enfermedades, manteniendo como objetivo su eliminación a largo plazo. Los países que requieren el uso del DDT para el control de la malaria, estarán autorizados a utilizarlo hasta tanto no se encuentren alternativas eficaces y abordables.

- **Reducción de las liberaciones de los subproductos industriales de los COPs.**

El tratado promueve la implementación de medidas y acciones eficaces para reducir las descargas de COPs que son subproductos industriales, por ejemplo la dioxina. El propósito de estas acciones debe ser la eliminación de los subproductos de los COPs donde es factible. Por solicitud de los Estados Unidos y de Sur África, en el ámbito del tratado, la "finalidad de eliminación", comprende la noción de factibilidad económica y técnica.

- **Adopción del Principio de Precaución.**

El tratado utilizará el Principio de Precaución para identificar y actuar en el futuro sobre la prevención de nuevos COPs, así como también la transparencia y la participación pública. El tratado requiere la constitución de un Comité Científico de Revisión que evalúe los COPs químicos usando los criterios de toxicidad, persistencia, bioacumulación y traslación a larga distancia.

- **Adiestramiento y capacitación para los diferentes países**

El tratado prevé el fomento de la capacitación de todos los países para la eliminación de los COPs. La ratificación asignará a los países menos desarrollados fondos financieros y asistencia técnica por parte de los países desarrollados, para que puedan cumplir efectivamente con las obligaciones derivadas del presente Convenio.

- **Promoción de medidas de prevención sobre las fuentes de COPS**

El tratado pone énfasis en la importancia de las medidas de prevención para eliminar las fuentes de COPs, mediante el fomento a nivel nacional de leyes o reglamentos para prevenir el desarrollo de nuevos productos químicos con las características de los COPs y promoviendo el reemplazo de los materiales, procesos y productos industriales que puedan generar los COPs.

- **Manejo de desechos que contengan COPs**

El tratado invita a todos los signatarios a identificar todas las reservas de COPs, los productos, artículos en uso y desechos que contengan o estén contaminados por COPs. Estos deben ser manejados "de manera que el contenido de contaminantes orgánicos persistentes se destruya o se transforme en sustancias que no presenten características de contaminantes orgánicos persistentes o, según proceda, se eliminen de manera ambientalmente racional".

- **Comercio de productos químicos COPs**

El tratado reglamenta y limita el comercio de COPs a los países que tengan una exención específica sobre COPs químicos. Será permitida la exportación hacia países no miembros de la Convención, solamente con el fin de colocarlos de manera ambientalmente racional.

- **Financiamiento del proceso para la eliminación o discontinuación de los COPS.**

El tratado insiste en que los países desarrollados provean recursos financieros nuevos y adicionales para los países en desarrollo y para los países con economías en transición, así como el fomento de contribuciones financieras de otras fuentes. La adecuación, programación y continuidad del financiamiento es un elementos clave. Se reconoce

que los países en desarrollo o con economías en transición afrontan situaciones económicas y sociales difíciles y se da énfasis especial a las necesidades de los "estados isla" y de los países menos desarrollados. Los negociadores del quinto Comité Intergubernamental de Negociación acordaron incluir en el tratado el Global Environment Facility (GEF-Fondo Mundial para el Medio Ambiente) como instrumento financiero provisorio para las operaciones financieras del tratado.

### **Ratificación del tratado y entrada en vigor**

El tratado fue firmado y ratificado por diplomáticos y Ministros de la Conferencia Diplomática que tuvo lugar en Estocolmo, Suecia, del 22 al 23 de mayo de 2001. Además estará abierto a la firma en la sede de las Naciones Unidas en Nueva York, del 24 de mayo de 2001 al 22 de mayo de 2002.

El tratado entrará en vigor al nonagésimo día a partir de la fecha en que se deposite el quincuagésimo instrumento de ratificación, aceptación, aprobación y adhesión.

Se prevé que este proceso llevará algunos años, posiblemente hasta el 2003.

Klaus Töpfer, Director Ejecutivo del Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente (UNEP) —que organizó las negociaciones— declaró durante el cierre de las mismas que "Este es un tratado razonable y efectivo que puede ser actualizado y ampliado en las décadas venideras para garantizar la mejor protección posible contra los COPs".

Este tratado fundamental es un logro extraordinario, que demuestra la voluntad y la capacidad de cooperar a nivel mundial para eliminar las sustancias nocivas para el ambiente y reducir el riesgo de la exposición a estos químicos extremadamente peligrosos. Si bien este importante tratado ha requerido un inten-

so trabajo e innumerables mediaciones, aún falta una ardua labor. Un instrumento jurídicamente vinculante corre el riesgo de limitarse a ilustrar en el papel las mejores intenciones, en aquellos casos en que las burocracias de los gobiernos puedan representar un obstáculo para su actuación.

La legislación política toma su tiempo y ese tiempo cuesta en términos de continua exposición a estos productos químicos y por consiguiente, cada retraso en la implementación y entrada en vigor de la legislación puede hacer vanos los esfuerzos realizados para lograr este Tratado.

Se confía que con el apoyo continuo de países y organismos involucrados en este tema, puedan obtenerse los objetivos propuestos.

### **Literatura consultada**

- United Nations Environment Programme. 2000. Governments Finalize Persistent Organic Pollutants Treaty. Johannesburg, South Africa. Press Release.
- OPS/OMS. 1999. 41er Consejo Directivo. Contaminantes orgánicos persistentes. San Juan, Puerto Rico.
- OPS/OMS. 1999. 124 Sesión del Comité Ejecutivo. Resolución CE 124.5. Contaminantes orgánicos persistentes. Washington.
- The International Institute for Sustainable Development. 2000. The Fifth Session of the Intergovernmental Negotiating Committee for an International Legally Binding Instrument for Implementing International Action on Certain Persistent Organic Pollutants (POP): 4-9 December 2000". Earth Negotiations Bulletin 15(48).
- The International POP Elimination Network. 1998. Persistent Organic Pollutants- The Need for a Strong POP Treaty. Montreal, Quebec, Public Forum.
- UNEP/POPS. 2001. Conferencia de plenipotenciarios sobre contaminantes orgánicos para su aprobación por la conferencia plenipotenciarios.
- UNEP/POPS. 2001. Conference of Plenipotentiaries on the Stockholm Convention on Persistent Organic Pollutants. Estocolmo.



## Microorganismos antagonistas para el control fitosanitario

Orietta Fernández-Larrea Vega<sup>1</sup>

### Introducción

Existe un grupo importante de hongos y bacterias que presentan efectos antagónicos con otros microorganismos y esta acción puede ser aprovechada como una forma de control biológico de patógenos vegetales.

Entre los microorganismos más importantes se encuentran las bacterias de los géneros *Fusarium*, *Pseudomonas* y *Bacillus* y hongos de los géneros *Gliocladium* y *Trichoderma*. Este último es el más utilizado para el control de un grupo importante de patógenos del suelo. El efecto principal de *Trichoderma* es por hiperparasitismo, aunque algunas especies y cepas pueden producir metabolitos bioactivos que incrementan su acción. Además algunos aislamientos controlan nematodos.

En el mundo biológico existe una interacción continua entre los patógenos potenciales y sus antagonistas, de forma tal que estos últimos contribuyen a que en la mayoría de los casos no se desarrolle la enfermedad. En condiciones naturales los microorganismos están en un equilibrio dinámico en la superficie de las plantas.

### Mecanismos de acción

Se han descrito varios mecanismos de acción de los antagonistas para controlar el desarrollo de patógenos. Algunos de estos son antibiosis, competencia por espacio o por nutrientes, interacciones directas con el patógeno (micoparasitismo y lisis enzimática) e inducción de resistencia.

No es fácil determinar con precisión los mecanismos que intervienen en las interacciones entre los an-

tagonistas y los patógenos en la planta. En general, los antagonistas no tienen un único modo de acción y la multiplicidad de éstos es una característica importante para su selección como agentes de control biológico. Si el antagonista posee varios modos de acción reduce los riesgos de desarrollo de resistencia en el patógeno. Este riesgo de resistencia también se reduce mediante el uso de combinaciones de antagonistas con diferente modo de acción.

### Competencia

Esta constituye un mecanismo de acción antagónica muy importante. Puede definirse como el comportamiento desigual de dos o más organismos ante un mismo requerimiento, siempre y cuando la utilización del mismo por uno de los organismos reduzca la cantidad disponible para los demás. Un factor esencial para que exista competencia es la escasez o limitación de un elemento porque si hay exceso no hay competencia.

**Competencia por nutrientes.** La competencia más común es por nutrientes, oxígeno o espacio. *Botrytis cinerea* y *Penicillium expansum* son dos hongos de poscosecha típicamente dependientes de los nutrientes, como hongos necrotróficos sus esporas requieren de estas sustancias para germinar y comenzar el crecimiento de las hifas antes de penetrar al sustrato. Esos nutrientes se encuentran en las heridas de las frutas y es allí donde la competencia microbiana actúa inhibiendo el desarrollo de estos patógenos.

<sup>1</sup> Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal La Habana. Cuba oflarrea@inisav.cu



**Competencia por espacio.** Este tipo de competencia también ha sido evaluado. Las levaduras son eficaces colonizadoras de la superficie de plantas y se destaca la producción de materiales extracelulares (especialmente polisacáridos) que restringen el espacio para la colonización por otros microorganismos.

### **Interacción directa con el patógeno**

Un tipo de interacción directa entre los antagonistas y los patógenos es el parasitismo (Lecuona 1996).

El parasitismo es la acción de un microorganismo parasitando a otro y puede ser definido como una simbiosis antagonica entre organismos. Este consiste en la utilización del patógeno como alimento por su antagonista. Generalmente, están implicadas enzimas extracelulares tales como quitinasa, celulasa,  $\beta$ 1,3-glucanasa y proteasa, que rompen las estructuras de los hongos parasitados. Los ejemplos más conocidos de hongos hiperparásitos son *Trichoderma* y *Gliocladium*. Ambos ejercen su acción mediante varios mecanismos, entre los cuales tiene un rol importante el parasitismo. Los hongos del género *Trichoderma* han sido muy estudiados como antagonistas de patógenos de suelos como *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii* y *Sclerotium cepivorum* y existen varias formulaciones comerciales desarrolladas a partir de ellos.

### **Microorganismos antagonistas**

#### **Bacterias antagonistas**

Las bacterias del grupo de *Pseudomonas fluorescens* y las del género *Bacillus* son consideradas las más eficaces para controlar enfermedades foliares y de las raíces.

Dada la diversidad genética en el género *Bacillus*, tanto en el suelo como en la rizosfera, se considera a estos microorganismos como colonizadores eficaces. Las potencialidades del género *Bacillus* sobre *P. fluorescens* han sido señaladas por Kin *et al.* (1997), quienes encontraron mayor emergencia y control de patógenos del trigo cuando utilizaron este género.

Estas bacterias se han evaluado para el control de enfermedades fungosas, determinándose que las aplicaciones de *Bacillus subtilis* pre y poscosecha en aguacate tienen un efecto similar al de los fungicidas comerciales (Korsten *et al.* 1997). Los mejores resultados fueron logrados con un tratamiento integrado que incluía aplicaciones de benomil y oxiclورو de cobre y control biológico, siendo este el primer informe de control biológico pre-cosecha en aguacate. En investigaciones futuras deberán evaluarse el modo de acción

de *B. subtilis*, habitante natural del filoplano del árbol de aguacate.

Recientemente, se desarrolló una formulación de *B. subtilis* para controlar la pudrición radicular del frijol, la cual se evaluó comparando diferentes sustratos y se determinó que en condiciones de laboratorio el tratamiento con turba fue el más eficaz. No obstante, en condiciones de campo la formulación a base de pectina fue la que logró mejor control (Lazarete *et al.* 1994).

Se determinó el efecto de *Bacillus* sp. sobre la germinación y el desarrollo de semillas de tomate infectadas con *Fusarium oxysporium* var *cubensis* (Brada *et al.* 1995); también se realizaron pruebas *in vitro* con *Pseudomonas* sp. y *B. subtilis* aislados de plátano y arroz, respectivamente (Torres *et al.* 2001). Estos microorganismos mostraron la capacidad de inhibir el crecimiento de hongos fitopatógenos del suelo, tales como *Fusarium oxysporium*, f. s. *lycopersici*, *Pythium ultimum*, *R. solani*, *S. rolfsii*, *Phytophthora nicotianae*, *Fusarium moniliforme* y *Fusarium solani*.

Castellanos *et al.* (1995) evaluaron *B. subtilis* para el control de *Alternaria porri* en plantas de cebolla, alternando aplicaciones del producto biológico con las de los fungicidas zineb y oxiclورو de cobre, determinándose que los tratamientos que consistían en la combinación de fungicidas sintéticos y biológicos mostraron mejor control que el resto de los tratamientos.

Uno de los usos de *B. subtilis* como agente de control biológico es mediante el tratamiento de semillas. Su efecto benéfico cuando se aplica junto a las semillas o en forma individual no se debe exclusivamente al antagonismo con los patógenos sino que influye positivamente en la germinación, desarrollo y rendimiento del cultivo debido a la producción de sustancias promotoras del crecimiento y al mejoramiento de la nutrición de las plantas.

Con respecto a *B. subtilis*, se ha estudiado la liberación de compuestos con propiedades antifúngicas como la subtilina y otros antibióticos de la familia de las Iturinas. Estas últimas son polipéptidos que actúan sobre la pared celular de los hongos. Friddaman y Rossal (1993) observaron vacuolización y deformación de las hifas de *R. solani* y *P. ultimum* provocadas por la formación de un compuesto volátil con propiedades fungicidas.

El efecto antagonico de las bacterias aisladas puede evaluarse usando varios métodos, como los descritos a continuación:

- a) Goteo de los aislamientos. Se colocan 5 o 6 gotas alrededor del borde de una caja de Petri, la cual se deja en incubación durante dos días a 15 °C. Un disco del hongo evaluado, de una semana de crecimiento, se coloca en el centro de la caja y se mide el halo de inhibición.
- b) Depositar una gota del cultivo bacteriano en una caja de Petri a una distancia de 10 cm del micelio del hongo creciendo activamente en PDA. Se incuba por siete días y después se examina la zona de inhibición.
- c) Las cepas de *Bacillus* se cultivan en un frasco de 500 ml durante siete días en 100-200 ml de caldo de papa, el cual se agita constante; la solución debe mantenerse en la oscuridad. Después se agregan 6 g de agar, se lleva al autoclave a 121°C por 20 min y se procede a verter en cajas de Petri. Una vez que el medio se ha solidificado se colocan en las cajas de Petri discos de 0,7 cm de diámetro conteniendo el hongo a evaluar. La evaluación se basa en el porcentaje de inhibición del hongo.
- d) Las colonias de bacterias antagonistas se siembran utilizando una aguja para este propósito, dejando cuatro colonias por caja de Petri. Se incuban a 28°C durante dos días. Estas se matan con vapores de cloroformo y se retira el crecimiento. Después se hace la siembra del hongo evaluado, preferiblemente ya esporulado, utilizando una aguja para este propósito.

#### **Producción de bacterias antagonistas**

El aspecto más importante es decidir la fracción a producir, para lo cual es necesario determinar los modos de acción de la especie. Esto permite definir la estrategia de producción y aplicación. En el caso de las bacterias, su acción principal está dada por la producción de metabolitos bioactivos con efecto antibiótico o lítico, por lo cual deben obtenerse concentraciones altas en los caldos de cultivo de estos organismos y posteriormente lograr su concentración y purificación.

También la producción de biomasa puede resultar importante porque al aplicarse como inóculo al suelo, incrementan su cantidad y logran mejor competencia e interacción con el patógeno. En ambos casos, el método de producción más utilizado es la fermentación sumergida, proceso que tiene posibilidades de ser escalado con gran eficacia. También pueden utilizarse métodos más artesanales como el cultivo líquido está-

tico, que mediante un cuidadoso proceso con el medio de cultivo y los parámetros de incubación adecuados se logra una producción eficiente.

En Estados Unidos hay registrados comercialmente varias especies de microorganismos para el control de patógenos del suelo. Estos incluyen dos hongos (*Gliocladium virens* y *Trichoderma harzianum*), tres bacterias gram-negativas (*Agrobacterium agrobacter* K84, *Pseudomonas fluorescens* y *Burkbolderia cepacia* tipo *Wisconsin*) y dos bacterias del género *Bacillus* (*Bacillus subtilis* GB03 y *B. subtilis* MBI600).

Actualmente, se comercializan a gran escala productos a base de *B. subtilis* siendo los Estados Unidos los líderes en este campo. En 1994, estos productos se aplicaron en 2 millones de ha en ese país. En 1997 Alemania aprobó la comercialización de productos con *B. subtilis* como ingrediente activo. Se han realizado muchas investigaciones sobre el uso de los componente activos presentes en el caldo de cultivo.

#### ***Trichoderma*, hongos antagonista**

La versatilidad, adaptabilidad y fácil manipulación de los hongos del género *Trichoderma* ha permitido su uso en el control biológico. Sin embargo, las deficiencias en las tecnologías de formulación son una limitación para el avance en las investigaciones tecnológicas. *Trichoderma* spp. produce tres tipos de propágulos: hifas, clamidosporas y conidios, éstas son activas contra fitopatógenos en diferentes fases del ciclo de vida, desde la germinación de las esporas hasta la esporulación. El parasitismo puede ocurrir mediante la penetración, engrosamiento de las hifas, producción de haustorios y desorganización del contenido celular. La competencia por el espacio y los nutrimentos es más favorable, principalmente para los hongos que se desarrollan en la superficie de las hojas antes de efectuar la penetración, no actuando sobre aquellos que penetran rápidamente. En algunos casos *Trichoderma* actúa sobre algunos patógenos debido a su capacidad de colonizar rápidamente el follaje; también puede colonizar extensivamente una superficie foliar intacta.

Existen diferentes formulaciones de hongos antagonistas y su uso depende del modo de acción. Para uso comercial, el material seco es el preferido por la importancia del peso y la manipulación de los productos durante la comercialización. Las hifas son poco resistentes al secado, por lo cual se trabaja en las formulaciones de las formas reproductoras (conidios y clamidosporas) como polvos humedecibles, polvo seco,

formulaciones en aceite y encapsulados que contienen el hongo. Los conidios son más resistentes que las clamidosporas y se producen en mayor cantidad por diferentes medios (Normas de especificaciones ...1993, Fernández-Larrea 1997, Fernández-Larrea y Ceja 1997)

En Cuba, la elaboración de productos biológicos a partir de diferentes cepas de *Trichoderma* spp. se realiza mediante métodos artesanales y más recientemente mediante producción industrial, para lo cual se utiliza la fermentación sumergida y la fermentación en sólido. La producción artesanal está limitada por el volumen productivo y la imposibilidad de almacenar estos productos a temperatura ambiente por largo tiempo, mientras la producción industrial es una alternativa tecnológica muy eficiente desde el punto de vista productivo y económico para la obtención de fungicidas biológicos de alta calidad, los cuales se han evaluado ya en condiciones de laboratorio. Además éstos productos tienen un mercado potencial, sobre todo en países donde la agricultura sostenible está tomando mayor importancia.

En la actualidad, y mediante la capacidad instalada en Cuba se elabora un promedio de 250 toneladas por año, que permiten proteger más de 100 000 ha de cultivos de importancia económica, tales como tabaco, tomate y chile, tanto en condiciones de campo como en invernadero. Por lo tanto, es necesario el desarrollo de nuevos métodos de fabricación de productos finales como polvos secos que cumplan con los requisitos para el registro como producto comercial.

En Cuba se produce artesanalmente *Trichoderma* en presentación sólida, líquida estática y bifásico (líquido-sólido). La concentración de conidios en la presentación líquida es de  $2-3 \times 10^8$  conidios/ml y en la presentación sólida del hongo de  $2-3 \times 10^9$  conidios/g. La presentación sólida se incuba durante 7-15 días, el líquido estático durante 10-15 días y el bifásico se mantiene en agitación por 24-72 h, luego por 5-7 días estático y en sólido durante otros 5-7 días. La presentación líquida se usa en dosis de 40 L de solución final en 400 L/ha, mientras la presentación sólida es usada en dosis de 20 g/m<sup>2</sup> o 40 L/ha. Cuando *Trichoderma* es utilizado para el control de hongos del suelo, pueden

mezclarse con materia orgánica u otras enmiendas utilizadas como fertilizantes, tal como se hace con inoculantes bacterianos usados como fertilizantes biológicos.

#### **Control de calidad y bioensayo**

El control de calidad de los productos de *Trichoderma* obtenidos por métodos artesanales se refieren principalmente al control de la pureza del producto, la concentración de esporas por mililitro, lo cual se realiza mediante el conteo usando un microscopio en cámara de Neubauer y la verificación de la viabilidad de los conidios, mediante microcultivo en portaobjetos.

En el caso de los productos sólidos molidos se determina el tamaño de partícula .

El bioensayo constituye el proceso más importante del control de calidad. Para esto se sigue el procedimiento descrito a continuación:

Se prepara una suspensión con 1 g del preparado biológico en 10 ml de agua destilada estéril, la cual se deja 1 h. Transcurrido este tiempo se realizan diluciones hasta  $10^{-4}$  conidios/ml.

En cajas de Petri con Agar-Papa-Dextrosa con los antibióticos Rosa de Bengala 17 ppm y sulfato de estreptomina 30 ppm, se siembra 1 ml de la suspensión usando una espátula. Se preparan tres cajas por muestra. Estas se incuban por 72 h a  $25 \pm 2$  °C. Transcurrido este tiempo se examina el crecimiento de *Trichoderma*, contando el total de colonias por caja de Petri.

Se siembra una porción del micelio y conidios en una caja con agar agua. Se deja crecer durante 58 h y posteriormente se obtienen discos de 0,5 cm.

En cajas de Petri conteniendo Agar-Papa-Dextrosa se siembra un disco de *Trichoderma* sp. en un extremo y en el otro extremo de la otra caja un disco similar con el crecimiento del patógeno. Se hacen 3 repeticiones. Posteriormente, se mide el crecimiento lineal de cada colonia al enfrentarse una con otra (entre 4-6 días), valorando la actividad competitiva por el sustrato.

El valor promedio del crecimiento lineal de *Trichoderma* sp. estará entre 5-6 cm en comparación con la cepa probada. Podrá observarse hiperparasitismo y en muchos casos incremento de la esporulación cuando crece sobre la colonia del patógeno.

## Control de calidad de producciones de

### *Trichoderma*

#### Control del Proceso

##### Medios de cultivo

- Esterilidad
- pH
- Materias primas

##### Inóculo

- Pureza
- Viabilidad
- Concentración

##### Incubación

- Temperatura del cuarto de crecimiento

#### Control de producto

- Pureza
- pH
- Concentración conidios/ml
- Características del cultivo
- Efectividad biológica por bioensayo (cultivo dual)

#### Almacenamiento

- Control de temperatura
- Tiempo de estabilidad

## Bibliografía

- Brada, IE; Quintana, E; Pelaya, E; Araujo, T. 1995 Efecto de *Bacillus* sp. sobre la germinación y desarrollo de semillas de tomate (*Lycopersicon esculentum* M.) infestadas con *Fusarium oxysporum* Schl. var. *cubensis* Smith. Resúmenes Bioplág 95. (1995, Ciudad Habana, Cuba). INIFAT p. 11.
- Castellanos, JJ; Oliva, P; Izquierdo, E; Morales, N. 1995. Evaluación de *Bacillus subtilis* como biocontrol del patógeno *Alternaria porri* (Ell). Cif en cebolla. In Bioplág 95. (1995, Ciudad Habana, Cuba). INIFAT. p. 21.
- Chet, J. 1987. *Trichoderma*. Application, mode of action and potential as biocontrol agents of soilborne plant pathogen fungi. Wiley 46 p.
- Dunn, RT; Lewis, SA; Papavizas, GO. 1983. Production and fermentation of two biological control agents from liquid fermentation. Phytopathology 73:165.
- Elad, Y. 1993. Isolate of *Trichoderma harzianum* I-952 fungicidal compositions containing said isolate and use against *B. cinerea* and *S. sclerotiorum*. PN 5666316. E.U.
- Fernández-Larrea, O. 1985. Microorganismos entomopatógenos y antagonistas: posibilidades de producción. CID-INISAV. Boletín Técnico no. 1.
- Fernández-Larrea, O. 1997. Procedimiento para la obtención de productos líquidos concentrados estables por cuatro meses de *Trichoderma harzianum*. Cuba, OCPI. 8 p.
- Fernández-Larrea, O; Cenjas, A. 1997. Producción y conservación de productos de *Trichoderma* por vía fermentativa. 1977. 26 p.
- Harman, G; Lumrden; 1990. The Rhizosphere. New York, Wiley & Sons. p. 259 - 280
- Kim, DS; Cook, RJ; Weller, DM. 1997. *Bacillus* sp. L324-92 for biological control of three root disease of wheat grown with reduced tillage. Phytopathology 87:551-558.
- Kononova, E. 1986. Conferencias sobre hongos entomopatógenos y antagonistas. Cuba, INISAV. 8 p.
- Korsten, L; De Villiers, EE; Wehner, RC; Kotzet, JM. 1997. Field spray of *Bacillus subtilis* and fungicides for control of preharvet fruit disease of avocado in South Africa. Plant Disease 81:455-459.
- Lazzarete, E; Menten, JOM; Bettiol, W. 1994. *Bacillus subtilis* antagonistas aos principaes patógenos asociados a sementes de feijao e trigo. Fitopatología Venezolana 7: 42-46.
- Lecuona, RE. Ed. 1996. Microorganismos patógenos empleados en el control microbiano de insectos plaga. Argentina. 338 p.
- Normas de especificaciones para el control de calidad de *Trichoderma*. CEN. Normas Cubanas. Fernández-Larrea, O; Sandoval, I. Ed. Cuba, INISAV-MINAGRI. 12 p.
- Papavizas, G; Dunm, M; Jack, L. 1984. Liquid fermentation technology for experimental production of biocontrol fungi. Phytopathology 1171-1175.
- Rousoss, S. 1989. Obtención de biopreparados a partir de *Trichoderma harzianum*. Tesis. Francia. 160 p.
- Stefanova, M. 1995. Producción de metabolitos por cepas de *Trichoderma* spp. Informe de investigación. Cuba, INISAV. p. 6.
- Torres, LA; Wong, W; Miguel, A; Fernández, A; Amat, Z. 2001. Actividad antagonica de especies de *Bacillus* spp contra *Rizhoctonia solani* y *Sclerotium rolsfii*. Revista Fitosanidad Aceptado para publicación.

# AGRICULTURA ORGANICA



## Génesis, fundamentos y situación actual de la agricultura orgánica

Gabriela Soto<sup>1</sup>  
Reinhold Muschler<sup>1</sup>

### Raíces y fundamentos de la agricultura orgánica

La agricultura orgánica se fundamenta en una concepción integral del manejo de los recursos naturales por el hombre, donde se involucran elementos técnicos, sociales, económicos y agroecológicos. Más que la eliminación o sustitución de insumos sintéticos como fertilizantes o agroquímicos provenientes de la industria por insumos naturales, la producción orgánica busca reducir la dependencia de insumos externos, reducir o eliminar impactos ambientales, y proveer alimentos saludables a mercados altamente competitivos y exigentes (Amador 1999).

La agricultura orgánica moderna busca combinar prácticas ancestrales, como el uso de terrazas de los Incas para retener suelo, o una gran gama de plantas, animales, y microorganismos para mantener la fertilidad y supresividad de agroecosistemas, con tecnologías y conocimientos avanzados de las últimas décadas. Algunas prácticas comunes en la producción orgánica son el uso de maquinaria adecuada para un control de malezas eficaz, la selección natural de variedades resistentes a plagas, por ejemplo, variedades de vainilla resistentes a *Fusarium*, o el uso de microorganismos naturales para aumentar la fijación de nitrógeno en el suelo.

Los sistemas de producción orgánica, llamada "biológica" por los franceses e italianos y "ecológica" por los alemanes, se iniciaron como movimiento alternativo con mayor fuerza en los años 60 en Europa y Estados Unidos (Tate 1994). Sin embargo, sus orígenes son anteriores. Un impulsor fue el agrónomo y gobernador Sir Albert Howard (1889-1940) quien,

después de su llegada a la India, determinó que las limitaciones locales no permitieron adoptar el sistema productivo basado en las experiencias occidentales. Howard concluyó que fue esencial observar los procesos productivos de la naturaleza y aprender de ella las lecciones necesarias para favorecer la producción de alimentos. Su libro *Un Testamento Agrícola* (1940) recopila sus observaciones estableciendo conceptos fundamentales para la agricultura orgánica, tales como la protección del suelo; el uso de coberturas permanentes, la producción de compost utilizando el sistema Indore, mejor salud de la planta en suelos saludables, la importancia de la investigación en fincas, y el uso racional de recursos locales entre otras (Howard 1943). En 1943, Lady Eve Balfour (1899-1990) publicó su libro *The Living Soil* donde promueve la idea de que la salud del suelo y la salud del hombre son inseparables (Balfour 1976). Su trabajo llevó a formar la "Soil Association" en 1946 en Gran Bretaña, como un ente de investigación e información sobre prácticas orgánicas de manejo de fincas y suelos. Desde entonces esta asociación se ha convertido en un líder mundial en el establecimiento de normas y capacitación en agricultura orgánica.

Tanto las ideas de Howard como las de Balfour fueron promulgadas en Estados Unidos por Jerome I. Rodale, quien en 1942 publica su revista *Organic Farming and Gardening*, con un éxito rotundo llegando a vender más de 2 millones de copias en 1980. Gracias al éxito de esta revista, se funda el Instituto Rodale que hoy es reconocido internacionalmente por su investigación y capacitación en agricultura orgánica.

<sup>1</sup> Area de Agricultura Ecológica, CATIE, Costa Rica. muschler@catie.ac.cr

En Austria y Alemania, Rudolph Steiner (1861-1925) da las bases filosóficas para la agricultura biodinámica, promoviendo una agricultura que reconoce y utiliza las fuerzas energéticas de todos los seres vivos, y no se restringe a la visión materialista predominante de la *nueva agricultura científica* de la época. La agricultura biodinámica utiliza preparados de hierbas que permiten mejorar las características energéticas de los sistemas agrícolas y promueve fincas balanceadas combinando la producción vegetal con la de animales (Steiner 1924, Tate 1994). La Asociación Demeter promueve la agricultura biodinámica en el mundo desde 1924.

En Japón, Mokichi Okada (1882-1955) propuso el sistema de agricultura natural, considerando que la armonía y la prosperidad humana y de otros seres puede ser alcanzada preservando los ecosistemas, mediante el respeto por las leyes de la naturaleza y sobre todo respetando la vida en el suelo. La filosofía de agricultura natural ha sido difundida por la Fundación Internacional de Investigación en Agricultura Natural, la cual ha establecido estaciones experimentales alrededor de Japón (Nature Farming International Research Foundation 1992).

### **Principios básicos de la agricultura orgánica**

El conjunto de ideas de estos pioneros, incluyendo el interés creciente sobre los efectos de muchos plaguicidas sobre el ambiente y la salud humana a partir del libro seminal "*Primavera Silenciosa*" de Rachel Carson (Carson 1962), llevaron a conformar los Principios Básicos de la Agricultura Orgánica, establecidos por la Federación Mundial de Movimientos Orgánicos (IFOAM por sus siglas en inglés International Federation of Organic Agricultural Movements, [www.ifoam.org](http://www.ifoam.org)). (IFOAM 1996).

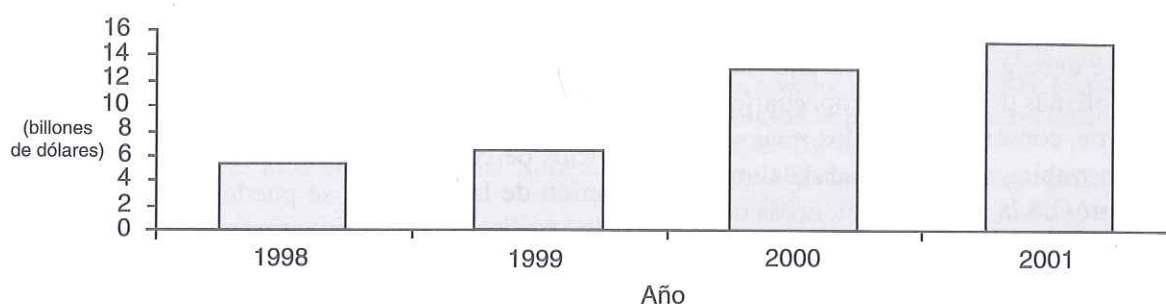
### **Principios básicos de la agricultura orgánica**

1. Producir alimentos en suficiente cantidad y de alta calidad alimenticia.
2. Interactuar con todos los sistemas naturales de forma constructiva y promotora de vida.
3. Promover y mejorar los ciclos biológicos en el sistema productivo de la finca, involucrando microorganismos, la flora y la fauna del suelo, animales y plantas.
4. Mantener y aumentar la fertilidad de los suelos en el largo plazo.

5. Promover el uso adecuado de las aguas, las fuentes de agua y las formas de vida en ella.
6. Promover la conservación del agua y del suelo.
7. Usar, en lo posible, fuentes de energía renovables para los sistemas productivos.
8. Trabajar, en lo posible, en sistemas productivos cerrados con respecto a la materia orgánica y nutrientes.
9. Trabajar, en lo posible, con materiales y sustancias reutilizables o reciclables en la finca o en otro lugar.
10. Criar los animales de una forma que permita un comportamiento similar al natural.
11. Minimizar o evitar todas las formas de contaminación resultantes de la actividad agrícola.
12. Mantener la diversidad genética de los sistemas agrícolas y sus alrededores, incluyendo la protección de las plantas y la vida silvestre.
13. Toda persona que trabaje o esté involucrada con la producción y procesamiento de alimentos orgánicos, debe tener una cualidad de vida que cubra sus necesidades básicas, obtener una remuneración económica y una satisfacción adecuada por su trabajo, incluyendo un lugar de trabajo seguro.
14. Considerar el impacto social y ecológico de las fincas.
15. Promover una cadena de producción completamente orgánica, socialmente justa y económicamente responsable.

### **Situación actual de la agricultura orgánica**

La agricultura orgánica es el sector agrícola de más rápido crecimiento en la última década en el mundo, alcanzando tasas de crecimiento promedio anuales de 23% en Estados Unidos en los últimos años (Fig. 1) (Economic Research Service, USDA 2001), y llegando hasta 45 % y 50% en el Reino Unido y Dinamarca. Entre 9 y 10% de la tierra en Austria y Suiza está certificada como orgánica. De los alimentos vendidos en Dinamarca, entre 2,5% y 3% son orgánicos (Cuadro 1) (Liu *et al.* 2001). El 33% de los consumidores en los Estados Unidos compran productos orgánicos, y el 42% de los detallistas de alimentos venden productos orgánicos. Según entrevistas realizadas por el Organic Trade Association (OTA 2001) la mayoría de los empresarios en el sector de alimentos en Estados Unidos consideran el mercado orgánico como un área valiosa de inversión.



**Figura 1.** Ventas de productos orgánicos en Estados Unidos de 1998 al 2001. Los datos para el 2000 y 2001 son estimados. Fuente: OTA (2001).

**Cuadro 1.** Valor y cuotas de los mercados orgánicos y superficie orgánica en producción en varios países en el 2000.

| País           | Ventas de productos orgánicos (millones de US \$*) | Ventas orgánicas, relativo al total de ventas de alimentos (%) | Superficie en producción orgánica por país (miles de ha) | Porcentaje del total de la superficie en producción |
|----------------|--|--|--|---|
| Reino Unido    | 986  | 1,0  | 473  | 2,5   |
| Alemania       | 2128   | 1,2 – 1,5  | 546  | 3,2   |
| Italia         | 978  | 1,0  | 1 040  | -   |
| Francia        | 846  | 1,0  | 371  | 1,3   |
| Países Bajos   | 210  | 1,2  | 28   | 1,4   |
| Bélgica        | 138  | 1,0  | 21   | 0,9   |
| Austria        | 195  | 1,8  | 272  | 10,0  |
| Suiza          | 457  | 2,0  | 95   | 9,0   |
| Dinamarca      | 372  | 2,5 – 3,0  | 165  | 6,2   |
| Suecia         | 175  | 0,9  | 139  | 5,1   |
| Estados Unidos | 8000   | 1,5  | 544  | 0,2   |
| Japón          | 350 (**)   |  | 1  | 0,02  |
| <b>TOTAL</b>   | <b>14835</b>                                       |  | <b>3695</b>  |   |

Fuente: Liu *et al.* (2001).

\* Basado en el tipo de cambio del 2000.

\*\* US\$ 2500 millones por productos etiquetados verdes.

Los beneficios sociales, ambientales y económicos de la agricultura orgánica han motivado su desarrollo también en América Central donde ha habido un incremento en el área de producción orgánica (Cuadro 2). Los principales cultivos para la exportación son café, ajonjolí, piña, cardamomo, y marañón. En Costa Rica, el 2% del área agrícola nacional está actualmente bajo producción orgánica (Felicja Echeverría, Programa Nacional de Agricultura Orgánica, MAG, *Com pers.* 2001). En otros países de América Central el área de producción orgánica es considerable, siendo la mayor en Guatemala, seguido de Nicaragua, Costa Rica, Panamá, y El Salvador (Cuadro 2). En Belice y Honduras hay menos superficie dedicada a la producción orgánica.

**Cuadro 2.** Área en producción orgánica en América Central.

| País         | Superficie de producción orgánica(*) (miles de ha) |
|--------------|--|
| Belice       | 1,8  |
| Costa Rica   | 6,5  |
| El Salvador  | 4,9  |
| Guatemala    | 14,7   |
| Honduras     | 1,8  |
| Nicaragua    | 7,0(**)  |
| Panamá       | 5,1  |
| <b>Total</b> | <b>41,8</b>  |

Fuente: Amador (2001).

\* Incluye áreas certificadas y en transición.

\*\* 50% es área en conversión.

## Estímulos para la producción orgánica

Según Lampkin (1994), el éxito de la agricultura orgánica en Europa se debe a que presenta una solución integral a los problemas del sector agropecuario: protección al ambiente, conservación de los recursos renovables y no renovables, mejor calidad de alimentos y direccionamiento de la producción a áreas de mayor demanda del mercado. Por esta razón, los gobiernos europeos desde finales de la década de los 80, establecieron incentivos para la producción orgánica (Lampkin 2000). Según Dabbert (2000), estos incentivos económicos y la respuesta de los consumidores, han sido los dos principales factores del éxito de la producción orgánica en Europa.

Otro factor clave para el desarrollo de la agricultura orgánica ha sido la exigencia de los consumidores, la cual se ha incrementado considerablemente en los últimos años a raíz de los problemas por residuos de plaguicidas en verduras y frutas, niveles excesivos de hormonas en la producción animal, la contaminación de productos lácteos por dioxinas, y, últimamente, la enfermedad conocida como "vacas locas" y el virus BSE que han sido las últimas gotas en un vaso que se rebasa. Como resultado, el consumidor exige cada día mayores garantías sobre la calidad y sanidad de los alimentos que consume.

## Control de calidad y certificación

Para garantizar la calidad de los productos exigida por los consumidores, se establecieron sistemas de certificación orgánica que son ampliamente regulados. Europa estableció en 1991 la ley N° 2092/91 para la regulación de la producción orgánica (Schmidt y Haccius 1998). Una legislación similar fue establecida en Estados Unidos en 1991. Sin embargo, su reglamento no fue publicado sino hasta febrero 2001 y entrará en vigencia en octubre del 2002. Otro esfuerzo internacional ha sido el desarrollo de la *Guía para la Producción, Procesado, Etiquetado y Comercialización de Alimentos Producidos Orgánicamente*, desarrollado por el Comité de Etiquetado de Alimentos del Codex Alimentarius que fue aceptado en 1999.

Muchos grupos de productores organizados conformaron en 1972 una Federación Internacional de Movimientos Orgánicos llamada IFOAM, con sede en Alemania. Esta Federación, afilia actualmente 750 organizaciones de 104 países. Una de las áreas prioritarias de IFOAM ha sido el establecimiento de normas de producción orgánica, adaptadas por muchas otras

agencias de certificación y gobiernos del mundo. Además, en IFOAM se creó en 1992 una oficina para la acreditación de agencias de certificación, el IOAS (International Organic Accreditation System). Esta gestión no solo garantiza una estandarización de los servicios de certificación, sino permite que, mediante la unión de las agencias, se pueda mantener el proceso de certificación en las manos de la sociedad civil organizada.

Como primer país en Centroamérica, en Costa Rica se estableció en 1995 la legislación sobre agricultura orgánica en la Ley Orgánica del Ambiente N° 7554 en 1995 y en la Ley de Protección Fitosanitaria N° 7664 en 1998 y su respectivo reglamento, modificado recientemente en el Reglamento de Agricultura Orgánica N° 29782-MAG, 2001.

## Retos y perspectivas para la producción orgánica

El período de asignar la agricultura orgánica a los románticos y los aventureros ha pasado. Hoy día, más y más agricultores, comercializadores y consumidores en todas las partes del mundo la consideran una opción económica y ambientalmente viable, y adecuada para la salud. Ahora ha llegado el momento para evaluar, validar y adaptar viejas y nuevas prácticas agrícolas con el rigor científico que permite orientar el desarrollo de este campo emergente hacia mayor eficiencia y productividad en sistemas modernos de producción. La conformación de ferias internacionales sobre productos orgánicos como la "Biofach" en Alemania con miles de compañías y asociaciones (Biofach 2001) y la organización de conferencias científicas internacionales sobre producción orgánica (IFOAM, World Congress 2000, cf. Alfoldi *et al.* 2000) ilustran claramente la dinámica en este campo. Para el diseño de sistemas sostenibles, sin duda, la utilización y adaptación de conceptos agroecológicos (Altieri 1999, Gliessman 1998) y mayores esfuerzos de mercadeo directo de productos cultivados y procesados bajo estrictos controles de calidad serán claves para el desarrollo de este sector.

La evolución del conocimiento agroecológico sobre la integración de técnicas modernas de control biológico, selección de plantas resistentes, producción bajo techo, uso de microorganismos benéficos, entre otras, debe estar complementada por la evolución de sistemas innovadores de certificación donde mecanismos de control interno y la combinación de criterios ecológicos, económicos y sociales tendrán roles centrales.



## Literatura citada

- Alfoldi, T; Lockeretz, W; Niggli, URS. Ed. 2000. International IFOAM Scientific Conference (13, 2000, Basel, Switzerland). Proceedings.
- Altieri, M. 1999. Agroecología. Bases científicas para una agricultura sustentable. Montevideo Editorial Nordan-Comunidad. 338 p.
- Amador, M. 1999. ONG y agricultura orgánica. Un punto de vista. Revista APORTES. Edición especial: Agricultura Orgánica, una forma diferente de hacer desarrollo. 121-122:20-23.
- Amador, M. 2001. La situación de la producción orgánica en Centro América. *In* Taller de Comercialización de Productos Orgánicos en Centro América. (2001, San José, Costa Rica). IICA.
- Balfour, EB. 1976. The living soil and the Haughley Experiment. New York, Universe Books.
- Biofach, 2001. Catalog. Alemania Nüremberg, Germany.
- Carson, R. 1962. Silent Spring. 25 ed. Boston, USA, Houghton Mifflin Company. 368 p.
- Dabbert, S. 2000. Organic Farming and the common agricultural policy: a European perspective. *In* International IFOAM Scientific Conference (13, 2000, Basel, Switzerland). Proceedings. Alfoldi, T; Lockeretz, W; Niggli, URS. Ed.
- Economic Research Service. U.S. Department of Agriculture. 2001. Research Emphasis: Harmony between agriculture and the environment: U.S. Organic Agriculture. ([www.ers.usda.gov/Emphases/Harmony/issues/organic/organic.html](http://www.ers.usda.gov/Emphases/Harmony/issues/organic/organic.html)).
- Gliessman, SR. 1998. Agroecology. Ecological Processes in Sustainable Agriculture. Ann Arbor, MI, USA, Sleeping Bear Press. 357 p.
- Howard, A. 1943. An Agricultural Testament. London, Oxford. University Press.
- IFOAM. 1996. Basic Standards for Organic Agriculture and Processing and Guideline for Coffee, Cocoa and Tea, Evaluation of Inputs. Copenhagen, Denmark. 44 p.
- Lampkin, NH. 1994. Organic farming: sustainable agriculture in practice. *In* Lampkin, NH; Padel, S. The economics of organic farming. An international Perspective. London, CABI. 468 p.
- Lampkin, N. 2000. Workshop: Organic Farming and Agricultural Policy. *In* International IFOAM Scientific Conference (13, 2000, Basel, Switzerland). Proceedings. Alfoldi, T; Lockeretz, W; Niggli, URS. Ed.
- Liu, P; Boto, I; Kortbeck-Olesen, R; Vrolijk, B; Pilkauskas, P. 2001. Los mercados mundiales de frutas y verduras orgánicas. FAO/Centro de Comercio Internacional/CTA. 334 p.
- Nature Farming International Research Foundation. 1992. Standards of nature farming systems and practices. 2 ed. Atami, Japan,
- Organic Trade Association. 2001. Consumers facts and market information. [www.ota.com/consumerfacts.htm](http://www.ota.com/consumerfacts.htm)
- Reglamento sobre Agricultura Orgánica. Decreto N° 29782. La Gaceta N° 179. Setiembre, 2001.
- Riddle, J; Ford, J. Ed. 2000. International Inspectors Manual. IFOAM/IOIA. 265 p.
- Schmidt, H; Haccius, M. 1998. EU Regulation on organic farming. A legal and Agro-Ecological Commentary on the UE's council Regulation (EEC) N°. 2092/91. Margraf Verlag. Alemania, 417 p.
- Steiner, R. 1924. Agriculture: a course of eight lectures. London, Rudolf Steiner Press/Bio Dynamic Agricultural Association.
- Tate, W. 1994. The development of the organic industry and market: an international perspective. *In* Lampkin, NH; Padel, S. The economics of organic farming. An international Perspective. CABI. 468 p.

# 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 podrían 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: [cicmip@catie.ac.cr](mailto:cicmip@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).

# 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

CATIE GTZ

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:

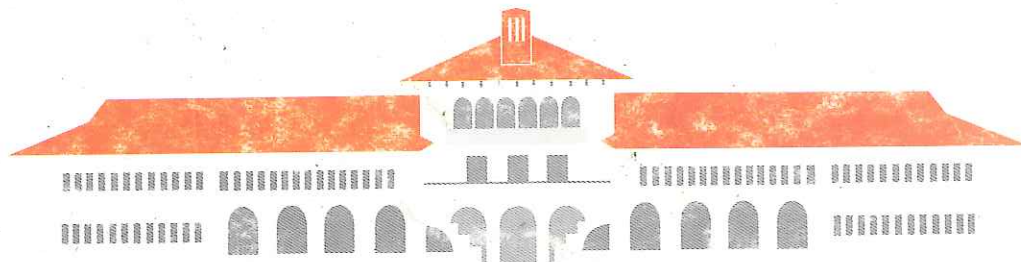
- Manejo de Desastres Naturales
- Manejo de Recursos Hídricos

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 http://www.catie.ac.cr