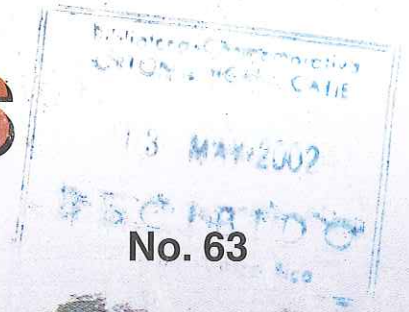


ISSN 1016-0469

# Manejo Integrado de Plagas

Marzo 2002

No. 63



**CATIE**  
Centro Agronómico Tropical  
de Investigación y Enseñanza

## Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza CATIE

El Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE) es un centro regional dedicado a la investigación y la enseñanza de posgrado en agricultura, manejo, conservación y uso sostenible de los recursos naturales. Sus miembros regulares son: el Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA), Belice, Bolivia, Colombia, Costa Rica, El Salvador, Guatemala, Honduras, México, Nicaragua, Panamá, República Dominicana y Venezuela. El presupuesto básico del CATIE se nutre de generosas aportaciones anuales de estos miembros, los cuales a su vez conforman su Consejo Superior.

### Director General

Pedro Ferreira Rossi

### Subdirector General

Markku Kanninen

### Programa de Educación para el Desarrollo y la Conservación

Al Moslemi

### Servicios Técnicos Regionales

Alan González

### Programa Proyección Regional y Planificación

Tania Ammour

### Administración y Finanzas

Eduardo Pícolo

# Manejo Integrado de Plagas

## 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**, Rocío Jiménez Salas

**Secretaria**, Yorlene Pérez

**Versión electrónica**, Guisselle Brenes

La producción y administración de esta revista se encuentra bajo el Área de Comunicación, en la Unidad Técnica de Apoyo.

### 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

7170 Turrialba, Costa Rica

Tel. (506) 558 2633/556 1632

Fax: (506) 556 6282/556 1533

EMail: lrodrigu@catie.ac.cr ó

cicmip@catie.ac.cr



**Portada:** El tomate (al fondo) es uno de los cultivos más severamente afectados por *Bemisia tabaci* en el continente americano. Dicha especie, al igual que muchos miembros de la familia Aleyrodidae, muestran gran plasticidad genética. Esta se manifiesta en diferentes biotipos, hábitos y morfología. Por ejemplo, hay gran diversidad morfológica, con valor adaptativo (p. 13-21), en las ninfas de *Tetraleurodes acaciae*, *Aleuroglandulus malangae* y *Aleuroplatus* sp., como se observa en los insertos. Fotos: **Plantación de tomate**, Luko Hilje, CATIE. **Ninfas**, Rafael Caballero, Universidad de Arizona, Tucson.

# Manejo Integrado de Plagas

No. 63

Marzo 2002

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



## CONTENIDO

### BIOGRAFIA

Ângelo Moreira Da Costa Lima .....	1-12
Geraldo Pereira De Arruda	

### FORO

Una reinterpretación sobre las moscas blancas .....	13-21
Dan Gerling	

### REVISION DE LITERATURA

Mecanismos de defensa en las interacciones planta-patógeno .....	22-32
Kenneth Madriz Ordeñana	

### INFORMES DE INVESTIGACION

Extracción de ADN de individuos de <i>Radopholus similis</i> .....	33-38
Manfred Murrell, Claudia Zúñiga, Alejandro Esquivel, Jorge Madriz	

Caracterización y utilización de un Nucleopoliedrovirus patógeno a <i>Spodoptera eridania</i> y <i>S. ochrea</i> Juana Luna Rodríguez, Juan Carlos Cabrera-La Rosa, Herbert Ernesto Pinedo, .....	39-45
Delia Pinto, Jean-Louis Zeddarn	

Disminución de la marchitez causada por <i>Fusarium</i> en tomate con extracto de <i>Citrus paradisi</i> ..	46-50
Dorian A. Rodríguez, José O. Montilla	

Efecto de temperatura sobre el crecimiento y la virulencia de <i>Metarhizium anisopliae</i> , <i>M. a. var. acridum</i> y <i>Beauveria bassiana</i> en <i>Schistocerca piceifrons piceifrons</i> .....	51-55
Angélica M. Berlanga-Padilla, Víctor M. Hernández-Velázquez	

Involucramiento de las mujeres en procesos participativos de manejo integrado de plagas en café en Nicaragua .....	56-63
Guadalupe Valenzuela, Kees Prins	

• Comparación de sistemas para la producción de plántulas de tomate frente al complejo moscas blancas-geminivirus .....	64-70
Mayte Piñón, Antonio Casanova	

<i>Trichinothrips strasseni</i> : nueva especie de trips asociada al cultivo de yuca en Costa Rica .....	71-72
Axel P. Retana-Salazar, Gerardo A. Soto-Rodríguez	

### EXPERIENCIAS DE MANEJO DE PLAGAS

Rehabilitación de plantaciones tradicionales de cacao en Ecuador .....	73-80
James Quiroz V, Freddy Amores	

### HOJA TECNICA

¿Cómo reactivar la virulencia de <i>Beauveria bassiana</i> para el control de la broca del café? .....	i-iv
Alex E. Bustillo P, Patricia Marín M.	

### SECCION INFORMATIVA

Tesis de Posgrado .....	81-83
-------------------------	-------

AGRI2000: Producto de SIDAL .....	83
-----------------------------------	----

Futuros eventos .....	84
-----------------------	----

Mosca Blanca al Día .....	86-87
---------------------------	-------

Plagas Forestales Neotropicales .....	88-89
---------------------------------------	-------

Agromedicina .....	90-94
--------------------	-------

#### Situación epidemiológica de las intoxicaciones agudas por plaguicidas

en el Istmo Centroamericano 1992-2000 Samuel Henao, María Patricia Arbelaez

Avances en el Fomento de Productos Fitosanitarios No-Sintéticos .....	95-103
---	--------

#### Producción, uso y control de calidad de hongos entomopatógenos en Nicaragua

Arnulfo Monzón

Agricultura Orgánica .....	104-108
----------------------------	---------

Caficultura orgánica como alternativa a la crisis Gerardo Marín, Gabriela Soto

## Manejo Integrado de 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), aporte de la USDA/FAS/ICD/RSED 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 África.  
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

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  
Correo electrónico: manfred@catie.ac.cr

### 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

### GUATEMALA

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

### HONDURAS

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

Calzada 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

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 revisión

### CATIE

Manuel Carballo  
Daniel Coto  
Eduardo Hidalgo  
Luko Hilje  
Galileo Rivas  
Vera Sánchez  
Joseph Saunders

### CATIE. Proyecto MIP/Nicaragua

Rosa Argentina Rugama

### Consultores Independientes

Elkin Bustamante

### CORBANA

Douglas Cubillo

### ESALQ. Universidad Sao Paulo (Brasil)

Sergio Batista Alves  
Elizabeth Ramos

### INIA/CENIAP

Yolanda Guevara

### Instituto Tecnológico de Costa Rica

Claudia Zúñiga

### Universidad de Costa Rica

Miguel Quesada

### Universidad de Zulia, Venezuela

Larry Lugo

### Universidad Nacional Autónoma, Nicaragua

Aldo Rojas

### Universidad Nacional de Costa Rica

Jorge Madriz



## Ângelo Moreira Da Costa Lima: Renomado entomologista, protótipo de homem bom

Geraldo Pereira De Arruda<sup>1</sup>

Nossa intenção ao escrever algo sobre a vida do renomado cientista, protótipo de homem bom, de uma afabilidade contagiante, simples e modesto, um exemplo de dignidade e saber, legando ao seu país uma obra extraordinária no campo da Entomologia, não foi outra, se não a de despertar nas novas gerações que se iniciam no estudo dos insetos, conhecer sua obra, seguir seu exemplo e mostrar para *urbi et orbi* que o Brasil teve um dois maiores entomologistas de todos os tempos.

No começo de sua vida, Pontes de Miranda imaginava que o importante era "ter". Verificou mais tarde que o importante não era "ter" mas "ser". Depois com o passar do tempo veio a idéia de que nem "ter" nem "ser" eram realmente vitais, e que o importante era o "poder". O tempo passou, e ele sentiu que o vital era "saber". Posteriormente chegou a conclusão que o "ter, o ser, o saber e o poder" não realizavam o sentido imaginado, o importante era o "fazer". O humilde gigante que foi o Prof. Costa Lima só se preocupava com o "fazer", porque só fica o que se faz.

Ângelo Moreira da Costa Lima nasceu em 29 de junho (dia de São Pedro) de 1887, num prédio situado na então Praça da Aclamação, hoje Praça da República no Rio de Janeiro, Brasil. Filho de Valeriano Moreira da Costa Lima e Rosa Delfina Brum de Lima.

Com o falecimento do pai em 1897, Ângelo passou abruptamente para miséria. Seu pai, apesar de ter sido gerente do Banco Rural e Hipotecário, ganhava o bastante para viverem folgados, mas nunca pensou no futuro da família, quando morreu, a mulher e três filhos tiveram que se separar para sobreviver. Dois filhos foram para casa de famílias amigas. Com 10 anos de idade, Ângelo, o caçula, ficou com sua mãe, mulher de mãos delicadas que para sobreviver e sustentar o filho foi trabalhar caseando botinas e costurando para fora, tendo inclusive que vender as jóias para pagar as dívidas deixadas pelo marido.

Em 1899, com 12 anos de idade, no quarto ano do curso de Bacharelado do Colégio Paula Freitas, começou a ganhar dinheiro ensinando leitura, escrita e contas a alunos avulsos.

Aos 17 anos em 1904, depois de ter completado o curso seriado no Colégio Paula Freitas, graças a pensão que seu padrinho dava para sua educação desde a morte de seu pai, Ângelo entrou para a Faculdade de Medicina. Aos 19 anos, descobriu o amor e se uniu a Alice (sua primeira esposa), com quem teve três filhos, Ângelo, Luiz e Nair. Cedo teve de trabalhar para sustentar a família, trabalhava à noite como conferente e revisor do jornal *Correio da Manhã*, ganhando 300 mil réis por mês, o que representava um bom ordenado para aquela época.

<sup>1</sup> Professor de Entomologia da Universidade Federal Rural de Pernambuco. Pesquisador da Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária - IPA. Brasil [arruda@ipa.br](mailto:arruda@ipa.br)

Em 1906, começou a escrever apostilas das aulas para os colegas, em 1907 publicou apostila de Anatomia e Fisiologia Patológica, em 1908 ele editou as apostilas de Médico-Cirúrgica, que eram vendidas aos colegas por preço acessível, e apesar dos calotes a venda das apostilas muito lhe ajudou.

No começo, houve tempo em que Ângelo catava níqueis para ir de bonde do local onde morava para a Praça da República, para assistir aula de morfologia de mosquito, como estudante de medicina se preparando para o concurso de auxiliar acadêmico do Serviço de Profilaxia da Febre Amarela, aberto por Osvaldo Cruz. Quando não tinha dinheiro ia mesmo a pé, parando na porta dos restaurantes baratos para sentir o cheiro da comida, somente para sentir. *Sim, passei fome muitas vezes.*

Ainda no ano de 1906, Osvaldo Cruz (o grande sanitarista brasileiro) abriu concurso para auxiliar acadêmico do Serviço de Profilaxia da Febre Amarela, onde se inscreveram mais de 100 acadêmicos para 17 vagas, no qual Ângelo foi classificado em primeiro lugar. Ele precisava desesperadamente daquele emprego, pois havia saído do jornal onde era revisor, e tinha além da mulher um filho para sustentar. Foi este o ponto de partida para que o maior entomologista do Brasil e um dos maiores do mundo começasse a olhar diferente para os insetos que, muitos anos depois iam ficar indissolavelmente ligados ao seu nome. Jamais mencionou qual foi o primeiro inseto a entrar na sua vida, mas com certeza, só pode ter sido o mosquito transmissor da febre amarela que para melhor estudá-los, Ângelo coletava os anofelinos na baixada fluminense no Rio de Janeiro.

O sonho do jovem Costa Lima era ser cirurgião, o que lhe desviou e marcou nova trilha na sua vida foi o eminente cientista Osvaldo Cruz, que tinha como grande qualidade a de saber formar equipe. Com a conclusão do concurso, reuniu o pessoal, solicitou ao secretário ler o resultado e disse: *Este menino fez prova de catedrático, não de estudante.*

Ângelo foi contratado com o salário de 200 mil réis por mês, que não chegava para as despesas com a família. Por essa razão ele produzia e vendia as apostilas para os alunos da Faculdade de Medicina.

No tempo da Faculdade, conta Luís seu filho, ele morava num quarto de pensão na Rua Machado Coelho. Na taquigrafia que criou para produzir suas apostilas, criou igualmente uma simbologia própria para a anatomia e fisiologia, até para os professores com seus cacoetes de expressão. Recebeu o apelido

(algunha) de “Libreto de opera” e “Rigoletto” porque vivia carregando os libretos. Possuía uma caligrafia fabulosa, desenhos muito bons e um pequeno mimeógrafo muito bom.

Um dia Ângelo foi avisado de que Osvaldo Cruz queria falar com ele. Dirigiu-se ao gabinete com medo, pensando que ia ser posto para fora, mas, em vez disso foi recebido como nunca esperava. Osvaldo Cruz apertou a mão do rapaz tímido, mandou entrar em seu gabinete, na Inspetoria Federal da Febre Amarela, e disse: *Não assisti a seus exames, mas recebi informações sobre eles. Se você continuar com esse entusiasmo pela Entomologia, ainda será um nome conhecido em todo Brasil*, fato que o fez se decidir pela Entomologia. A partir daquele dia, a vida do Professor Ângelo Moreira da Costa Lima foi registrada passo a passo nos arquivos das instituições científicas nacionais e estrangeiras, nos anais dos congressos, nas sociedades particulares, nas repartições públicas, e em qualquer lugar onde se estuda os insetos.

Em 21 de setembro de 1910, conclui o curso superior, colando grau de Doutor em Medicina. Vindo depois a pedir demissão do cargo de Auxiliar Acadêmico, do Serviço de Profilaxia da Febre Amarela, para fazer parte da Comissão organizada por Osvaldo Cruz, de combate à Febre Amarela no Estado brasileiro do Pará, como Inspetor Sanitário. Naquela ocasião, foi escolhido para dirigir o serviço de combate à doença nas cidades de Santarém e Óbidos. Nestas cidades teve a oportunidade de fazer uma série de observações sobre a biologia dos mosquitos, especialmente do *Aedes aegypti*.

De volta ao Rio de Janeiro em 1913, levava com ele a intenção de estudar para se candidatar ao concurso para a cadeira de Entomologia Agrícola e Hidrologia Aplicada da Escola Superior de Agricultura e Medicina Veterinária, mas desistiu ao tomar conhecimento de que um ex-companheiro da comissão era candidato ao mesmo concurso.

Foi nomeado em agosto de 1913, preparador extranumerário da cadeira de Anatomia Médico-Cirúrgica e Operações da Faculdade de Medicina do Rio de Janeiro, onde ocupou o cargo por pouco tempo sem remuneração.

Com a intervenção de Dr. Osvaldo, ele conseguiu o lugar de professor na Escola Agrícola da Bahia, e resolveu reiniciar os estudos de Entomologia Agrícola, preparando-se para o concurso a ser realizado no início do próximo ano, onde chegou a

fazer inscrição. Ao se aproximar a data do concurso, foi informado de que o mesmo seria adiado *sine die* por determinação do Ministro da Agricultura, que queria nomear interinamente um técnico para regência da nova cátedra.

Em 1914, assumiu a Cátedra de Entomologia da Escola Superior de Agricultura e Medicina Veterinária, sem concurso por não ter sido possível compor uma banca para examinar o homem considerado sumidade em conhecimentos de insetos, onde criou o estudo da Entomologia Agrícola no País. Logo depois, passou a exercer o magistério na Escola Nacional de Agronomia (ENA), onde ficou até ser eleito Professor Emérito da Universidade Rural do Brasil, aposentado por força da compulsória devido a ter completado 70 anos de idade em 29 de junho de 1957.

Na nova sede da Escola Superior de Agricultura e Medicina Veterinária, em Pinheiro no Estado do Rio de Janeiro, foram reiniciados os cursos onde o Professor ministrou a sua primeira aula de Entomologia no dia 3 de junho de 1916.

Em maio de 1916, o Prof. Costa Lima juntamente com um grupo de pesquisadores fundaram a Sociedade Brasileira de Ciências, hoje Academia Brasileira de Ciências.

O Prof. Costa Lima fez uma longa excursão em 1917 pelos Estados Nordestinos, viajando pelas zonas algodoeirais do litoral ao sertão, a fim de estudar a ocorrência e o comportamento da "lagarta rósea" (lagarta rosada do algodão).

De 1918 à 1920, dirigiu o Serviço de Combate à Lagarta Rósea do algodoeiro, onde teve oportunidade de percorrer o Nordeste e o Estado de São Paulo, locais de ocorrência da praga. Quando da sua passagem pelo Nordeste, ele mesmo contava do fato ocorrido, entrando sozinho pela Caatinga para coletar material entomológico para suas pesquisas. Alheio a tudo, de repente se viu cercado pelo grupo de Lampião, um famoso cangaceiro (bandido do sertão nordestino), não perdendo a calma identificou-se e manteve conversa amistosa com os cangaceiros, saindo numa boa.

No laboratório do Prof. Costa Lima, só se pensava em trabalho. Conversa de assunto que não fosse científico era logo interrompida e deixada para a mesa de almoço ou jantar.

*A luta entre o homem e os insetos começou muito antes da aurora da civilização, continuou sem cessar, até os tempos presentes e continuará, sem dúvida, enquanto a raça humana existir.*

O Instituto Osvaldo Cruz, de gloriosa história, centro científico respeitado e honrado em todas as partes do mundo, atualmente com 102 anos de fundação, nasceu da fusão do Instituto de Manguinhos e do Instituto Soroterápico Federal, repartição municipal fundada em 1900 pelo Barão de Pedro Afonso, médico e cirurgião de reputação firmada, introdutor da vacina jeneriana e do sôro antidifitérico no Brasil. Citar as pesquisas e os pesquisadores que trabalharam em Manguinhos é o mesmo que relatar a própria história da pesquisa biológica no Brasil. A vida do Prof. Costa Lima como pesquisador, deve ser compreendida e enquadrada dentro deste espírito admirável de Manguinhos. Trabalhou na sua sala modesta, com seu microscópio para melhor estudar os insetos, com dinamismo, respeito humano e honorabilidade. Os insetos eram guardados em coleções, identificados, ordenados e fichados. A coleção na sala Costa Lima tinha cinco mil e duzentas gavetas muito bem cuidadas. A formação científica do mestre da Entomologia brasileira foi adquirida na Escola de Manguinhos, criada pelo incentivador da ciência e da medicina experimental no Brasil, o Dr. Osvaldo Cruz, de quem recebeu grande influência na sua mocidade. Foi com Osvaldo Cruz que Costa Lima se iniciou no método experimental e adquiriu os fundamentos científicos que o norteou em toda sua vida. O culto da verdade, a paixão pela ciência e a precisão de seu trabalho experimental e didático, foram suas características principais.

O Instituto Biológico de Defesa Agrícola do Ministério da Agricultura criado em 1922, para onde o Prof. Costa Lima foi nomeado chefe da Seção de Vigilância Sanitária Vegetal, era uma nova instituição que pela primeira vez no Brasil, estabelecia as bases científicas para a defesa sanitária da nossa agricultura. A missão foi árdua, o ambiente era pouco esclarecido, especialmente em matéria científica. Costa Lima desempenhou com competência a função que fôra confiada, preparou a Seção para os trabalhos de preservação das lavouras contra as pragas, doenças exóticas e para estudar as medidas de controle das pragas existentes nas plantações. Mais tarde foi chamado pelo então Ministro Juarez Távora para organizar o Instituto de Biologia Vegetal, resultante da fusão do Jardim Botânico e do Instituto Biológico de Defesa Agrícola, foi quando, naquela oportunidade, deu uma bela lição sobre administração de estabelecimento científico.

Em 1923, Roquette Pinto via realizado seu sonho, com a fundação da Rádio Sociedade do Rio de Janeiro, onde Costa Lima durante alguns anos foi locutor gratuitamente.

O Prof. Costa Lima era um homem que sabia compreender todos, mesmo aqueles que nada sabiam. Era poliglota, procurava fazer tudo convergir para o seu mundo, o maravilhoso mundo dos insetos ao qual ele se dedicou como um sacerdote. Acreditava em tudo que se dissesse, muito inteligente mas infantil para muitas coisas e não acreditava que as pessoas pudessem falsear os fatos. Vivia só para estudar, não teve tempo de ser criança, nunca empinou papagaio (pipa), nunca andou de bicicleta e nem foi a um jogo de futebol. Fumava muito, tendo um dia que deixar o fumo por causa da saúde. Possuía uma memória prodigiosa, com incrível capacidade de trabalho. Mantinha correspondência com especialistas do mundo inteiro, jamais deixava de responder uma carta, fosse de quem fosse, profissional da Entomologia, estudante ou uma pessoa qualquer.

Dizia que nossa fauna de ovo a adulto é muito pouco estudada, as pessoas que gostam da natureza deveriam conhecer melhor as espécies por metros quadrados, há grupos completamente virgens com os quais nunca ninguém mexeu. Temos inúmeras florestas esperando com os ramos abertos pelos pesquisadores. Ele nunca se preocupou com a divisão da Ciência em pura e aplicada, mas vivia mais do que a exercia, com o entusiasmo dos que sabem e sentem que contribuem para o bem estar da humanidade. Viveu sempre como um ser puro sem couraça, preocupado com seus insetos. Era uma máquina de trabalho, sensívelíssimo diante de qualquer visita, usava macacão zuart (de mescla), no desenvolvimento das pesquisas chegava a dar trabalho para quinze pessoas ao mesmo tempo, esforçava-se sempre além de suas forças, é como se tivesse por lema *quem se poupa nunca atinge a plenitude*. Passou por todas as rudes provas a que é submetido um homem nos tempos atuais. E venceu a todas essas provas com o seu trabalho constante e fecundo.

Segundo o Prof. Costa Lima, o assombroso no mundo dos insetos é o grande número de representantes, cerca de um milhão de espécies, com capacidade de adaptação que vai dos pólos gelados e aos mais variados climas e circunstâncias, como podem estar em poços de petróleo ou nos lugares mais absurdos e inesperados, realizando proezas de adaptação tão miraculosas que abandonam até os

próprios olhos quando precisam enfrentar escuridão permanente, ganhando eficiências complementares, suprimindo deficiências circunstanciais.

Em tamanho também variam de forma surpreendente. Para que se tenha uma idéia aproximada da força de certos insetos, basta dizer que um ser humano altamente treinado terá comparativamente duas vezes e meia menos capacidade de dispendir energia. A energia do ser humano é curtíssima quando solicitada em alto grau, a do inseto pode se estender por horas. Há insetos que comem bananas, que podem agarrar e matar um rato ou uma cobra. Algumas espécies podem erguer 800 ou 900 vezes seu próprio peso. A pulga comum pode saltar mais de cem vezes seu próprio comprimento. Em eficácia biológica os insetos deixam o homem longe, seu aparelho respiratório, por exemplo, pode fornecer oxigênio centenas de vezes mais depressa que os nossos pulmões. O aparelho circulatório pode inverter sua marcha diante de um obstáculo eventual, é de estarrecer ao leigo. Existe espécie africana que põe 43.000 ovos por dia e numa estação do ano duas moscas comuns podem se multiplicar em  $19 \times 10^{19}$  de descendentes.

Os insetos representam 70% de todo reino animal, e eles são os principais concorrentes do homem no usufruto e domínio do planeta. Seu aparecimento data de 400 milhões de anos enquanto o homem é de 2 milhões de anos. Eles conviveram com os dinossauros.

Uma pergunta formulada ao Prof. Costa Lima: *Existem insetos úteis?* A resposta foi precisa, *em grande quantidade*. Passou a dissertar, há insetos que são aproveitados para fins ornamentais, haja visto as borboletas cujas asas são aplicadas em quadros, os élitros de certos besouros que encastouados em ouro são usados como jóias. Outros insetos são utilizados para fins industriais, como as cochonilhas que produzem a bela cor do carmim (melhor corante natural). As abelhas produzem mel, geléia real, cêra, polinizam as plantas e ainda seu veneno tem uso medicinal. As galhas ou cecídias que produzem tanino. Há insetos que são aproveitados para fins medicinais, tais como as cantáridas e outros coleopteros vesicantes. Até para alimento do homem servem certos insetos, como o costume de se comer no Norte e Nordeste do país, iças ou tanajuras assadas.

Os gafanhotos também são citados como comestíveis na África. No México, gafanhotos e percevejos das plantas são comercializados nos



mercados públicos como alimento. Certas lagartas são manjar delicioso para nossos indígenas. O bicho do coco babaçu também são petiscos.

O bicho da seda fia o fio com o qual se fabricam os mais belos tecidos. O Prof. Costa Lima descreve a origem da seda na lagarta, nas glândulas cericígenas, de ambos os lados do tubo digestivo das lagartas e por fora dele estão duas tripinhas enroladas e de aspecto brilhante. Estas duas tripinhas são glândulas produtoras da seda. É aí que se origina a seda. O diâmetro dessas tripinhas é muito desigual, o seu comprimento chega a ter 30 centímetros. Essa tripa tem três partes bem distintas: uma longa, de 20 cm, mais ou menos com 1 mm de diâmetro, a que se segue a parte média, a mais central que é o reservatório da seda e por fim uma parte anterior que é o tubo mais fino ligando a glândula ao aparelho fiador, a fieira, situada na cabeça do bicho. A parte média segrega um "cimento," "grês" ou "cericina", substância em estado semi líquido que por força de contração do corpo da lagarta, na época própria, sai pela fieira. Os dois fiosinhos segregados são reunidos na trompa da seda e saem soldados para a fieira que fica no lábio inferior da lagarta, aí estão outras duas glândulas, comparáveis às glândulas salivares do homem, chamadas glândulas de Filippi, cujo papel é lubrificar o canal da trompa de seda e de revestir o fio que sai, com uma espécie de verniz. Na época da sua origem na China, a seda tinha tanto valor, que seu preço era seu peso em ouro.

Há certos insetos que dão excelente adubo, é o caso dos acrideos (gafanhotos), que já foram aproveitados para tal fim depois de praguejarem em nuvens a América meridional.

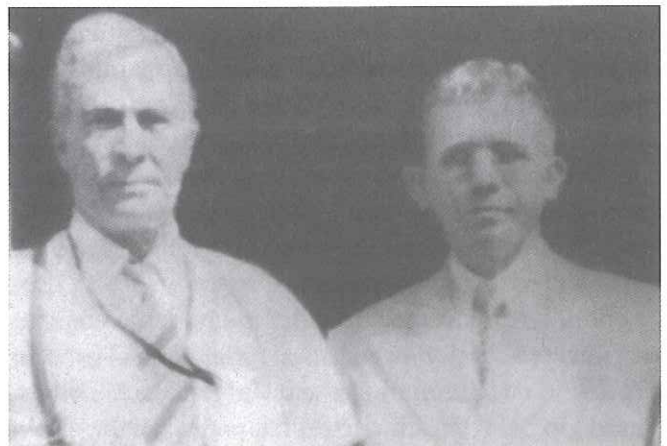
E, finalmente uma grande importância econômica a ser utilizada entre os insetos é o controle de pragas por meio de seus inimigos naturais, o controle biológico, que é feito usando-se uma espécie para controlar a população de outra espécie que constitui praga de plantas cultivadas. É campo vasto a ser estudado e pouco desenvolvido em nosso país. Muitos inimigos naturais das pragas são pequenos besouros conhecidos por joaninhas.

Era um hábito comum do professor sentar no chão para estudar, espalhava os volumes para consulta ao seu redor, vestido de macacão (roupa de operário), sendo muitas vezes confundido com pessoal de campo. Certa vez, usando macacão como de costume, foi falar com o Reitor, e ao chegar na secretaria disse ao chefe de gabinete que queria falar com o Reitor. O rapaz que lhe atendeu achou muito estranho, um

trabalhador de campo se dirigir ao Reitor. Ele insistiu e pediu que anunciasse seu nome. Tamanha foi a surpresa do jovem funcionário quando informou ao Reitor o fato e disse o nome da pessoa. O Reitor imediatamente levantou-se da cadeira e veio à porta para receber o ilustre Professor dizendo *meu mestre, a que devo a honra da visita?*

Ele era respeitado pelo mundo inteiro, portador de uma infinita capacidade de admiração que, às vezes, seu pudor de sentir além da medida aparente justa procurava esconder, como escondia a data de seu aniversário, por não julgar motivo de festa para ninguém. Foi ele quem identificou a broca do café, que tanto problema causou a cultura no Estado de São Paulo. Foi membro do Conselho Nacional de Pesquisa.

Sempre muito esforçado, lecionou inglês e latim para aluno particular e de curso preparatório. Fez tese de doutorado para muita gente (ainda estudante), que tirava distinção. Nunca se negou a ajudar quem lhe procurasse. Identificou insetos para muitos pesquisadores do Brasil e de fora do país. Foi assim que o Pesquisador do Instituto de Pesquisas Agrônomicas de Pernambuco, Mário Bezerra de Carvalho, conheceu o Prof. Costa Lima, mandando insetos de Pernambuco para serem identificados, o que despertou o interesse do mestre pelos insetos do Nordeste. Dos insetos remetidos para identificação uma espécie nova foi descrita com nome científico de *Margarodes carvalhoi* (em homenagem a Carvalho), um homóptero coletado em raiz de cana-de-açúcar por Bezerra de Carvalho em Pernambuco. Posteriormente Costa Lima ofereceu estágio a Mário, para melhorar seus conhecimentos em Entomologia, na Escola Nacional de Agronomia. Depois de algum



Dr. Costa Lima (esquerda) é o Prof. Mário Bezerra de Carvalho (direita).

tempo como estagiário, já tendo demonstrado seu interesse pelos insetos, Mário foi convidado pelo Professor para ser assistente interino na cadeira de Entomologia na ENA, passando então a fazer parte do estafe formado por nomes como, Aristóteles Godofredo de Araújo e Silva, Cincinnato Rory Gonçalves, Dário Monteiro Galvão e outros. Foi um sonho realizado pelo pesquisador pernambucano. Mas, não ficou só por aí, Mário pediu ao Professor permissão para lhe acompanhar em suas atividades de pesquisas no Instituto Manguinhos. O pleito foi concedido de bom grado, e lá ele teve oportunidade de conhecer renomados pesquisadores assim como Lauro Travassos, Hugo de Souza Lopes (especialista em dípteros) e muitos outros. Depois de algum tempo voltou para seu Estado de origem e prestou concurso para a Cátedra de Entomologia da Universidade Rural de Pernambuco, atualmente Universidade Federal Rural de Pernambuco, foi aprovado e passou a exercer a Cátedra.

Em 1967, o Prof. Mário Bezerra de Carvalho, publicou a primeira edição do *Glossário de Termos Técnicos de Entomologia*, onde fez uma singela homenagem ao seu mestre e amigo o Prof. Costa Lima, na primeira página do trabalho com foto e os seguintes dizeres: *além da homenagem que pretendemos ao emérito professor, uma outra intenção tivemos, qual seja, a de procurar despertar, com esse gesto, nas novas gerações, que se iniciam no campo da biologia e, particularmente, da entomologia, o interesse em procurar conhecer, outrossim, a biografia de um homem que servirá de estímulo àqueles que se sentem desencorajados a enfrentar os óbices, as canseiras da vida, para chegarem ao cimo da montanha, e atingir a meta colimada. Isto porque, o Professor Dr. Ângelo Moreira da Costa Lima, mundialmente conhecido, pela sua cultura, iniciou sua vida, ainda jovem, sofrendo as maiores privações, vencendo toda vicissitude, para chegar a diplomar-se em medicina e grajejar a fama de que era detentor, como eminente cientista.*

O Laboratório de Entomologia do Departamento de Biologia da Universidade Federal Rural de Pernambuco recebeu o nome de Laboratório de Entomologia Prof. Costa Lima.

Um fato marcante na vida do eminente cientista que lhe proporcionou muita alegria, conta Peracchi, professor de Entomologia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, foi quando ainda estava hospitalizado se recuperando de grave ataque cardíaco, foi informado que havia sido escolhido para

Patrono da turma de concluintes do Curso de Agronomia de 1961, o que agradeceu com uma carta onde tratava os concluintes por jovens e queridos amigos, de onde transcrevemos alguns parágrafos: *Sempre dizia aos meus amigos que desejaria morrer, dando uma aula, rodeado de meus alunos.*

*Entretanto, como é costume dizer-se, o homem põe e Deus dispõe. Não fui satisfeito nesse meu desejo. Concederam-me o título de Professor Emérito da Universidade, honra excelsa para um professor, porém, depois dessa homenagem, tive de me aposentar por septuagenário e não mais pude obter o que mais me atraía na Universidade: o contato permanente com os estudantes de todos os cursos. Ficou, assim, possibilitada apenas, a minha frequência regular ao Instituto Oswaldo Cruz, casa a que mais devo minha formação científica, hoje Departamento do Ministério da Saúde, onde iniciei meu Curriculum de funcionário público como Auxiliar Acadêmico do "Serviço de Prophylaxia da Febre Amarela" em março de 1907.*

*Como vêem, não podia imaginar que, agora, já há meses afastado do convívio universitário, surgisse uma turma de Agronomandos, muitos dos quais nem me conhecendo pessoalmente, fossem ver no velho Costa Lima a figura mais digna para ser seu Patrono na bela profissão que em inspirada ocasião escolheram.*

*A resolução de vocês, meus diletos amigos, que muito me sensibiliza e dignifica, evidencia e pureza e independência do espírito dos Agronomandos de 1961, que, como bem disse Aix, não se deixando afogar nas ondas de intenções dúbias e inconfessáveis escolheram quem se lhes afigura merecedor de sua gratidão.*

*A todos vocês, portanto, mais uma vez, muito obrigado pelo bem que me fizeram, tornando-me convicto de que o Brasil ainda continua a ter na mocidade acadêmica homens que seguramente o farão, em futuro próximo, bem maior e mais independente do que é hoje.*

*Com os votos de um porvir grandioso, pleno de venturas, abraça-os afetuosamente o seu Patrono e sincero amigo Costa Lima.*

Havia no Ministério da Agricultura, os chamados Cursos de Aperfeiçoamento e Especialização, burocracia imposta a Agrônomos e Veterinários para promoções em determinada letra. Estes Cursos foram uma rotina que apesar do nome pomposo se limitava a uma rápida revisão do currículo profissional. O professor reuniu um pequeno grupo de seus antigos alunos mais destacados e deu um curso realmente de especialização. O resultado foi a publicação de

valiosos trabalhos originais que demonstraram cabalmente a notável condição do mestre e a capacidade dos jovens profissionais. Na Cátedra da Escola de Agronomia reuniu uma valiosíssima coleção de insetos, principalmente de pragas e nela trabalhou com grande eficiência.

O professor Costa Lima vivia angustiado, desejoso de ver muitos seguirem sua rota. De certa forma sofria com o fato do individualismo indesejado, tão poucas as oportunidades, na época, de manter, a longo prazo, gente que pudesse ser devidamente peneirada e encaminhada, na proporção e na quantidade desejada, nas sendas da Entomologia.

Costa Lima foi um homem extraordinário. Se tivesse buscado o brilho fácil, teria todas as recompensas materiais a que seu valor humano fazia jus. Contentou-se na modéstia de Manguinhos e da Universidade Rural do Quilômetro 47, lutando, trabalhando e divulgando os resultados de suas pesquisas. Com tantas coisas para fazer, ele dava a impressão de que no dia seguinte, de corpo aquebrado, não teria condições de retornar às suas atividades. Entretanto, sempre no horário previsto assumia o batente com a disposição de um jovem que está começando. Ele jamais buscou nome, glória ou lucros. Seu vôo era o dos besouros e a sua sinfonia era a dos insetos. Cresceu gradualmente como pesquisador e professor, em importância e em influência.

Uma coisa que deixava muitos atônitos, era sua quase ingenuidade em relação a sua grandeza. Uma vez alguém lhe disse, que ele era na ocasião o maior entomologista do mundo.

- Não - protestou ele zangado-. *Tem fulano.*

- *Mas fulano já morreu* - argumenta.

- *Não importa. Tem beltrano.*

- *Também já morreu* - lhe recorda.

- *Mas, então, tem ainda o sicrano.*

- *Morreu no ano passado* - esclarece.

Ele faz um exame de consciência sumário e concorda a contra gosto.

- *Então só tem ele mesmo.*

Ângelo ficou fascinado pelo verso do poeta brasileiro Cassimiro de Abreu *Meus Oito Anos*, porque fala de borboleta e na infância sempre há uma borboleta.

*Livre filho das montanhas,  
Eu ia bem satisfeito,*

*Da camisa aberto o peito,  
-Pés descalços, braços nus -  
Correndo pelas campinas  
Á roda das cachoeiras,  
Atrás das asas ligeiras  
Das borboletas azuis.*

Luiz (seu filho) e Carlos Alberto (seu aluno), compreendiam como ninguém, o sonho de Cassimiro, sua lepidopterosidade, sua lepidopterosaudade. Também eles corriam atrás de borboletas azuis, na aurora da vida que os anos não trazem mais.

O professor mesmo arrumava o seu gabinete (assim contam as pessoas com quem convivia). Na porta da sua sala tinha pregado um modesto cartão com seu nome. Certa vez foi visto areando (limpando) a panela de banho-maria, com jeito de servente e vestido em seu macacão azul. Por ocasião de uma mudança, pediu ao motorista um balde com água. Este se fez de surdo. O professor, como era de costume, não se zangou. Encolheu os ombros e pensou: *you não quer ir, naturalmente, porque é doutor, então eu vou.* Muitas vezes, indo a biblioteca a procura de livros de inseto, achava o setor desarrumado, pedia ao Diretor a chave e permissão para no final de semana ir arrumar a seção de Entomologia da biblioteca. Aposentado, como Professor Emérito, ia na Universidade Rural, trabalhar nas suas pesquisas, aí centralizava livros, assistentes e a dedicação do servente Gilson, que dizia *o senhor nunca me deu um de seus livros*, Costa Lima respondia *é altamente especializado, meu filho. Você não precisa dele para nada. Quem precisa é fulano que é estudante, pesquisador.*

Segundo se conta, o professor era um ingênuo pornográfico. Os palavrões lhe brotavam como coisa de menino malcriado. Carlos Lacerda, desenhista e seu amigo, responsável pelas boas ilustrações dos seus trabalhos, um dia disse *vim para desenhar uns bichos e aprendi todos os palavrões do mundo.*

O acanhado laboratório em que durante toda vida trabalhou, comenta Olympio da Fonseca, local onde mal podiam se mexer ele e seus colaboradores, em pouco se constituiu em centro de estudos e de consulta para quantos desejavam iniciar-se sob a orientação do mestre na investigação entomológica, e também como lugar obrigatoriamente visitado por entomologistas de todo o Brasil e muitos estrangeiros. Frequentador assíduo dele era o grande entomólogo e biólogo de renome internacional, o franciscano, glória científica de

sua ordem, Frei Tomás Borgmeier, fundador da *Scripta Entomológica* e da *Revista Brasileira de Entomologia*, periódicos de reputação em todo mundo. De vez em quando recebia visita do monge Beneditino Dom Bento Pickel, professor de Entomologia da Escola Superior de Agricultura de Pernambuco.

Segundo Heitor Grillo, incentivador da obra gigante do Prof. Costa Lima *Insetos do Brasil: ele se caracterizava no ensino pelo método e erudição. Perfeito na exposição teórica e nas demonstrações práticas, procurou sempre esgotar o programa, abrangendo todos os aspectos da entomologia agrícola. Partindo da parte geral para a especial, racionalizou o ensino de sua cátedra, marcando, assim uma nova fase no ensino dessa matéria no Brasil.*

O interesse despertado por suas aulas entre os alunos foi sempre grande. E esse interesse não se limitava, apenas, as aulas teóricas e práticas. Estendia-se às excursões para coletas de insetos e organização de coleções que seriam, depois, incorporadas às Escolas. As suas lições serviam de base para formação dos atuais entomologistas e fitossanitaristas do Ministério da Agricultura e Secretaria de Agricultura dos Estados, que atuam nos serviços de defesa sanitária vegetal, como sentinelas de proteção à nossa agricultura.

Esse homem extraordinário permaneceu sempre simples e bondoso, modesto na sua vida e disposto a trabalhar até o último instante. Seu exemplo de tenacidade, de integridade, de austeridade, devia ser apontado a todos os estudantes de hoje e do futuro. Sua glória foi conquistada pelo trabalho constante, uma vocação realizada com todo o rigor, acima das atrações superficiais do mundo, das seduções fáceis de riqueza e dos postos públicos. Só essas glórias são autênticas e dignas. Os jovens devem refletir sobre isso.

Na época em que a Legislação Federal proibia a acumulação de cargos públicos efetivo, o Prof. Costa Lima foi obrigado a abrir mão de um de seus dois cargos, de Pesquisador ou Professor. Optou em largar o de Pesquisador, mesmo assim continuou trabalhando em Manguinhos sem receber vencimentos. Passou a ser o entomologista mais barato do Brasil, perdeu o emprego mais não deixou de trabalhar.

Em 12 de setembro de 1960, o Prof. Costa Lima, recebeu o título de Doutor Honoris Causa, pelo então Magnífico Reitor da Universidade de São Paulo, Prof. Ulhôa Cintra, em sessão solene no Salão Nobre da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, em

Piracicaba. A concessão do título aconteceu no Campus da USP da cidade de Piracicaba, por conta da aproximação que existia entre ele e os professores de Zoologia e Entomologia da ESALQ.

Para criar Escola, deu curso de especialização de onde nasceram nomes de projeção e real valor: Heitor Grillo, Álvaro Barcelos Fagundes (fundador do IPA, em Pernambuco), Antônio Guimarães, Jalmirez Gomes, Jerfferson F. Rangel, Aristóteles Silva, Cincinnato Rory Gonçalves (que lhe substituiu na Cátedra de Entomologia), Adriano Peracchi (Prof. e Reitor da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro) dentre outros. Gente do melhor gabarito, que havia vencido.

Costa Lima, que nunca soube o que era ter medo, um dia tremeu, ao assinar o livro de ouro da Real Sociedade Entomológica de Londres, livro só firmado por meia dúzia de vultos do maior gabarito, percebeu ali a assinatura da Rainha Vitória, fundadora da Sociedade. Conta seu filho Luiz.

Carlos Alberto Seabra, discípulo dileto de Costa Lima, comenta: *ele foi um homem único com extraordinário sentido de brasilidade. Era um brasilista, carregava o torrão natal. Nos congressos sua palavra pesava. Brasil falando. Brasil respeitado.*

*Certa noite, no Alto da Boa Vista no Rio de Janeiro, estávamos jantando com Costa Lima e meus familiares, quando reparei numa mosca e observei: olhe, essa mosca aí não é doméstica. Porque? indagou ele. Está batendo o par anterior de pernas diferente. Costa Lima levou-a à Manguinhos. Era realmente uma espécie nova. Ele descreveu e dedicou-me: Carlos Albertoi.*

Segundo Olímpio da Fonseca: *Em Costa Lima, os meios cultos do Brasil e os meios científicos do estrangeiro, em que seu nome era conhecido e respeitado, como o do maior entomologista do Brasil, se habituaram a ver somente o cientista que, em meio século de atividade, deixou uma obra monumental, testemunha dos vastos e aprofundados conhecimentos que possuía de sua extraordinária capacidade de trabalho. No apreço e na estima em que era tido o investigador e o cientista, o homem, a pessoa humana de Costa Lima foi um tanto esquecida por aqueles que, ao contrário de nós, os seus companheiros de Manguinhos, não tiveram a oportunidade de com ele conviver diuturnamente durante vários decênios. Estes puderam conhecer a outra face de uma das personalidades que mais honraram o nome do Brasil em sua época.*

Para mostrar até onde ia seu escrúpulo exagerado, basta dizer que, ao receber seus vencimentos depois de praticamente inválido e aposentado, bufava de revolta, quase ódio. *Estou sem fazer nada! Recebendo sem fazer nada!*

Calculem, um homem que tinha dado sua vida inteira ao bem comum, a seu povo, à humanidade, não se considerava no direito de usufruir, ao menos, nos seus direitos de idade, doença e aposentadoria. Achava pouco o muito que tinha feito.

Como entomologista, Costa Lima dominou o campo da sistemática dos insetos. O grupo dos coleópteros ocupou grande parte de suas atividades. Cerca de quarenta trabalhos foram publicados, especialmente sobre a família dos curculionídeos, onde adquiriu fama mundial. A ele se deve a exata determinação científica da broca do café, ocorrida em 1914 nos cafezais paulistas. A comissão científica organizada e composta dos ilustres cientistas, Artur Neiva e Navarro de Andrade, era integrada também por Costa Lima. A comissão chegou a conclusão de que se tratava de grave praga, que ameaçava a maior riqueza de São Paulo e do Brasil e aconselhou ao Governo a adoção imediata de medidas acauteladoras. Entre outras medidas, foi então criado o Instituto Biológico de São Paulo, que trazia a incumbência, dentre outras atribuições, a de estudar, em primeiro lugar a praga do cafeeiro e os meios para controlar.

Todos os entomologistas que trabalharam no Brasil tiveram substancial apoio do Prof. Costa Lima. Muitos deles foram seus alunos na Escola de Agronomia ou nos cursos do Instituto Oswaldo Cruz. Continuaram por muitas vezes por carta, ou pessoalmente, a lhe pedir auxílio para resolver seus problemas ligados a suas atividades profissionais de pragas das plantas cultivadas. A estas constantes solicitações ele fazia absoluta questão de atender.

O trabalho de Pedro Bloch sobre a vida de Costa Lima, publicado pelo Conselho Nacional de Pesquisas, em 1968, cita o que John Lane lhe havia contado: *que ao realizar um curso de Entomologia na Universidade de Cornell, onde havia vários estudantes de língua espanhola, os professores, com frequência, se referiam ao privilégio que tinham os alunos por poderem ler, com facilidade, a obra do Prof. Costa Lima. A qual estava escrita em português do Brasil.*

Quando, na Universidade Rural do Rio de Janeiro o aluno entrava no primeiro ano, aprendia logo a respeitar a figura do catedrático de Entomologia. Havia a lenda de que era a cadeira mais

difícil. É que o professor era metuculoso e exigente. Era mais vaidoso de sua obra do que dele mesmo.

Costa Lima se preocupava com seu físico. Praticava os exercícios do manual *Meu sistema* de Muller, todo santo dia por quarenta minutos. Tinha corpo de atleta, dando-se ao luxo de destacar qualquer músculo de seu corpo. Não perdia uma queda de braço. Se dispunha sempre a essa quase infantil demonstração, ele que era tão desprendido de vaidades em seus feitos científicos. Conta seu filho Luiz.

Os trabalhos desenvolvidos por Costa Lima de experiências sobre a respiração das larvas de mosquitos, quando da sua participação na comissão chefiada por Oswaldo Cruz, para extinção da febre amarela em Belém do Pará, foram interrompidos em 1913, e por serem considerados por ele próprio de grande importância, foram retomados no período de 1927 à 1961. Eram clássicos, e é nele que se baseia em grande parte o trabalho de combate às larvas. Os mosquitos lhe interessaram durante toda sua vida; sobre eles publicou 22 trabalhos. Publicou chaves para determinação das espécies de maruins e flebótomos. As pulgas também foram objeto de seus estudos, chegando a publicar um catálogo sobre elas.

De agosto de 1935 a julho de 1937, ele publicou na revista *O Campo*, artigos sobre 19 ordens de insetos, que revistos e ampliados, deram origem ao primeiro tomo dos insetos do Brasil. Dois artigos sobre hemípteros foram publicados ainda em 1937, o que fez o professor perceber a necessidade de produzir uma obra de grandes proporções. Foi esta a origem da grande obra escrita em 12 volumes com grande sacrifício e que lhe rendeu o prêmio Moinho Santista. O sacrifício foi sem dúvida pelos aborrecimentos que lhe custaram cada volume. Ele fazia questão que fossem publicados pela Escola de Agronomia, pelo orgulho que tinha em ser professor. Queria a impressão pelo Ministério da Agricultura e que os exemplares não fossem vendidos, porque ciência não é para se vender e sim para ser dada a quem dela queira fazer uso. Ficou muito constrangido quando soube que muitos volumes de sua obra eram vendidos no cebo (livros de segunda mão).

Contemplado com o Prêmio Moinho Santista, que recebeu em 1956, teve a oportunidade de viajar pelo exterior, indo à Europa e América do Norte, visitando e conhecendo pessoalmente seus amigos de outros países, muitos deles até então só conhecia por correspondência, e os Centros de Estudos Entomológicos.

Em carta ao filho Luiz comentou: *Caí na asneira de trazer de Lisboa, encomendado da Alemanha, um microscópio Zeiss, em duas pequenas caixas, que vieram no camarote. Comprei por cerca de cem contos. Na Alfândega aprenderam tudo, embora constasse de meu passaporte estar viajando em missão de estudos da Universidade Rural. O Inspetor da Alfândega acha que eu devo pagar oitenta contos.*

Na faixa dos trinta anos ficou diabético, e muito produziu até os setenta e cinco anos, tudo a custa de dieta que ele raramente quebrava, exercícios e insulina que ele mesmo aplicava. Tivesse onde tivesse, na hora certa injetava a agulha na barriga. Carregava no bolso agulha, seringa e tudo que precisava para não deixar de tomar o remédio na hora certa.

Perfil de Costa Lima segundo Heitor Grillo, citado por Pedro Bloch: *"Forte, cultivando mesmo o esporte para manter sua juventude de caráter sólido, reto e cristalino, e com grande firmeza moral e coerência nos atos. A pontualidade é um dos traços característicos de sua vida. Pontualíssimo em todos os seus deveres. Pontual nas aulas, no laboratório e na Biblioteca. Pontual nas respostas aos seus consulentes e colegas de ofício, que recorrem ao Mestre, pedindo esclarecimentos e informes sobre os problemas da Entomologia. À pontualidade no trabalho, junta-se o seu labor científico diário, que não cessa com o tempo. Ao contrário torna-se cada vez maior a sua atividade na investigação científica. Ao lado dessas características, Costa Lima apresenta aquela que, desde a sua mocidade, fez a sua grandeza: sua vocação para o ensino e a pesquisa. Completando o seu perfil, assinalamos o seu desprendimento pelas coisas materiais. Sua vida está cheia de atos que atestam constância nesse desprendimento."*

Como desprendimento, citaremos apenas um dos mais recentes: o Presidente do Conselho Nacional de Pesquisa, ofereceu-lhe todos os meios necessários para dedicar-se exclusivamente a investigação científica. Costa Lima só aceitou o mínimo necessário para seu trabalho e de seus auxiliares.

Na vida do Prof. Costa Lima, houve diversos períodos bem característicos.

O primeiro representado pelos seus estudos de medicina e sua vocação para a histologia.

O segundo se situa na Amazônia, que marca seu primeiro trabalho de entomologia.

O terceiro se passa no Laboratório de Entomologia do Ministério da Agricultura.

O quarto período se inicia na Cátedra de Entomologia Agrícola da antiga Escola Superior de Agricultura e Medicina Veterinária.

O quinto período se passa em Manguinhos, como pesquisador e se confunde com o período anterior.

O maior entomologista do Brasil e um dos maiores do mundo não tinha insetos em sua casa. Suas coleções para estudo estavam na Universidade Rural do Rio de Janeiro e parte no Instituto Oswaldo Cruz.

Dos três filhos da primeira esposa, teve seis netos, cinco meninos (*os cinco gafanhotos do Luiz*). Ana, foi a segunda esposa de sua vida, com quem terminou os seus dias.

Em 1956, Costa Lima foi contemplado, por consenso unânime do grande júri, com o Prêmio da Fundação Moinho Santista. Recompensa justíssima ao eminente cientista pátrio por sua dedicação integral ao estudo e a pesquisa dos nossos insetos.

A família Campos Seabra do Rio de Janeiro, instituiu na Academia Brasileira de Ciências o Prêmio Costa Lima, a ser distribuído de dois em dois anos e destinado a premiar pesquisador brasileiro, que pelos seus trabalhos, tenha contribuído de modo notável para o conhecimento da nossa entomofauna e para o progresso da Entomologia no país.

O primeiro Prêmio Costa Lima foi concedido ao ver Frei Tomás Borgmeier. A entrega foi realizada em seção solene na Academia no 18 de dezembro de 1962. O Prof. Lauro Travassos proferiu o discurso de saudação, do qual transcrevemos um pequeno trecho. *O verdadeiro homenageado desta noite é o Prof. Costa Lima, e a Academia honrando-o, honra a si mesma, pois o Prof. Costa Lima e isto talvez nem todos saibam é o único membro fundador sobrevivente daquela plêiade de cientistas brasileiros que em 1917, lançaram as bases desta Academia. Meus aplausos ao nosso consócio Dr. Carlos Alberto Seabra e ao nosso Presidente Dr. Artur Moses pela idéia feliz da instituição deste Prêmio que não somente será um estímulo para gerações futuras, mas antes de tudo faz justiça aos méritos do eminente Pesquisador brasileiro, cuja vida inteira foi dedicada ao estudo dos nossos insetos, principalmente dos que têm importância para a agricultura e para a medicina.*

O Prof. Costa Lima, tornou-se com o correr do tempo uma autoridade em Entomologia, contemplado com as maiores distinções que o mundo conferiu a um sábio de real valor, foi agraciado com a Grã-Cruz que o Brasil estabelece como excepcional prêmio ao verdadeiro mérito.

Ele, nos seus quase oitenta anos de vida (77), cerca de cinquenta dedicados ao ensino e a pesquisa, ele próprio relacionou 337 trabalhos, sem contar pequenas notas que posteriormente foram coligidas pacientemente pelo seu aluno e colaborador, que ele considerava como um filho, Dr. Carlos Alberto Seabra.

Além da sua monumental obra *Insetos do Brasil*, com 12 volumes, outros trabalhos de destaque foram os *Catálogos dos Insetos que Vivem nas Plantas do Brasil*, em três edições. A primeira publicada nos Arquivos da Escola Superior de Agricultura e Medicina Veterinária, respectivamente nos volumes 6 e 8 de 1922 e 1927. A segunda edição foi publicada na revista *O Campo* em 1930. A terceira edição publicada pela Escola Nacional de Agronomia (Ministério da Agricultura), em 1935. No prefácio ele comenta: *o presente trabalho é uma nova edição ampliada dos Catálogos publicados anteriormente. No atual Catálogo foram incluídos todos os insetos até maio de 1935 (inclusive), que vivem na fase adulta ou larval, em plantas do Brasil.*

Publicou em 1946, o catálogo das pulgas do mundo com o título: *Pulgas. Bibliografia, catálogo e animais por elas sugados*. Na série Monografias do Instituto Osvaldo Cruz N° 4, no prefácio ele comenta: *Sempre que tínhamos de determinar qualquer pulga, sentíamos a falta de um catálogo recente e atualizado que nos facilitasse essa tarefa rotineira. Daí tentarmos organizar um trabalho desse gênero relativo às pulgas da região neotropical.*

Na sua monumental obra *Insetos do Brasil*, ele próprio comenta: *se não tivesse o firme propósito de completar o livro e há muito teria desistido de o fazer, isto em parte pelas dificuldades que surgiam quase sempre no momento de se imprimir qualquer volume do trabalho. Cita sua gratidão ao professor Heitor Grillo.*

Os comentários prosseguem: *Tais, dificuldades (as da impressão dos volumes) tornaram-se, porém insuperáveis, a ponto de me parecer impossível a publicação do 11º tomo, finalmente conseguida pelos íngenes esforços do então Diretor da Escola, Prof. Carvalho de Araújo. Os originais do presente tomo escritos quando já me achava com a visão francamente arruinada, foram entregues ao Diretor da Escola de Agronomia em agosto de 1960.*

Quando já se encontrava com a visão francamente arruinada, foi visto que homem maravilhoso era, praticamente cego, continuava estudando e produzindo com lentes imensas.

Os seis primeiros tomos foram custeados exclusivamente pela verba de publicações da Universidade Rural do Rio de Janeiro. Os demais foram publicados com a valiosa ajuda do Conselho Nacional de Pesquisa.

Em 1962 ao publicar o 12º tomo de sua obra *Insetos do Brasil* (himenópteros, 2a. parte) inicia o prefácio dizendo: *Em dezembro de 1938, graças ao interesse do Prof. Heitor Grillo, então diretor da Escola Nacional de Agronomia (Universidade Rural), foi publicado o primeiro tomo desta obra, a ser distribuída gratuitamente àqueles que se iniciam no estudo da Entomologia.*

E prossegue mais adiante, *deveria publicar ainda 2 volumes sobre Hymenoptera e Strepsiptera e mais 4 sobre Diptera. Todavia, com 75 anos de idade e com o organismo em franca decadência, que poderia escrever realmente de interesse sobre tais grupos de insetos, mesmo sem contar com óbices análogos aos que se me apresentavam por ocasião da edição de um novo tomo? Devo, portanto, interromper o plano que pensava realizar, quando imaginei em dar aos estudiosos do Brasil um tratado resumido sobre todas as ordens de insetos.*

Ele finaliza justificando "non sum qualis eram".

A obra completa, os 12 tomos de *Insetos do Brasil*, foram publicados no período de 1938 a 1962 e considerada incompleta pelo grande autor. Com esta publicação, ele criou a Escola de Sistemática dos insetos para a América do Sul, com os grupos divididos e separados criteriosamente por caracteres bem definidos.

Os livros publicados pelo Prof. Costa Lima, não possuíam apenas valor didático. Ele aproveitava a oportunidade para divulgar trabalhos que deixara de publicar. Eram uma riqueza com uma infinidade de notas e observações de grande importância.

Nos 40 anos jubileu de magistério do Prof. Costa Lima, foi feita uma homenagem, onde o Dr. Heitor Grillo, incentivador da sua obra, pronunciou o discurso de onde transcrevemos o trecho: *Esta homenagem partiu dos moços, seus discípulos, que dão assim numa época de egoísmo e indiferença uma bela lição de civismo. A essa homenagem associou-se o mundo científico brasileiro, através das personalidades e entidades mais representativas, dentre as quais o Conselho Nacional de Pesquisa e o mundo agrônomo do país, pela Sociedade Brasileira de Agronomia, que foi em outros tempos consagrado Agrônomo *honoris causa*, pelos relevantes serviços prestados à agricultura nacional.*

O grande Entomologista brasileiro Ângelo Moreira da Costa Lima morreu a 20 de maio de 1964, no Hospital dos Servidores do Estado.

Última declaração de Ângelo Moreira da Costa Lima:

*Sou irmão da Venerável Ordem Terceira de São Francisco da Penitência (Ver o livro da Ordem nº 22 de Recepções, fls. 54 ou minha caderneta de irmão, guardada na gaveta superior da minha escrivaninha, presente do Dr. Waldemar Padrenosso).*

*Creio pois ter direito a enterro de última classe, no cemitério da Ordem, a ser efetuado pela mesma.*

*Não possuo bens de qualquer espécie, nem depósitos em bancos ou caixas econômicas, exceto a escrivaninha acima mencionada e pequena quantia (24 cruzeiros) guardados na Caixa Econômica do Rio de Janeiro.*

*O meu anel de Doutor em Medicina, presente de minha mãe, há muitos anos dele me desfiz, para solver compromisso.*

*Quanto a minha biblioteca: em dezembro de 1949, em cartório, assinei documento vendendo-a ao Dr. Carlos Alberto Campos Seabra, que deve ter em seu poder cópia dessa transação."*

Rio de Janeiro, 1 de setembro de 1961.

No final dos anos sessenta, a Empresa dos Correios do Brasil, prestou uma justa homenagem ao grande entomologista com um selo que tinha seu busto estampado.

*Um país que produziu um Costa Lima tem do que se orgulhar. A Entomologia espera por muitos jovens que queiram a ela dedicar-se com amor, seguindo tão fecundo exemplo.*

### Literatura consultada

- Bloch, P. 1968. Vida e obra de Ângelo Moreira da Costa Lima. Vulto da Ciência Brasileira. Rio de Janeiro, Conselho Nacional de Pesquisa. 129 p.
- Carvalho, MB de; Arruda, GP de. 1967. Glossário de termos técnicos de entomologia. Recife, Brasil, Instituto de Pesquisas Agronômicas de Pernambuco. Boletim Técnico nº 24. 87 p.
- Gallo, D; Nakano, O; Silveira Neto, S; Carvalho, RPL; Batista, GCde; Berti Filho, E; Parra, JRP; Zucchi, RA; Alves, SB. 1978. Manual de Entomologia Agrícola. Agronomica CERES. São Paulo. p.12
- Lima, A da C. 1938. Insetos do Brasil . 1º Tomo. Escola Nacional de Agronomia. Rio de Janeiro.

- Lima, A da C; Hathaway, CR. 1946. Pulgas. Bibliografia, catálogo e animais por elas sugados. Instituto Oswaldo Cruz. Monografia Nº 4 . Rio de Janeiro.
- Lima, A da C. 1962. Insetos do Brasil. 12 º Tomo. Escola Nacional de Agronomia. Rio de Janeiro. p.8
- Moreira, C. 1956. O maior entomologista do Brasil não tem insetos em casa (entrevista) Revista Manchete. Nº 229. Rio de Janeiro. p. 6-9.
- Studia Entomologica. Revista Internacional de Entomologia. 1963. "Prêmio Costa Lima". Vol. VI. Fasc. 1-4. Rio de Janeiro. p. 575-581.



## FORO

# Una reinterpretación sobre las moscas blancas<sup>1</sup>

Dan Gerling<sup>2</sup>

**RESUMEN.** Las moscas blancas (Homoptera: Aleyrodidae), y especialmente *Bemisia tabaci*, ameritan ser reinterpretadas, dada la gran cantidad de hallazgos recientes acerca de algunas características que incrementan su adaptabilidad. Ellas insertan sus huevos en el tejido foliar, tienen cuatro instares ninfales, casi todos sésiles, y adultos voladores. En la hoja, se enfrentan a competidores y enemigos naturales, pero hay ciertos rasgos que están relacionados con el aumento en su adaptabilidad, ya sea mejorando su habilidad competitiva o, sobre todo, protegiéndolas contra sus enemigos naturales. Entre éstos sobresalen la cera depositada por las hembras mientras ovipositan; la cera floclulenta y las espinas que adornan a las ninfas, y especialmente en las ninfas que se desarrollan en hojas pubescentes; y las exuvias de los primeros instares, las cuales pueden permanecer adheridas a las ninfas por un tiempo. Por ejemplo, para *B. tabaci* se documentó que sus relaciones con la planta hospedante difieren mucho de las de moscas minadoras y larvas de lepidópteros, y que su adaptabilidad no resulta afectada por las defensas de la planta que son inducidas por la alimentación previa de *B. tabaci* ni de dichas plagas. Asimismo, se ha documentado que las adaptaciones fisiológicas y etológicas de las moscas blancas a menudo están relacionadas con sus hábitos alimenticios y con el hecho de que muchas, y especialmente las especies policíclicas, necesitan cambiar de hospedante durante el año. *B. tabaci* puede cambiar de un estado fisiológico "reproductivo" a uno migratorio, variar su comportamiento de oviposición según la combinación de hospedantes que encuentre, y sus sistemas enzimáticos pueden adaptarse a los azúcares específicos presentes en cada especie vegetal de la cual se alimenta. Finalmente, *B. tabaci* puede auto-protegerse del efecto de la temperatura en ambientes muy calientes, permaneciendo en el envés de la hoja, sintetizando proteínas de choque térmico y aumentando los niveles de sorbitol en su hemolinfa. El análisis del surgimiento reciente de brotes poblacionales *B. tabaci* mediante nuevas herramientas moleculares, ha permitido determinar que existen numerosos biotipos de esta especie, los cuales difieren en sus características biológicas y su habilidad para transmitir virus. La aparición de estos biotipos probablemente está relacionada con sus altas poblaciones, sus amplios ámbitos de distribución y de hospedantes, varias presiones selectivas y las características fisiológicas de la especie. Los brotes poblacionales usualmente disminuyen un tiempo después de expresarse, pero la plaga continúa siendo una amenaza, por lo que debe manejarse mediante la combinación de la manipulación ambiental, el aumento de los enemigos naturales, y programas concebidos a nivel de región geográfica.

**Palabras clave:** Mosca blanca, *Bemisia tabaci*, *Encarsia*, *Eretmocerus*, Interacciones tritróficas.

**ABSTRACT. Whiteflies revisited.** Whiteflies warrant being "revisited" since recent extensive research, especially on *Bemisia tabaci*, produced new information on fitness enhancing characteristics. Whiteflies, (Aleyrodidae, Homoptera) insert their eggs in the leaf tissue; have four nymphal instars with scale-like stationary nymphs, and free flying adults. On the leaf, the whiteflies encounter competitors and enemies. The wax that the ovipositing whitefly mothers deposit, the flocculent wax or spines adorning the nymphs, especially those growing on pubescent leaves and the exuviae of early nymphal instar that may remain upon the later ones, were all shown to serve as fitness related functions by enhancing competitive ability or, more often, protecting against natural enemies. Fitness related whitefly-plant relationships were studied with *B. tabaci*, which differed from leafminers and lepidopterous larvae and remained unaffected by induced plant defenses that were activated through feeding either by *B. tabaci* itself or the abovementioned plant pests. Physiological and behavioral adaptations of whiteflies are often related to their feeding relationships and to the fact that many, especially the multivoltine whitefly species, need to move from one host plant species to another within each year. Studies have shown that *B. tabaci* can shift from a "reproductive" physiological cycle to a migratory one, that they may vary in their oviposition behavior according to the host plant combinations that they

<sup>1</sup> Traducción de "Whiteflies Revisited" presentado en el XXI Congreso Internacional de Entomología (2000, Brasil). Se agradece a la **Sociedade Entomológica do Brasil** y a **Embrapa Soja** por autorizar la publicación en español del artículo.

<sup>2</sup> Department of Zoology, Tel Aviv Univ., Ramat Aviv 69978 **Israel**. DANGR@post.tau.ac.il

encounter, and that their enzymatic systems can adapt to the specific plant sugars that they encounter in the different plant species. Finally, studies with *B. tabaci* physiology have shown that it can protect itself from heat damage in extreme environments by residing under the leaf, employing heat-shock proteins and raising the levels of sorbitol in their blood by 15-27 fold under increased temperatures. Examinations of the recent outbreaks of *B. tabaci* employing new molecular tools that became available, resulted in taxonomic findings that showed this pest to contain numerous biotypes, each differing in biological and virus transmitting characteristics. The appearance of these biotypes was probably related to the very large populations that developed, their vast ranges and host plant varieties, to various selective pressures and to the physiological characteristics of the species. The severe outbreaks usually subside a while after their initiation but the pests remain serious and must be dealt with by a combination of environmental manipulations, natural enemy enhancement and area-wide control programs.

**Key words:** Whiteflies, *Bemisia tabaci*, *Encarsia*, *Eretmocerus*, Tritrophic interactions.

## Introducción

Continuamente se hacen adelantos científicos. Cada científico sabe esto y le gusta reinterpretar los nuevos hallazgos, para compartir el entusiasmo con sus colegas. Pero, ¿por qué se ha seleccionado a las moscas blancas como un grupo de insectos para hacer estas reinterpretaciones? La incesante carrera para incrementar la adaptabilidad, que es la habilidad de lograr una descendencia más viable y reproductivamente eficiente con respecto a las de otros individuos o poblaciones (Price 1996), ha causado el surgimiento de formas de vida nuevas y mejor adaptadas. Una vez determinado esto, es muy importante aprender de qué manera éstas pueden persistir y cómo sus características contribuyen a una mayor adaptabilidad.

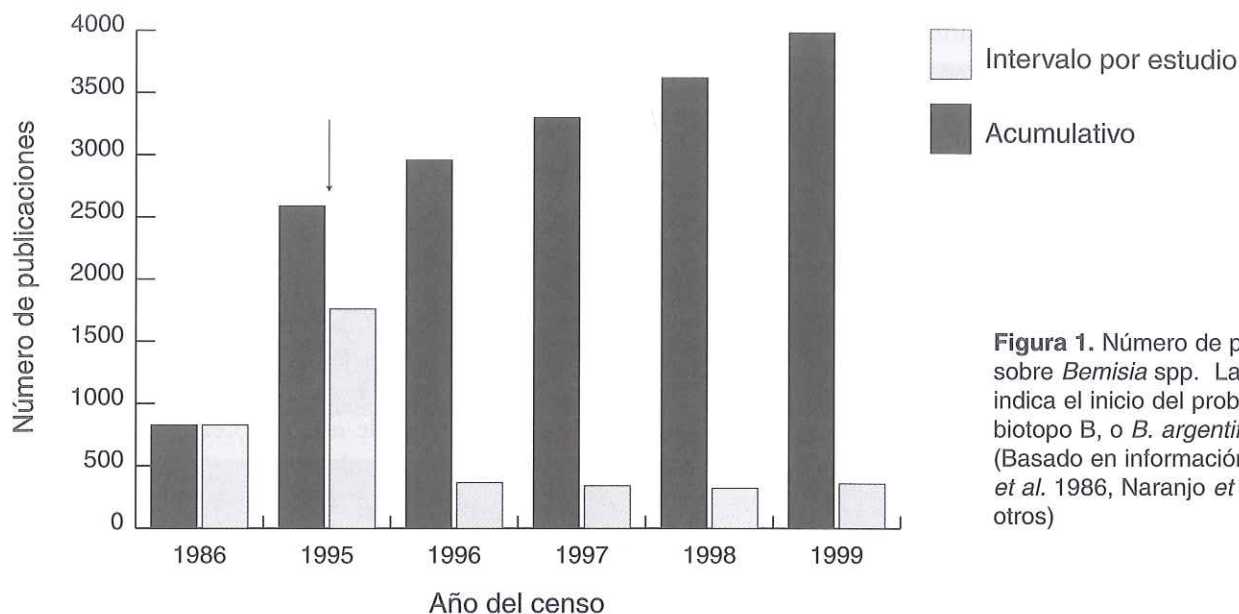
Las moscas blancas (Homoptera: Aleyrodidae), se conocen y se han estudiado durante más de 250 años. La investigación realizada hasta hoy refleja cambios no solamente en su estatus económico, sino también valiosos adelantos en aspectos biológicos teóricos y en metodologías científicas. Durante los últimos 100 años, dos especies de moscas blancas, la de invernaderos (*Trialeurodes vaporariorum*) y la del tabaco o el camote (*Bemisia tabaci*) parecían diferir de otras especies de importancia económica, desafiando los esfuerzos en el control biológico clásico, y se han convertido en plagas de gran importancia económica en el plano mundial. Durante los últimos 15 años, *B. tabaci* ha causado daños por US\$ 500 millones o más anualmente (Perring *et al.* 1993). Concomitantemente, se han descubierto razas o biotipos de *B. tabaci*, de los cuales el más prominente (denominado **B**, e incluso se ha descrito como una nueva especie, *B. argentifolii*) ha mostrado mayor adaptabilidad que el biotipo anteriormente conocido, y hasta lo ha desplazado de regiones extensas.

El aumento de la capacidad de adaptabilidad del biotipo B y su mayor importancia económica, ha estado acompañada por un aumento en el número de publicaciones, de aproximadamente 830 a 3150 publicaciones, desde la descripción de *B. tabaci* por Gennadius en 1889 hasta 1985-1998 (Fig. 1). Así, nuestro acervo de información, que antes se restringía a la taxonomía y el comportamiento de las moscas blancas, se ha ampliado mucho con estudios sobre el combate, relaciones insecto-planta, fisiología, biología molecular, enemigos naturales e interacciones tritróficas. Por consiguiente, la información biológica y fisiológica sobre moscas blancas recientemente revelada amerita una reinterpretación de este grupo de insectos.

Tanto Gerling (1990) como Byrne y Bellows (1991) revisaron muchos de los hallazgos sobre moscas blancas en general, mientras que Gerling y Mayer (1996), y Henneberry *et al.* (1998), analizaron la información sobre *Bemisia*. Sobre esta base, presentaré aquí solamente algunos resultados de investigaciones recientes que contribuyen a nuestra comprensión de estrategias que promueven la adaptabilidad: las relaciones de las moscas blancas con sus competidores y enemigos naturales, su fisiología en relación con el ambiente, y el surgimiento de *Bemisia* como una plaga de gran importancia.

## Relaciones tritróficas

Los adultos de las moscas blancas son alados y de vuelo libre. La hembra inserta los huevos en el tejido foliar mediante un pedicelo. El primer instar (ninfa "gateadora") se establece cerca del sitio de oviposición, tras localizar un lugar adecuado para insertar su estilete (aparato bucal) y alcanzar los tejidos floemáticos, para alimentarse. Los tres instares ninfales subsiguientes permanecen en ese mismo sitio, y reinsertan su es-



**Figura 1.** Número de publicaciones sobre *Bemisia* spp. La flecha indica el inicio del problema con el biotopo B, o *B. argentifolii*. (Basado en información de Cock *et al.* 1986, Naranjo *et al.* 1995 y otros)

tilite después de cada muda. El último instar (IV) se transforma en una "pupa" y se transforma en un adulto alado, el cual emerge a través de una incisión en el dorso del exosqueleto de la "pupa".

Las moscas blancas tienen reproducción arrenotóxica, es decir, los huevos sin fertilizar dan origen a machos. La proporción de sexos comúnmente es cercana a 1, pero a veces se sesga hacia uno de los sexos. La dispersión ocurre mediante el vuelo de los adultos, los cuales aterrizan en nuevas plantas hospedantes, pero debido a su tamaño tan pequeño, dependen de corrientes de aire para desplazarse. Aunque es frecuente que vuelen en distancias cortas, se han encontrado adultos previamente marcados hasta a 7 km de su punto de origen (Byrne 1999).

Las hojas sobre las que viven las ninfas son también un sustrato para otros insectos herbívoros que compiten con ellas, así como un área frecuentada por sus enemigos naturales (depredadores y parasitoides). Además, al alimentarse, sustraen nutrimentos de la planta e inducen reacciones bioquímicas que son únicas en plantas afectadas (Inbar *et al.* 1999a, b). Es interesante analizar si las ninfas se defienden, y cómo lo hacen, contra los enemigos naturales y sus competidores, dado que los únicos estadios móviles son los adultos y las ninfas "gateadoras".

El territorialismo interespecífico en las moscas blancas podría operar en forma directa, ya sea morfológica y/o fisiológicamente, o indirecta, a través de la planta. Algunos rasgos morfológicos con posible función territorial incluyen la secreción de una cera pulverulenta que recubre a los adultos (la cual, a menu-

do, también recubre el entorno de la hoja donde viven y ovipositan) y las espinas cerosas y/o protuberancias en las ninfas. La cantidad de dicha secreción, así como la cantidad o el tamaño de estas estructuras, puede variar entre las diferentes especies y condiciones ambientales. Además, las ninfas pueden ser transparentes, o blancas, pardas o negras.

Estos rasgos implican una inversión considerable en estructuras extra-corporales (Fig. 2), cuya relación costo-beneficio debería evaluarse en relación directa con los tres niveles tróficos (planta-insecto-enemigos naturales). Aunque se han realizado pocos estudios al respecto, ellos muestran una tendencia coherente en estos aspectos de la morfología funcional de las moscas blancas (Guershon 1997).

Por ejemplo, la hembra de *Siphoninus phillyreae* al ovipositar hace un círculo de cera, típico. Cuando esta especie se desarrolla sobre *Crataegus aronia*, dicha cera evita que la chinche *Stephanitis pyri* (Tingidae), que también se alimenta del follaje, se acerque al área donde se desarrolla *S. phillyreae*. Asimismo, Guershon y Gerling (1994) documentaron experimentalmente a defensa directa de algunas moscas blancas contra sus enemigos naturales. Las exuvias (pieles viejas) de las ninfas de *Aleyrodes singularis* que se desarrollan sobre *Lactuca serriola* permanecen amontonadas sobre los grupos de ninfas; además, tras ovipositar, la madre acompaña a su prole y frecuentemente lanza cera pulverulenta, proveniente de sus alas, para formar una capa cerosa permanente que evita que las hembras de parasitoides (excepto las de *Encarsia inaron*) caminen o monten sobre las ninfas.

Mediante experimentos de exclusión, en el campo, se demostró que la eficacia de *E. inaron* como parasitoides disminuye cuando hay una capa de cera protectora. El caso de *A. singularis* es de interés particular, ya que denota la existencia de cuidado materno, lo cual además es respaldado por el hecho de que la hembra ataca físicamente a los parasitoides y depredadores que visitan el área donde se congrega la prole.

Desde hace mucho tiempo se conoce la existencia de protuberancias espinosas, en cantidades variables, en ninfas de moscas blancas (Mound 1963). Guershon (1997) simuló la presencia de pubescencia en hojas glabras, para demostrar en forma experimental que las ninfas muestran variabilidad individual en su tendencia a tornarse espinosas (o lisas); además, demostró que las ninfas desarrolladas sobre hojas pubescentes poseían más espinas que las ubicadas en hojas más lisas, y que las ninfas sin espinas aparecían en las hojas glabras. El valor adaptativo de este rasgo para las moscas blancas se puede explicar en función del comportamiento alimenticio del depredador *Delphastus catalinae* (Coccinellidae). Sus adultos prefieren atacar las ninfas lisas que ninfas con espinas, en hojas pubescentes, y esta característica puede ser reforzada mediante aprendizaje asociativo, lo cual significa que los depredadores sometidos a más experiencias, hacen esto con mayor frecuencia.

Además de las espinas dorsales, muchas especies de moscas blancas secretan cera en los márgenes de sus cuerpos, o tienen filamentos cerosos sobre todo o una parte de su cuerpo. Estos "adornos" cerosos, que pueden ser muy intrincados, crean una especie de laberinto sobre y alrededor de sus cuerpos. Por ejemplo, en *Aleurodicus dispersus* y *Lecanoides floccissimus* la cera cubre grandes secciones de la hoja, e incluso impide el movimiento de sus parasitoides: De hecho, *Encarsia hispida* ataca exitosamente a *A. dispersus*, cuya ninfa nunca está completamente rodeada de cera, pero es incapaz de acercarse y parasitar a *L. floccissimus*, cuya ninfa está totalmente rodeada de cera (E. Hernández-Suárez, com. pers.). Puesto que *Eretmocerus* spp. deben alcanzar con su ovipositor los márgenes de la ninfa hospedante para insertar sus huevos, es tentador especular acerca del valor adaptativo (defensivos) de poseer un margen corporal extendido, gracias a la cera. Lamentablemente, no hay evidencias experimentales para apoyar o refutar ésta u otras hipótesis. Pero tampoco se ha sugerido una explicación sobre por qué en muchas especies las protuberancias muy sofisticadas aparecen solamente en la fase de pupa,

mientras que las ninfas jóvenes, que normalmente son las más sujetas al ataque de parasitoides, tienen pocos o ningún adorno. En síntesis, hoy se sabe poco y apenas se está empezando a entender la importancia de invertir en ceras y modificaciones estructurales, así como su relación con la adaptabilidad, en las especies de moscas blancas.

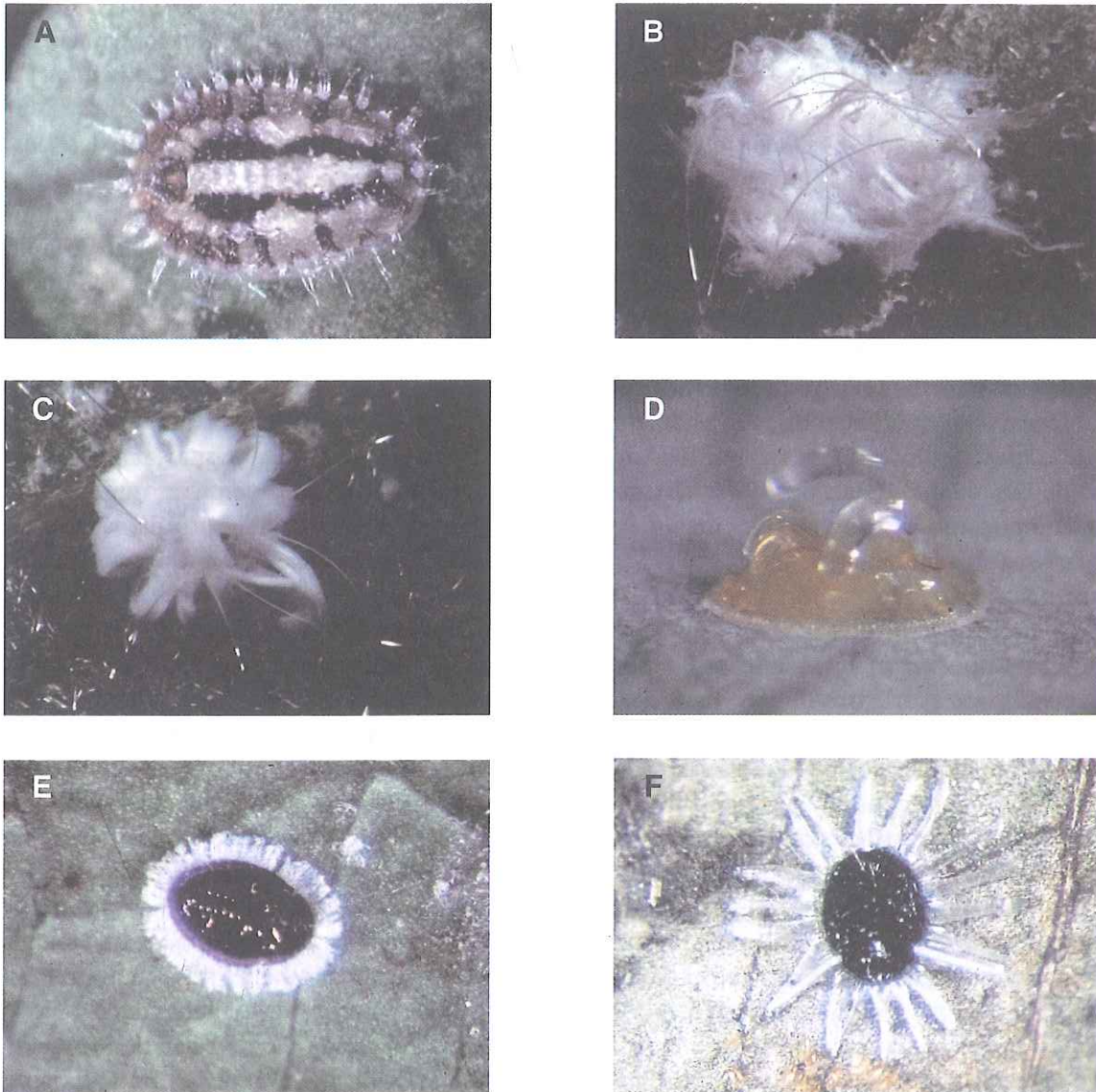
Por otra parte, se ha demostrado que las interacciones insecto-planta son inductoras de proteínas supuestamente protectoras de las plantas, tales como quitinasas, peroxidasas y lisozimas. La magnitud de la inducción de cada una de estas proteínas varía entre especies de insectos y de plantas.

Por ejemplo, Inbar *et al.* (1999a) documentaron que la alimentación del adulto, la oviposición y la supervivencia de la larva de la mosca minadora *Liriomyza trifolii* se redujeron en 26,5; 47,7 y 30,7%, respectivamente, cuando ésta se alimentó de plantas infestadas por *B. tabaci*. Por el contrario, *B. tabaci* no resultó afectada por cambios en plantas atacadas por ella misma ni por *Helicoverpa zea* o *L. trifolii*. Además, Inbar *et al.* (1999b), al comparar la alimentación del gusano medidor *Trichoplusia ni* en hojas de col rizada no infestadas e infestadas con ninfas de *B. tabaci*, detectaron una reducción de 20,8 y 18% en el desarrollo de la larva y en su tasa de relativa de crecimiento, respectivamente, en las hojas infestadas con *B. tabaci*; también hallaron más larvas jóvenes en el haz que en el envés de la hoja, que es donde viven las ninfas de *B. tabaci*. Finalmente, la supervivencia de las larvas de *T. ni* en el campo, hasta el empupamiento, fue de apenas 4% en las que se alimentaron en hojas infestadas, en contraste con 18% en plantas sin *B. tabaci*.

Estos resultados sugieren que, al alimentarse, *B. tabaci* evita el contacto con las sustancias defensivas inducidos en la planta. No obstante, puesto que *B. tabaci* induce la formación de productos adversos para sus competidores, su inmunidad a éstos podría interpretarse como un mecanismo que le confiere una ventaja competitiva en la utilización de recursos alimenticios, lo cual posiblemente aumenta su adaptabilidad.

### **Fisiología y comportamiento de las moscas blancas**

Los estudios sobre *B. tabaci* y otras especies de moscas blancas que se alimentan de cultivos anuales, se han concentrado en las características que les facultan para sobrevivir y multiplicarse en ambientes inestables. En éstos, las principales limitantes son los cambios constantes en la calidad nutritiva de las plantas, lo cual impone la necesidad de desplazarse desde plantas



**Figura 2.** Ejemplos de la gran variedad de rasgos morfológicos presentes en varias especies de Aleyrodidae, todas presentes en Mesoamérica: *Ceraleurodicus altissimus* (A), *Lecanoideus giganteus* (B), *Aleurodicus dispersus* (C), *Aleuroglandulus malangae* (D), *Tetraleurodes acaciae* (E) y *Aleuroplatus* sp. (F). Fotografías cortesía de Rafael Caballero (Universidad de Arizona, Tucson).

senescentes de una especie hacia plantas vigorosas de otras especies, varias veces durante el año, así como la presión selectiva generada por las prácticas agronómicas empleadas en los cultivos. El gran aumento, tanto en las poblaciones como en los ámbitos de distribución de las moscas blancas, lo cual atestigua exitosa adaptabilidad, ha estimulado la realización de estudios enfocados en aclarar algunos de los mecanismos fisiológicos y etológicos subyacentes en la biología de las moscas blancas.

Los cambios fisiológicos que ocurren durante el desarrollo de las moscas blancas, y que son perceptibles tanto morfométricamente (Byrne y Houck 1990) como en la provisión de huevos y los niveles de vitelogeninos (Isaacs y Byrne 1998), indican que las moscas blancas pueden detectar ("leer") el empobrecimiento en la calidad nutritiva de la planta hospedante y elegir una ruta metabólica diferente, durante el desarrollo de sus estadios inmaduros. Presumiblemente, aquellos adultos que emergen con alas de mayores dimensio-

nes, menos propensos a producir huevos y menor provisión de éstos, serán mejores migrantes y tendrán con mayor oportunidad de seleccionar un hospedante adecuado sobre el cual establecerse y originar más generaciones.

La selección de la planta hospedante también es un dilema intrigante. Bernays (1999a) argumentó que los insectos polípagos, como *B. tabaci*, enfrentan dificultades en la escogencia de plantas hospedantes debido a limitaciones intrínsecas en sus sistemas sensorial y nervioso. Tales dificultades se expresan como cambios en el comportamiento de aterrizaje del adulto, así como en el número relativo de huevos depositados en diferentes hospedantes, al contrastar los resultados de experimentos con y sin posibilidad de escogencia de hospedantes (Bernays 1999b). Estos patrones de comportamiento indican un mayor éxito cuando las moscas blancas atacan un solo cultivo (monocultivo), que cuando lo hacen en un sistema natural con varias especies de plantas.

Por otra parte, por ser malas voladoras, las moscas blancas dependen de corrientes de aire para desplazarse. Ellas posiblemente tienen poca influencia en la dirección de su movimiento y pueden aterrizar en el sitio preciso. Es decir, tienen muy poca posibilidad de escoger de previo a su contacto con la planta hospedante, después de lo cual el adulto puede permanecer en ésta o abandonarla (Gerling y Lindenbaum 1991). El intervalo entre el aterrizaje y el inicio de la alimentación no puede completarse antes de que el adulto se haya adaptado a la nueva planta hospedante, la cual comúnmente pertenece a una especie diferente a la que estuvo anteriormente. Los aspectos etológicos en esta fase, en la cual es preciso adaptarse a las características de la nueva planta, han sido analizadas por varios autores (van Lenteren y Noldus 1990), por lo que no las discutiré aquí. Sin embargo, algunos trabajos recientes han demostrado la necesidad de, y la existencia de adaptabilidad enzimática, sin la cual los insectos herbívoros polípagos enfrentarían dificultades.

Cada especie vegetal moviliza tipos específicos de azúcares en el floema. Las plantas de algodón movilizan sacarosa, mientras las cucurbitáceas movilizan azúcares que contienen galactosa, como rafinosa o estaquiosa. Puesto que las moscas blancas se alimentan del floema, deben desdoblar estos azúcares para utilizarlos, así como para descartar el exceso de azúcares, transformándolos en otros oligosacáridos, como la trehalosa (Salvucci *et al.* 1997). Cuando hay migración desde calabazas o melones (que usan rafinosa y esta-

quiosa) a algodón (que usa sacarosa), el insecto también debe cambiar su ruta metabólica, utilizando diferentes enzimas para desdoblar los azúcares. Es interesante que al trasladar adultos de *B. tabaci* de plantas de algodón a las de calabaza y analizar la producción de mielcilla, se notó que apenas 3 h después los insectos podían utilizar los nuevos azúcares para su nutrición (Salvucci y Gerling, *obs. pers.*).

Asimismo, la distribución de *Bemisia* incluye países con climas desérticos, donde las temperaturas durante el verano pueden exceder los 40°C. La adaptación a estas condiciones, y especialmente la protección de proteínas solubles, que tienden a la agregación y a la inactivación al aumentar el calor, es vital. En las moscas blancas, los mecanismos para ajustarse al calor no corresponden a los de refrescamiento evaporativo, debido a su tamaño diminuto, que las torna muy vulnerables a la desecación. Otras opciones para lograr esto incluyen la permanencia en el envés de la hoja, el cual bajo condiciones secas podría evaporar agua y reducir así la temperatura ambiente cercana a la hoja (Lu *et al.* 1997).

Pero las moscas blancas también pueden sintetizar proteínas de choque térmico (HSP) en respuesta al estrés térmico (Salvucci 2000); además, Salvucci *et al.* (1999) y Wolfe *et al.* (1998) demostraron que *B. tabaci* acumula sorbitol, que es un alcohol polihídrico, cuando está expuesta a temperaturas superiores a 30°C. Salvucci (2000) también determinó que cuando individuos de *B. tabaci* se condicionan a 40°C, muestran mayor tolerancia que los individuos mantenidos a 25°C; con base en los hallazgos de Wolfe *et al.* (1998), que indican que los niveles del sorbitol aumentaron 15-27 veces (aproximadamente 0,5 M) en individuos sometidos a estrés térmico, él argumenta que la acumulación de sorbitol los protege durante dicho estrés, en forma similar a la protección brindada por la trehalulosa en levaduras.

Puesto que los niveles del sorbitol pueden aumentar solamente cuando el insecto se está alimentando activamente en la planta, el mecanismo de resistencia térmica empieza cuando las moscas blancas están sobre la planta, y es afectado por la combinación de factores como su localización en el envés de la hoja, las proteínas de choque térmico y los niveles crecientes de sorbitol. Este último es particularmente activo cuando el insecto se está alimentando en plantas vigorosas y no estresadas, mientras que las proteínas de choque térmico cobran importancia más bien cuando las plantas están débiles. Aún debe evaluarse si el nivel de sorbitol antes de la migración contribuye a

que las moscas blancas resistan las altas temperaturas que podrían presentarse durante su desplazamiento hacia las nuevas plantas hospedantes.

### El complejo *Bemisia*

Desde su primera descripción, *B. tabaci* ha tenido la reputación de alcanzar altas poblaciones (Gennadius 1889). En informes siguientes, de la India e Israel, entre 1920-1930 (Husain y Trehan 1933, Sachs 1994), parecía ser una plaga de hortalizas y algodón en numerosos lugares del Viejo Mundo, incluyendo Sudán y Egipto. Entre 1970 y 1980 se informó del aumento, inexplicado, de sus poblaciones en Turquía (ca. 1974), Israel (1976-1977) y Sudán (ca. 1979) (Dittrich *et al.* 1990, Sachs 1994). En las grandes plantaciones de algodón se produjeron millones de individuos, los cuales, sobre todo después de la defoliación del cultivo, se movían hacia campos de hortalizas y de otros cultivos, a lo cual se respondió con aplicaciones masivas de insecticidas, provocando un inevitable aumento de la resistencia y el fracaso general para resolver los crecientes problemas causados por esta plaga. Dittrich *et al.* (1990) atribuyó el problema, en parte, a la hormoligosis, es decir, a la habilidad de las estirpes de *B. tabaci* resistentes a ciertos insecticidas de aumentar su tasa de oviposición varias veces, cuando estaban sometidas al estrés de los insecticidas. Desde entonces *B. tabaci* ha sido registrada, en algunas ocasiones como una plaga muy severa en la mayoría de los países del Viejo Mundo donde las condiciones climáticas permiten su existencia.

En el Hemisferio Occidental, *B. tabaci* fue observada por primera vez en 1894, pero aparte de ser el vector del rizado de la hoja de algodón, raramente tuvo importancia económica antes de 1975 (Henneberry *et al.* 1998). Desde mediados de los años 1980, esta plaga empezó a ampliar su ámbito de hospedantes y a causar alteraciones fisiológicas desconocidas hasta entonces. Al mismo tiempo, surgieron poblaciones inusitadamente altas en California y Arizona, lo cual llevó al cuestionamiento de la identidad de *B. tabaci*. Tras varios años de estudio (Henneberry *et al.* 1998), resultó la descripción de una nueva especie, *B. argentifolii*, sobre lo cual aún hay polémica. La validez del estatus de nueva especie conferido al biotipo **B** con base en estudios sobre su incompatibilidad reproductiva con el biotipo **A**, en su caracterización morfológica y en el análisis molecular (Brama *et al.* 1994), aún es incierto, aunque se reconoce que tiene características particulares, distintivas (Henneberry *et al.* 1998, De Barro 2000).

Durante el último decenio, el ámbito geográfico de *B. tabaci* ha continuado expandiéndose, lo cual la ha convertido en una plaga seria de hortalizas y en varios cultivos no colonizados anteriormente, tanto en países de Centro y Suramérica, como del Lejano Oriente (Hilje 1998, Sumalde y Salinas 1999). Así, la predicción de Gennadius, de que esta especie tenía el potencial de convertirse en una plaga muy dañina, se ha hecho real.

En la actualidad, los estudios sobre *B. tabaci* se bifurcan. Por un lado, la aparición de razas asociadas con hospedantes específicos, nuevos biotipos, y posiblemente nuevas especies, revela cambios activos en el proceso de especiación. Por consiguiente, con su casi un siglo de historia conocida, esta especie representa un tema interesante para el estudio de posibles cambios microevolutivos. Por otra parte, es una de las plagas más perjudiciales, mundialmente, por lo que la prevención de los daños presentes y futuros tiene una importancia medular en el campo agrícola.

Los cambios en el estatus taxonómico de *B. tabaci* podrían ser el resultado de mutaciones recientes, de la selección sobre los tipos ya existentes, o ambos. En cualquier caso, cabría haber esperado la existencia de múltiples biotipos y razas desde que se detectó, hace muchos años, la gran variación morfológica propia de esta especie (e.g. Mound 1963), lo cual de hecho originó más de 10 sinónimos de *B. tabaci*, históricamente (Henneberry *et al.* 1998).

Los factores principales que contribuyen al rápido proceso de especialización en moscas blancas, y posiblemente de especiación, también se conocen, y son los siguientes:

1. El amplio ámbito, tanto geográfico como de plantas hospedantes, pueden conducir al surgimiento de diferencias alopátricas. Por ejemplo, hay varios biotipos diferentes del **B** en España (Del Barro *et al.* 2000), los cuales podrían haberse desarrollado en condiciones aisladas, en relación con el ubicuo biotipo **A**, u otros biotipos que eran o son propios de la región mediterránea. El desarrollo de razas simpátricas de *B. tabaci* asociadas con hospedantes específicos a la planta han sido informados por Legg (1996), quien notó que los individuos presentes en algodón y camote no colonizan o sobreviven en yuca, mientras que los de la yuca colonizan el algodón en forma limitada; sin embargo, los adultos que emergieron del algodón retuvieron la habilidad de colonizar la yuca, lo cual confirma que esta discriminación tiene una base genética.

2. Factores genéticos, incluyendo: a) las poblaciones ampliamente distribuidas de mosca blanca podrían contener subgrupos aislados, conducentes a la segregación; b) La naturaleza de las poblaciones de mosca blanca, que aumentan a niveles muy altos y después disminuyen a pocos individuos, debido a la ausencia de hospedantes adecuados, clima severo o tratamientos con insecticidas, sugieren un mecanismo de "ciclo de erupción-colisión" (Carson 1968); por tanto, la derivagenética originada un "cuello de botella" poblacional podría variar la estructura genética de la población y permitir a la selección natural actuar sobre las nuevas composiciones genómicas; c) El mecanismo arrenotóquico de determinación del sexo favorece la rápida evolución, debido a que los genes recesivos dañinos son eliminados rápidamente de la población en los machos haploides (Price 1996).
3. Las actividades humanas intensifican el proceso de especialización, en la medida en que se proporcionan grandes cantidades de fuentes alimenticias, homogéneas y estables, y se incrementa la presión selectiva con insecticidas. Esto a su vez conduce al surgimiento de altas poblaciones de mosca blanca, al aumento de resistencia y a procesos como el de hormoligosis, todo lo cual origina altas poblaciones que difieren parcialmente de las generaciones previas.
4. Las nuevas tecnologías genéticas, sobre todo aquellas que emplean métodos moleculares (p.ej. PCR) permiten incrementar nuestro reconocimiento de especializaciones genéticas, pues posibilitan la diferenciación entre razas que anteriormente eran indistinguibles usando métodos convencionales

Finalmente, podría ser valioso especular sobre la interfase entre los cambios microevolutivos que están ocurriendo en *B. tabaci* y su estatus como plaga agrícola, y preguntarnos "¿Qué podemos esperar, y qué podemos hacer al respecto?" .

Excepto por la transmisión de enfermedades virales, la historia con los problemas asociados a *B. tabaci* realmente son reiterativos. El surgimiento de brotes poblaciones desmesurados causa daños enormes, los cuales no pueden controlarse ni siquiera con la aplicación frecuente de insecticidas, técnicas sofisticadas de manejo. Unos pocos años después, el problema se re-

duce un poco, originando una condición más estable y controlable durante la cual, en contraste con la fase inicial, hay mayor apertura para utilizar tecnologías de manejo integrado de plagas (MIP).

Este proceso evoca lo que acontece después del establecimiento de una especie invasora. Es decir, hay una fase explosiva, en la cual el invasor puede aprovecharse de su nueva capacidad para explotar los recursos locales inalterados, la cual es seguida por una fase más equilibrada en que la resistencia local -incluyendo los enemigos naturales, las defensas de las plantas hospedantes y las limitaciones climáticas- se materializa. El nuevo nivel poblacional alcanzado es típico de las condiciones locales bajo las que se ha desarrollado. Por tanto, si consideráramos a los biotipos y estirpes de *B. tabaci* como invasores, deberíamos esperar que, tras la fase de brote, la población se estabilizará en diferentes cultivos y condiciones, a diferentes niveles, dependiendo del clima, la disponibilidad de hospedantes adecuados, y las prácticas de manejo de plagas empleadas.

Este razonamiento lleva a las siguientes conclusiones prácticas:

1. Podemos esperar brotes severos, generalizados y difícilmente controlables en los primeros años después de las invasiones. Estas normalmente no pueden ser manejadas por los agricultores en forma individual, y deben tratarse a nivel del Estado o del país, en cooperación con ellos. En esta fase debería adoptarse un enfoque diferente, hacia los "brotes invasivos" iniciales, en contraposición con los "brotes estabilizados" posteriores (Gerling 1996).
2. Es crítico que el manejo, incluyendo el empleo de enemigos naturales, se implemente tan pronto como sea viable. Esto es especialmente importante, puesto que los riesgos del desarrollo de resistencia propios de los "brotes invasivos" son sustanciales, y las estirpes resistentes continuarán hacia la fase de "brotes estabilizados, dificultando los esfuerzos en MIP en el futuro.
3. El descubrimiento *per se* y la descripción de nuevos biotipos tiene poco valor, a menos que su relación con rasgos funcionales sea dilucidada, como una herramienta para mejorar el entendimiento biológico, ecológico y agrícola del problema, de modo que ello permita mejorar su manejo.



## Agradecimientos

Estoy en deuda con muchos colegas, por su ayuda y consejo, y en particular con la Srta. N. Paz, y los doctores J. Brown, (Universidad de Arizona). P. DeBarro, (CSIRO, Canberra, Australia), I. Denholm (Rothamstead Experiment Station, Reino Unido) M. Guershon y

D. Wool (Universidad de Tel Aviv, Israel), D. Hendrix, T.J. Henneberry y M. Salvucci (USDA, Phoenix, Arizona), Estrella Hernández-Suárez (ICIA, Tenerife, España), M. Inbar (Universidad de Haifa, Israel), B. Roitberg (Universidad Simon Fraser, Canadá) y J. Rosenheim (Universidad de California).

## Literatura citada

- Bernays, EA. 1999a. Plasticity and the problem of choice in food selection. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 92: 944-951.
- Bernays, EA. 1999b. When host choice is a problem for a generalist herbivore: experiments with the whitefly, *Bemisia tabaci*. *Ecol. Entomol.* 24: 260-267.
- Byrne, DN. 1999. Migration and dispersal by the Sweetpotato whitefly, *Bemisia tabaci*. *Agr. Forest Meteorol.* 97: 309-316.
- Byrne, DN; Houck, MA. 1990. Morphometric identification of wing polymorphism in *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Homoptera: Aleyrodidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.* 83: 487-493.
- Byrne, DN; Bellows, TS JR. 1991. Whitefly Biology. Annual Review of Entomol. 36: 431-457.
- Carson, HL. 1968. The population flush and its genetic consequences, pp. 123-137. *In* Lewontin RC Ed. Population biology and evolution. Syracuse, New York.
- De Barro, PJ; Driver, F; Trieman, JH; Curran, J. 2000. Phylogenetic relationships of world populations of *Bemisia tabaci* using ribosomal ITS1. *Molecular Phylogeny and Evolution.* 16 (1): 29-36.
- Dittrich, V; Uk, S; Ernst, GH. 1990. Chemical Control and Insecticide resistance in Whiteflies, pp. 263-286. *In* Gerling, D. Ed. Whiteflies, Their Bionomics, Pest Status and Management. Intercept Ltd. Andover, Hants. UK.
- Gennadius, P. 1889. Disease of tobacco plantations in the Trikonina. The aleurodid of tobacco *Ellenike Georgia* 5: 1-3.
- Gerling, D. Ed. 1990. Whiteflies their bionomics, pest status and management. Intercept Ltd. Andover, Hants. UK 348 p.
- Gerling, D. 1996 Status of *Bemisia tabaci* in the Mediterranean Countries: Opportunities for biological control. *Biol. Cont.* 6: 11-22.
- Gerling, D; Lindenbaum, M. 1991. Host-plant related behavior of *Bemisia tabaci*. *WPRS Bull.* 14: 83-88.
- Gerling, D; Mayer, RT. Ed. 1996. *Bemisia*: 1995 taxonomy, biology, damage, control and management. Intercept Ltd. Andover, Hants. UK.
- Guershon, M. 1997. Tritrophic level interactions in different phenotypes of whitefly nymphs. Ph.D. Dissertation. Tel Aviv University, Israel.
- Guershon, M; Gerling, D. 1994. Defense of a sessile host against parasitoids: *Aleyrodes singularis* vs. *Encarsia* spp. *Norwegian J. Agric. Sci.* 16: 255-260.
- Henneberry, TJ; Toscano, NC; Castle, SJ. 1998. *Bemisia* spp. (Homoptera: Aleyrodidae) in the United States, pest status, and management. *Recent Res. Devel. Entomol.* 2: 151-161
- Hilje, L. 1998. Un modelo de colaboracion agrícola internacional para el manejo de moscas blancas y geminivirus en America Latina y el Caribe. *Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica)* 49: 1-9.
- Husain, MA; Trehan, KN. 1933. The life-history, bionomics and control of the white-fly of cotton (*Bemisia gossypiperda* M. & L.). *Indian J. Agr. Sci.* 3: 701-753.
- Inbar, M; Doostdar, H; Mayer, RT. 1999a. Effects of sessile whitefly nymphs (Homoptera : Aleyrodidae) on leaf-chewing larvae (Lepidoptera : Noctuidae). *Environ. Entomol.* 28: 353-357.
- Inbar, M; Doostdar, H; Leibe, GL; Mayer, RT. 1999b. The role of plant rapidly induced responses in asymmetric interspecific interactions among insect herbivores. *J. Chem. Ecol.* 25: 1961-1979.
- Isaacs, R; Bryne, DN. 1998. Aerial distribution, flight behaviour and eggload: their inter-relationship during dispersal by the sweetpotato whitefly. *J. Anim. Ecol.* 67: 741-750.
- Legg, JP. 1996. Host-associated strains within Ugandan populations of the whitefly *Bemisia tabaci* (Genn.), (Hom. Aleyrodidae). *J. Appl. Entom.* 120: 523-527.
- Lu, Z; Chen, J; Percy, RG; Zeiger, E. 1997. Photosynthetic rate, stomatal conductance and leaf area in two cotton species (*Gossypium barbadense* and *Gossypium hirsutum*) and their relation with heat resistance and yield. *Aust. J. Plant Physiol.* 24: 693-700.
- Mound, LA. 1963. Host-correlated variation in *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Homoptera: Aleyrodidae). *Proc. Roy. Entomol. Soc.* 38: 10-12.
- Perring, TM; Cooper, AD; Rodríguez, RJ; Farrar, CA; Bellows, TS Jr. 1993. Identification of a Whitefly Species by Genomic and Behavioral Studies. *Science* 259: 74-77.
- Price, PW. 1996. *Biological Evolution* New York, Saunders College.
- Sachs, Y. 1994. Landmarks for the development of *Bemisia tabaci* infestations in Israel. *Phytoparasitica* 22: 347-348.
- Salvucci, ME. 2000. Sorbitol Accumulation in Whiteflies: Evidence for a Role in Protecting Proteins During Heat Stress. *J. Thermal Biol.* 25 (5): 353-361.
- Salvucci, ME; Stecher, DS; Henneberry, TJ. 1999. Heat Shock Proteins in Whiteflies, an Insect that Accumulates Sorbitol in Response to Heat Stress. *J. Thermal Biol.* 25 (5): 363-371.
- Salvucci, ME; Wolfe, GR; Hendrix, DL. 1997. Effect of sucrose concentration on carbohydrate metabolism in *Bemisia argentifolii*: Biochemical mechanism and physiological role for trehalulose synthesis in the silverleaf whitefly. *J. Insect Physiol.* 43: 457-464.
- Sumalde, AC; Salinas, MD. 1999. Some whiteflies in the Philippines. Laguna, Philippines, Museum of Natural History, University of the Philippines Los Baños.
- van Lenteren, JC; Noldus, LPJJ. 1990. Whitefly-plant relationships: behavioural and ecological aspects, pp. 47-89. *In* D. Gerling, Ed. Whiteflies: their bionomics, pest status and management Andover, Hants. UK, Intercept Ltd.
- Wolfe, GR; Hendrix, DL; Salvucci, ME. 1998. A thermoprotective role for sorbitol in the silverleaf whitefly. *J. Insect Physiol.* 44: 597-603.

# Mecanismos de defensa en las interacciones planta-patógeno

Kenneth Madriz Ordeñana<sup>1</sup>

**RESUMEN.** Los patógenos son responsables de gran parte de la disminución en la producción agrícola en el trópico y su combate se realiza básicamente mediante métodos químicos. Sin embargo, las plantas también son capaces de reaccionar y defenderse por sí solas, utilizando una serie de mecanismos naturales para ésto. Las interacciones planta-patógeno pueden presentar varios tipos de asociaciones, que dependen en gran parte del contenido genético de cada organismo. La resistencia inducida es una forma de defensa activa que involucra la expresión diferencial de genes y cambios metabólicos que ocurren como consecuencia de un proceso de reconocimiento específico entre la planta y el patógeno. En este trabajo se describen los procesos más importantes que determinan la especificidad de una interacción planta-patógeno. Se incluyen también las etapas que inician con el reconocimiento del patógeno por parte de la planta, incluyendo la manifestación de la muerte celular programada y culminando con la activación de los diferentes mecanismos de defensa.

**Palabras clave:** Resistencia inducida, Reacción hipersensible, Genes de resistencia, Resistencia sistémica adquirida.

**ABSTRACT. Mechanisms of defense in plant-pathogen interactions.** Plant pathogens are responsible for a substantial part of the reduction in agricultural production in the tropics and their control is primarily through chemical methods. However, plants are also capable of reacting and defending themselves, employing a series of natural mechanisms. Plant-pathogen interactions exhibit several types of associations, which largely depend on the genetic content of each organism. Induced resistance is a form of active defense that involves the differential expression of genes and metabolic changes occurring as a consequence of a specific recognition process between the plant and pathogen. This study describes the most important processes that determine the specificity of a plant-pathogen interaction. The stages beginning with the recognition of the pathogen by the plant, the appearance of the programmed cell death and the activation of different defense mechanisms, are also included.

**Key words:** Induced resistance, Hypersensitive reaction, Resistance genes, Systemic acquired resistance

## Introducción

El nivel de producción en la agricultura tropical es bajo debido a factores que van desde situaciones económicas y sociales precarias, hasta la calidad del germoplasma, el ambiente y la alta incidencia de plagas (Norse *et al.* 1992, Oerke *et al.* 1994). El control de estas últimas se realiza principalmente mediante métodos químicos, lo cual tiene un costo tanto económico como ambiental (Arauz 1998). En el caso particular

de las enfermedades que afectan los cultivos, la biología molecular puede proveer instrumentos innovadores para investigar y entender los atributos que permiten a las plantas defenderse y contrarrestar las infecciones producidas por los patógenos. La comprensión de estos procesos a nivel molecular ha permitido diseñar alternativas al control químico basadas en los mecanismos naturales que confieren resistencia a los patógenos. En este trabajo se analizan los aspectos

<sup>1</sup> Centro de Investigaciones en Protección de Cultivos, Facultad de Agronomía y Centro de Investigación en Biología Celular y Molecular. Universidad de Costa Rica. San José, Costa Rica. kmadriz@cariari.ucr.ac.cr

tos generales de las relaciones entre las plantas y sus patógenos, particularmente la resistencia inducida que incluye los mecanismos de reconocimiento y activación de la defensa. Se discuten aspectos de la fisiología y la biología molecular de la defensa en plantas con el propósito de evaluar estos procesos como fuente para desarrollar nuevas alternativas de control de patógenos.

### Las interacciones planta-patógeno

Las plantas se encuentran en continuo contacto con otros organismos. Bajo condiciones naturales, ellas interactúan además con un gran número de microorganismos potencialmente patogénicos. Sin embargo, las plantas normalmente permanecen sanas debido, en parte, a la manifestación de varios mecanismos de defensa. De acuerdo con los axiomas de resistencia planteados por Browning (1980), la resistencia y la avirulencia son la regla mientras que la susceptibilidad y la virulencia son la excepción. El autor propone además que la resistencia y la susceptibilidad son los extremos de un continuo y que la inmunidad es absoluta. Los genes que determinan la resistencia oligogénica y la susceptibilidad en la planta, son complementarios a los genes que determinan la virulencia y la avirulencia en el patógeno (Browning 1980).

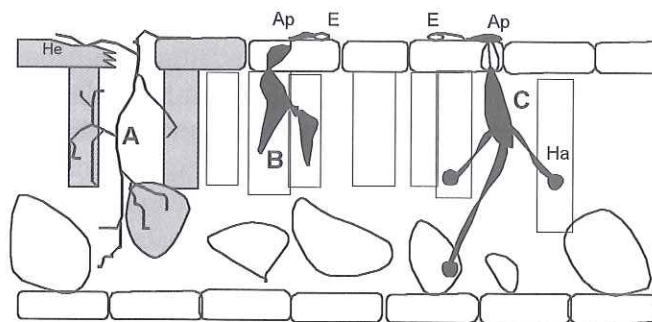
Otros autores como Keen (1992) señalan que para las plantas que se desarrollan bajo condiciones naturales, la enfermedad es la excepción y no la regla, lo cual no siempre es cierto bajo las condiciones que prevalecen en la agricultura moderna

Las interacciones entre una planta y un microorganismo pueden mostrar varios tipos que van desde las relaciones altamente perjudiciales para el hospedante, hasta aquellas que benefician tanto al hospedante como al microorganismo. Como consecuencia de una estrecha coevolución, muchos microorganismos se desarrollan de una forma patogénica solo en un ámbito limitado de hospedantes, frecuentemente a nivel de género, especie y subespecies. De forma similar, las especies y cultivares de plantas, por lo general son susceptibles solamente a pocas especies, aislamientos o razas de patógenos (Heath 2000a).

### Nutrición de los patógenos

Como parásitos, los fitopatógenos están obligados a obtener los nutrientes de fuentes existentes y para ello necesitan invadir y adaptarse al tejido del hospedante para eventualmente reproducirse. Además, necesitan evadir o contrarrestar los mecanismos de de-

fensa de la planta. Aquellos patógenos capaces de desarrollarse y reproducirse solo en tejidos de hospedantes vivos son llamados *biótrofos*. Estos patógenos, también conocidos como parásitos obligados, necesitan mantener la célula hospedante viva y emplean para ello mecanismos de invasión sumamente sutiles. Los apresorios son estructuras de penetración usadas por algunos hongos para evitar el daño excesivo del tejido durante las fases iniciales de la patogénesis (Fig. 1). Entre los patógenos biotróficos se encuentran los virus, los nematodos y algunos hongos especializados, tales como las royas.



**Figura 1.** Formas de invasión y nutrición de algunos hongos durante una interacción compatible. A- Penetración por heridas (He) de un hongo necrotrofo, el cual mata la célula hospedante antes de alimentarse. B- Hongo biotrofo intracelular con penetración directa mediante un apresorio (Ap). C- Hongo biotrofo intercelular con penetración por estoma y utilización de haustorios (Ha) para la absorción de nutrientes.

Otro tipo de patógenos, denominados *necrotrofos*, producen la muerte de las células hospedantes obteniendo de esta forma los nutrientes a partir del tejido muerto. En este grupo se incluyen la mayoría de los hongos y las bacterias fitopatógenas. Estos muchas veces utilizan diferentes toxinas capaces de degradar el tejido de la planta y facilitar la invasión (Fig. 1) (Collinge *et al.* 2001).

### Especificidad de las interacciones planta-patógeno

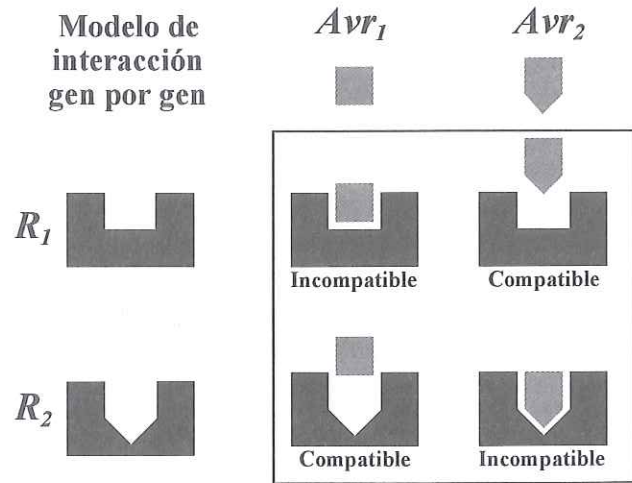
La especificidad en las interacciones planta-patógeno depende tanto del genotipo de la planta como del patógeno. Esta especificidad es más fácil de estudiar a nivel de cultivar, es decir, especies cultivadas que han sido sometidas a un proceso de mejoramiento genético para producir poblaciones de plantas altamente homogéneas en su contenido genético. Como resultado de este proceso, nuevas razas de patógenos, específicas para cada cultivar, aparecen debido a la presión de selección. Una interacción biotrófica se caracteriza por tener un alto grado de especificidad ya que el patóge-

no necesita mantener las células hospedantes vivas, evitando la inducción de defensa, para poder sobrevivir. Se cree que esta especificidad es el resultado de una evolución entre ambos organismos. En general, estas relaciones están determinadas a nivel de razas del patógeno y cultivares del hospedante. La especificidad observada sirve para seleccionar la interacción que proporcione una ventaja para una de las partes (patogénesis o resistencia), o para ambos organismos (simbiosis) (De Wit 1997).

Un patógeno puede ser muy patogénico o poco patogénico para un hospedante dado. El grado de patogenicidad se define frecuentemente como *virulencia* (Collinge *et al.* 2001). De esta forma, y dependiendo de su habilidad de causar enfermedad, un patógeno puede ser altamente virulento para un hospedante y levemente virulento para otro. Estos conceptos han sido discutidos por Van del Plank (1968) quien propuso que el nivel de virulencia se determina con respecto a la resistencia del hospedante. En otras palabras, la virulencia es un concepto estrechamente ligado a la habilidad del patógeno de superar la resistencia de la planta. Por otro lado, la resistencia vertical (monogénica u oligogénica) y la resistencia horizontal (poligénica) son los extremos de todo un espectro de niveles de resistencia. Sin embargo, en términos genéticos, virulencia se utiliza para definir si una variante o raza de un patógeno puede o no causar enfermedad en una variedad o cultivar del hospedante. En otras palabras, una raza de un patógeno es virulenta si produce enfermedad y avirulenta si no produce enfermedad a un cultivar determinado del hospedante. En las interacciones planta-patógeno a nivel de especie, la resistencia del hospedante se conoce como resistencia no-hospedante, mientras que a nivel de raza-cultivar se denomina resistencia determinada por la raza. En este último caso, una especie de hospedante puede presentar cultivares que muestran *resistencia* y otros que muestran *susceptibilidad* a un patógeno dado, el cual a su vez puede presentar razas tanto virulentas como avirulentas para un cultivar determinado (Collinge *et al.* 1994) (Fig. 2).

Por lo tanto, para estudiar y comprender cualquier interacción planta-patógeno es necesario tomar en cuenta los dos componentes de sistema. En otras palabras, se debe estudiar la virulencia o avirulencia de un patógeno siempre en relación con la resistencia o susceptibilidad del hospedante. Para dar la importancia adecuada a la interrelación entre los dos organismos es conveniente utilizar los términos *interacción*

*compatible* e *interacción incompatible*. Una relación compatible se refiere a una interacción entre una raza virulenta y un cultivar susceptible, mientras que una relación incompatible se establece cuando el hospedante es resistente y el patógeno es avirulento (Fig. 2).



**Figura 2.** La hipótesis del gen por gen. La figura es un modelo simplificado que ilustra cómo la presencia o ausencia de genes R en el hospedante y los correspondientes genes Avr en el patógeno determinan el reconocimiento y definen si la interacción es compatible o incompatible.

Las interacciones incompatibles (hospedante resistente, patógeno avirulento) se caracterizan por estar mediadas por sistemas de reconocimiento que activan la expresión de mecanismos de defensa que frecuentemente están asociados a la manifestación de la reacción hipersensible (Heath 2000b). Por el contrario, en las interacciones compatibles (hospedante susceptible, patógeno virulento), el reconocimiento no se lleva a cabo, la respuesta de defensa no es activada y la enfermedad se establece (De Wit 1997).

### Defensa de las plantas

El ataque de patógenos es una condición desfavorable que generalmente activa una serie de mecanismos de defensa cuyo fin es detener, aminorar o contrarrestar la infección. Las plantas pueden poseer *mecanismos constitutivos* de defensa que proveen, de forma pasiva, resistencia contra patógenos. Los mecanismos de resistencia constitutiva o "preformada" se pueden dividir en mecanismos de defensa *estructurales constitutivos*, como por ejemplo la presencia de capas gruesas de cutícula, presencia de tricomas, deposición de ceras, entre otros; y mecanismos de defensa *químicos constitutivos*, tales como la acumulación de compuestos tóxicos en las células vegetales. Algunos ejemplos

de este tipo son las plantas cianogénicas como el sorgo (*Sorghum* sp.) y la yuca (*Manihot esculenta*) que poseen cantidades considerables de compuestos relacionados con el ácido cianhídrico (HCN) (Osbourn 1996). De esta forma, los mecanismos constitutivos de resistencia en las plantas se basan en los rasgos distintivos de una especie o cultivar particular y generalmente no involucran una respuesta activa del hospedante ante la presencia del patógeno.

A diferencia de la defensa constitutiva, los mecanismos inducidos de defensa, también llamados como *resistencia inducida*, se activan solamente como una respuesta al ataque de un patógeno (Collinge *et al.* 1994). La resistencia inducida es un mecanismo activo de defensa que involucra cambios claros en el metabolismo provocados por la expresión diferencial de genes. Por lo tanto, para que ocurra la inducción de la defensa, es necesaria la mediación de sistemas de reconocimiento específico, mediante los cuales la planta reconoce la presencia del patógeno (Hutcheson 1998).

### Activación de la defensa

La activación de la defensa en plantas supone la existencia de mecanismos de reconocimiento mediante los cuales la planta determina la presencia del patógeno. Ciertas sustancias como carbohidratos, proteínas y pequeñas moléculas son capaces de actuar como *inductores* de defensa. Los *inductores no-específicos* son cualquier sustancia que induce la activación de defensa de forma no específica. Por ejemplo, los polímeros de azúcar que conforman la pared celular tanto de hongos como de las células vegetales, son reconocidos desde hace varios años como agentes capaces de inducir la expresión de genes de defensa en plantas (Darvill y Albersheim 1984). Esto es congruente con el hecho de que la muerte del tejido hospedante, causada por el ataque del patógeno o por una reacción de hipersensibilidad, libera componentes de la pared celular vegetal que inducen la activación de defensa en tejidos adyacentes. De manera similar, la actividad de algunas enzimas hidrolíticas, producidas por la célula vegetal como reacción de defensa, liberan componentes de la pared celular de ciertos hongos que tienen un efecto inductor de defensa en los tejidos vegetales. La reacción de defensa también se puede activar de forma no específica por factores abióticos como el choque térmico, la sequía, diversas sustancias químicas y la luz ultravioleta. En general, este tipo de inductores abióticos activan respuestas de defensa ya que provocan heridas y daño físico en los tejidos (Collinge *et al.* 2001).

La inducción de la reacción de defensa de una manera específica ha sido observada en las interacciones del tipo raza-cultivar, donde el proceso de reconocimiento del patógeno por parte de la planta parece estar determinado por genes correspondientes y presentes tanto en el patógeno como en la planta. La investigación exhaustiva iniciada en los años 40 en el cultivo del lino y la roya de ese cultivo causada por *Melampsora lini*, generaron la hipótesis de gen por gen (Flor 1971) en la cual se evidencia la existencia de genes en la planta que confieren resistencia a una raza particular de un patógeno. Por otro lado, la presencia o ausencia de genes de avirulencia en el patógeno le confieren la habilidad de causar o no la enfermedad en un cultivar determinado (Fig. 2) (De Wit 1997).

La hipótesis de gen por gen tuvo mayor fundamento genético hasta después de varios años. Posteriormente, la base molecular de la hipótesis gen-por-gen también fue descubierta. Se ha propuesto que los inductores específicos son proteínas codificadas por los genes *Avr* de avirulencia presentes en el patógeno y que son capaces de inducir las repuestas de defensa en cultivares que posean los correspondientes genes *R* de resistencia (Parker y Coleman 1997). De esta forma, el reconocimiento tiene lugar cuando ocurre una interacción entre las proteínas codificadas por los genes *R* y los correspondientes productos de los genes *Avr* del patógeno. Esta interacción da origen a una cascada de señales y otras vías de transducción que finalmente llevan a la expresión de genes asociados a la defensa (Hammond-Kosack y Jones 1996).

### Mecanismos de reconocimiento

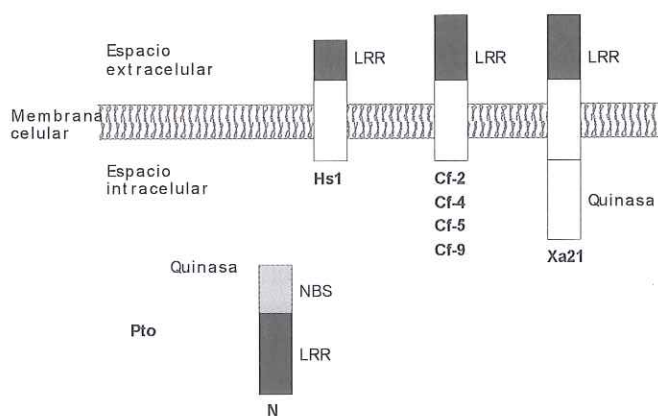
Se han propuesto varios modelos para explicar los mecanismos moleculares de reconocimiento basados en los sistemas gen-por-gen. Los primeros modelos consideraron la interacción entre los productos *R-Avr* mediante un receptor transmembranario (codificado por el gen *R* de la planta) y un "ligando" (codificado por el gen *Arv* del patógeno) (Gabriel y Rolfe 1990). Recientemente, se reafirmaron los modelos basados en la generación de una cascada de reacciones de defensa, las cuales son activadas por la interacción "ligando"-receptor (Lamb 1996). Con el aislamiento, clonaje y caracterización molecular de varios genes *R* y genes *Avr* de diferentes especies de plantas y patógenos (Cuadro 1) (Takken y Joosten 2000), ha sido posible predecir la estructura, localización y posibles mecanismos mediante los cuales se lleva a cabo la interacción entre las proteínas *R* y *Avr* (De Wit 1997).

**Cuadro 1.** Ejemplos de genes de resistencia y avirulencia clonados (Takken y Joosten 2000).

Planta	Gen R	Localización	Gen Avr	Patógeno
Tomate	Prf	Intracelular	AvrPto	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>tomato</i>
Arabidopsis	RPS2	Intracelular	AvrRpt2	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>tomato</i>
Arabidopsis	RPM1	Intracelular	AvrRpm1, avrB	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>maculicola</i>
Arabidopsis	RPS5	Intracelular	AvrPphB	<i>Pseudomonas syringae</i> DC3000
Arabidopsis	RPP8	Intracelular	AvrRpp8	<i>Peronospora parasitica</i>
Tomate	Mi	Intracelular	-	<i>Meloidogyne incognita</i> , <i>Macrosiphum euphorbia</i>
Tomate	I2c	Intracelular	-	<i>Fusarium oxysporum</i>
Tomate	I2	Intracelular	-	<i>Fusarium oxysporum</i>
Arroz	Xa1	Intracelular	-	<i>Xanthomonas oryzae</i> pv. <i>oryzae</i>
Arroz	Pib	Intracelular	-	<i>Magnaporthe grisea</i>
Papa	Rx	Intracelular	Proteína de cápside	Virus X de la papa
Papa	Gpa2	Intracelular	-	<i>Globodera rostochiensis</i>
Trigo	Cre3	Intracelular	-	<i>Heterodera avenae</i>
<i>Capsicum</i>	Bs2	Intracelular	AcrBs2	<i>Xanthomonas campestris</i>
Maíz	Rpl-D	Intracelular	-	<i>Puccinia sorghi</i>
Arroz	Pi-ta	Intracelular	AvrPITA	<i>Magnaporthe grisea</i>
Cebada	Mla	Intracelular	-	<i>Erysiphe graminis</i>
Tabaco	N	Intracelular	Replicasa	Virus del mosaico del tabaco
Arabidopsis	RPP1	Intracelular	-	<i>Peronospora parasitica</i>
Lino	L6 L1-12	Intracelular	-	<i>Melampsora lini</i>
Lino	M	Intracelular	-	<i>Melampsora lini</i>
Arabidopsis	RPP5	Intracelular	-	<i>Peronospora parasitica</i>
Arabidopsis	RPS4	Intracelular	AvrRps4	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>pisi</i>
Arroz	Xa21	Extracelular	-	<i>Xanthomonas oryzae</i> pv. <i>oryzae</i>
Tomate	Cf-2	Extracelular	Avr2	<i>Cladosporium fulvum</i>
Tomate	Cf-4	Extracelular	Avr4	<i>Cladosporium fulvum</i>
Tomate	Hcr9-4E	Extracelular	Avr4E	<i>Cladosporium fulvum</i>
Tomate	Cf-5	Extracelular	Avr5	<i>Cladosporium fulvum</i>
Tomate	Cf-9	Extracelular	Avr9	<i>Cladosporium fulvum</i>
Remolacha	HSI pro-1	Extracelular	-	<i>Heterodera schachtii</i>

(Fig. 3). De acuerdo a la secuencia de aminoácidos inferida a partir de los genes R, se han observado varios rasgos distintivos comunes a la mayoría de las proteínas R. Entre ellos está la presencia de repeticiones ricas en leucina o LRR (por sus siglas en inglés), de entre 20 y 30 aminoácidos. Estas LRR son comunes también en sistemas animales en donde también parecen ser mediadoras de las interacciones proteína-proteína (Takken y Joosten 2000). La variabilidad observada en la secuencia de aminoácidos de las LRR, aparentemente confiere la especificidad del reconocimiento (Ellis *et al.* 2000). Algunas de las proteínas R que poseen LRR pueden además contener regiones o sitios de unión a nucleótidos o NBS (por sus siglas en inglés), capaces de unirse a GTP y ATP y que participan en la transducción de señales (Pan *et al.* 2000).

Considerando las características estructurales de las proteínas R, se ha podido predecir tanto su localización como su función en el reconocimiento de las



**Figura 3.** Representación esquemática de la localización de los productos de algunos de los genes R clonados. La localización se basa en las características estructurales inferidas a partir de las secuencias de los genes. LRR: repeticiones ricas en leucina, NBS: sitios de unión a nucleótidos. Ver cuadro 1 y el texto para mayor detalle de cada gen. Adaptado de: De Wit (1997).

proteínas Avr (Fig. 3). Algunas de la proteínas R poseen dominios transmembranarios, por lo tanto su localización en la célula así como la disposición de los LRR de reconocimiento situados en la parte externa, le puede conferir a este tipo de proteínas una función de centinela, capaz de realizar el reconocimiento extra-celular (Gabriel 1999). Este es el caso de los genes *Cf-2*, *Cf-4*, *Cf-5* y *Cf-9* de tomate, los cuales confieren resistencia contra las razas de hongo biótrofo *Cladosporium fulvum* que poseen los genes correspondientes *Avr2*, *Avr4*, *Avr5* y *Avr9*. Los genes de resistencia *Cf* codifican para proteínas transmembranarias con una LRR extra celular. Otras proteínas R que también muestran dominios extracelulares son la Hs1<sup>pro1</sup> de remolacha que confiere resistencia al nematodo *Heterodera schachtii* y Xa21 de resistencia a *Xanthomonas oryzae* en arroz (Fig. 3) (Takken y Joosten 2000).

Otros genes *R* codifican para las proteínas que se localizan en el citoplasma que parecen reconocer los productos Avr que llegan hasta el interior de la célula hospedante. Las partículas virales típicamente deben penetrar al citoplasma para iniciar la patogénesis. De esta forma, no es de extrañar que el gen de resistencia *N* del tabaco codifique para una proteína de localización citoplasmática encargada de reconocer la replicasa del virus del mosaico del tabaco (TMV) (Whitham *et al.* 1994). En este caso, la replicasa de TMV posee una función dual, ya que participa en la replicación viral y actúa a su vez como gen *Avr* para los cultivares de tabaco que poseen el gen *N* de resistencia (Whitham *et al.* 1996). Por otro lado, el gen *Pto* de tomate confiere resistencia contra las razas de *Pseudomonas syringae* que poseen el gen de avirulencia *avrPto*. La proteína *Pto* también tiene una localización citoplasmática pero no contiene regiones LRR. Sin embargo, *Pto* posee una región con actividad quinasa, por lo cual se le ha asignado una función clave en las vías de señales mediadas por cascadas de fosforilación. Además, *Pto* es la única proteína R que ha demostrado que interactúa directamente con la proteína de avirulencia *AvrPto* (Tang *et al.* 1996).

A la fecha se han caracterizado varios genes *R* y *Avr* de diferentes especies (Cuadro 1). La información obtenida es cada vez más consistente e indica que la activación de la defensa contra patógenos en plantas, al menos en los sistemas raza-cultivar, está mediada por la interacción de proteínas Avr y R siguiendo la hipótesis gen-por-gen (Flor 1971). Esta es la base del reconocimiento y tiene como consecuencia la activación de una cascada de señales que, en última instan-

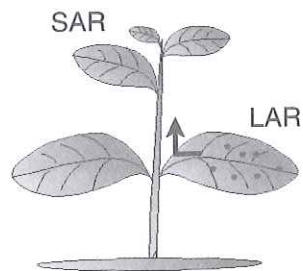
cia, induce la defensa (Martin 1999). En otras palabras, los genes *R* no son responsables directos de la resistencia, pero sí tienen una función determinante de la especificidad del reconocimiento, actuando como iniciadores de la defensa (De Wit 1997).

### Mecanismos de defensa

Una vez que el patógeno ha sido reconocido se activan una serie de mecanismos de defensa mediante cascadas de señales que aún no han sido completamente caracterizadas. Los mecanismos de defensa, que son inducidos como consecuencia del reconocimiento, son los responsables de la resistencia, actuando muchas veces en conjunto para detener el avance del patógeno. Estos mecanismos incluyen principalmente la muerte celular por reacción hipersensible, la acumulación de metabolitos secundarios con actividad antimicrobiana, la acumulación de enzimas hidrolíticas y la deposición de sustancias de refuerzo que evitan el avance del patógeno, entre otros (Collinge *et al.* 1994).

**La reacción hipersensible.** En las interacciones raza-cultivar del tipo incompatible, muchas veces ocurre una alteración en el metabolismo de la planta que se manifiesta con la aparición de lesiones locales necróticas en el sitio mismo de infección. Estas lesiones son el resultado de una muerte celular programada o reacción hipersensible (**HR**). La reacción hipersensible además está asociada a la expresión simultánea o paralela de otros mecanismos de defensa, incluyendo la acumulación de fitoalexinas, deposición de lignina, suberina y proteínas ricas en hidroxiprolina; y con la producción y acumulación de altas cantidades de proteínas relacionadas con la patogénesis o proteínas PR, que se asocian con el fenómeno de resistencia sistémica adquirida o SAR (Fig. 4) (Ryals *et al.* 1996). A pesar de que HR es un mecanismo sumamente efectivo que produce una reacción de resistencia casi absoluta, aún no existe consenso que defina si la HR es directamente responsable de la resistencia, al privar de tejido vivo y nutrimentos al patógeno, o si más bien su acción está basada en la acumulación de compuestos dañinos que simultáneamente matan al patógeno y a las células hospedantes (Heath 2000b). Sin embargo, cada vez existe más evidencia de que el proceso de HR ocurre como resultado de una necrosis controlada de forma similar a la apoptosis o muerte celular programada conocida en los tejidos animales (Raff 1998).

El fenómeno de *muerte celular programada* o PCD está mediado por una explosión oxidativa que li-



**Figura 4.** La resistencia sistémica adquirida (SAR) se manifiesta típicamente cuando la planta es atacada por un patógeno incompatible que induce lesiones locales hipersensibles produciendo una resistencia local (LAR) en el tejido infectado. Una serie de señales, principalmente mediadas por el ácido salicílico, induce resistencia en el resto de la planta.

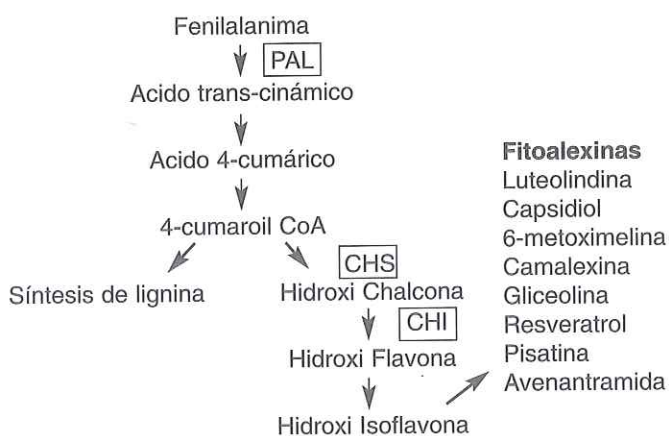
bera agentes altamente oxidantes llamados AOS "active oxygen species", tales como el superóxido ( $O_2^-$ ) y el peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) (Levine *et al.* 1994)

La reacción hipersensible parece ocurrir como un programa suicida activo y organizado, y no como consecuencia de un colapso celular pasivo producido por el ataque del patógeno o por toxinas derivadas de éste (Gilchrist 1998). La generación de la PCD está relacionada mediante señales con la activación y coordinación de los otros mecanismos de defensa. Se ha demostrado que el  $H_2O_2$  tiene además una función como señal difundible implicada en la inducción de otros mecanismos de defensa (Orozco-Cárdenas *et al.* 2001). **Producción de fitoalexinas.** Las fitoalexinas se definieron originalmente como metabolitos secundarios de bajo peso molecular, con propiedades antimicrobianas y que se producen y acumulan en plantas expuestas a microorganismos (Paxton 1981). Estos compuestos normalmente se encuentran en niveles basales muy bajos en las plantas sanas pero su acumulación se incrementa dramáticamente después del ataque de un patógeno. Las fitoalexinas se acumulan en grandes cantidades tanto en el sitio de penetración como en las células y tejidos adyacentes a las células que reaccionan con la HR (Hammerschmidt 1999a). Entre las fitoalexinas más estudiadas se encuentran aquellas derivadas del metabolismo de los fenilpropanoides que tienen como base el aminoácido fenilalanina (Fig. 5).

La producción de fitoalexinas se ha correlacionado con la resistencia a patógenos y se asocia con la inducción de una serie de genes que codifican para enzimas específicas responsables de su síntesis (Fig 5). Entre ellas la fenilalanina amonio liasa (PAL), la chalcona sintasa (CHS) y la chalcona isomerasa (CHI). La síntesis *de novo* de estas enzimas, como respuesta a la infección se ha demostrado anteriormente (Cuyper *et al.* 1988). Sin embargo, una evidencia del

papel de las fitoalexinas en mecanismos de defensa se obtuvo cuando se demostró la capacidad de ciertos fitopatógenos, como el hongo *Nectria haematococca* (*Fusarium solani*) de detoxificar las fitoalexinas (VanEtten *et al.* 1995).

**Formación de barreras estructurales.** Uno de los mecanismos de defensa más evidentes es la producción y deposición de sustancias que actúan como barreras físicas evitando el avance de patógenos. La lignificación puede ser una característica constitutiva en algunas especies pero también puede ocurrir como un proceso de refuerzo de los tejidos cuando están sujetos a daño físico. La lignificación también se manifiesta durante la defensa a patógenos. La acumulación de lignina en grandes cantidades puede ocurrir de forma localizada en los tejidos atacados por patógenos. La lignina se produce por la unión enzimática de unidades de fenilpropanoides formando largos polímeros que confieren impermeabilidad y resistencia mecánica; además, la lignina es resistente a la degradación producida por muchos patógenos (Nicholson y Hammerschmidt 1992). La síntesis de lignina, al igual que la síntesis de ciertas fitoalexinas, se deriva del metabolismo de los fenilpropanoides en donde la enzima PAL juega un importante papel regulador (Fig. 5). Sin embargo, la síntesis *de novo* de otras enzimas, como la cinamil alcohol deshidrogenasa (CAD) y algunas peroxidasas, también ocurre durante la activación de la defensa contra los patógenos. Ciertas peroxidasas son encargadas de la polimerización de las unidades de fenilpropanoides que da lugar a la lignina (Barber *et al.* 1997).



**Figura 5.** Vía biosintética de las fitoalexinas isoflavonoides iniciándose a partir del aminoácido fenilalanina. Los sitios más importantes de regulación se indican con la enzima correspondiente: PAL = fenilalanina amonio liasa; CHS = Chalcona sintasa; CHI = Chalcona isomerasa. Nótese que PAL también regula la biosíntesis de lignina. Adaptado de: De Wit (1997).

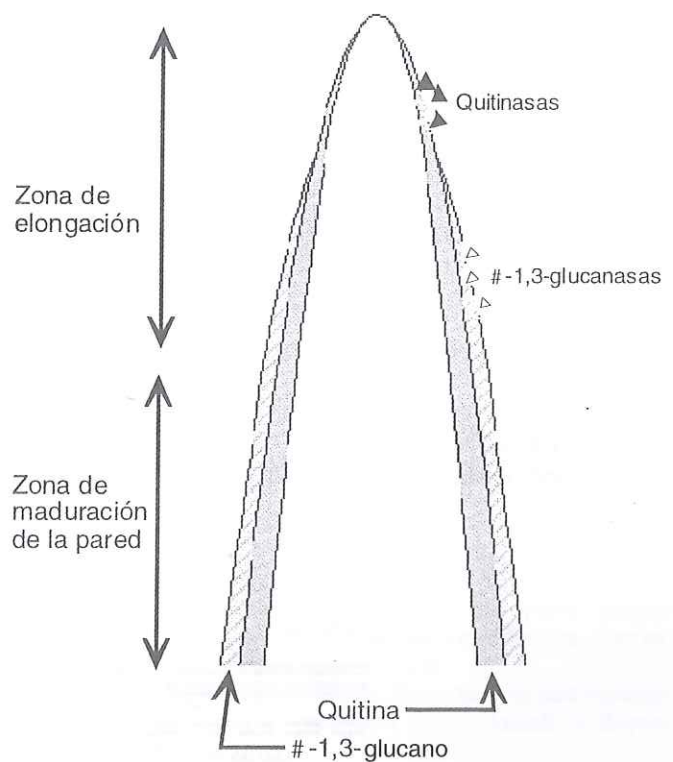


Aparte del proceso de lignificación, las plantas producen y depositan otras sustancias que previenen el avance de ciertos patógenos. Entre ellas se puede mencionar las proteínas ricas en hidroxiprolina o HRGP "hydroxyproline-rich glycoproteins", las cuales se acumulan alrededor de los sitios de ataque del patógeno evitando su penetración (Benhamou *et al.* 1990). Otro mecanismo estructural de defensa es la formación de papilas. La papila es una estructura de resistencia que se produce por modificaciones de las células de la epidermis. Las papilas están compuestas principalmente de calosa ( $\beta$ -1,3-glucano) y se asocian a la resistencia porque evitan la penetración de los hongos (Skalamera *et al.* 1997).

**Proteínas relacionadas con la patogénesis.** Estas proteínas también llamadas *proteínas PR*, son un grupo variable que se acumulan en las plantas después y durante la infección con patógenos. Las proteínas PR se identificaron inicialmente en tabaco durante la interacción con el virus del mosaico del tabaco. Estas se caracterizan por su bajo peso molecular, resistencia a las proteasas, de localización extracelular y con valores de pH extremos (Van Loon y Van Kammen 1970). La clasificación más simple se basa en los cinco grupos originalmente identificados para las proteínas PR de tabaco. Sin embargo, éstas han sido identificadas tanto en dicotiledóneas como en monocotiledóneas, lo que ha generado una nueva clasificación (Van Loon y Van Strien 1999). Algunas de las proteínas PR poseen actividades definidas tal como las PR-2 ( $\beta$ -1,3-glucanasas) y PR-3 (quitinasas). Esto sugiere que la alta expresión de las glucanasas y las quitinasas durante la patogénesis tiene una función importante en la defensa contra patógenos que contienen  $\beta$ -1,3-glucano y quitina (Fig. 6). De hecho, plantas de trigo y arroz manipuladas genéticamente para sobre expresar ciertas quitinasas demostraron ser más resistentes a los hongos *Erysiphe graminis* y *Magnaporthe grisea* respectivamente (Bliffeld *et al.* 1999, Nishizawa *et al.* 1999). A pesar de que algunas proteínas PR como las PR-2 y PR-3 poseen actividad antimicrobiana, aún se desconoce la función que tienen el resto de ellas durante la respuesta de defensa a patógenos y particularmente a patógenos virales.

**La resistencia sistémica.** La inoculación localizada con patógenos virulentos y avirulentos capaces de producir lesiones necróticas puede resultar en la inducción local o sistémica de resistencia. En ambos fenómenos, la planta muestra resistencia local (LAR) o sistémica (SAR) a un ataque subsecuente del patógeno (Fig. 4).

La resistencia sistémica adquirida es una respuesta de defensa activa, sistémica, de amplio espectro que se asocia a una alta expresión de genes PR (Hammerschmidt 1999b). En la mayoría de los casos, SAR es igualmente efectiva contra hongos, bacterias, virus o nematodos, independientemente del organismo inductor (Ryals *et al.* 1996). Los primeros estudios acerca del fenómeno SAR se realizaron en tabaco infectado con virus (Ross 1961). Sin embargo, recientemente se trabaja intensivamente con la planta modelo *Arabidopsis* (Glazebrook *et al.* 1997) y en menor grado con especies monocotiledóneas (Morris *et al.* 1998, Molina *et al.* 1999). La manifestación de SAR de manera sistémica en la planta implica la existencia de algún sistema de señales capaces de transmitirse a través de los tejidos. Las investigaciones realizadas indican que el ácido salicílico (SA) es la molécula que ha mostrado mayores evidencias de estar involucrada en las vías de SAR (Mauch-Mani y Métraux 1998). De esta forma, la inducción de SAR generalmente se correlaciona con incrementos en la acumulación de SA tanto localmente como sistémicamente (Lawton *et al.* 1995).



**Figura 6.** Modelo de la composición de la pared de una hifa en crecimiento. Las quitinasas y las  $\beta$ -1,3-glucanasas son capaces de inhibir el crecimiento del hongo mediante la hidrólisis de las capas de quitina y  $\beta$ -1,3-glucano. Adaptado de Bolter (1987).

La acumulación debida a la síntesis de *novoo* de las proteínas PR como parte de los mecanismos de resistencia inducida, está estrechamente asociada a la manifestación de SAR, que es un fenómeno de resistencia sistémica de amplio espectro (Ryals *et al.* 1996, Uknes *et al.* 1996).

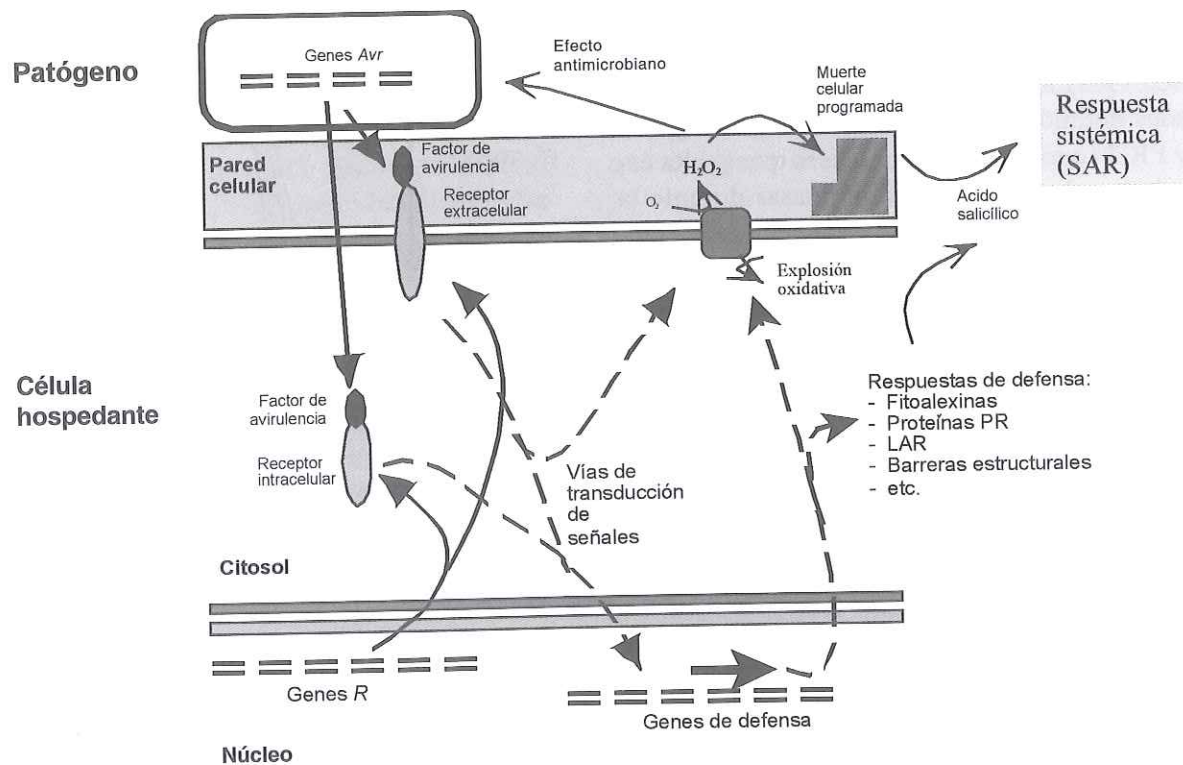
Otro tipo de resistencia sistémica inducida se desarrolla a partir de la colonización de las raíces de la planta por microorganismos de la rizosfera, particularmente rizobacterias. Este tipo de resistencia es conocida como *resistencia sistémica inducida* (ISR) y se caracteriza por estar mediada por vías metabólicas sensibles al ácido jasmónico y al etileno y ser independiente de la expresión de los genes PR y del ácido salicílico (Pieterse y Van Loon 1999).

### Consideraciones finales

El uso de las técnicas de la biología y la genética molecular ha generado gran cantidad información acerca de los mecanismos utilizados por las plantas para defenderse de los fitopatógenos. Los nuevos conocimientos confirman que la activación de defensa en las plantas tiene una base compleja que depende de la manifestación coordinada de un conjunto de mecanismos de defensa. Estos mecanismos responden a

la expresión o represión de genes cuyos productos participan en las diferentes vías metabólicas que participan en la defensa. Estos genes, llamados genes de defensa, conforman la base de la resistencia horizontal o poligénica conocida por los fitopatólogos y mejoradores de plantas. Los mecanismos de defensa de la *resistencia horizontal*, sean estos la producción de fitoalexinas, proteínas PR, deposición de lignina, reacción hipersensible o SAR; son los responsables de actuar en detrimento del patógeno invasor. En otras palabras, la defensa en plantas es básicamente poligénica.

Por otro lado, los genes *R* conforman la base de la *resistencia vertical* o monogénica u oligogénica. Los genes de resistencia se han utilizado en los programas de fitomejoramiento porque su incorporación en un cultivar dado es fenotípicamente detectable pues es determinante para la manifestación de la resistencia. A pesar de lo que sugiere su nombre, los genes *R* no son directamente responsables de la resistencia, sino que actúan como receptores de las señales (proteínas Avr) originadas del patógeno. Esto conlleva a la activación de diferentes cascadas de señales que en última instancia inician la expresión de genes responsables de los mecanismos de defensa (Fig. 7).



**Figura 7.** Modelo simplificado de la activación de las respuestas de defensa de la célula hospedante. El modelo se basa en una etapa de reconocimiento gen-por-gen que activa los mecanismos de defensa mediante vías de transducción de señales. Fuente: Collinge *et al.* (2001).

La utilización de mecanismos de defensa en plantas, particularmente la expresión y regulación de la resistencia de amplio espectro asociada al fenómeno SAR, surge como una alternativa viable para diseñar estrategias para el control de patógenos. La comprensión de los mecanismos naturales mediante los cuales las plantas son capaces de defenderse, permitirá producir plantas con mayores niveles de resistencia, sin que sea necesario hacer uso de genes foráneos o extraños a la especie. A pesar de que aún queda mucho por investigar, los esquemas basados en la regulación de los mecanismos naturales de respuesta al ataque de patógenos, representa una forma más viable y duradera de producir plantas genéticamente modificadas. En contraste con las estrategias que tienden a introducir genes foráneos y únicos de resistencia a patógenos; cuya capacidad de conferir resistencia es superada rápidamente por las poblaciones de patógenos o insectos.

### Literatura citada

- Arauz Cavallini, F. 1998. Fitopatología, Un enfoque agroecológico. San José, Costa Rica, Editorial de la Universidad de Costa Rica.
- Barber, MS; Mitchell, HJ. 1997 Regulation of phenylpropanoid metabolism in relation to lignin biosynthesis in plants. *International Review Of Cytology - A Survey Of Cell Biology* 172: 243-293.
- Benhamou, N; Mazau, D; Esquerré-Tugayé, MT. 1990. Immunocytochemical localization of hydroxyproline-rich glycoproteins in tomato root-cells infected by *Fusarium-oxysporum* f sp *radicis-lycopersici* - study of a compatible interaction. *Phytopathology* 80: 163-173.
- Bliffield, M; Mundy, J; Potrykus, I; Futterer, J. 1999. Genetic engineering of wheat for increased resistance to powdery mildew disease. *Theoretical and Applied Genetics* 98: 1079-1086.
- Boller T. 1987. Hydrolytic enzymes in plant disease resistance. *In* Kosuge T; Nester EW Ed. *Plant-Microbe Interactions: Molecular and Genetic Perspectives*. New York, Alan R. Liss. p. 247-262.
- Browning, JA. 1980. Genetic protective mechanism of plant-pathogen populations: their coevolution and use in breeding for resistance. *In* Harris, MK. Ed. *Biology and Breeding for resistance to arthropods and pathogens in agricultural plants*. Texas Agric. Stra. College Station, TX. p 52-75.
- Collinge, DB; Gregersen, P; Thordal-Christensen, H. 1994. The induction of gene expression in response to pathogenic microbes. *In* Mechanisms of plant growth and improved productivity, Modern approaches. Basra, AS. Ed. New York, Marcel Dekker. p. 391-433.
- Collinge, DB; Borch, J; Madriz-Ordeñana, K; Newman, M-A. 2001. The responses of plants to pathogens. *In* Hawkesford, MJ; Buchner, P. *Molecular analysis of plant adaptation to the environment*. Dordrecht, Holanda, Kluwer Academic Publishers.
- Cuypers, B; Schmelzer, E; Hahlbrock, K. 1988. *In situ* localization of rapidly accumulated phenylalanine ammonia-lyase mRNA around penetration sites of *Phytophthora infestans* in potato leaves. *Molecular Plant Microbe Interactions* 1: 157-160.
- Darvill, AG; Albersheim, P. 1984. Phytoalexins and their elicitors- A defence against microbial infection in plants. *Annual Review of Plant Physiology* 35: 243-275.
- De Wit, PJGM. 1997. Pathogen avirulence and plant resistance: a key role for recognition. *Trends in Plant Science* 2: 452-458.
- Ellis, J; Dodds, P; Pryor, T. 2000. The generation of plant disease resistance gene specificities. *Trends in Plant Science* 5: 373-379.
- Flor, HH. 1971. Current status of the gene-for-gene concept. *Annual Review of Phytopathology* 9: 275-296.
- Gabriel, DW; Rolfe, BG. 1990. Working Models of Specific Recognition in Plant-Microbe Interactions. *Annual Review of Phytopathology* 28: 365-391.
- Gabriel, DW. 1999. Why do pathogens carry avirulence genes?. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 55: 205-214.
- Gilchrist, DG. 1998. Programmed cell death in plant disease: The purpose and promise of cellular suicide. *Annual Review of Phytopathology* 36: 393-414.
- Glazebrook, J; Rogers, EE; Ausubel, FM. 1997. Use of Arabidopsis for genetic dissection of plant defense responses. *Annual Review of Genetics* 31: 547-569.
- Hammerschmidt, R. 1999a. Phytoalexins: What have we learned after 60 years? *Annual Review of Phytopathology* 37: 285-306.
- Hammerschmidt, R. 1999b. Induced disease resistance: how do induced plants stop pathogens. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 55: 77-84.
- Hammond-Kosack, KE; Jones, JDG. 1996. Resistance gene-dependent plant defense responses. *The Plant Cell* 8: 1773-1791.
- Heath, MC. 2000a. Nonhost resistance and nonspecific plant defenses. *Current Opinion in Plant Biology* 3: 315-319.
- Heath, MC. 2000b. Hypersensitive response-related death. *Plant Molecular Biology* 44: 321-334.
- Hutcheson, SW. 1998. Current concepts of active defense in plants. *Annual Review of Phytopathology* 36: 59-90.
- Keen, N. 1992. The molecular biology of disease resistance. *Plant Molecular Biology* 19: 109-122.
- Lamb, C. 1996. A ligand-receptor mechanism in plant-pathogen recognition. *Science* 274: 2038-2039.
- Lawton, K; Weymann, K; Friedrich, L; Vernooij, B; Uknes, S; Ryals, J. 1995. Systemic acquired resistance in Arabidopsis requires salicylic acid but not ethylene. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 8: 863-870.
- Levine, A; Tenhaken, R; Dixon, RA; Lamb, C. 1994. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> from the oxidative burst orchestrates the plant hypersensitive disease resistance response. *Cell* 79: 583-593.
- Martin, GB. 1999. Functional analysis of plant disease resistance genes and their downstream effectors. *Current Opinion in Plant Biology* 2: 273-279.
- Mauch-Mani, B; Métraux, JP. 1998. Salicylic acid and systemic acquired resistance to pathogen attack. *Annals of Botany* 82: 535-540.
- Molina, A; Görlach, J; Volrath, S; Ryals, J. 1999. Wheat genes encoding two types of PR-1 proteins are pathogen inducible, but not respond to activators of systemic acquired resistance. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 12: 53-58.

- Morris, SW; Vernooij, B; Titatarn, S; Starrett, M; Thomas, S; Wiltse, CC; Frederiksen, RA; Bhanhufalck, A; Julbert, S; Uknes, S. 1998. Induced resistance responses in maize. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 7: 643-658.
- Nicholson, RL; Hammerschmidt, R. 1992. Phenolic compounds and their role in disease resistance. *Annual Review of Phytopathology* 30: 369-389.
- Nishizawa, Y; Nishio, Z; Nakazono, K; Soma, M; Nakajima, E; Ugaki, M; Hibi, T. 1999. Enhanced resistance to blast (*Magnaporthe grisea*) in transgenic Japonica rice by constitutive expression of rice chitinase. *Theoretical and Applied Genetics* 99: 383-390.
- Norse, D; James, C; Skinner, B.J; Zhao Q. 1992. Problems of environment and development: Agriculture land use and degradation. *In An Agenda for Science and Development into the 21st Century*. Reino Unido, Cambridge Univ. Press. Cambridge. p. 79-89.
- Oerke, EC; Dehne HW; Schönbeck F; Weber A. 1994. Crop production and crop protection: Estimated losses in major food and cash crops. Amsterdam, Holanda, Elsevier. 808 p.
- Orozco-Cárdenas, ML; Narváez-Vásquez, J; Ryan, CA. 2001. Hydrogen Peroxide Acts as a Second Messenger for the Induction of Defense Genes in Tomato Plants in Response to Wounding, Systemin, and Methyl Jasmonate. *The Plant Cell* 13: 179-191.
- Osborn, AE. 1996. Preformed antimicrobial compounds and plant defense against fungal attack. *The Plant Cell* 8: 1821-1831.
- Pan, Q; Wendel, J; Fluhr, R. 2000. Divergent Evolution of Plant NBS-LRR Resistance Gene Homologues in Dicot and Cereal Genomes. *Journal of Molecular Evolution* 50: 203-213.
- Parker, JE; Coleman, M. 1997. Molecular intimacy between proteins specifying plant-pathogen recognition. *Trends in Biochemical Science* 22: 291-296.
- Paxton, JD. 1981. Phytoalexins: a working redefinition. *Phytopathology Z.* 101: 106-109.
- Pieterse, CMJ; Van Loon, LC. 1999. Salicylic acid-independent plant defence pathways. *Trends in Plant Science* 4: 52-58.
- Raff, M. 1998. Cell suicide for beginners. *Nature* 396: 119-122.
- Ross, AF. 1961. Systemic acquired resistance induced by localized virus infection of plants. *Virology* 14: 340-358.
- Ryals, JA; Neuenschwander, UH; Willits, MG; Molina, A; Steiner, H-Y; Hunt, MD. 1996. Systemic acquired resistance. *The Plant Cell* 8: 1009-1819.
- Skalamera, D; Jibodh, S; Heath, MC. 1997. Callose deposition during the interaction between cowpea (*Vigna unguiculata*) and the monokaryotic stage of the cowpea rust fungus (*Uromyces vignae*). *New Phytologist* 136: 511-524.
- Takken, FLW; Joosten, MHAJ. 2000. Plant resistance genes: their structure, function and evolution. *European Journal of Plant Pathology* 106: 699-713.
- Tang, X; Frederik, RD; Zhou, J; Harlerman, DA; Jia, Y; Martin, GB. 1996. Initiation of plant disease resistance by physical interaction of avrPto and Pto kinase. *Science* 274: 2060-2063.
- Uknes, S; Vernooij, B; Morris, S; Chandler, D; Steiner, H-Y; Specker, N; Hunt, M; Neuenschwander, UH; Lawton, K; Starrett, M; Friedrich, L; Weymann, K; Negrotto, D; Görlach, J; Lanahn, M; Salmeron, J; Ward, E; Kessmann, H; Ryals, J. 1996. Reduction of risk for growers: Methods for development of disease-resistant crops. *New Phytologist* 133: 3-10.
- VanEtten, HD; Sandroock, RW; Wasmann, CC; Soby, SD; McCluskey, K; Wang, P. 1995. Detoxification of phytoanticipins and phytoalexins by phytopathogenic fungi. *Canadian Journal of Botany* 73: 518-525.
- Van Loon, LC; Van Kammen, RT. 1970. Polyacrylamide disc electrophoresis of the soluble leaf proteins from *Nicotiana tabacum* var "Samsun NN". Changes in proteins constitution after infection with tobacco mosaic virus. *Virology* 40: 199-211.
- Van Loon, LC; Van Strien, EA. 1999. The families of pathogenesis-related proteins, their activities, and comparative analysis of PR-1 type proteins. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 55: 85-97.
- Vand der Plank, JE. 1968. Disease resistance in plants. New York, Academic Press. 206 p.
- Whitham, S; Dinesh-Kumar, SP; Choi, D; Hehl, R; Corr, C; Baker, B. 1994. The product of the tobacco mosaic virus resistance gene N: similarity to toll and the interleukin-1 receptor. *Cell* 78: 1101-1115.
- Whitham, S; McCormick, S; Baker. 1996. The N of tobacco confers resistance to tobacco mosaic virus in transgenic tomato. *Proceedings of the National Academy of Science, USA.* 93: 8776-8781.

## Extracción de ADN de individuos de *Radopholus similis*

Manfred Murrell<sup>1</sup>  
Claudia Zúñiga<sup>1</sup>  
Alejandro Esquivel<sup>2</sup>  
Jorge Madriz<sup>2</sup>

**RESUMEN.** *Radopholus similis* (Cobb 1893), causante de la "enfermedad del volcamiento en banano", provoca pérdidas importantes porque disminuye la capacidad de anclaje de la planta afectada, lo que a su vez reduce el peso del racimo y finalmente provoca la caída de la planta. Existe evidencia de que los rasgos fisiológicos referentes a la capacidad reproductiva y agresividad de *R. similis* en cultivos de banano, se deben a la existencia de varios biotipos o razas presentes en una población. Sin embargo, mediante los métodos tradicionales de caracterización morfológica no ha sido posible establecer esas diferencias, siendo necesario utilizar metodologías moleculares. El objetivo del trabajo fue desarrollar y/o validar una metodología para la extracción de ADN de *R. similis* aislados a partir de muestras de raíces de *Musa* AAA enfermas. La extracción de ADN se realizó en nematodos individuales, los cuales se identificaron utilizando medidas morfométricas y clasificados por sexo, de los cuales unos fueron fijados en alcohol al 95% y otros en formalina caliente al 4%; los productos de la extracción se resolvieron en geles de agarosa-TBE al 1% y se visualizaron en un transiluminador ultravioleta. Para estimar el tamaño aproximado de los fragmentos analizados, se utilizó un marcador de masa molecular de 0,5 hasta 10 Kb. El protocolo utilizado permitió observar una cantidad importante de ADN; no obstante, las variables concernientes a la concentración de agarosa, tiempo de exposición al amortiguador de extracción y período de electroforesis en gel influyeron directamente sobre la calidad de los resultados, dado que el material es muy susceptible a estos aspectos. No se presentaron diferencias en la cantidad del ADN **desplegado**, en relación con las sustancias utilizadas para la preservación de los nematodos; sin embargo los resultados demostraron que el almacenamiento prolongado de los especímenes en esas sustancias podría afectar la calidad del ADN.

**Palabras clave:** *Radopholus similis*, Banano, ADN, Taxonomía.

**ABSTRACT.** *Extraction of DNA from Radopholus similis individuals.* *R. similis* (Cobb 1893), causal agent of "banana leaning over disease", leads to important losses because the plants anchorage capacity is diminished, which in turn reduces the weight of the fruit and finally causes the plant to fall. There is evidence that physiological characteristics relating to the reproductive capacity and the aggressiveness of *R. similis* in banana plantations are due to the existence of several biotypes or races present in a population. However, with traditional methods of morphological characterization it has not been possible to establish these differences, utilization of molecular techniques is necessary. The objective of this study was to develop and/or to validate a methodology for the extraction of DNA from *R. similis* isolated from root samples of diseased *Musa* AAA. The extraction of DNA was carried out on individual nematodes, which were identified using morphometric methods and classified by sex, of which some were fixed in 95% alcohol and others in hot 4% formalin. The products of the extraction were resolved on 1% TBE-agar gels and visualized on an ultraviolet transilluminator. In order to estimate the approximate size of the analyzed fragments, a marker of molecular mass 0.5 up to 10 Kb was utilized. The methodology used made it possible to observe a significant amount of DNA. However, variables such as the concentration of agar, the time exposed to the extraction buffer and the period of electrophoresis on the gel directly influenced the quality of the results, since the material is very susceptible to these factors. No differences were found in the quantity of DNA obtained, in relation to the substances employed for the preservation of the nematodes; however the results demonstrated that prolonged storage of specimens in these substances could affect the quality of DNA.

**Key words:** *Radopholus similis*, Banana, DNA, Taxonomy.

<sup>1</sup> Instituto Tecnológico de Costa Rica. Cartago, Costa Rica.

<sup>2</sup> Escuela de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional. Heredia, Costa Rica.

## Introducción

Las estrategias clásicas para la clasificación y estudio de la diversidad biológica se basan en la variación morfológica, embriológica y de anatomía comparada de los individuos o poblaciones de interés humano. Recientemente, estas técnicas han sido complementadas con análisis moleculares que utilizan como herramienta principal la información desplegada en la doble hélice del ADN, el estudio de sus constituyentes químicos y la caracterización de macromoléculas de los organismos (Otero *et al.* 1997).

En este sentido, el reconocimiento de los nematodos como un grupo importante de agentes fitoparásitos explica el interés en diferentes aspectos de la biología, ecología y distribución geográfica de estos organismos. Sin embargo, son un grupo poco estudiado y actualmente sólo un 3% de la nematofauna existente ha sido descrita (Barker *et al.* 1994).

Aunque hay aproximadamente 2200 especies de nematodos fitoparásitos descritos, la mayor atención taxonómica se ha enfocado en menos de una docena que están típicamente asociados con enfermedades de especies agrícolas de importancia (Powers y Harris 1993).

En el caso específico del banano, se han reportado 43 géneros de nematodos que atacan este cultivo; entre los principales se encuentran: *Radopholus similis*, *Pratylenchus* sp. *Meloidogyne* sp. y *Helicotylenchus* sp.

El nematodo barrenador *Radopholus similis* se considera como el principal problema para el comercio intensivo del banano, especialmente para las variedades de exportación (Sarah *et al.* 1996). Este es un nematodo endoparásito migratorio que penetra totalmente las células de las raíces, causando inicialmente lesiones de color rojizo, que luego se tornan negras.

Algunos autores han encontrado diferencias fisiológicas en la capacidad reproductiva y en las variaciones morfológicas de *R. similis*, por lo que han sugerido la existencia de varios biotipos basados en la presencia de hospedantes, en el porcentaje de reproducción y agresividad.

En la zona caribeña de América Central, se han caracterizado tres patotipos concernientes a *R. similis*, basados en su rango de reproducción, preferencia de hospedantes (banano tipo ABB, AAA, AAB, AA, AB) y cariotipo. Los análisis enzimáticos (PGI) y de ADN indican la existencia de dos grupos genómicos, uno que ataca a cítricos y otro que infecta las plantas de banano (Sarah *et al.* 1996).

Las técnicas bioquímicas, incluyendo análisis de isoenzimas y electroforesis en gel, constituyen métodos potenciales para la definición sistemática de las relaciones entre nematodos. Las técnicas moleculares son especialmente útiles para la estimación de variación genética entre poblaciones (Huettel *et al.* 1983).

Cualquier diferencia genética detectable entre el ADN de dos organismos, sirve como una "etiqueta" o marcador genético que se convertirá en un rasgo característico de cada especie y permitirá diferenciarla, en caso de que se requieran estudios posteriores. Los marcadores moleculares son herramientas muy poderosas, tanto en el de mejoramiento genético como en la identificación de individuos y en estudios básicos de localización, aislamiento y caracterización de genes (Mendoza y Simpon 1996).

Marín *et al.* (1999) realizaron investigaciones basadas en la caracterización del ADN utilizando el método de amplificación al azar de segmentos polimórficos (RAPDs por sus siglas en inglés) de grupos de 1000 nematodos por cada aislamiento utilizado y al igual que otros autores, no encontraron diferencias entre la reproducción y parasitismo y la organización del genoma.

*R. similis* presenta características que son de especial interés al utilizarlos como fuente para la extracción de ADN; son organismos muy pequeños (miden en promedio 1000 micras), su ciclo de vida se lleva a cabo dentro de los tejidos de un hospedante y poseen una flora microbiana asociada a su sistema digestivo.

Para poder estudiar las diferencias intra poblacionales, se requiere de un método de extracción de ADN a partir de nematodos individuales, a fin de poder establecer la huella genética de cada uno. Por lo tanto, el objetivo general de este trabajo consistió en validar y/o desarrollar un protocolo de extracción de ADN de nematodos individuales para futuros trabajos de caracterización molecular.

## Materiales y métodos

### Extracción y fijado de los nematodos

A partir de una muestra de raíces de banano, se extrajeron los nematodos siguiendo la técnica combinada de macerado y papel de filtro (Stemerding 1963), la cual consistió en licuar 100 g de raíces durante 20 a 30 segundos en 500 ml de agua; después de un período de reposo de 20 min., la suspensión fue vertida sobre un juego superpuesto de cribas de 100 y 400 mallas respectivamente. Los restos de raíz retenidos en la criba más fina, se transfirieron a una criba de extracción de

20 centímetros de diámetro con filtro de papel toalla, colocada dentro de un recipiente con 100 cc de agua. Después de 24 a 48 h, todas las formas activas de nematodos pasaron a través del papel toalla y se recogieron en un pequeño volumen de agua (5-10 ml), al que se le agregó 40 ml de formalina caliente al 4 % o alcohol al 95% para su preservación.

### Medidas morfométricas de los nematodos

Para confirmar que los nematodos extraídos de las raíces de banano fueran realmente *R. similis*, se tomaron las medidas morfométricas en un microscopio de campo claro. Los especímenes fueron previamente montados en láminas permanentes y posteriormente medidos usando un micrómetro a 40X – 100X de magnificación.

Las proporciones básicas de los nematodos se calcularon mediante la fórmula sugerida por J.G de Man (Jacob y van Bezooijen, 1984). En donde:

**L**= longitud total del nematodo

**a**= longitud del cuerpo / ancho del cuerpo

**b**= longitud del cuerpo / longitud del esófago

**c**= longitud del cuerpo / longitud de la cola

**c'**= longitud de la cola / ancho del cuerpo en la región anal

**V%**= posición de la vulva en porcentaje en relación con la longitud del cuerpo

Además, se midió el ABW (ancho de cuerpo a nivel del ano) y el MBW (máximo ancho de cuerpo).

### Extracción de ADN

Una vez extraídos los nematodos del tejido vegetal, fueron transferidos individualmente a tubos de microcentrifuga de 1,5 ml de capacidad con 400 µl de TE (10 mM Tris HCl pH 8,0, y 1 mM EDTA pH 8,0) durante 20 minutos. Posteriormente cada nematodo se transfirió a un tubo con 20 µl de amortiguador de extracción (200 mM Tris-HCl pH 8,0; 250 mM NaCl, 25 mM EDTA y 0,5% SDS) por espacio de dos horas y media. Finalmente, se tomó una alícuota de 10 µl de ADN de cada tubo y se le agregó 1 µl de amortiguador muestra 6X.

Paralelamente se colocaron 40 ml de TBE 1X y 0,49 de agarosa para obtener una concentración final del 1% y se calentó en un horno de microondas hasta que la solución hirvió por 30 segundos. Se dejó enfriar hasta alcanzar una temperatura aproximada de 50 °C, se agregó 1 µl bromuro de etidio y se dispensó en una bandeja para electroforesis, colocándose los peines adecuados hasta lograr la solidificación.

Posteriormente, la bandeja se introdujo en la cubeta de electroforesis y el gel se cubrió con amortiguador TBE 1X. Las muestras se colocaron en el gel de agarosa, agregando en uno de los agujeros el marcador de masa molecular. Las muestras depositadas en el gel fueron sometidas a electroforesis por 2 min a 90 voltios y a 70 voltios por 7 min. Los productos de la extracción se visualizaron en un transiluminador ultravioleta y fueron fotografiados utilizando una película Polaroid® 667.

Las variables concernientes a la concentración de agarosa, tiempo de exposición al amortiguador de extracción y período de electroforesis en el gel fueron evaluadas constantemente, para optimizar los resultados del protocolo de extracción.

## Resultados y discusión

### Identificación morfológica

La identificación morfológica muestra nematodos pequeños de menos de 1 mm de longitud. y que presentan el cuerpo recto o ligeramente curvado ventralmente cuando es fijado por calor.

*R. similis* presenta un marcado dimorfismo sexual en la región anterior. Las hembras presentan la región cefálica baja, fuertemente esclerotizada, continua o ligeramente separada, anulosa o lisa. El estilete es bien desarrollado (de 14 a 23 µm); el cono y la columna presentan longitudes similares. El metacorpus está bien desarrollado y las glándulas del esófago traslapan el intestino dorsalmente. La vulva usualmente está localizada entre 50 y 60 % de la longitud del cuerpo, didélfica anfidélfica. La espermateca es de redondeada a oval y la cola elongada de conoide a subcilindroide (Esquivel 2001).

Los machos presentan la región cefálica alta y redondeada, separada por una incisura del resto del cuerpo. Tienen el estilete y esófago reducidos. La cola del macho es generalmente más afilada que la de la hembra. La bursa es subterminal y las espículas arqueadas. El gubernaculum es largo protusible con titilidae en posición distal. (Esquivel 2001).

Las medidas morfométricas informadas en la literatura para esta especie son las siguientes: **Hembras:** L= 520-880µm; a= 22-30µm; b= 4,7-7,4µm; c,= 2,9-4,0µm; V= 55-61%. **Machos:** L= 540-670µm; a= 31-44µm; c= 8-10µm; c'= 5,1-6,7µm; estilete= 12-17µm; espículas = 18-22mm (Manual of Agricultural Nematology 1991).

La evaluación morfométrica de varias hembras y machos (Cuadro 1 y 2) señalan que los individuos uti-

**Cuadro 1.** Medidas morfométricas de hembras de *R. similis* utilizadas para caracterización morfológica. Valores absolutos en ( $\mu\text{m}$ )

Hembra	L	a	b	c	c'	V (%)	ABW	MBW	Estilete
1	635,00	24,14	4,40	8,94	3,11	55	22,50	26,30	20,00
2	629,00	29,95	4,26	9,12	4,66	55	15,00	21,00	20,00
3	535,00	26,75	4,46	8,92	3,64	56	16,50	20,50	17,50
4	706,00	29,41	4,55	9,94	3,94	57	18,00	24,00	20,00
5	707,50	31,44	4,63	10,48	3,37	58	20,00	22,50	20,00
6	715,00	31,77	4,61	9,53	4,28	57	17,50	22,50	22,50
7	706,25	32,10	4,52	14,12	2,77	59	18,00	22,00	18,75
8	647,50	32,37	4,38	9,25	4,00	55	17,50	20,00	22,50
<b>Promedio</b>	<b>660,01</b>	<b>29,74</b>	<b>4,47</b>	<b>10,04</b>	<b>3,72</b>	<b>56</b>	<b>18,12</b>	<b>22,35</b>	<b>20,15</b>

**Cuadro 2.** Medidas morfométricas de machos de *R. similis* para su caracterización morfológica. Valores absolutos en ( $\mu\text{m}$ )

Macho	L	a	c	c'	ABW	MBW	Espícula
1	347,50	23,16	4,96	5,60	12,5	15,0	20,0
2	593,50	29,67	8,47	5,60	12,5	20,0	20,0
3	634,50	37,32	7,83	5,40	15,0	17,0	20,0
4	583,50	34,32	7,73	5,40	12,0	17,0	17,0
5	591,00	36,93	7,61	4,78	14,0	16,0	18,0
<b>Promedio</b>	<b>550,00</b>	<b>32,28</b>	<b>7,32</b>	<b>5,35</b>	<b>13,2</b>	<b>17,0</b>	<b>19,0</b>

lizados para la estandarización de la metodología de extracción de ADN corresponden al género y especie en estudio. Los datos evidencian una clara diferencia entre machos y hembras, no sólo en su estructura genital, sino también en su tamaño relativo, siendo las hembras mucho más largas y gruesas, lo cual se asocia con aspectos reproductivos.

Estudios moleculares recientes indican que existe gran semejanza genómica entre los distintos aislamientos de *R. similis* recolectados en diferentes partes del mundo. Esto contrasta con lo encontrado para la mayoría de nematodos fitoparásitos, donde las diferencias en el ámbito de hospedantes, distribución geográfica y reproducción se pueden detectar con facilidad mediante análisis de PCR y análisis de restricción RAPD, probablemente estos resultados obedecen a que la caracterización molecular aplicada a *R. similis* ha sido sobre poblaciones y no sobre individuos.

Considerando la importancia que tiene este nematodo en el agroecosistema del banano en Costa Rica y la evidencia en su capacidad reproductiva, se hace necesario la puesta en práctica de otras técnicas que ayuden a esclarecer la existencia o no de razas fisiológicas de este organismo. Los resultados preliminares de esta investigación, constituyen uno de los pri-

meros pasos dados en Costa Rica, para extraer ADN a partir de individuos de *R. similis*, herramienta que podría ser de mucha utilidad para determinar diferencias entre poblaciones.

### Extracción de ADN

Considerando que la manipulación y sexado de los nematodos individuales es un proceso bastante complejo y que la cantidad de ADN contenido en una muestra de este tipo es muy reducida, se evaluó inicialmente el protocolo de extracción de ADN sugerido por Cenis (1992); no obstante, no fue posible observar muestras de ADN del nematodo en el gel. Lo anterior probablemente se debió a la pérdida y desintegración del ADN durante los diferentes pasos del proceso, ya que en el mismo es necesario un período de maceración, centrifugación y resuspensión del nematodo en el amortiguador de extracción, por lo que es comprensible que al final del procedimiento no se obtuvieran los resultados esperados.

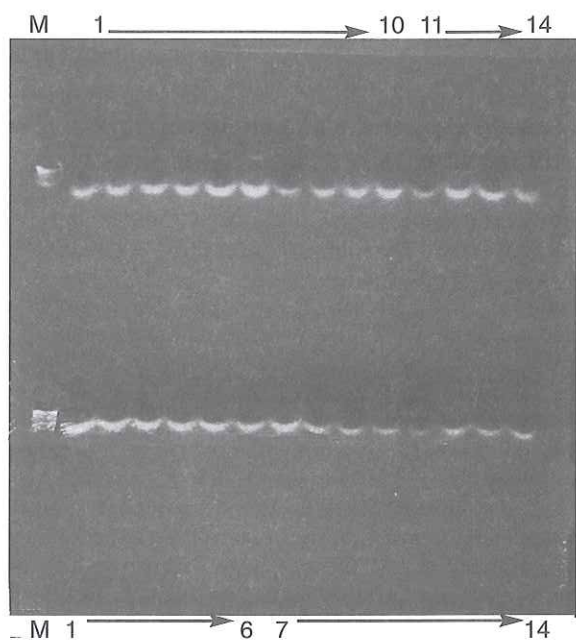
En este caso, Kelly *et al.* (1997) aseguran que la extracción de ADN a través de pasos que involucran la precipitación y el constante traspaso de las muestras, podría dar como resultado la pérdida sustancial del material. En contraste, sugieren que la digestión de los



tejidos en análisis, se debe realizar bajo un sistema simple y que no incluya la remoción de las muestras.

Con base en esta recomendación, se procedió a modificar el protocolo de extracción, de modo que la manipulación del ADN durante el proceso de digestión fuese mínima y más eficiente. Por lo tanto, el número de pasos se redujo sustancialmente, eliminándose las labores de maceración y centrifugación.

Los resultados obtenidos siguiendo la metodología descrita, evidenció que la extracción de ADN a partir de nematodos individuales de *R. similis* es posible, ya que se pudo observar el despliegue de un patrón de bandas en el gel de agarosa (Fig. 1).



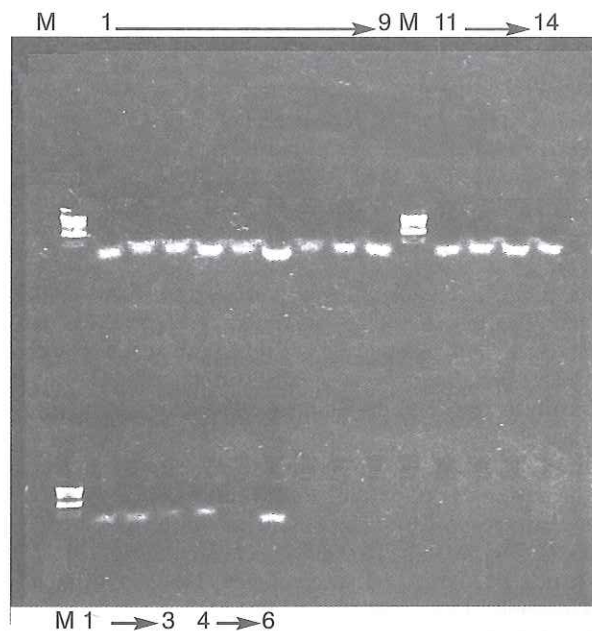
**Figura 1.** Gel de agarosa al 1% mostrando bandas de ADN de nematodos individuales. **M**= marcador de masa molecular. **Arriba:** 1-10= hembras preservadas en alcohol; 11-14= hembras preservadas en formalina. **Abajo:** 1-6= hembras preservadas en formalina; 7-14= machos preservados en alcohol.

En dicha figura se distingue una ligera diferencia, correspondiente a la cantidad de ADN desplegado por las hembras con respecto a los machos. Esta situación se debe a que en esta especie, las hembras alcanzan un mayor desarrollo morfológico y por ende, las alícuotas de los ensayos para este sexo contienen una mayor concentración de ADN.

Un aspecto evaluado como parte de la metodología, fue el efecto de las sustancias preservantes (alcohol al 95% y formalina al 4%) sobre los nematodos y la viabilidad de su ADN después de un período de tiempo. Al respecto se puede señalar que después de cuatro semanas, los nematodos preservados en ambas sustancias, vistos bajo el microscopio, presentaron ras-

gos de degeneración; en tanto que los resultados obtenidos al usar este tipo de material para la extracción de ADN, mostraron ser inferiores o deficientes en comparación con el uso de nematodos más frescos (con pocos días o semanas de haber sido tratados).

Los mejores resultados en cuanto cantidad y calidad del ADN (observado en el gel de agarosa), se presentaron al emplear nematodos vivos y recién extraídos del tejido vegetal. En la figura 2, se puede observar que los nematodos vivos desarrollaron un patrón de bandas más claro y voluminoso que los nematodos con cierto grado de preservación. Lo anterior coincide con lo reportado por Kelley *et al.* (1997), quienes indican que los nematodos de la especie *Caenorhabditis elegans* fijados en formalina pocos días antes de la extracción, contenían suficiente cantidad de ADN para permitir una adecuada amplificación de las secuencias seleccionadas.



**Figura 2.** Gel de TBE-agarosa al 1%. **M**= marcador de masa molecular. **Arriba:** 1-9= hembras no preservadas; 11-14= machos no preservados. **Abajo:** 1-3= hembras preservadas en formalina; 4-6= hembras preservadas en alcohol.

Otras variables que influyeron en los resultados, fueron el tiempo y voltaje a los cuales se realizó la electroforesis de las muestras; así como la concentración del gel de agarosa. Inicialmente, se estableció que los tiempos de electroforesis no deben ser demasiado prolongados para prevenir la pérdida del material, de igual manera, concentraciones de agarosa menores al 1% favorecen que el ADN se difunda a través de los poros de la agarosa.

## Conclusiones y recomendaciones

La identificación de *R. similis* por medio de sus rasgos morfológicos, confirmó la existencia de un marcado dimorfismo sexual en la región anterior de esta especie. En general, las hembras de esta especie presentan longitudes superiores a las de los machos, sobre todo en cuanto a la funcionalidad del sistema digestivo.

La extracción de ADN a partir de nematodos individuales de *R. similis* es posible, ya que se observó el despliegue de un patrón de bandas en el gel de agarosa. La manipulación de nematodos individuales, así como la limitada cantidad de ADN que se puede extraer de los mismos, constituyen factores que deben ser considerados en el desarrollo del protocolo para la extracción de ADN. La metodología que se utilice debe ser sencilla, con un mínimo de pasos que no involucren la remoción constante de las muestras. Los tiempos de electroforesis no deben ser demasiado prolongados pa-

ra prevenir la pérdida del material. Las concentraciones de agarosa menores al 1% favorecen que el ADN difunda mejor a través de los poros de la agarosa.

Los nematodos hembra desplegaron una mayor cantidad de ADN en comparación con los machos.

Después de cuatro semanas, los nematodos preservados en alcohol al 95% o en formalina al 4% presentan rasgos de degeneración, haciendo poco práctico su uso como material de prueba. Se obtuvo mayor cantidad de ADN cuando se emplearon nematodos vivos y recién extraídos del tejido vegetal.

## Agradecimientos

A la Vicerrectoría de Investigación del Instituto Tecnológico de Costa Rica por el financiamiento parcial del trabajo y a la Corporación Bananera Nacional (CORBANA) por brindar y facilitar el material vegetal para la extracción de los nematodos.

## Literatura citada

- Barker, KR; Hussey, RS; Krusberg, LR; Bird, GW.; Dunn, RA; Ferris, H; Ferris, VR; Freckman, DW; Gabriel, CJ; Grewal, PS; MacGuidwin, AE; Riddle, DL; Roberts, PA; Schmitt, DP. 1994. Plant and Soil Nematodes: Social Impact and Focus for the Future. *Journal of Nematology* 26 (2):127-137.
- Cenis, J. 1992. Rapid extraction of fungal DNA for PCR amplification. *Nucleic Acid Research*. 20(9):2380.
- Esquivel, A. 2001. Unidad Básica de Información. Especies de Costa Rica. *Radopholus similis*. (Cobb, 1893) Thorne 1949. Instituto Nacional de Biodiversidad. <http://darnis.inbio.ac.cr/ubi>
- Huettel, R; Dickson, DW; Kaplan, DT. 1983. Biochemical identification of two races of *Radopholus similis* by starch gel electrophoresis. *Journal of Nematology* 15(3):338-344.
- Jacob, JJ; Van Bezooijen, J. 1984. A manual for practical work in nematology. 4. ed. Wageningen, Holland, Agricultural University, Department of Nematology. p 5-7.
- Kelley, T; Vida, J; Frisse, L; Mundo, M; Baldwin, J. 1997. DNA sequences from formalin-fixed nematodes: integrating molecular and morphological approaches to taxonomy. *Journal of Nematology* 29(3):250-254.
- Manual of Agricultural Nematology. 1991. The family pratylechidae-thorne. 1949. New York, Marcel Dekker Inc. p. 406-410.
- Marín, DH; Kaplan, DT; Opperman, CH. 1999. Randomly Amplified Polymorphic DNA differs with borrowing nematode collection site, but not with host range. *Journal of Nematology* 31(2):232-239.
- Mendoza, A; Simpson, H. 1996. Uso de marcadores moleculares en la agronomía. *Avance y perspectiva* 16:53-57.
- Otero, A; De la Cruz, M; Oyaka, K. 1997. El uso de los RAPDs como marcadores moleculares en plantas. *Bol Soc.Bol.* 60:85
- Power, TO; Harris, TS. 1993. A polymerase chain reaction method for identification of five *Meloidogyne* species. *Journal of Nematology* 25(1):1-6.
- Sarah, JL; Pinochet, J; Stanton, J. 1996. The burrowing nematode of bananas. *Parc Scientifique Agropolis II.* Francia.
- Stemerding, S. 1963. Een mixer-watterfilter methode om vrijbe-weeglijke endoparasitaire neamtoden uit wortels te verzamelen. *Versl. Meded. Plziektenk. Dienst, Wageningen* 144:170-175.

# Caracterización y utilización de un Nucleopoliedrovirus patógeno a *Spodoptera eridania* y *S. ochrea*

Juana Luna Rodríguez<sup>1</sup>  
Juan Carlos Cabrera-La Rosa<sup>1</sup>  
Ernesto Pinedo<sup>2</sup>  
Delia Pinto<sup>2</sup>  
Jean-Louis Zeddam<sup>3</sup>

**RESUMEN.** Los virus entomopatógenos han demostrado su eficacia como agentes de control biológico. Entre éstos, los Virus de la Poliedrosis Nuclear (NPV) se han utilizado con éxito para el control de varias plagas de importancia económica. Un virus que pertenece al género de los Nucleopoliedrovirus (familia *Baculoviridae*) fue aislado de larvas de *Spodoptera* sp. recolectadas en Perú. Los cuerpos de inclusión (CI) de este virus, denominado SpocNPV, tienen una simetría cúbica. El SpocNPV fue patogénico para las plagas *Spodoptera eridania* y *S. ochrea*. La dosis letal media (DL<sub>50</sub>) para larvas de tercer instar de *S. eridania* fue determinada en aproximadamente 80 225 CI/individuo. Las aplicaciones de suspensiones acuosas del SpocNPV (en dosis equivalentes a 4,3 x 10<sup>12</sup> CI/ha) permitieron controlar totalmente *S. eridania* en parcelas de camote. En plantaciones de tomate infestadas por *S. eridania* y *S. ochrea*, la aplicación de 3,3 x 10<sup>12</sup> CI/ha produjo una reducción de casi 80 % en las poblaciones de las plagas.

**Palabras clave:** Entomopatógeno, Nucleopoliedrovirus, NPV, Control biológico, *Spodoptera eridania*, *Spodoptera ochrea*, Camote, Tomate.

**ABSTRACT. Characterization and utilization of a Nucleopolyhedrovirus pathogenic to *Spodoptera eridania* and *S. ochrea*.** Entomopathogenic viruses have demonstrated their efficacy as biological control agents. Amongst these, the Nucleopolyhedrovirus (NPV) has been successfully utilized for the control of several economically important pests. A virus belonging to the Nucleopolyhedrovirus genus (family *Baculoviridae*) was isolated from *Spodoptera* sp. larvae collected in Peru. The inclusion bodies (IB) of this virus, denominated SpocNPV, are cubic symmetrical. SpocNPV was pathogenic to *S. eridania* and *S. ochrea* pests. The medium lethal dose (LD<sub>50</sub>) for third instar larvae of *S. eridania* was approximately determined as 80 225 IB/individual. Application of aqueous suspensions of SpocNPV (in doses equivalent to 4.3 x 10<sup>12</sup> IB/ha) provided total control of *S. eridania* in sweet potato plots. Application of 3.3 x 10<sup>12</sup> IB/ha produced a reduction of 80% in the pest populations in tomato plantations infested by *S. eridania* and *S. ochrea*.

**Key words:** Entomopathogen, Nucleopolyhedrovirus, NPV, Biological control, *Spodoptera eridania*, *Spodoptera ochrea*, Sweet potato, Tomato.

## Introducción

Los Noctuidae constituyen la familia del orden Lepidoptera que mayor daño causa a los cultivos. En esta familia, el género *Spodoptera* agrupa a numerosas especies plaga que están distribuidas en todo el mundo y que afectan diversas plantas.

En la costa del Perú, *Spodoptera eridania* Cramer y *Spodoptera ochrea* Hampson son los principales defoliadores del cultivo de camote y tomate, respectivamente (Sánchez y Vergara 1996).

*S. eridania* es una especie polífaga, considerada como una de las plagas de mayor importancia económica porque afecta a diversos cultivos. Esta plaga se alimenta del follaje de camote, tomate, algodón, papa, alfalfa, yuyo (*Ricinus communis*), verdolaga, entre otros y se ha informado que por ser las dos últimas es-

<sup>1</sup> CIP. Apartado 1558, Lima, Perú.

<sup>2</sup> UNALM, Apartado 456, Lima, Perú.

<sup>3</sup> CIP. Lima Perú. Dirección actual: IRD, 213, rue La Fayette, 75480 Paris Cedex 10, Francia. jzeddam@yahoo.com

pecies malezas y encontrarse frecuentemente en el campo, constituyen la fuente primaria de infestación (Sánchez y Vergara 1996). *S. eridania* se distribuye en toda América tropical hasta las regiones templadas al norte de New York (Todd y Poole 1980).

*S. ochrea* se encuentra distribuida en Centro América y América del Sur e infesta diversos cultivos. Es defoliador pero afecta también los frutos del tomate al realizar rasgaduras profundas, lo cual disminuye su valor comercial y provoca su pudrición debido a la invasión de otros organismos (Sánchez y Vergara 1996).

La aplicación exclusiva, y a menudo excesiva, de insecticidas para el control de estas plagas causa daños al ambiente e incluso puede inducir el surgimiento de resistencia por las plagas a estos insecticidas. Por tanto, la búsqueda de métodos alternativos de control adquiere importancia en la protección de los cultivos, por lo cual es esencial evaluar el potencial de los agentes de control biológico como depredadores, parasitoides y microorganismos patógenos, para la regulación de las plagas.

Entre estos microorganismos, los virus entomopatógenos se han usado con gran éxito para el control de otras plagas. El virus de la Poliedrosis Nuclear o Nucleopoliedrovirus (NPV)<sup>4</sup> es un agente promisorio para el control de especies plaga antes mencionadas. Los NPV son virus que pertenecen a la familia de los *Baculoviridae*. Se caracterizan por la producción de cuerpos de inclusión (CI) al final del ciclo viral. Los CI están constituidos por una matriz proteica cristalina cuyo componente principal es la poliedrina (con un peso molecular entre 25-33 kDa). Cada CI, de forma poliedral y de tamaño 0,1 a 15  $\mu\text{m}$ , incluye a muchos viriones. Los viriones corresponden a una o varias nucleocapsides (NC) alargadas (30-60 nm de diámetro y 250-300 nm de largo) envueltas dentro de una membrana. Cada NC contiene una molécula de ADN doble cadena circular de tamaño 80-180 x  $10^3$  bases (ICTV 2000).

Los NPV poseen diversas características específicas que los convierten en excelentes candidatos para su uso como controladores biológicos (Hunter *et al.* 1984, Bohmfalk 1986, Cuningham 1995, Moscardi 1999). Esta constituye una de las razones por las cuales los NPV son uno de los grupos de virus entomopatógenos más estudiados. Los trabajos realizados en diferentes países han permitido que ciertos NPV

(aislados de plagas de mayor interés económico) sean empleados de forma artesanal o a gran escala para reducir los daños causados a las cosechas por plagas entomológicas (Betz 1986, Huber 1986, Bustillo 1989, Cisneros 1995, Moscardi 1997). Los NPV sólo infectan a los invertebrados y principalmente a los del orden Lepidoptera (ICTV 2000). Ningún miembro de este género de virus se ha reportado infectando a vertebrados o plantas (Groner 1986). La utilización de estos patógenos como agentes de control biológico ha recibido el respaldo de la Organización Mundial de la Salud (OMS/FAO 1973).

El objetivo del trabajo fue la búsqueda de virus patógenos presentes en las poblaciones naturales de *S. eridania* y *S. ochrea*, así como su caracterización y evaluación bajo condiciones de laboratorio y campo.

## Materiales y métodos

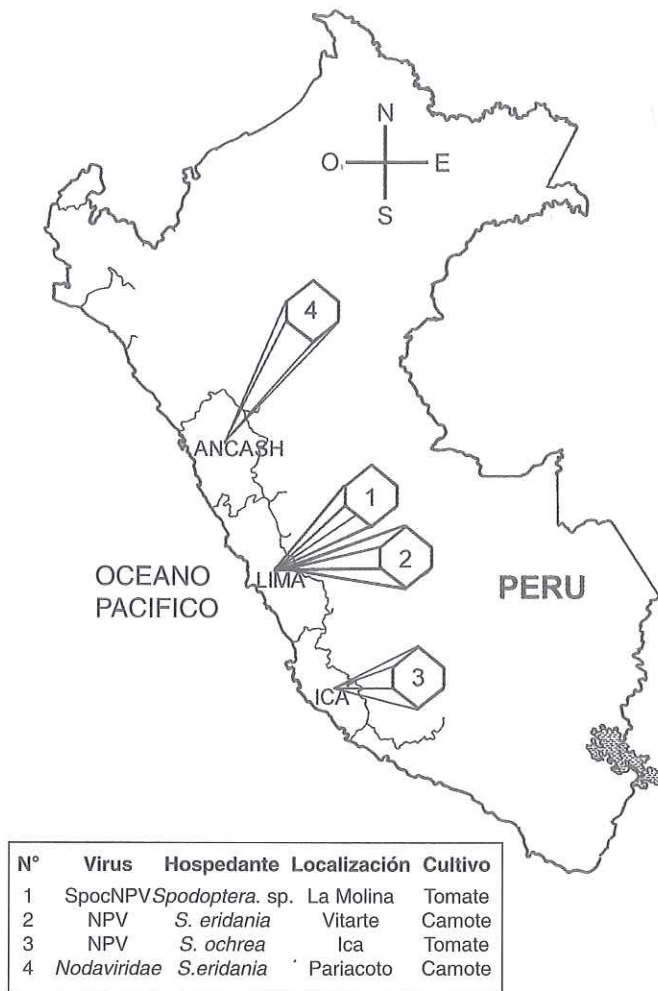
**Ubicación del experimento:** La crianza masiva de *S. eridania* y *S. ochrea* se realizó en un ambiente controlado (temperatura de 15,4 °C y HR 80%) de la Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM). Los análisis bioquímicos y microscópicos así como los bioensayos se realizaron en el Departamento de Entomología del Centro Internacional de la Papa (CIP), localizado en La Molina, Perú. En esta localidad la temperatura promedio fue de 24 °C y la HR 70%.

**Recolección de especímenes infectados por el virus:** Se recolectaron larvas de *S. eridania* y *S. ochrea* muertas o que mostraban síntomas de enfermedad tales como cambios en la coloración de los tegumentos y comportamiento no habitual, con el propósito de detectar y aislar los virus que las infectaban. Los sitios en los cuales se realizaron las recolecciones fueron Ica, Vitarte, La Molina y Pariacoto (Fig. 1), específicamente en los cultivos de camote y tomate

**Identificación de los virus:** Los NPV fueron identificados por observación directa de los cuerpos de inclusión o poliedros presentes en los tejidos de los especímenes infectados. El examen se realizó con un microscopio fotónico a una magnificación de 400 x. Los virus que pertenecían a grupos diferentes de los NPV fueron visualizados usando un microscopio electrónico.

**Multiplicación y purificación de los NPV:** Los NPV fueron suministrados a larvas de cuarto instar de *S. eridania* mediante la contaminación de su alimento. Las larvas muertas por la infección viral fueron almacenadas a -20°C hasta su procesamiento.

<sup>4</sup> De acuerdo a la taxonomía de ICTV. Antes citado como VPN



**Figura 1.** Lugares de procedencia de los virus aislados de *S. eridania* y *S. ochrea*.

La purificación de los NPV se realizó a partir de un homogenizado de larvas infectadas según la metodología de Alves (1986). Este proceso incluye una centrifugación (1 h/ 30000 rpm) sobre un gradiente lineal de sacarosa de concentración 45% a 80% (p/v).

**Electroforesis en gel de poliácridamida:** El peso molecular de la poliedrina (proteína constitutiva del cuerpo de inclusión) de los diferentes NPV encontrados fue determinado por electroforesis en gel de poliácridamida de acuerdo al método de Laemmli (1970).

**Cuantificación del número de cuerpos de inclusión:** El número de CI presentes en las suspensiones virales fue calculado a partir de conteos realizados con la cámara de Neubauer.

**Determinación de la  $DL_{50}$ :** Para determinar la dosis letal media ( $DL_{50}$ ) se utilizaron larvas de *S. eridania* de tercer instar. Grupos de 30 especímenes fueron alimentados con dieta contaminada con diferentes cantidades de una suspensión purificada del NPV. Se evaluaron siete dosis del virus (487800, 223100, 162600,

148000, 46200, 41500 y 21600 CI/larva, respectivamente). Se registró la mortalidad diariamente por un período de 17 días. Todas las larvas muertas fueron observadas para determinar la presencia de CI utilizando un microscopio de luz. Para cada experimento se mantuvo un tratamiento testigo.

Los datos obtenidos de los bioensayos fueron analizados mediante el programa Analyse de la dose léthale 50; version 3.0" (Angeles y Alcázar 1995).

**Producción de antisuero y prueba de ELISA:** El antisuero anti-NPV fue obtenido utilizando conejos a los cuales se les aplicaron repetidas inyecciones intramusculares del virus purificado. Se utilizó el método indirecto de la técnica Enzyme-Linked Immuno-Sorbent Assay o ELISA (Clark y Adams 1977, Brown *et al.* 1982) para detectar los NPV en homogenizados de larvas infectadas por estos virus.

**Evaluación en condiciones de campo:** Se aplicaron suspensiones acuosas del SpocNPV (con 0,1% de dispersante) una sola vez en plantaciones de camote y tomate usando un pulverizador manual. En cada uno de los ensayos se usaron tres parcelas de 100 m<sup>2</sup> cada una, más una parcela testigo. El diseño experimental fue de bloques completamente al azar. Las evaluaciones de las poblaciones se realizaron antes del tratamiento así como 3 y 6 días después. Para ello, se contaron todas las larvas presentes en tres plantas por parcela. En Cañete se realizaron dos experimentos en plantaciones de camote infestados naturalmente por *S. eridania*. Las dosis evaluadas fueron  $8,4 \times 10^{12}$  y  $4,3 \times 10^{12}$  CI/ha.

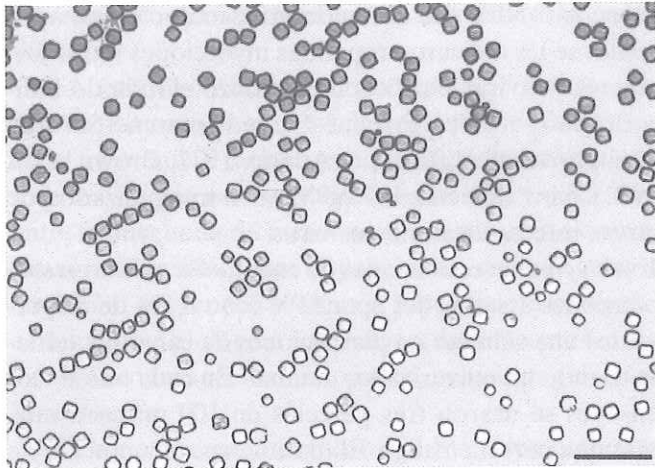
Un tercer experimento se realizó en La Molina en una plantación de tomate infestada en forma natural por *S. eridania* y *S. ochrea* simultáneamente. El ensayo fue realizado cuando las larvas se encontraban entre el primer y el tercer instar. Se comparó la reducción de las poblaciones de las plagas después de la aplicación de NPV ( $3,3 \times 10^{12}$  CI/ha) con respecto al efecto del uso de varios insecticidas sintéticos de uso común en la zona (Cuadro 1).

**Cuadro 1.** Dosis de NPV y cinco insecticidas sintéticos utilizados como comparadores de la eficiencia del virus para el control de *S. eridania* y *S. ochrea*, en el cultivo del tomate.

Tratamientos	Dosis/ha
SpocNPV	$3,3 \times 10^{12}$ CI
Clorpirifos (Lorsban)	0,3 L
Permetrina (Pounce)	0,5 L
a-cypermtrina (Fastac)	0,6 L
b-cyflutrina (Bulldock)	0,5 L
Cyflutrina (Baytroide)	0,5 L

## Resultados y discusión

**Virus entomopatógenos aislados:** Como resultado de los muestreos realizados, se encontraron tres virus de Poliedrosis Nuclear (NPV) en larvas de *Spodoptera* sp. procedentes de La Molina, Vitarte e Ica, respectivamente. Además, en un grupo de larvas de *S. eridania* provenientes de Pariacoto (Departamento de Ancash), mantenidas en crianza, se encontró un *Nodaviridae* (Fig. 2) (Zeddám *et al.* 1999).



**Figura 2.** Cuerpos de inclusión del SpocNPV (barra: 10  $\mu$ m).

Los CI de los diferentes aislamientos de NPV difieren en su forma y tamaño. Además, la poliedrina, de cada uno de ellos, tiene un peso molecular particular. Estos resultados, incluidos en el Cuadro 2, demuestran que existen por lo menos tres NPV diferentes que afectan al complejo *S. eridania* y *S. ochrea*.

El NPV recolectado en La Molina (Fig. 1) fue utilizado para el desarrollo de las siguientes etapas de investigación. De conformidad con las reglas del Inter-

national Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV), este virus fue denominado SpocNPV (ICTV 2000).

**Síntomas provocados por la enfermedad viral:** Los primeros experimentos realizados en condiciones de laboratorio permitieron establecer que el SpocNPV mostró alta patogenicidad en larvas de ambas especies de *Spodoptera*. La mortalidad provocada por el NPV proveniente de Vitarte fue más lenta. El NPV aislado de larvas de *S. ochrea* provenientes de Ica no se logró multiplicar sobre larvas de *S. eridania*.

Los especímenes infectados por el SpocNPV presentaron los siguientes síntomas: una reducción y posterior paralización de la alimentación, simultáneamente comenzaron a desplazarse en el medio de manera inusual, en forma errática (las larvas se dispersaron en las cajas al azar sin tener en cuenta el sitio donde se depositó la comida). También las larvas se tornaron más claras. Frecuentemente, y poco antes de morir, las larvas se colgaron de sus propatas, con la cabeza hacia abajo, en las partes altas de las plantas. En esa fase de la enfermedad, la mayoría de ellas presentan un aspecto blanquecino. La velocidad de acción del virus depende de la dosis ingerida y más importante aún, del instar, siendo las larvas pequeñas afectadas mucho más rápido que las de mayor tamaño.

**Dosis letal media:** En los bioensayos se determinó una dosis letal media ( $DL_{50}$ ) de aproximadamente 80 225 poliedros por larva de tercer instar de *S. eridania* (Cuadro 3). La  $DL_{50}$  para *S. ochrea* no se pudo calcular debido a que SpocNPV resultó ser extremadamente patogénico a esa especie, así que logró 100% de mortalidad con todas las dosis del virus evaluadas.

**Producción viral:** El número de CI encontrados en larvas de quinto y sexto instar fue ligeramente dife-

**Cuadro 2.** Características morfológicas y bioquímicas de tres NPV aislados de *S. eridania* y *S. ochrea*.

Virus	Hospedante	Lugar de recolección	Morfología de los poliedros	Diámetro de los poliedros (en micras)	Peso molecular de la poliedrina (en Da)
NPV	<i>Spodoptera</i> sp.	La Molina	Cúbico	2,22 $\pm$ 0,57	29 400 $\pm$ 200
NPV	<i>S. eridania</i>	Vitarte	Poliédrico	1,43 $\pm$ 0,30	28 750 $\pm$ 200
NPV	<i>S. ochrea</i>	Ica	Poliédrico	1,05 $\pm$ 0,11	28 100 $\pm$ 200

**Cuadro 3.**  $DL_{20}$ ,  $DL_{50}$  y  $DL_{90}$  del SpocVPN sobre larvas de tercer instar de *S. eridania*.

Dosis letal	Dosis promedio (CI/larva)	Límite inferior (CI/larva)	Límite superior (CI/larva)
$DL_{90}$	638 303	363 064	1 122 203
$DL_{50}$	80 225	59 561	108 058
$DL_{20}$	20 550	12 486	33 824

rente en las dos especies de *Spodoptera*. Se observó que, en promedio, *S. ochrea* moría con un nivel de infección menor. La producción viral está relacionada con la edad de las larvas, siendo las más grandes las más infectadas. En general, en relación con los instares y especies, el rango de producción viral varió entre 1 y 3 billones de CI por larva (Cuadro 4).

**Cuadro 4.** Número estimado de cuerpos de inclusión del SpocNPV producidos por larva de quinto y sexto instar de *S. eridania* y *S. ochrea* y sus respectivas equivalencias en el número de la DL<sub>50</sub>.

Especie	Instar	Promedio de CI/larva	Equivalencias en el número de DL <sub>50</sub>
<i>S. eridania</i>	Larva V	2,04 x 10 <sup>9</sup>	25 400
<i>S. eridania</i>	Larva VI	3,05 x 10 <sup>9</sup>	38 000
<i>S. ochrea</i>	Larva V	1,32 x 10 <sup>9</sup>	16 450
<i>S. ochrea</i>	Larva VI	2,40 x 10 <sup>9</sup>	29 900

En todos los casos, esto se traduce al final en una multiplicación considerable de la cantidad del patógeno que se usó para iniciar la infección de los individuos. Por ejemplo, se calcula que la cantidad de poliedros recuperada de una larva de sexto instar de *S. eridania* corresponde aproximadamente a 38 000 DL<sub>50</sub> (basándose en el valor de la DL<sub>50</sub> establecido para una larva de tercer instar).

**Prueba Elisa:** Mediante esta prueba se determinó que la sensibilidad del ensayo para la detección de las proteínas del SpocNPV correspondió a una concentración de 4 x 10<sup>6</sup> CI/ml. Esta prueba comparada con la observación de los poliedros en la hemolinfa de las larvas evaluadas resultó ser extremadamente sensible para la detección del virus, confirmándose la presencia de infección en las larvas tratadas en 81,8% de la población al cabo de 54,5 h mientras que la observación visual de una proporción cercana no era posible sino hasta aproximadamente 147,5 h después de la ingestión del alimento contaminado (Cuadro 5).

**Cuadro 5.** Comparación de la precocidad del diagnóstico de la presencia del SpocVPN entre observaciones con microscopio fotónico versus la prueba ELISA.

Nº de horas posteriores a la infección	Porcentaje de larvas detectadas positivas	
	Por microscopía fotónica	Por el método ELISA
54,5	18,2	81,8
95,0	27,3	100
147,5	68,2	100
194,5	90,9	100

#### Aplicación del SpocNPV en plantaciones de camote:

En el primer experimento que se realizó, en el cultivo de camote, en Cañete, se determinó que las larvas de *S. eridania* fueron controladas en su totalidad aplicando una dosis de virus equivalente a 8,4 x 10<sup>12</sup> CI/ha. Es decir que tres días después de la aplicación del virus el 100% de la población larval había muerto en las parcelas donde se realizaron las aplicaciones mientras que el testigo no mostraba variaciones en el nivel de la plaga (Cuadro 6). Estos resultados fueron similares en todas las parcelas aunque existían diferencias en cuanto a las densidades iniciales de la población de la plaga.

En el segundo ensayo realizado en Cañete en una plantación de camote, se obtuvieron resultados idénticos a los previos usando 4,3 x 10<sup>12</sup> CI/ha, que corresponde a la mitad de la concentración viral aplicada en el primer experimento, aunque las poblaciones larvales fueran en promedio mucho más altas (Cuadro 7).

#### Aplicación del SpocNPV en plantaciones de tomate:

La aplicación de SpocNPV en dosis de 3,3 x 10<sup>12</sup> CI/ha, en una plantación de tomate infestado simultáneamente por *S. eridania* y *S. ochrea*, también logró una reducción del 78% de la población de ambas plagas. El control logrado por los insecticidas sintéticos excepto para la cyflutrina después de seis días fue en general mejor (Cuadro 8), que el obtenido con la preparación del virus. No obstante, podrían emplearse dosis

**Cuadro 6.** Efecto del SpocNPV sobre poblaciones de larvas de primer instar de *S. eridania* en camote var. Milagroso.

Tratamiento	Parcelas	Número de larvas/unidad de evaluación		
		1 día antes aplicación	3 días después aplicación	6 días después aplicación
SpocNPV	I	70	0	0
	II	21	0	0
	III	157	0	0
Testigo	IV	77	75	72

**Cuadro 7.** Efecto del SpocNPV sobre poblaciones de larvas de primer instar de *S. eridania* en camote var. Jonathan. Número de larvas/unidad de evaluación

Tratamiento	Parcelas	Número de larvas/unidad de evaluación		
		1 día antes aplicación	3 días después aplicación	6 días después aplicación
SpocNPV	I	176	0	0
	II	157	0	0
	III	164	0	0
Testigo	IV	212	212	212

**Cuadro 8.** Efecto del SpocNPV sobre larvas de primer instar de *S. eridania* y *S. ochrea* en tomate var. Cheff.

Tratamientos	% de reducción en las poblaciones plaga	
	3 días después aplicación	6 días después aplicación
SpocNPV	78,0	77,3
Clorpirifos	97,0	98,3
Permetrina	99,6	99,3
$\alpha$ -cypermetrina	99,3	100,0
$\beta$ -cyflutrina	94,0	95,0
Cyflutrina	86,0	75,0

más altas del virus para lograr una tasa de protección similar para los dos tipos de productos. De hecho, la dosis evaluada en este experimento fue un poco inferior a la utilizada ( $4,3 \times 10^{12}$  CI/ha) en el experimento anterior, la cual provocó una reducción de 100% en las poblaciones de la plaga.

Con respecto a la naturaleza de la planta hospedante se ha señalado que ésta influye sobre la susceptibilidad de *Spodoptera* a los Nucleopoliedrovirus (Santiago-Alvarez y Ortiz-García 1992).

Sin embargo, los resultados obtenidos con los dos tipos de productos evaluados son en general similares. No obstante, el uso del producto biológico podrá permitir una mejor preservación de las poblaciones de parasitoides y depredadores que también participarán a la regulación de *Spodoptera* (Cisneros 1995, Moscardi 1997).

Los resultados obtenidos muestran el potencial del uso del SpocNPV en la zona de presencia de sus especies hospedantes. Debe destacarse que las técnicas desarrolladas para la producción (Shapiro 1986, Grzywacz *et al.* 1998) y la formulación (Young y Yearian 1986, Black *et al.* 1997) de NPV que afectan a otras especies de *Spodoptera*, podrían ser utilizadas para SpocNPV, lo que permitiría el uso de este nuevo virus en áreas mucho más extensas.

## Conclusiones

Se estableció por primera vez que las poblaciones naturales de *S. eridania* y *S. ochrea*, dos importantes plagas en Perú son afectadas por varios virus entomopatógenos de la familia *Baculoviridae*. Uno de los Nucleopoliedrovirus aislados, el SpocNPV, es capaz de infectar a ambas especies.

La producción y cuantificación de este virus fue sencillo, lo cual permite su evaluación tanto en condiciones de laboratorio como de campo. Los resultados muestran la potencialidad que tiene este patógeno, aún como formulación sencilla, para controlar a ambas especies de *Spodoptera*. Esto tiene gran importancia porque el uso de este microorganismo permitiría reducir la cantidad de insecticidas sintéticos utilizados para el control de *S. eridania* y *S. ochrea*.

## Literatura citada

- Alves, S. 1986. Controle microbiano de insetos. Brasil Ed. Manole. 407 p.
- Angeles I; Alcázar, J. 1995. Susceptibilidad de la polilla *Phthorimaea operculella* al virus PoGV. Revista Peruana de Entomología 38: 71-76.
- Betz, F. 1986. Registration of baculoviruses as pesticides. In Granados, RR; Federici, BA. Ed. The biology of baculoviruses. Boca Raton, Florida. vol. 2. p. 203-222.
- Black, BC; Brennan, LA; Dierks, PM; Gard, IE. 1997. Commercialization of baculoviral insecticides. In Miller, LK. Ed. The baculoviruses. New York, Plenum. p. 341-388.
- Bohmalk, GT. 1986. Practical factors influencing the utilization of baculoviruses as pesticides. In Granados, RR; Federici, BA. Ed. The biology of baculoviruses. Boca Raton, Florida. vol. 2. p. 223-236.
- Brown, DC; Allen, JC; Bigwell, G. 1982. The use of a protein A conjugate in an indirect Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) of four closely related Baculoviruses from *Spodoptera* species. J. Gen. Virol. 62: 375-378.
- Bustillo, A. 1989. Utilización de agentes microbiológicos. In Manejo integrado de plagas insectiles en la agricultura. Estado actual y futuro. Andrews, K; Quezada, R. Ed. Honduras. 623 p.
- Cisneros, F. 1995. Control de plagas agrícolas. Lima. Perú. 313 p.
- Clark, MF; Adams, AM. 1977. Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. J. Gen. Virol. 34: 475-483.



- Cunningham, JC. 1995. Baculoviruses as microbial insecticides. In Reuveni, R Ed. Novel approaches to integrated pest management. Boca Raton, Florida, Lewis Publisher p. 261-292.
- Groner, A. 1986. Specificity and safety of baculoviruses. In Granados, RR; Federici, BA. Ed. The biology of baculoviruses. Boca Raton, Florida. vol. 1. p. 177-202.
- Grzywacz, D; Jones, KA; Moawad, G ; Cherry, A. 1998. The *in vivo* production of *Spodoptera littoralis* nuclear polyhedrosis virus. J. Virol. Methods 71(1):115-122.
- Huber, J. 1986. Use of baculoviruses in pest management programs. In Granados, RR; Federici, BA. Ed. The biology of baculoviruses. Boca Raton, Florida. vol. 2. p. 181-202.
- Hunter FR; Crook, NE; Entwistle, PF. 1984. Viruses as pathogens for the control of insects. In Grainer, JM; Lynch, JM. Ed. Microbial methods for environmental biotechnology. London, Academic Press. p. 323-347.
- ICTV. 2000. Family *Reoviridae*. In van Regenmortel, MHV; Fauquet, CM; Bishop, DHL; Carstens, EB; Estes, MK; Lemon, SM; Maniloff, J; Mayo, MA; McGeoch, DJ; Pringle, CR; Wickner, RB. Ed. Virus taxonomy. Classification and nomenclature of viruses. Seventh report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. San Diego, USA, Academic Press. p.445-455,
- Laemmli, UK. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. Nature 227: 680-685.
- Moscardi, F. 1999. Assessment of the application of baculoviruses for control of Lepidoptera. Annu. Rev. Entomol. 44 : 257-289.
- OMS/FAO. 1973. El empleo de virus para combatir plagas de insectos y vectores de enfermedades. Organización Mundial de la Salud. Ser. Inf. Téc. N° 531. 5 p.
- Sánchez, G; Vergara, C. 1992. Plagas del cultivo de papa. Dpto. Entomología. Universidad Nacional Agraria La Molina. 97 p.
- Sánchez, G; Vergara, C. 1996. Plagas de hortalizas. Dpto. Entomología. Universidad Nacional Agraria La Molina. 263 p.
- Santiago-Alvarez, BC; Ortiz-Garcia, R. 1992. The influence of host plant on the susceptibility of *Spodoptera littoralis* (Boisd). (Lep.: Noctuidae) larvae to *Spodoptera littoralis* NPV (*Baculoviridae*: Baculovirus). J. Appl. Ent. 114: 124 - 130.
- Shapiro, M. 1986. *In vivo* production of baculoviruses. In Granados, RR; Federici, BA. Ed. The biology of baculoviruses. Boca Raton, Florida (USA). vol. 2. p. 31-62.
- Todd, EL; Poole, RW. 1980. Keys and illustrations for the armyworm moths of the noctuid genus *Spodoptera* Guenée from the western hemisphere. Ann. Entomol. Soc. Am. 73: 722-738.
- Young, SY; Yearian, WC. 1986. Formulation and application of baculoviruses. In Granados, RR; Federici, BA. Ed. The biology of baculoviruses. Boca Raton, Florida. vol. 2. p. 157-180.
- Zeddani, JL; Luna, J; Ravallec, M; Lagnaoui, A. 1999. A nodal-like virus isolated from the sweetpotato pest *Spodoptera eridania* (Cramer) (Lep.; Noctuidae). J. Invertebr. Pathol. 74:267-274.

# Disminución de la marchitez causada por *Fusarium* en tomate con extracto de *Citrus paradisi*

Dorian A. Rodríguez<sup>1</sup>  
José O. Montilla<sup>1</sup>

**RESUMEN.** Se evaluó el efecto del extracto de semilla de *Citrus paradisi* (Citrex) sobre la marchitez causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* *in vitro* y sobre la marchitez causada por el mismo patógeno en tomate. En el primer caso, se probaron concentraciones de 0, 10, 25, 50, 75, 100 y 1000 mg/L i.a. de Citrex para determinar la dosis media efectiva (DE<sub>50</sub>). Se encontró un efecto reductor de Citrex sobre el crecimiento micelial del hongo (P<0,01) con una DE<sub>50</sub> de 63 mg/L. Para la evaluación del efecto del extracto sobre la marchitez en plantas de tomate se utilizaron cinco tratamientos: inmersión de raíces de plantas en la solución de Citrex antes del trasplante, aplicación semanal al follaje; aplicación semanal al suelo; aplicación semanal al suelo y al follaje; e inmersión de raíces de plantas al trasplante más la aplicación semanal al suelo. El testigo fue suelo infestado sin la aplicación del producto. La inmersión de raíces de plantas en la solución de Citrex más la aplicación semanal al suelo logró reducir la marchitez en un 85%, seguido por la aplicación combinada al suelo y al follaje con un 64% de reducción. La aplicación de Citrex al follaje o al suelo ocasionó una reducción del 42%. Los resultados indican la posibilidad de controlar patógenos del suelo con el uso del extracto de semilla de *C. paradisi*.

**Palabras clave:** *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, Extracto vegetal, Patógeno del suelo, Citrex, Tomate

**ABSTRACT.** Decrease in wilt caused by *Fusarium* on tomato by means of extract of *Citrus paradisi*. *Citrus paradisi* seed extract (Citrex) was evaluated on *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* *in vitro* and on tomato wilt caused by the same pathogen. In the first instance, concentrations of 0, 10, 25, 50, 75, 100 and 1000 mg/L a.i. of Citrex were tested to determine the effective dose (ED<sub>50</sub>). A reducing effect of Citrex on the mycelial growth of the fungus was found (P<0.01), with an ED<sub>50</sub> of 63 mg/L. In order to determine the effect of the extract on wilting of tomato plants, five treatments were evaluated: immersion of plant roots in a solution of Citrex before transplant, weekly application to the foliage, weekly application to the soil; weekly application to the foliage and to the soil; and immersion of plant roots at transplant plus weekly application to the soil. The control was infested soil without application of the product. The immersion of roots in the Citrex solution plus weekly application to the soil reduced wilting by 85%, followed by the combined application to the soil and foliage with a 64% reduction. The application of Citrex to the foliage or the soil caused a reduction of 42%. The results indicate that it is possible to control soilborne pathogens with the *C. paradisi* seed extract.

**Key words:** *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, Plant extract, Soilborne pathogen, Citrex, Tomatoes.

## Introducción

La marchitez en tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) causada por *Fusarium oxysporum* Schlechtend.:Fr. f. sp. *lycopersici* (Sacc.) W.C. Snyder & H. N. Hans. tiene amplia distribución en Venezuela (Urutiaga 1986, Diaz-Polanco y Diaz 1973, Reyes y Sanabria 1997) y el mundo (Jones 1991). El patógeno es un ha-

bitante del suelo que también puede diseminarse por semilla (Abdalla *et al.* 1998).

Los *Fusarium* causantes de marchitez siguen un patrón similar de infección; penetran por la raíz y colonizan en el tallo de las plantas el sistema vascular (Turlier *et al.* 1994). Sin embargo, la colonización, se restringe tanto en cultivares resistentes como suscep-

<sup>1</sup> Universidad Centroccidental "Lisandro Alvarado". Postgrado de Fitopatología. Apartado 400. Barquisimeto, Estado Lara, Venezuela. rdorian7@yahoo.com

tibles a la región de entrada inicial del patógeno, debido a la oclusión de los vasos por geles, deposiciones de calosa y tilosas (Beckman 1990, Mueller *et al.* 1993, Tessier *et al.* 1990). En los cultivares susceptibles, la colonización continúa (distribución secundaria) cuando los geles y las calosas son degradados por efecto de enzimas pectolíticas del patógeno (Deese y Stahmann 1962) y el crecimiento de las tilosas inhibido (Beckman 1990). En los cultivares resistentes, flavonoides del tipo de las catequinas y sus productos de oxidación inactivan las enzimas (Deese y Stahmann 1962), y la distribución secundaria es confinada a los puntos de infección inicial (Elgersma *et al.* 1972, Tessier *et al.* 1990).

No obstante, a que la generación de cultivares resistentes constituye el avance más importante en el control de esta enfermedad, especialmente contra las razas 1 y 2 del hongo, se continúan presentando focos de infección en los cultivos. Por otra parte, la eficacia de los fungicidas en el control de la marchitez no está comprobada, aunque a nivel *in vitro* se han obtenido algunos resultados positivos, así como con control biológico (Jiménez y Sanabria 1997a y b).

La búsqueda de nuevas alternativas de control que complementen la resistencia genética constituye una de las prioridades actuales en el manejo de la enfermedad. En ese sentido, el uso de productos naturales es una de las medidas en las que se está haciendo énfasis porque permite un control de la plaga con daños mínimos al ambiente. Entre los productos naturales, los extractos de plantas han demostrado tener efectos positivos en el control de patógenos foliares y del suelo (Awuah 1994, Lawson *et al.* 1998, Bower y Locke 2000, Bravo *et al.* 2000, Guevara *et al.* 2000).

Citrex es elaborado a partir del extracto de semilla y pulpa de *Citrus paradisi* Macf. y ha mostrado tener efecto bactericida y fungicida (<http://w.w.w.nutriteam.com/MIC.html>; Chávez y Gómez 1995, Park *et al.* 1995). Citrex es un compuesto orgánico complejo del cual no todos los componentes han sido identificados. Sin embargo, se sabe que algunos de los componentes activos son glucósidos (y glicósidos), entre los cuales se encuentran saponinas, fenólicos, bioflavonoides y limonoides cítricos. Entre los bioflavonoides más conocidos están: quercitina, hesperidina, citrina, catequina, rutina, rutinosa, flavonol y flavononas (Ecological Resource 2000). El extracto de semilla de *C. paradisi* también ha tenido efecto sobre *Penicillium* sp. *in vitro* (Park *et al.* 1995), lo cual indica que Citrex puede ser útil en el control de varios hongos fitopatógenos.

Se han realizado algunas evaluaciones preliminares de Citrex (Rodríguez y Montilla 2000) con buenos resultados. Por tanto, el objetivo de este trabajo fue la evaluación del efecto de Citrex (CitruPar 80<sup>MR</sup>) en el desarrollo *in vitro* de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* y de la marchitez en plantas de tomate.

## Materiales y métodos

### Evaluación *in vitro*

El hongo se obtuvo de plantas de tomate con síntomas de marchitez. El hongo se aisló, purificó y conservó en papa-dextrosa-agar (PDA) a 25-28 °C. El Citrex (CitruPar 80<sup>MR</sup>) fue agregado al PDA en las concentraciones de 0, 10, 25, 50, 75, 100 y 1000 mg/L de i.a., después de la esterilización del medio y se colocaron 10-15 ml por caja de Petri. Se colocó un disco de micelio de 4 mm de diámetro de un cultivo de FOL de 7 días de edad, en el centro de cada caja de Petri; se hicieron cuatro repeticiones por tratamiento y se incubaron a ca. 25 °C y 12 h de luz por 10 días. Se midió el diámetro del crecimiento de la colonia cada 2 días. Con los datos recolectados el último día, se determinó gráficamente la Dosis Media Efectiva (DE<sub>50</sub>), definida como la dosis del producto a la cual el diámetro de la colonia se redujo a la mitad, y se realizó el análisis de varianza y la comparación de medias por el método de Tukey, utilizando el programa Systat versión 5.0 (Systat, Inc. 1800 Sherman Av. Evaston, IL, 60201 USA)

### Evaluación *in vivo*

Se realizó en plantas sembradas en bolsas de polietileno de 2 kg de capacidad, conteniendo una mezcla de sustrato 2:1 preparado con suelo franco-arcillo-limoso y cáscara de arroz, esterilizado con vapor e inoculado con una suspensión de  $7 \times 10^5$  microconidios del hongo/ml en una dosis de 100 ml/bolsa. Los tratamientos con Citrex se realizaron al momento del trasplante, 25 días después de la siembra, de la manera siguiente:

T1: Inmersión de las raíces de las plantas en la solución de Citrex antes del trasplante

T2: Aplicación semanal al suelo

T3: Aplicación semanal al follaje

T4: Aplicación al suelo + aplicación foliar semanalmente

T5: Inmersión de de las raíces en la solución de Citrex + aplicación semanal al suelo

T6: Testigo: suelo infestado sin aplicación de producto

El Citrex se utilizó en dosis de 1,5 L de producto comercial en 800 L de agua /ha. En los tratamientos de inmersión de raíces, éstas se dejaron 3 min en la solución del producto. En los tratamientos de aplicación

foliar y al suelo, se usaron 10 ml por planta de la misma solución. Las plantas estuvieron a exposición solar normal (condiciones de campo) y se regaron cada 3 ó 4 días según se requirió. Se utilizó un diseño completamente aleatorizado con diez repeticiones. Las evaluaciones se llevaron a cabo semanalmente hasta 56 días después del trasplante, basándose en el grado de marchitez y de acuerdo a la siguiente escala: 0=Sin síntomas visibles de enfermedad, 1=Marchitez leve, similar a la falta de agua, 2=Similar a grado 1 + hojas amarillas o secas, en menos del 50% del follaje, 3=Similar a grado 1 + hojas amarillas o secas en 50% o más del follaje y 4=Plantas completamente marchitas.

Los valores de las clases se usaron para calcular el Índice de Marchitez (IM) utilizando la siguiente fórmula:

$$\text{Índice de Marchitez (IM)} = \frac{\sum n_i s_i}{NS} \times 100$$

Donde:

n = planta individual

s = severidad de la marchitez (clase)

N = Número total de plantas

S = Valor máximo de severidad posible de marchitez

Con los valores de IM se construyeron las curvas de progreso de la enfermedad, se determinó el Area Bajo la Curva (ABC) (Shaner y Finney 1977) y con éste se realizó el análisis de varianzas y la comparación de medias por el método explicado antes. Al término del experimento (56 días después del trasplante), se evaluó la cosecha y se realizó el análisis de varianza y comparación de medias de los tratamientos utilizando el mismo programa.

## Resultados

### Evaluación *in vitro*

Se determinó un efecto reductor significativo ( $P < 0,01$ ) de Citrex en el crecimiento micelial del hongo con todas las concentraciones del producto (Fig. 1). No hubo crecimiento del hongo con la dosis de 1000 mg/L y en los otros tratamientos la reducción varió desde 24% con 10 mg/L hasta 67% con 100 mg/L. Se realizó la linealización de la curva de respuesta a las dosis de Citrex y se determinó gráficamente la  $DE_{50}$ , la cual fue de 63 mg/L (Fig. 2); es decir, que a 63 mg/L se produjo una reducción del 50% en el avance del crecimiento diametral del micelio del hongo, en comparación con el testigo.

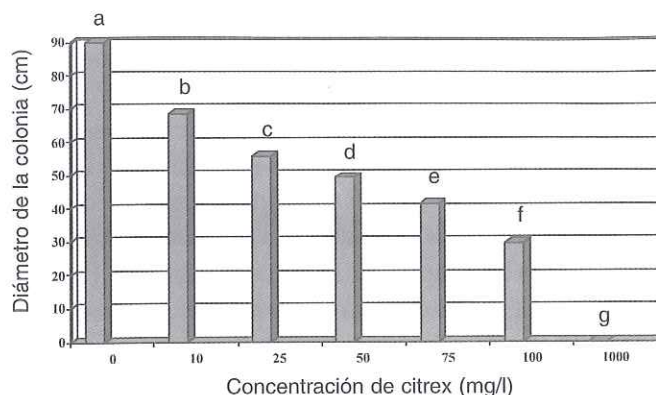


Figura 1. Desarrollo micelial de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* expuesto a Citrex. Barras con diferente letra fueron estadísticamente significativas ( $P < 0,01$ ).

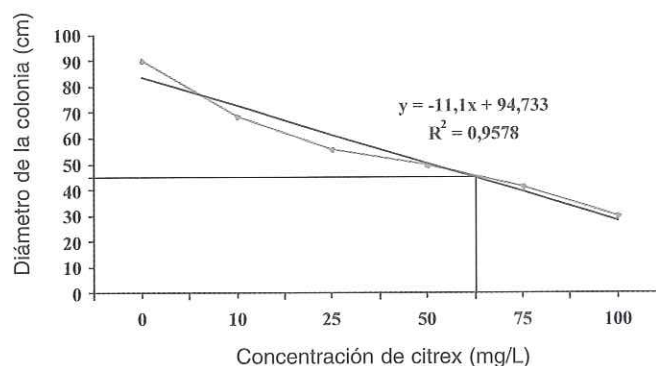
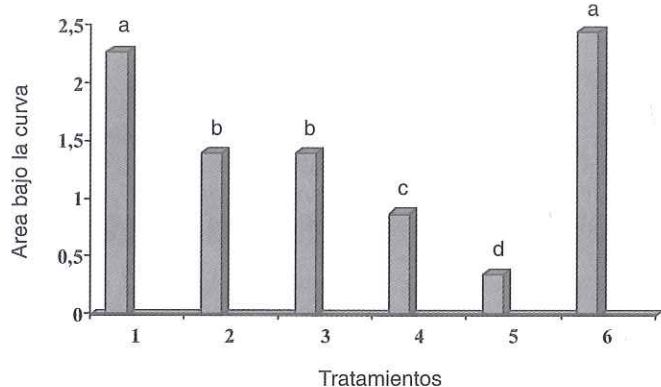


Figura 2. Dosis media efectiva de Citrex ( $DE_{50}$ ) sobre *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* *in vitro*.

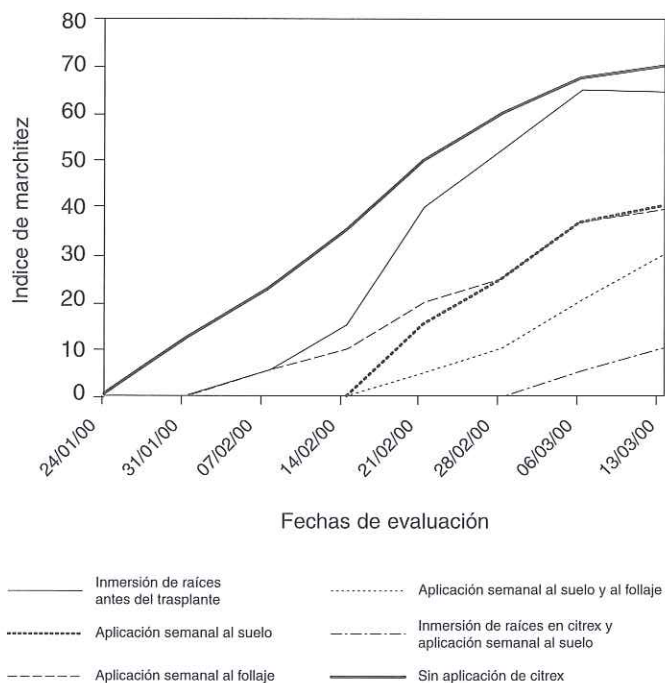
### Evaluación *in vivo*

Se encontraron diferencias significativas ( $P < 0,01$ ) entre los tratamientos en cuanto al ABC (Fig. 3). Se observó que con la inmersión de las plantas en la solución de Citrex, más la aplicación semanal al suelo (T5) se obtuvieron los valores más bajos de ABC, con una reducción del 85% en la marchitez. La aplicación al suelo (T2) o la aplicación al follaje (T3) fueron estadísticamente similares y causaron una reducción del 42%; pero cuando estos dos tratamientos se combinaron (T4), la disminución de la enfermedad se incrementó al 64% (Fig. 3), considerándose el segundo mejor tratamiento.

Además de la reducción en los valores totales del ABC, se observó un retardo en la aparición de los síntomas en todos los tratamientos (Fig. 4). En el caso del tratamiento T5 se observó un retardo de seis semanas, mientras que en los tratamientos T2 y T4 fue de cuatro semanas.



**Figura 3.** Area bajo la curva de progreso de la marchitez causada por *Fusarium* en tomate cultivado en bolsas de polietileno y tratado con Citrex. Tratamientos: 1=Inmersión de raíces de plantas en la solución de Citrex antes del trasplante; 2= aplicación semanal de Citrex al suelo; 3= aplicación semanal de Citrex al follaje; 4= aplicación semanal al suelo y al follaje; 5= inmersión de raíces de plantas en solución de Citrex y aplicación semanal al suelo; 6= sin aplicación de Citrex. Barras con diferente letra fueron estadísticamente significativas ( $P < 0,01$ ).



**Figura 4.** Curvas de progreso de la marchitez en tomate bajo diferentes tratamientos con Citrex.

En cuanto al rendimiento (Cuadro 1), el tratamiento T5 presentó la mayor producción de tomate (1,4 kg/planta) en el período del experimento, seguido por T4 (0,515 kg/planta). Se observa una relación directa entre la producción y la reducción de la marchitez.

**Cuadro 1.** Rendimiento de tomate por planta después del tratamiento con Citrex para el control de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*.

Tratamientos	Rendimiento (g/planta)
Inmersión de raíces plantas en Citrex antes del trasplante	197 a
Aplicación semanal de Citrex al suelo	389 b
Aplicación semanal de Citrex al follaje	284 ab
Aplicación semanal de Citrex al suelo y al follaje	515 c
Inmersión de raíces plantas en Citrex antes del trasplante y aplicación semanal al suelo	1428 d
Sin aplicación de Citrex (testigo)	196 a

## Discusión

El Citrex ocasionó una reducción del crecimiento micelial del hongo y de la marchitez del tomate. La prueba *in vitro* demostró un efecto directo del producto sobre el hongo y aunque en este trabajo no se determinó la naturaleza de ese efecto, otros consideran que pudo ser la ruptura de la membrana celular (Ecological Resources 2000).

Se observó, además, que el efecto deletéreo del producto sobre el hongo fue proporcional a la dosis aplicada; la concentración más alta evaluada (1000 mg/L) detuvo totalmente el crecimiento del hongo, lo cual equivale a 0,8 kg/ha del ingrediente activo o 1 kg/ha de producto comercial (sobre la base de una aplicación de 800 L/ha de agua).

El extracto de *C. paradisi* también tiene efecto sobre el control de la marchitez. La inmersión de las plantas en la solución del producto antes del trasplante tuvo un efecto protector al inicio, pero fue necesario realizar aplicaciones semanales al suelo para mantener la enfermedad bajo control. Aunque no se demostró en este trabajo, de acuerdo a los resultados, se supone que el producto es absorbido por las raíces y conducido a través de los vasos del xilema. Por otra parte, un 42% de reducción de la marchitez con la aplicación foliar sugiere, igualmente, una posible conducción hacia abajo por los vasos del floema. Sin embargo, estas translocaciones en ambos sentidos deben ser demostradas y actualmente se realizan trabajos en este sentido.

La aplicación del producto al suelo puede tener dos efectos: ser absorbido por las raíces y entrar en la corriente xilemática, o tener efecto sobre los propágulos de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* presentes en el suelo. Esto último fue observado por Bower y Locke (2000) al reducir la densidad poblacional de *F. oxysporum* f. sp. *chrysantemi* en el suelo en un 97,5; 96,1

y 99,9% con extractos de *Trifolium pratense*, *Cassia* sp. y *Piper* sp., respectivamente.

En un estudio histológico (Guédez *et al.* 2001), se observaron deposiciones de calosa en las células del xilema de las raíces de tomate inoculadas con *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* y sin tratamiento con fungicida, mientras que las plantas inoculadas y tratadas con Citrex no la presentaban. La calosa se forma como respuesta de la planta al ataque de *Fusarium* (Mueller *et al.* 1993, Beckman 1990). La ausencia de la misma en las plantas tratadas con Citrex sugiere la eliminación de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* por la aplicación del producto, con lo cual se reduce el estímulo para la formación de calosa.

Deese y Stahmann (1962) demostraron la naturaleza enzimática del efecto de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* en tomate y señalaron que la reducción de la marchitez en las plantas resistentes podría deberse a la desactivación de las enzimas por efecto de las catequinas presentes en éstas. Se ha indicado que el extracto de *C. paradisi* contiene flavonoides, entre los que se mencionan la catequina (Ecological Resources 2000). Es posible que además del efecto directo sobre *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*, Citrex tenga una acción neutralizadora sobre las enzimas de éste.

Los resultados de este trabajo abren la posibilidad de disponer de un producto natural para el manejo de enfermedades causadas por patógenos del suelo que es inocuo a los humanos.

## Literatura citada

- Abdalla, ME; Elwakil, MA; Mathur, SB. 1998. *Fusarium oxysporum* associated with tomato seeds in Egypt. <http://w.w.bspp.org.uk/icpp98/abstracts/4.8.6.htm> - 07/02/2001.
- Awuah, RT. 1994. *In vivo* use of extract from *Ocimum gratissimum* and *Cymbopogon citrates* against *Phytophthora palmivora* causing blackpod disease of cocoa. *Ann. Appl. Biol.* 124:173-178.
- Beckman, CH. 1990. Host responses to the pathogen. In *Fusarium Wilt of Banana*. Ploetz, RC. Ed. St. Paul, Minnesota, APS. p. 93-105.
- Bower, JH; Locke, JC. 2000. Effect of botanical extract on the population density of *Fusarium oxysporum* in soil and control of *Fusarium* wilt in the greenhouse. *Plant Dis.* 84:300-305.
- Bravo-Luna, L; Bermúdez-Torres, K; Montes-Belmont, R. 2000. Inhibición de *Fusarium moniliforme* mediante polvos vegetales y algunos de sus componentes químicos. *Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica)* 57:29-34.
- Chavez, L; Gomez, C. 1995. Comportamiento de la "Sigatoka Negra" (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet), con el uso de Lonlife (extracto de cítricos) en plátano (*Musa AAB*) en la Estación Local Chama. *Revista Forestal Venezolana* 1:5 (Resumen)
- Deese, DC; Stahmann, MA. 1962. Pectic enzymes in *Fusarium*-infected susceptible and resistant tomato plants. *Phytopathology* 52:255-260.
- Diaz-Polanco, C; Salas de D, G. 1973. Nueva Lista de Patógenos de Plantas Cultivadas en Venezuela. Sociedad Venezolana de Fitopatología, Maracay. Boletín Especial No. 2. 59 p.
- Ecological Resources. 2000. Documentación de Registro. CitrusPar™ y OikoSan™. Ecological Resources, Inc. Miami, FL. 34 p.
- Elgersma, DM; MacHardy, WE; Beckman, CH. 1972. Growth and distribution of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* in near-isogenic lines of tomato resistant or susceptible to wilt. *Phytopathology* 62:1232-1237.
- Guédez, C; Sanabria, ME; Rodríguez, D; Montilla, J. 2001. Histología de raíces de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) infectadas con *Fusarium oxysporum* y tratadas con citrex. *In Congreso Venezolano de Fitopatología* (17, 2001, Maracay, Venezuela).
- Guevara, Y; Maselli, A; Sánchez, MC. 2000. Efecto de extractos vegetales sobre bacterias fitopatógenas. *Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica)* 56:38-44.
- Jiménez, C; Sanabria de A, N. 1997a. Evaluaciones *in vitro* de siete fungicidas para el control de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. *Fitopatología Venezolana* 10:32 (Resumen).
- Jiménez, C; Sanabria de A, N. 1997b. Control biológico *in vitro* de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. *Fitopatología Venezolana* 10:33 (Resumen).
- Jones, JP. 1991. *Fusarium* wilt. In *Compendium of Tomato Diseases*. Jones, JB; Jones, JP; Stall, RE; Zitter, TA. Ed. St. Paul, Minnesota, APS Press.
- Lawson, M; Kennedy, R; Stopes, C. 1998. Evaluation of garlic oil and other chemicals for control of downy mildew (*Peronospora parasitica*) in organic production of brassicas. *Ann. Appl. Biol.* 132 (supplement):14-17.
- Mueller, WC; Morgham, AT; Roberts, EM. 1993. Immunocytochemical localization of callose in the vascular tissue of tomato and cotton plants infected with *Fusarium oxysporum*. *Can. J. Bot.* 72:505-509
- Park, SW; Jeon, JH; Kim, HS; Joung, H. 1995. Effect of grapefruit seed extract on *Penicillium* growth and tuberization in tissue culture of potato (*Solanum tuberosum* L.). (Abstract). *Journal of the Korean Society for Horticultural Science.* 36:179-184.
- Reyes, J; Sanabria de A, N. 1997. Diagnóstico de enfermedades fúngicas en tomate (*Lycopersicon esculentum*) en algunas zonas productoras de los estados Aragua y Guarico. *Fitopatología Venezolana* 10:36 (Resumen).
- Rodríguez, D; Montilla, JO. 2000. Reducción de la marchitez por *Fusarium* en Tomate con extracto de semilla de *Citrus paradisi* (CitrusPar80<sup>MR</sup>). *In Annual Meeting of the Interamerican Society for Tropical Horticulture.* (46, 2000, Miami, FL) (Abstract)
- Shaner, G; Finney, RE. 1977. The effect of nitrogen fertilization on the expression of slow-mildewing resistance in Knox wheat. *Phytopathology* 67:1051-1056
- Tessier, BJ; Mueller, WC; Morgham, AT. 1990. Histopathology and ultrastructure of vascular responses in peas resistant or susceptible to *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisi*. *Phytopathology* 80:756-764.
- Turlier, MF; Epavier, A; Alabouvette, C. 1994. Early dynamic interactions between *Fusarium oxysporum* f. sp. *lini* and the roots of *Linus usitatissimum* as revealed by transgenic GUS-marked hyphae. *Can. J. Bot.* 72:1605-1612.
- Urutiaga, R. 1986. Índice de Enfermedades en Plantas de Venezuela y Cuba. Barquisimeto, Lara, Venezuela. 202 p.

# Efecto de la temperatura sobre el crecimiento y la virulencia de *Metarhizium anisopliae*, *M. a. var. acridum* y *Beauveria bassiana* en *Schistocerca piceifrons piceifrons*

Angélica M. Berlanga-Padilla<sup>1</sup>  
Víctor M. Hernández-Velázquez<sup>1</sup>

**RESUMEN.** Se determinó el efecto de la temperatura en la germinación y crecimiento de *Metarhizium anisopliae*, *M. anisopliae* var. *acridum* y *Beauveria bassiana*. La temperatura óptima para los aislamientos fue entre 24 y 30 °C. El grado de crecimiento de *B. bassiana* fue mayor que el de *M. anisopliae* a 24 °C; sin embargo, *M. a. var. acridum* presentó mejor germinación y crecimiento a 32 °C. En el bioensayo los mismos aislamientos fueron evaluados para el control de adultos de *Schistocerca piceifrons piceifrons* (Orthoptera: Acrididae) a 26 y 32 °C. A 26 °C, *B. bassiana* y *M. anisopliae* causaron mortalidad de 76 y 88%, y su tiempo letal medio (TL<sub>50</sub>) fue de 5,5 y 5,2 días, respectivamente, mientras que *M. a. var. acridum* a 32 °C causó una mortalidad de 93%, con un TL<sub>50</sub> de 5 días.

**Palabras clave:** *Metarhizium anisopliae* var. *acridum*, *Beauveria bassiana*, *Schistocerca piceifrons piceifrons*, Control biológico, Germinación, Mortalidad.

**ABSTRACT.** Effect of temperature on the growth and virulence of *Metarhizium anisopliae*, *M. a. var. acridum* and *Beauveria bassiana* on *Schistocerca piceifrons piceifrons*. The effect of temperature on the germination and growth of *M. anisopliae*, *M. a. var. acridum* and *B. bassiana* was determined. The optimal temperature for the isolates was between 24 and 30 °C. The rate of growth of *B. bassiana* was greater than that of *M. anisopliae* at 24 °C; however, germination and growth of *M. a. var. acridum* was greater at 32 °C. In bioassays the same isolates were evaluated for the control of adults of *S. p. piceifrons* (Orthoptera: Acrididae) at 26 and 32 °C. At 26 °C *B. bassiana* and *M. anisopliae* caused mortality of 76 and 88%, their half lethal time (LT<sub>50</sub>) was 5.2 and 5.9 days, respectively, whilst *M. a. var. acridum* at 32 °C caused a mortality of 93%, with a LT<sub>50</sub> of 5 days.

**Key Words:** *Metarhizium anisopliae* var. *acridum*, *Beauveria bassiana*, *Schistocerca piceifrons piceifrons*, Biological control, Germination, Mortality.

## Introducción

Los hongos entomopatógenos, *Metarhizium* spp. y *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin, son comúnmente aislados de acrididos en diferentes partes del mundo y se han utilizado como agentes de control de chapulines y langostas (Inglis *et al.* 1997b, Lomer *et al.* 1997). *B. bassiana* ha mostrado mayor virulencia sobre chapulines en zonas templadas (Greathead 1992) y en la investigación para el control biológico de langosta en Africa, especialmente *Schistocerca gregaria* (Forsk.) y

*Locusta migratoria* L. (Orth: Acrididae) se ha evaluado principalmente los aislamientos *M. anisopliae* (Metsch) Sorokin y *M. a. var. acridum*, conocido antes del 2000 como *M. flavoviride* Gams & Rozsypal (Driver *et al.* 2000, Welling *et al.* 1994).

Sin embargo, los resultados obtenidos sobre poblaciones de acrididos en condiciones de campo son inconsistentes debido a que la eficacia de los hongos entomopatógenos en campo está relacionada con la temperatura y la humedad relativa, especialmente en

<sup>1</sup> Centro Nacional de Referencia de Control Biológico. SAGARPA-SENASICA-DGSV. Tecomán, Col. 28120, México

condiciones tropicales y subtropicales; estos factores juegan un papel básico en el inicio de la infección, período de incubación y viabilidad de estos microorganismos, además los acrídidos tienen la habilidad de elevar su temperatura corporal como resultado de la exposición al sol, lo cual reduce la incidencia de hongos entomopatógenos (Ouedraogo *et al.* 1997, Inglis *et al.* 1997a) por lo que se considera que la selección de aislamientos climáticamente adaptados a temperaturas mayores de 30 °C es fundamental en la implementación del control microbiano de acrídidos (Prior y Streett 1997).

Por lo anterior, es necesario conocer la temperatura óptima para el desarrollo de los aislamientos de estos hongos entomopatógenos, con el fin de liberarlos en las regiones y épocas en las cuales las temperaturas sean adecuadas. En este trabajo se evaluó la germinación y el crecimiento micelial de *M. anisopliae*, *M. a. var. acridum* y *B. bassiana* a 20, 24, 27 y 32 °C y su virulencia sobre adultos de *S. p. piceifrons* a 26 y 32 °C.

## Materiales y métodos

### Aislamientos

Los hongos evaluados son parte de la colección de hongos entomopatógenos del Centro Nacional de Referencia de Control Biológico de Tecomán, Colima, México. La información sobre cada uno de los hongos utilizados se presenta en el Cuadro 1. Las especies de *Metarhizium* (MaPL35 y MaPL39) se aislaron de *S. p. piceifrons*. La cepa de *B. bassiana* se obtuvo de *Anthonomus grandis* Boheman.

Los aislamientos fueron inoculados en medio de cultivo a base de agar dextrosa Sabouraud (ADS) y conservados a 27 °C durante 10 días.

### Desarrollo de los entomopatógenos a diferentes temperaturas

El porcentaje de germinación se evaluó a 20, 24, 27 y 32 °C, usando un diseño factorial completamente al azar. De una suspensión de  $1 \times 10^6$  conidios/ml de cada especie se depositaron dos gotas por caja de Petri con ADS; y se extendieron sobre la caja mediante una varilla de vidrio estéril. La viabilidad de los conidios se evaluó a las 15, 20 y 24 horas. El porcentaje de germinación se determinó contando 100 conidios por caja Petri, utilizando cuatro cajas por tratamiento. El criterio para evaluar la germinación fue el tamaño del tubo germinativo, considerándose como viable aquel que fue mayor o igual al tamaño de su conidio. La germinación se analizó a las 20 horas utilizando el pa-

quete para diseños experimentales FAUNL versión 2.5 (Olivares 1994) previa transformación arco seno  $\sqrt{y_i}$ .

El porcentaje del crecimiento micelial, se evaluó bajo el mismo diseño experimental utilizado en la prueba anterior. Para cada tratamiento se inocularon dos cajas Petri conteniendo ADS con una suspensión de conidios y se incubaron por tres días a 27 °C, a partir de las cuales se obtuvieron porciones de micelio de 5 mm de diámetro. Estos se colocaron en el centro de cajas de Petri conteniendo medio de cultivo a base de ADS enriquecido con extracto de levadura y extracto de malta al 10%; se utilizaron cuatro cajas por tratamiento. Posteriormente, fueron colocadas en una cámara de incubación a 20, 24, 27 y 32 °C durante 20 días. Se midió el crecimiento micelial (mm) cada tres días, tomando dos lecturas del desarrollo diametral del hongo.

**Cuadro 1.** Origen de los aislamientos de *M. anisopliae* y *B. bassiana* evaluados.

Clave	Especie	Hospedante	Origen
MaPL35	<i>M. anisopliae</i>	<i>S. p. piceifrons</i>	Tecomán, Colima, México
MaPL39	<i>M. a. var. acridum</i>	<i>S. p. piceifrons</i>	Isla Socorro, Colima, México
Bb7	<i>B. bassiana</i>	<i>A. grandis</i>	Estados Unidos

### Virulencia sobre *S. p. piceifrons*

Los insectos utilizados en este bioensayo se recolectaron en la Isla Socorro del Archipiélago Revillagigedo Colima, México. Todos los especímenes correspondieron al estado adulto joven, en fase gregaria. Posteriormente, los especímenes fueron conducidos al Laboratorio de Entomopatógenos del CNRCB en Tecomán, Col. donde se mantuvieron en jaulas de cría durante una semana utilizando hojas tiernas de maíz como dieta.

Los aislamientos evaluados fueron sembrados dos semanas antes de realizar el bioensayo en cajas de Petri con medio nutritivo a base de ADS y conservados a 27 °C. La obtención de conidios de cada aislamiento se realizó el primer día del experimento, contabilizando el número de conidios por ml en cámara hematómetrérica. Posteriormente, se homogeneizaron las suspensiones a  $1 \times 10^7$  conidios/ml y se les adicionó el dispersante Extravón 40®, al 0,025%.



Se utilizaron 20 insectos por unidad experimental, con cuatro repeticiones por tratamiento, colocando 10 insectos en un recipiente de plástico de boca ancha, con capacidad de 1 L. Los recipientes se cubrieron con muselina, y en el fondo de cada recipiente, se colocó un papel filtro; la dieta se cambió cada 48 h. Los insectos fueron inoculados de 10 en 10, seleccionando los de apariencia sana. Estos se colocaron en bolsas de plástico de 22 X 33 cm y se asperjaron con 3 ml de la suspensión de conidios. A los testigos se les aplicó agua con el dispersante usado en las suspensiones y en la misma concentración. Posteriormente, los recipientes fueron colocados a temperatura constante de día y noche, 26 y 32°C, respectivamente en una cámara bioclimática Lab-Line™. La humedad relativa no se controló.

Se registró la mortalidad diaria, los insectos muertos se colocaron individualmente en cajas de Petri que contenían papel filtro humedecido con 0,2 ml de agua destilada estéril. Las cajas fueron selladas con cinta "parafilm" para registrar el tiempo y sitio de emergencia del patógeno, así como la fecha de inicio de la esporulación. Los insectos que murieron en las primeras 72 horas no fueron considerados para el análisis estadístico. El experimento se analizó con el porcentaje de mortalidad acumulada al 6º día, previa transformación  $\text{arc. sen } \sqrt{y_i}$ , utilizando el paquete de diseños experimentales FAUNL versión 2.5 (Olivares 1994). Con los datos de mortalidad diaria acumulada corregida con la fórmula de Abbot se determinó el Tiempo Letal Medio (TL<sub>50</sub>), Tiempo Promedio de Sobrevivencia (TPS) y la varianza del TPS de acuerdo a lo propuesto por Moore *et al.* (1995).

## Resultados y discusión

### Desarrollo a diferentes temperaturas

La temperatura óptima para la germinación de las especies evaluadas fue de 27 °C (Cuadro 2). *M. anisopliae* y *B. bassiana* alcanzaron altos porcentajes de germinación en todas las temperaturas a las 20 horas, excepto el aislamiento de *M. a. var. acridum* que mostró un porcentaje de germinación mínimos a 20 °C. Este aislamiento fue más tolerante a altas temperaturas, logrando los mayores porcentajes de germinación entre 27 y 32 °C.

Para el crecimiento del micelio, los resultados fueron similares a los porcentajes de germinación, en los cuales *B. bassiana* y *M. anisopliae* presentaron un crecimiento óptimo entre 24 y 27 °C y *M. a. var. acridum* se desarrolló mejor a temperaturas entre 27 °C y 32 °C

(Fig. 1). Para este último aislamiento; no obstante, a que su desarrollo comienza a disminuir a 32°C, crece más rápido que *B. bassiana* y *M. anisopliae*. Al respecto Fargues *et al.* (1992) informaron que *M. anisopliae* requiere para su crecimiento micelial una temperatura óptima promedio de 25 a 28 °C; mientras la temperatura óptima de *B. bassiana*, *B. brongniartii* (Saccardo) Petch, *Paecilomyces fumosoroseus* (Wize) Brown & Smith y *Nomuraea rileyi* (Farlow) Samson es de 25 °C. Por otra parte Inglis *et al.* (1997a) consideran que la baja eficiencia de *B. bassiana* en el control de chapulines es el resultado de las condiciones de temperatura y exposición solar y no de la virulencia del patógeno.

**Cuadro 2.** Porcentaje de germinación de aislamientos de *M. anisopliae*, *M. a. var. acridum* y *B. bassiana* en medio de cultivo a diferentes temperaturas.

Aislamiento	Temperatura	Porcentaje germinación		
		15 horas	20 horas*	24 horas
Bb7	20 °C	0	35 C	95
	24 °C	78	100 A	100
	27 °C	95	100 A	100
	32 °C	8	76 B	99
MaPL35	20 °C	42	95 B	100
	24 °C	99	100 A	100
	27 °C	98	99 A	99
	32 °C	95	99 A	100
MaPL39	20 °C	0	0 C	9
	24 °C	4	79 B	91
	27 °C	80	96 A	98
	32 °C	86	98 A	99

\*Las letras separan las medias estadísticamente iguales con la prueba DMS con nivel de significancia 0,05

CV=4,70%

Se determinó que *M. a. var. acridum* crece más lento a 20 °C pero es más tolerantes a temperaturas altas en comparación con *M. anisopliae* y *B. bassiana*. Welling *et al.* (1994) mencionan que aislamientos de *M. anisopliae* y *M. a. var. acridum* pueden resistir temperaturas de 40 °C o mayores durante algunas horas, pero con una marcada reducción en su grado de crecimiento, indicando que este último aislamiento fue más resistente a temperaturas entre 44 y 25 °C.

### Virulencia sobre *S. p. piceifrons*

La mortalidad de adultos de *S. p. piceifrons* fue diferente significativamente entre tratamientos. Los aislamientos más virulentos fueron las especies de *Metarhizium* a 32 °C, siendo *M. a. var. acridum* el que causó la mayor mortalidad (93,75%) (Cuadro 3).

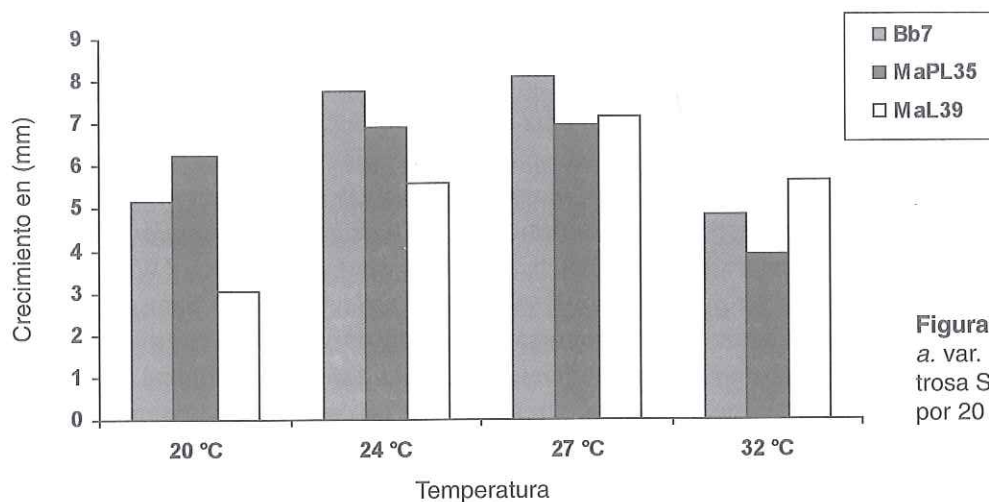


Figura 1. Crecimiento de *M. anisopliae*, *M. a. var. acridum* y *B. bassiana* en agar dextrosa Sabouraud a diferentes temperaturas por 20 días.

Cuadro 3. Separación de medias con base en la mortalidad acumulada al 6º día de adultos de *S. p. piceifrons* ocasionada por *M. a. var. acridum*, *M. anisopliae* y *B. bassiana*, a dos temperaturas.

Tratamientos	Mortalidad promedio acumulada al 6º día	% de esporulación en insectos muertos
MaPL39 a 32 °C	93,75 A*	00,00
MaPL35 a 26 °C	88,14 A	59,51
MaPL35 a 32 °C	83,82 A	00,00
MaPL39 a 26 °C	79,38 AB	00,00
Bb7 a 26 °C	76,43 AB	87,39
Bb7 a 32 °C	46,53 BC	00,00
Testigo a 32 °C	38,03 C	00,00
Testigo a 26 °C	17,87 D	00,00

\*Las letras separan medias estadísticamente iguales con la prueba DMS con un nivel de significancia de 0,05. C.V.= 5,75 %

Los insectos infectados a 32 °C no presentaron esporulación sobre los cadáveres, lo cual indica que no es la temperatura óptima para el desarrollo del patógeno o bien que al ocasionar una muerte rápida del insecto a esa temperatura se presentan las condiciones óptimas para que otros microorganismos compitan y desplacen al hongo. Los resultados de mortalidad de *B. bassiana* fueron estadísticamente iguales a *M. a. var. acridum* a 26°C, pero bajo estas condiciones la in-

fección y la esporulación de *B. bassiana* se desarrolló favorablemente. Al respecto Johnson *et al.* (1992) mencionan que al realizar aplicaciones en campo de *B. bassiana* obtuvieron mortalidades de 72% a temperaturas entre 23 y 32 °C.

El TL<sub>50</sub> menor correspondió a los aislamientos de *Metarhizium* spp. a 32 °C, mientras que a esta misma temperatura *B. bassiana* presentó mortalidades menores de 50 % (Cuadro 4). A 26 °C el menor TL<sub>50</sub> (4,8

Cuadro 4. Tiempo Letal Medio (TL<sub>50</sub>) y Tiempo Promedio de Supervivencia (TPS) en días, de adultos de *S. p. piceifrons* infectados con *M. anisopliae*, *M. a. var. acridum* y *B. bassiana*, a dos temperaturas.

Tratamiento	Patógeno	TL <sub>50</sub> en días	TPS en días	Varianza
<b>32°C</b>				
MaPL39 a	<i>M. a. var. acridum</i>	5,0440	4,7027	0,7208
MaPL35	<i>M. anisopliae</i>	4,8346	5,0245	1,7697
Bb7	<i>B. bassiana</i>	> 8	--	--
<b>26 °C</b>				
MaPL39	<i>M. a. var. acridum</i>	5,6261	5,6545	0,6697
MaPL35	<i>M. anisopliae</i>	5,2968	5,2242	0,6836
Bb7	<i>B. bassiana</i>	5,5580	5,3740	0,7802

días) correspondió a *M. anisopliae*, siendo muy similares con los informados por Welling *et al.* (1994) quienes concluyen que los aislamientos de *M. anisopliae* presentaron  $TL_{50}$  en un ámbito de 5,6 a 6,0 días bajo condiciones de temperaturas templadas, en contraste con *M. a. var. acridum* que es más eficaz contra langostas a altas temperaturas. Por otra parte, Thomas y Jenkins (1997) encontraron que *B. bassiana* fue más eficaz que *M. anisopliae* a bajas temperaturas; sin embargo, indican que la temperatura óptima para causar infección puede variar entre aislamientos originarios de climas similares.

*M. anisopliae* y *M. a. var. acridum* son comúnmente aislados en zonas cálidas en diversas regiones del mundo y produce mortalidades muy semejantes en laboratorio bajo condiciones estables (Welling *et al.*

1994). Sin embargo, el empleo de estos hongos para el control de langosta en áreas tropicales y subtropicales debe orientarse a la selección de aislamientos adaptados a temperaturas altas en las cuales se desarrolla mejor *M. a. var. acridum*. En estos casos la temperatura resulta un factor clave por lo cual los procesos de selección de aislamientos se deben desarrollar en condiciones semejantes a las presentes en campo.

### Agradecimientos

Este trabajo financiado por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT G3451B) es parte del proyecto: Caracterización genotípica y fenotípica de hongos entomopatógenos: instrumento para optimizar su selección como insecticidas biológicos contra plagas agrícolas.

### Literatura citada

- Driver, F; Milner, RJ; Trueman, JWH. 2000. A taxonomic revision of *Metarhizium* based on a phylogenetic analysis of rDNA sequence data. *Mycology Research* 104(2):134-150.
- Fargues, J; Maniania, NK; Delmas, JC; Smits, N. 1992. Influence de la temperature sur la croissance *in vitro* d'Hyphomycetes entomopathogenes. *Agronomie* 12:557-564.
- Greathead, DJ. 1992. Natural enemies of tropical locusts and grasshoppers: their impact and potential as biological control agents. In Lomer, CJ; Prior, C. Ed. *Biological Control of Locusts and Grasshoppers*. CABI. p. 105-121.
- Inglis, GO; Johnson, DL; Goettel, MS. 1997a. Effects of temperature and sunlight on mycosis (*Beauveria bassiana*) (Hyphomycetes: Symptodulosporeae) of grasshoppers under field conditions. *Environ. Entomol.* 26(2): 400-409.
- Inglis, GO; Johnson, DL; Cheng, KJ; Goettel, MS. 1997b. Use of pathogen combination to overcome the constraints of temperature on entomopathogenic hyphomycetes against grasshoppers. *Biol. Control* 8:143-152.
- Johnson, DL; Goettel, MS; Bradley, C; vander Paauw, H; Maiga, B. 1992. Field trials with the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* against grasshoppers in Mali west Africa July 1990. In Lomer, CJ; Prior, C. Ed. *Biological Control of Locusts and Grasshoppers*. CABI. p. 296-310.
- Lomer, JC; Prior, C; Kooyman, C. 1997. Development of *Metarhizium* spp. for the control of grasshoppers and locusts. *Memoirs of the Entomological Society of Canada* 171: 265-286.
- Moore, D; Bateman, RP; Corey, M; Prior, C. 1995. Long-term storage of *Metarhizium flavoviride* conidia in oil formulations for the control of locusts and grasshoppers. *Bioc. Sci. Tech.* 5: 193-199.
- Olivares Sáenz, E. 1994. Paquete de diseños experimentales FAUNL. Versión 2.5. Facultad de Agronomía UANL. Marín, N.L.
- Ouedraogo, A; Fargues, J; Goettel, MS; Lomer, CJ. 1997. Effect of temperature on vegetative growth among isolates of *Metarhizium anisopliae* and *M. flavoviride*. *Mycopathologia* 137:37-43.
- Prior, C; Streett, DA. 1997. Strategies for the use of entomopathogens in the control of the desert locust and other acridoid pests. *Memoirs of the Entomological Society of Canada* 171: 5-25.
- Thomas, MB; Jenkins, NE. 1997. Effects of temperature on growth of *Metarhizium flavoviride* and virulence to the variegated grasshopper *Zonocerus variegatus*. *Mycol. Res.* 101(12):1469-1474.
- Welling, M; Nachtigall, G; Zimmermann, C. 1994. *Metarhizium* spp. isolates from Madagascar: Morphology and effect of temperature on growth and infectivity to the Migratoria *Locust Locusta migratoria*. *Entomophaga* 39(3/4) 351-361.

# Involucramiento de las mujeres en procesos participativos de manejo integrado de plagas en café en Nicaragua<sup>1</sup>

Guadalupe Valenzuela<sup>2</sup>  
Kees Prins<sup>3</sup>

**RESUMEN.** En Nicaragua, el Proyecto CATIE/INTA/MIP (NORAD) desarrolla un proceso de generación y transferencia de tecnología en manejo integrado de plagas (MIP) en el cultivo de café con pequeños productores, basado en el desarrollo de capacitaciones por etapa fenológica del cultivo y el uso de metodologías participativas. Este estudio pretende identificar los factores que facilitan o limitan la participación de las mujeres en el proceso de capacitación en MIP. El estudio se realizó en las localidades de Aguas Amarillas, La Reyna y Monterrey en el norte de Nicaragua, con grupos que reciben capacitación en MIP en café. Se realizaron talleres de reflexión utilizando herramientas participativas, encuestas, entrevistas, "observación participante" y reuniones. Se determinó que la participación de las mujeres en este proceso de capacitación está determinada por factores estructurales como analfabetismo, tenencia de la tierra y forma de convocatoria a los eventos de capacitación y carga doméstica, entre otras. Pero también está determinada por factores subjetivos como roles de género, toma de decisiones, exclusión, desvalorización del trabajo de las mujeres y baja autoestima de las mujeres. La metodología del proceso de capacitación con los grupos de MIP en café ha tenido logros; sin embargo, presenta limitaciones porque no se ha adecuado a condiciones de los grupos (analfabetismo y carga de trabajo) y no ha logrado una participación estable y efectiva de hombres y mujeres. Pero principalmente no se han reducido las diferencias en el conocimiento de hombres y mujeres en el manejo del cultivo de café, para lograr una participación igualitaria.

**Palabras clave:** Manejo integrado de plagas, Género, Transferencia de tecnología, Investigación participativa.

**ABSTRACT.** *Involvement of women in participative processes of integrated management of pests on coffee in Nicaragua.* In Nicaragua, the CATIE/INTA/MIP (NORAD) project develops a process of generation and transfer of integrated pest management (IPM) technology in the coffee crop with small producers, based upon the development of training for the phenological stage of the crop and the use of participative methodologies. This study attempts to identify the factors that facilitate or limit the participation of women in the IPM of coffee training process. Reflective workshops utilizing participative tools, surveys, interviews observation of participants and meetings were performed. It was determined that the participation of women in this training process is determined by structural factors such as illiteracy, land tenancy and domestic load, amongst others. But it is also determined by subjective factors such as gender roles, decision making, exclusion and the devaluation of the work of women. The methodology of the training process with the coffee IPM groups has had achievements; however, it has shown limitations because it is not appropriate for the group conditions (illiteracy and work load) and has not achieved stable and effective participation of men and women. But principally it has not reduced the differences in knowledge of men and women in the management of the coffee crop, in order to achieve equality of participation.

**Key words:** Integrated Pest Management, Gender, Technology Transfer, Participative Research.

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

<sup>2</sup> Estelí, Nicaragua. iluces@ibw.com.ni

<sup>3</sup> Grupo de Desarrollo Rural. CATIE. Turrialba, Costa Rica. prins@catie.ac.cr

## Introducción

En Nicaragua la economía está basada principalmente en la agricultura, siendo el café el cultivo de exportación más importante, con un 23% de las exportaciones en 1995 (UNICAFE 1996). En la zona norte de Nicaragua, la principal zona cafetalera, el 60% corresponde a pequeños productores (0,7-7 ha) (Galloway y Beer 1997).

El proyecto CATIE/INTA-MIP (NORAD) de Nicaragua con el apoyo de instituciones locales, ha desarrollado, desde 1989, un proceso de generación y transferencia de tecnología MIP en el cultivo de café. En este proceso participan también organismos gubernamentales, no gubernamentales y pequeños productores, especialmente los que forman parte de cooperativas cafetaleras.

La experiencia desarrollada por el Proyecto con estos grupos de productores de café se ha basado en la capacitación, tanto en el aspecto técnico productivo como metodológico. El proceso de capacitación toma como referencia las etapas fenológicas del cultivo de café y se realiza mediante herramientas participativas.

La experiencia del Proyecto muestra que para lograr una mayor adopción de las prácticas MIP en las fincas es necesario involucrar a los miembros de la familia de los productores que participan en las diferentes labores de la finca. La participación de la mujer en el proceso de implementación de MIP es muy importante, especialmente en café, donde las mujeres realizan importantes prácticas culturales, tales como cuidado de los viveros, llenado de bolsas, abono, siembra, deshierba y búsqueda de broca y recolección. Sin embargo, en los grupos de productores que han participado en las capacitaciones realizadas por este Proyecto la presencia de mujeres no supera el 20%.

Por tanto, el objetivo de esta investigación fue identificar los factores que obstaculizan o facilitan la participación de las mujeres en el proceso de capacitación de MIP en Nicaragua con el propósito de considerarlos en los programas en el futuro.

## Materiales y métodos

### Comunidades participantes

En el estudio participaron los productores que conforman los grupos MIP de las comunidades Aguas Amarillas, La Reyna y Monterrey en los departamentos de Matagalpa y Jinotega, de la zona norte de Nicaragua.

La comunidad de Aguas Amarillas está conformada principalmente por pequeños productores que cultivan granos básicos para autoconsumo y café como rubro principal para comercio. El analfabetismo alcanza el 65%, según censo realizado en 1996. El grupo MIP de esta localidad estaba conformado por los socios de la cooperativa del lugar (22 hombres y 4 mujeres). La asistencia a los eventos no fue regular, por lo cual la información para el estudio se obtuvo de 10 socios y 4 socias. También fueron consultadas 5 mujeres de la comunidad que no pertenecían a la cooperativa.

En La Reyna la comunidad está conformada por productores dedicados al cultivo de café para comercialización, al cultivo en áreas pequeñas de granos para consumo familiar y a la ganadería en pequeña escala. Este grupo es mixto, con una participación de mujeres, la cual alcanza el 36%, mayor que la de Aguas Amarillas. Inclusive la cooperativa ha diseñado un plan de género con el propósito de integrar más mujeres en la organización. La información se obtuvo de 15 socios y 8 socias y 5 mujeres que no eran socias de la cooperativa.

Monterrey es un asentamiento campesino formado en los años 80, donde la población está dedicada al cultivo de café principalmente. A partir de 1992 con el apoyo del Organismo de Desarrollo Municipal (ODESAR) las mujeres de esta comunidad lograron tener su propia organización o "colectivos" con el propósito de recibir capacitación en diversos aspectos y acceder a crédito. En 1997, el Proyecto CATIE/INTA/MIP inició la capacitación en MIP café con un grupo de mujeres, específicamente con el "colectivo" Cándida Rosa Centeno, para lo cual cuenta con el apoyo de ODESAR, quien colabora en el seguimiento de la aplicación de MIP en el campo. Sin embargo, a que este grupo es un colectivo de mujeres posteriormente ingresaron algunos hombres, especialmente esposos o familiares de las mujeres participantes. La información se obtuvo de 13 mujeres que han participado en el proceso de capacitación, 2 hombres dirigentes de la cooperativa y 5 mujeres que no son parte de los "colectivos".

### Metodología del estudio

Como primer paso de la metodología se realizó una sistematización de la experiencia del Proyecto CATIE/INTA/MIP, para lo cual se utilizó información generada en esta temática por el Proyecto y por instituciones locales. También se realizó un taller de refle-

<sup>4</sup> Para facilitar la lectura de este artículo los términos productores y agricultores se utilizan genéricamente, por lo cual incluyen tanto a hombres como mujeres.

xión con técnicos y especialistas del Proyecto, además de participación del primer autor de este trabajo como observador.

En el trabajo de campo se combinaron técnicas cuantitativas y cualitativas de la recolección de los datos. Además se utilizaron procedimientos participativos tales como la convivencia con las familias para lograr una mayor vinculación, aceptación y nivel de confianza con los grupos en estudio, otros métodos fueron: "observación participante"<sup>5</sup>, testimonios, entrevistas semiestructuradas, conversaciones informales y talleres de reflexión.

En los talleres de reflexión se utilizaron herramientas adaptadas de Geilfus (1997), como: el calendario estacional de los cultivos, el calendario estacional de actividades integrando el enfoque de género, las líneas de tiempo, líneas de tendencia, análisis de beneficios, matriz de necesidades de extensión y asistencia técnica y un análisis FODA.

Además para la retroalimentación se procedió a realizar la devolución de la información obtenida a los participantes, lo que permitió obtener mayores apreciaciones de los productores sobre el proceso y validar la información.

Debido a que las variables de la investigación son en su mayoría cualitativas, la información recopilada fue analizada utilizando como método principal el análisis descriptivo. Se tomó la información recopilada del libro de campo, entrevistas, testimonios, memoria de talleres y observaciones. La información se ordenó y clasificó de acuerdo a las variables del estudio y se procedió a hacer una descripción de cada uno de los casos.

Para facilitar la interpretación y análisis de los resultados se utilizó la triangulación de la información

(Lammerink y Wolffers 1994) utilizando dos métodos: 1) por fuente: comparando la información generada por los técnicos del proyecto, 2) por métodos: comparando la información generada en los talleres, entrevistas, testimonios y observación.

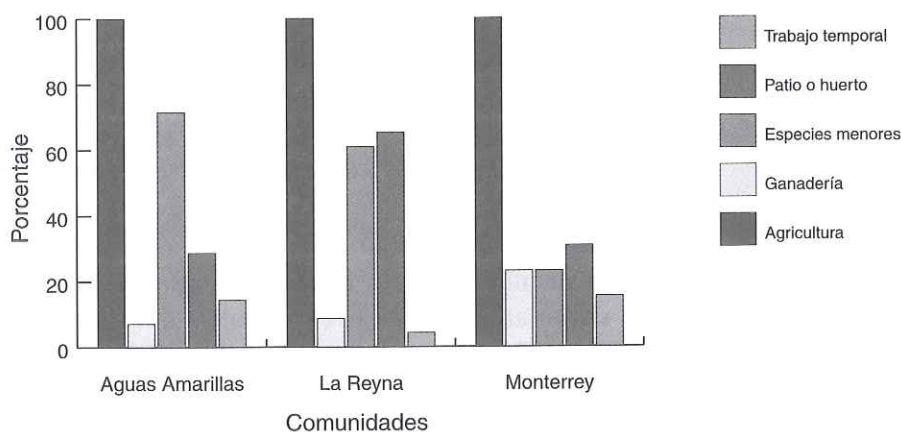
El cuestionario aplicado brindó información cualitativa relevante de los grupos de estudio. Se hizo un análisis de estadísticas descriptivas, calculando frecuencias y porcentajes, en algunas variables cuantitativas. Posteriormente, se graficaron en histogramas de frecuencia.

## Resultados y discusión

Los tres grupos estudiados brindaron información relevante para identificar los elementos que inciden en el interés y comportamiento de las mujeres en el proceso de capacitación en MIP en el cultivo del café. Los cinco elementos más relevantes fueron:

**La diferenciación de la participación de los adultos de las familias en las actividades productivas y reproductivas.** Las actividades agrícolas son el eje de la economía campesina, principalmente los cultivos de granos básicos para autoconsumo y el café como cultivo de comercialización. También se realizan actividades complementarias como la ganadería y la cría de especies menores (Fig. 1).

El sistema productivo familiar da prioridad a los cultivos de autoconsumo como maíz, frijoles, cultivos del huerto casero o patio y crianza de animales domésticos, lo cual se conoce como economía de patio y al café como producto generador de ingresos monetarios. El café es manejado en combinación con plátano o guineo (*Musa* sp.), que sirve, a la vez, de sombra en los cafetales y para la producción de fruta para consumo familiar.



**Figura 1.** Actividades productivas de las familias participantes en los grupos MIP, de las comunidades Aguas Amarillas, La Reyna y Monterrey, Nicaragua.

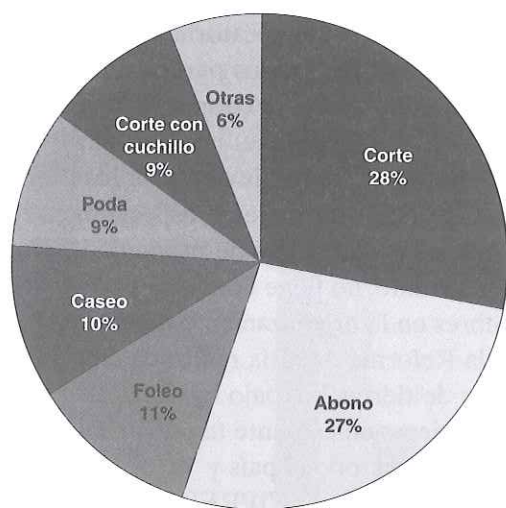
<sup>5</sup> Método antropológico que tiene el propósito de obtener la información que el informante no puede expresar con facilidad y que consiste en la observación continua de los participantes de un estudio.

La cría de especies menores como gallinas y cerdos es una actividad que manejan las mujeres como extensión de su trabajo doméstico, pero en la cual también están involucrados los hijos. Generalmente, esta actividad tiene el propósito de mejorar la dieta familiar y representa un pequeño ahorro, al cual recurren en casos de emergencia (enfermedad, compra de alimentos, fiestas navideñas). También la necesidad de ingresos adicionales obliga a los productores a realizar trabajos temporales en otras fincas.

La división de labores a lo interno de las familias confirma la diferenciación de las funciones productivas (como las descritas) y las reproductivas (que consisten principalmente en el cuidado y crianza de los hijos) según el género, lo que es parte de un patrón histórica y culturalmente establecido.

Las mujeres participan, en la producción de granos básicos y en el cultivo del café, pero realizan aquellas actividades que requieren menos esfuerzo físico. Generalmente, sus jornadas diarias en el campo duran aproximadamente 5 horas y las de los hombres 7 horas. La principal razón de la diferencia es que las mujeres tienen que regresar a sus casas a continuar con las labores domésticas (preparación de comida, lavar, cuidado de niños, etc.).

La mayor participación de las mujeres en el cultivo del café se da en el corte y el abono (Fig. 2). Los participantes entrevistados señalan que las mujeres participan en las prácticas culturales del café pero que su papel es complementario a la actividad que realizan los hombres. Es decir, no son actividades exclusi-



**Figura 2.** Porcentaje de participación de las mujeres en los tres grupos MIP en las prácticas culturales del cultivo de café.

vas de uno u otro sexo, sino que lo hacen en conjunto, por esta razón, cuando se les pregunta a los hombres si las mujeres participan en la producción ellos mencionan que "ellas ayudan". Esta "ayuda" es importante para las labores que se realizan en el campo, pero el término 'ayuda' indica también que la contribución de las mujeres a la economía campesina no es muy valorizada. Las mujeres tienen mayor dominio y poder de decisión en la llamada economía del patio.

Ortega (1994) en un estudio sobre género en el manejo de los recursos naturales en Nicaragua determinó que el sistema patriarcal continúa inalterable, ya que es el hombre quien tiene mayor acceso y control sobre los recursos naturales. Aunque las mujeres acceden a ellos, siempre se ven limitadas en la toma de decisiones. Igualmente, a pesar de que el trabajo productivo no es patrimonio único del hombre, es el que se valoriza; el trabajo productivo de las mujeres y el doméstico continúa siendo invisible. El primero es considerado como "ayuda al hombre" y el segundo como "algo natural".

Al participar las mujeres en las actividades productivas como "ayudantes" no creen necesario participar en los eventos de capacitación sobre aspectos técnicos y productivos de los cultivos. Ellas consideran que quienes deben participar son los hombres porque son los responsables de la producción.

Las mujeres jefes del hogar y con la responsabilidad de mantener a la familia, participan más en las labores productivas y supervisan y orientan el trabajo en la finca. En el último caso hay mayor motivación de participar en organizaciones colectivas como cooperativas, y en eventos de capacitación para así, incrementar su conocimiento y poder dirigir mejor los trabajos.

Sin embargo, en las comunidades estudiadas hay ciertas diferencias. Por ejemplo, en Monterrey la participación de las mujeres es mayor en la toma de decisiones sobre el manejo de la parcela y comercialización de la producción debido a que ese grupo o colectivo recibió capacitación en diversos aspectos de desarrollo rural, lo cual fortaleció su capacidad de toma de decisiones y aumentó su confianza en sus conocimientos.

**Factores externos que facilitan u obstaculizan la participación de las mujeres en el proceso de capacitación MIP.** Los técnicos del Proyecto que han participado en los procesos de capacitación en MIP mencionan que de acuerdo a sus experiencias los aspectos más relevantes que obstaculizan el proceso de implementación de MIP son: 1. La participación inestable de los productores en los eventos programados. 2. El

arraigo de tecnologías y metodologías comerciales, principalmente por la influencia de empresas vendedoras de plaguicidas sintéticos. 3. Los mecanismos excluyentes de convocatoria que afectan principalmente a las mujeres.

Los técnicos consideran que los factores que facilitan la participación de las mujeres son: 1-La necesidad e interés de los grupos de productores para mejorar sus cultivos. 2-Buen nivel de organización de los productores en las comunidades. 3-Contenido técnico ecológico y el enfoque participativo de las capacitaciones.

Mientras para los productores en términos generales, las dificultades para la participación de las mujeres están determinadas por: analfabetismo, carga doméstica, tenencia de la tierra, organización social, jefatura del hogar, pero también por otros factores de orden subjetivo, tales como: división de labores a lo interno de la familia, el papel de las mujeres en las actividades productivas y de toma de decisiones, exclusión de las mujeres de la organización y de las convocatorias a eventos técnicos, desvalorización del trabajo y baja autoestima de las mujeres.

**La carga doméstica** es el principal obstáculo para la participación de las mujeres en estos eventos. El 80% de las mujeres de Aguas Amarillas mencionaron este factor como la limitante, un 38% de las mujeres de La Reyna y un 48% de las de Monterrey. La situación en Aguas Amarillas se explica porque un 50% de las mujeres son jefas de hogar y tienen que velar por las labores domésticas y son responsables de las fincas.

No obstante, cuando las mujeres están muy motivadas, buscan alternativas para superar ese obstáculo, por ejemplo mediante la colaboración de familiares cercanos. Es notable que una vez que las mujeres superan las limitaciones en la esfera familiar, se muestran más decididas que los hombres para seguir participando en actividades de este tipo. Esto se comprueba analizando la asistencia a los eventos, porque aunque el porcentaje de asistencia de mujeres es mucho menor que la de hombres, el de ellas es más constante.

Otro factor que los productores aducen que afecta la participación de las mujeres es la **presencia del esposo o compañero y jefatura del hogar**. En Nicaragua, el 25% de los hogares rurales están encabezados por mujeres (Pérez 1990). Un estudio realizado con grupos de productores que están implementando MIP en Nicaragua, indica que el 16% de las familias están encabezadas por mujeres (CATIE/INTA-MIP 1989). En este estudio se identificó que el 28 % de las familias participantes estaban encabezadas por mujeres.

La presencia o ausencia del esposo o compañero es particularmente importante porque esto determina el comportamiento de las mujeres en el proceso, principalmente en lo que respecta a la toma de decisiones en la realización de las prácticas y en quien debe participar en los eventos de capacitaciones.

Para las mujeres jefas de hogar y responsables de la finca, la principal razón para participar en las capacitaciones era la necesidad de aprender a manejar sus cultivos porque tienen que supervisar u orientar los trabajos que realizan en éstos. En otros casos, las mujeres ceden su espacio de participación a sus hijos, por considerar que manejan el café, o que tiene mayor nivel educativo y por lo tanto, puede aprovechar mejor las capacitaciones ofrecidas.

**La tenencia de tierra y forma de convocatoria a eventos de capacitación** limitan la participación de las mujeres. La tenencia de la tierra es una condición necesaria para poder ser socio de las cooperativas. La presencia de las mujeres en las cooperativas es limitada porque no fueron beneficiadas por la Reforma Agraria de los años 80 en la misma proporción que los hombres y sólo han podido obtener la tierra por herencia cuando mueren sus esposos.

Además un estudio en Nicaragua, concluyó que, al no poseer títulos sobre la tierra, la mayoría de las mujeres campesinas tampoco han tenido la oportunidad de ser beneficiarias de otras políticas, tales como el crédito, asistencia y capacitación técnica. Aunque éstas demuestren ser productoras en sus unidades económicas familiares, no han podido aprovechar los beneficios que tales programas han brindado (Pasquier 1993).

Debido a que la convocatoria a los eventos de capacitación en los tres grupos participantes en el estudio, se realizó mediante la cooperativa; los productores de la comunidad, que no son parte de estas organizaciones, no fueron invitados a los eventos. Esto afecta aún más a las mujeres, especialmente porque la mayoría no posee títulos de propiedad sobre la tierra y por lo tanto, no tiene la misma participación que los hombres en la organización cooperativa.

En la Reforma Agraria realizada en los años 80's, la entrega de tierras fue bajo la modalidad cooperativa y las mujeres únicamente tenían presencia en 38% de las mismas en todo el país y del total de los socios, el 10,5% eran mujeres (CIPRES 1992).

En este estudio se determinó que la tenencia de la tierra varió en los grupos MIP de las comunidades de Aguas Amarillas, La Reyna y Monterrey (Fig. 3).



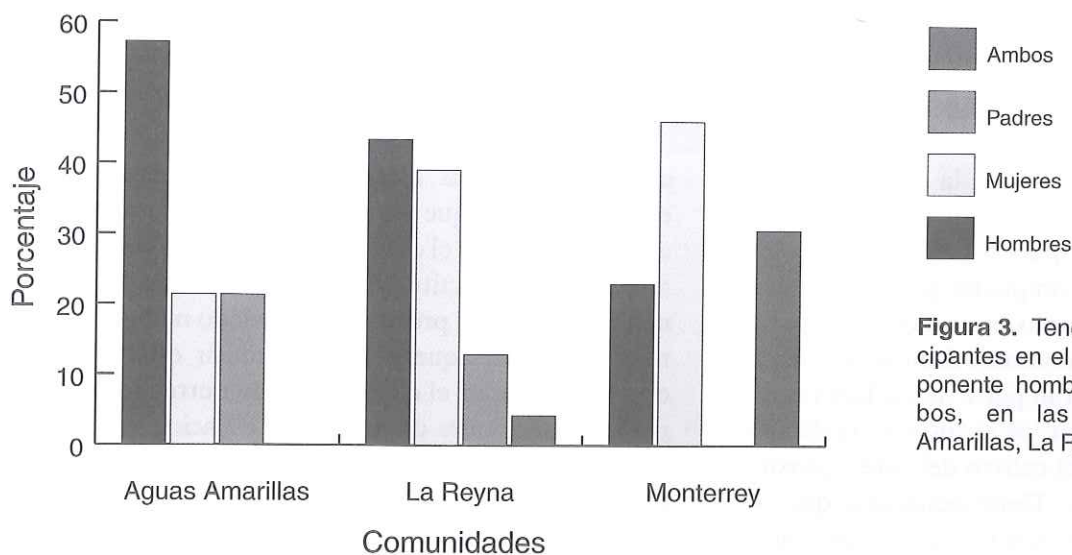
Aguas Amarillas representa la realidad de las comunidades tradicionales de Nicaragua, donde la mayor parte de la tierra está a nombre del hombre y las mujeres la adquieren por herencia. Mientras en Monterrey y La Reyna se han producido intervenciones que han cambiado esta relación. En Monterrey ODESAR hizo posible que algunos hombres cedieran tierras a las mujeres y compartieran los títulos de propiedad. En La Reyna, las mujeres fueron beneficiadas por la Reforma Agraria y por tanto un mayor porcentaje de ellas tiene tierras con respecto a Aguas Amarillas. La participación de hijos e hijas del propietario de la tierra fue mayor en Aguas Amarillas, seguido de La Reyna; en Monterrey esto no sucedió. Esto se debe a que ellos asisten a las capacitaciones por problemas de escolaridad de sus padres o porque son ellos los responsables del manejo de los cafetales.

La **escolaridad y el conocimiento empírico** es otro factor que condiciona la participación de las mujeres en las capacitaciones. El nivel de escolaridad es considerado por los agricultores como un obstáculo para la participación de las mujeres en las capacitaciones de MIP, a pesar de que es un problema que afecta tanto a hombres como mujeres. Sin embargo, los hombres no lo consideran tan importante porque consideran que éste está compensado con el conocimiento empírico que poseen sobre el cultivo. Por el contrario, las mujeres señalan que no poseen el mismo nivel de conocimiento sobre el manejo de café que tienen los hombres ni la misma posibilidad de poner en práctica lo aprendido en las capacitaciones.

En este estudio, en los grupos MIP de las tres comunidades estudiadas fue mayor el porcentaje de mujeres que mencionó el nivel de escolaridad como una limitación para la participación en las capacitaciones de MIP (Fig. 4). Cabe destacar que hay diferencias para este aspecto entre las comunidades estudiadas. El 75% de las mujeres de Aguas Amarillas mencionaron el nivel de escolaridad como un factor que limitaba su participación, seguido de un 25% de las mujeres de La Reyna y solo un 15,3% de las mujeres de Monterrey consideró este factor como una causa. El resultado en Monterrey se debe a su larga experiencia en eventos de capacitación lo cual les ha permitido mejorar su nivel de conocimientos y aumentar la confianza en su capacidad para participar en estas actividades.

El nivel de escolaridad tiene un efecto en el proceso ofrecido por el Proyecto, principalmente porque se requiere de toma de datos de las parcelas, hacer cálculos de recuentos y de productividad. Además ellos manifiestan que los eventos (teóricos y prácticos) no son suficientes para recordar todo lo enseñado en los eventos.

La **organización de los productores e influencia institucional** también fue mencionada por los participantes de este estudio como un problema que afecta la participación en capacitaciones MIP. La organización de los productores en cooperativas y colectivos es un aspecto que favorece el desarrollo del proceso de implementación de MIP, porque les permite un vínculo con instituciones externas, un local para reunirse en las comunidades, y capacidad de convocatoria, entre otras. Pero por otro lado, es un factor que limita la



**Figura 3.** Tenencia de la tierra de los participantes en el estudio, de acuerdo al componente hombres, mujeres, padres y ambos, en las comunidades de Aguas Amarillas, La Reyna y Monterrey, Nicaragua

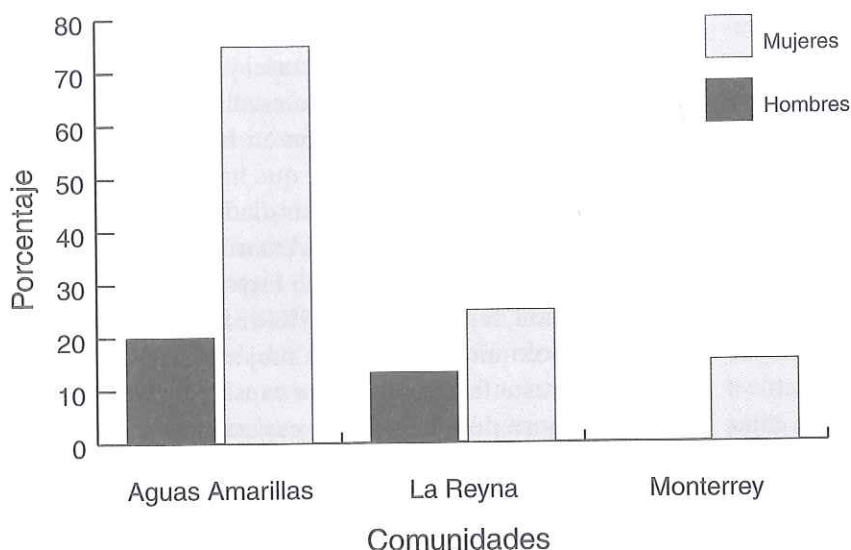


Figura 4. Porcentaje de participantes que mencionaron un bajo nivel de escolaridad como una limitante para la participación en capacitaciones sobre MIP.

participación de otros productores de la comunidad que no forman parte de la cooperativa. Esto afecta particularmente la participación de las mujeres porque, en todas las cooperativas la presencia de las mujeres es mínima.

En dos de los casos estudiados, la influencia institucional ha sido un factor positivo importante para reducir las diferencias entre hombres y mujeres, tanto en cuanto la posesión de la tierra como en la representación de las mujeres en los órganos de dirección. El enfoque de género que se ha aplicado ha contribuido a mejorar la capacidad de gestión y aporte de las mujeres.

La influencia de las organizaciones e instituciones locales, el enfoque de género que se ha aplicado, y la presencia permanente de los técnicos en las comunidades han facilitado la entrada del proyecto CATIE-MIP y el seguimiento a las prácticas implementadas, así como el desarrollo de las mujeres dentro de los grupos.

#### Estrategia metodológica de la capacitación en MIP

La capacitación está basada en las **etapas fenológicas del cultivo**. Si bien es cierto, que la capacitación por etapa fenológica es importante en el desarrollo del MIP con los productores, para lograr una mayor participación femenina debe ampliarse para incluir el sistema productivo en conjunto, la economía de patio y los cultivos dedicados al consumo familiar, en los cuales las mujeres realizan gran parte de las labores.

Con esta metodología los eventos se realizan de acuerdo a la fenología del cultivo del café, aproximadamente cada dos meses. Debe destacarse que aunque en los talleres se utilizan técnicas audiovisuales,

matrices para registrar la información y prácticas de campo, los participantes, especialmente las mujeres, consideran que las sesiones son muy largas e incluyen muchos contenidos y que esto las afecta porque les dificulta la recepción de los temas presentados.

Como se ha mencionado una de las limitaciones que enfrentan las mujeres para participar en las capacitaciones en MIP del cultivo de café es que estos eventos se han realizado mediante las cooperativas, lo cual excluye a los productores no miembros, que en comunidades como Aguas Amarillas y La Reyna son en su mayoría mujeres.

También se determinó que en las capacitaciones no se han implementado los mecanismos para lograr que las mujeres participen en las discusiones que se realizan durante los eventos. Esto ha causado que las percepciones y necesidades particulares de las mujeres no sean conocidas y por tanto, consideradas en futuros eventos y programas MIP. Sería recomendable, por tanto, que la discusión sea organizada por sexos, por lo menos en determinados momentos, para obtener las opiniones de las mujeres.

La presencia de los hombres inhibe la participación activa de las mujeres, principalmente porque ellas consideran que ellos tienen más conocimiento y experiencia sobre el cultivo. Esta situación coloca a las mujeres en una actitud más pasiva en las capacitaciones. En general, el proceso desarrollado no ha considerado actividades que permitan reducir estas diferencias. Sin embargo, el ejemplo de Monterrey indica que realizar reflexiones de género en espacios propios de mujeres, ayuda a elevar su autoestima, autoconfianza y capacidad de gestión y aportación, para así poder participar con mayor fuerza en grupos mixtos.

En general, se deben analizar los factores que obstaculizan la participación de la mujer en el proceso de capacitación, para realizar las modificaciones necesarias en la metodología utilizada por el Proyecto. Principalmente, se debe reforzar la motivación a las mujeres para incorporarse al proceso de capacitación ofrecidos por el Proyecto. También deben analizarse los contenidos de los cursos para que no resulten demasiado extensos y desmotiven a las mujeres que aceptan la invitación a los eventos. Es importante reforzar las prácticas de campo y utilizar más recursos audiovisuales que faciliten el aprendizaje y reduzcan las diferencias en el conocimiento sobre manejo de los cultivos entre hombres y mujeres.

Las capacitaciones en espacios propios de mujeres son una buena alternativa cuando en los grupos la participación de las mujeres en las discusiones y toma de decisiones es menor que las de los hombres. Mientras los espacios mixtos no son una buena alternativa cuando se pretende reafirmar la capacidad y potencialidad de las mujeres. El manejo de espacios mixtos requiere mayores habilidades metodológicas de los técnicos que ofrecen la capacitación.

## Literatura citada

- CATIE/INTA-MIP - Nicaragua. 1997. Propuesta de estrategia básica para la incorporación paulatina del enfoque de género en el proyecto CATIE/INTA-MIP (NORAD). Puntos de partida o premisas básicas. 19 p.
- CATIE/INTA-MIP. 1997. Proyecto CATIE/INTA - MIP (NORAD) II Fase. 47 p.
- CATIE/INTA-MIP. 1998. Borrador de Informe final del proyecto. Documento interno
- CATIE/INTA-MIP. 1998. La familia rural y MIP. Documento interno.
- CATIE/INTA-MIP. Informes técnicos semestrales y anuales del proyecto. (varios años).
- Fauné, A; Sequeira, O; Maldidier, C; Ampié, S. 1990. Cooperación y Subordinación en las familias campesinas. Managua, Nicaragua, Centro para la promoción, investigación y el desarrollo rural y social. 292 p.
- Galloway, G; Beer, J. 1997. Oportunidades para fomentar la silvicultura en cafetales en América Central. Turrialba, Costa Rica, CATIE-GTZ. 165 p.
- Geilfus, F. 1997. 80 herramientas para el Desarrollo Participativo. Diagnóstico, planificación, Monitoreo, Evaluación. II-CA- PROCHALATE. San Salvador. 208 p.
- Lammerink, M; Wolffers, I. 1994. Selección de ejemplos de investigación participativa. La Haya. 255 p.
- Ortega, I. 1994. Una experiencia de Investigación sobre Género y Manejo de los Recursos Naturales en Nicaragua. *In* Género en el Manejo de los Recursos Naturales Programa Social de la Conservación. San José, Costa Rica, UICN. p. 25 -30.
- Pasquier, R. 1993. Mujer y Ambiente. Nuestra Realidad, lo que juntas queremos construir y una experiencia que deseamos compartir. Managua, Nicaragua, Programa Mujer y Medio Ambiente. Movimiento Ambientalista Nicaragüense. 86 p.
- Pérez, P. 1990. Diagnóstico de la situación de la mujer en Nicaragua: 1990. Managua, Nicaragua, Agencia Canadiense para el Desarrollo Internacional. 51 p
- UNICAFE. 1996. Resultados de la economía nacional 1995. Managua, Nicaragua, Gerencia de Planificación. 13 p.

# Comparación de sistemas para la producción de plántulas de tomate frente al complejo moscas blancas-geminivirus

Mayte Piñón<sup>1</sup>  
Antonio Casanova<sup>1</sup>

**RESUMEN.** Se evaluó la influencia de diferentes sistemas de manejo agronómico sobre la producción de plántulas de tomate a "raíz desnuda" en Quivicán, Cuba. Los sistemas de manejo fueron agroecológico, transicional y convencional. En el agroecológico se usaron enmiendas orgánicas al suelo, control biológico y el empleo de cultivos como barreras (maíz), y fertilización orgánica, mientras en el sistema transicional el uso de barreras fue parcial, la fertilización orgánica fue del 50% y se complementó con fertilizantes sintéticos y en el sistema convencional se aplicaron plaguicidas y fertilizantes sintéticos y no se sembraron barreras de plantas. Se evaluaron indicadores productivos tales como: altura de la plántula, grosor del tallo, número de hojas, longitud de la raíz principal y peso seco del follaje; cantidad de adultos de *Bemisia tabaci*; incidencia y severidad de enfermedades causadas por geminivirus e indicadores ambientales tales como: contenido de materia orgánica y biomasa bacteriana del suelo. Se utilizaron tres cultivares de tomate: 'Campbell 28', que es susceptible; 'Lignon', parcialmente resistente; y Línea-4, resistente a geminivirus transmitidos por moscas blancas. La altura, longitud de la raíz principal y peso seco del follaje de las plántulas de tomate producidas mediante los sistemas evaluados fueron similares, lo que evidencia que la fertilización orgánica compensó a la utilización de fertilizante sintético. En el sistema agroecológico, la cantidad de adultos de *B. tabaci* por planta fue ocho veces menor y la incidencia (porcentaje de plántulas con síntomas) y severidad de la virosis fueron dos veces menos que los valores observados en el semillero manejado convencionalmente.

**Palabras clave:** Producción plántulas, Tomate, Mosca blanca, Geminivirus, *Bemisia tabaci*.

**ABSTRACT.** Comparison of systems for the production of tomato seedlings facing the whitefly-geminivirus complex. The influence of different systems of agricultural management on the production of tomato seedlings to "naked root" was evaluated in Quivicán, Cuba. The systems of management were agroecological, transitional and conventional. Soil organic amendments, biological control, barrier crops (maize), and organic fertilization were used in the agroecological system; whilst in the transitional system the use of barriers was partial, organic fertilization was 50% and complemented with synthetic fertilizers and in the conventional system pesticides and synthetic fertilizers were applied and no barrier plants were sown. Productive indicators were evaluated such as: seedling height, stem thickness, number of leaves, length of main root and foliage dry weight; quantity of *Bemisia tabaci* adults; incidence and severity of diseases caused by geminivirus and environmental indicators such as: content of organic material and bacterial biomass of the soil. Three tomato cultivars were utilized: "Campbell 28", that is susceptible; "Lignon", partially resistant; and Linea-4, resistant to geminivirus transmitted by whiteflies. The height, length of main root and the foliage dry weight of the tomato seedlings produced by the systems evaluated were similar, which shows that the organic fertilization was compensatory to the synthetic fertilizer. In the agroecological, the quantity of *B. tabaci* adults per plant was eight times less and the incidence (percentage of seedlings with symptoms) and severity of the virus was two times less than the values observed in the seedbed managed conventionally.

**Key words:** Seedling production, Tomato, Whitefly, Geminivirus, *Bemisia tabaci*.

<sup>1</sup> Instituto de Investigaciones Hortícolas "Liliana Dimitrova". Carretera Quivicán Bejucal Km 33 1/2, Quivicán, La Habana, Cuba.

## Introducción

El control cultural de las especies del género *Bemisia tabaci*, como vector de geminivirus, tales como el virus del enrollamiento amarillo de la hoja del tomate (TYLCV), está basado en prácticas que puedan retrasar la llegada de la enfermedad a la planta o demorar su desarrollo en ésta y reducir su presión, a fin de superar el período crítico del cultivo y lograr resultados productivos aceptables (Casanova 1997). Esto es particularmente importante para la etapa de semillero, ya que la producción de tomate, tanto en cantidad como en calidad, se ve seriamente afectada si la enfermedad llega durante las primeras siete semanas; moderadamente, si ello ocurre entre la octava y novena y apenas levemente después de la décima (Acuña 1993).

El objetivo de este trabajo fue conocer la influencia de diferentes sistemas de manejo agronómico del semillero sobre la producción de plántulas de tomate, en función de indicadores productivos, de incidencia de plagas y ambientales, así como sobre la incidencia de geminivirus transmitidos por moscas blancas.

## Materiales y métodos

El trabajo se desarrolló en el Instituto de Investigaciones Hortícolas "Liliana Dimitrova" (IIHLD), del Ministerio de la Agricultura (MINAG), ubicado en el Municipio de Quivicán en la provincia de La Habana, Cuba. Este está situado a 22° 23' N y 82° 23' O, a 11 msnm. La temperatura media durante el período del experimento osciló entre 22 °C y 25,6 °C; las precipitaciones entre 12,3 mm y 18,5 mm mensuales.

Se evaluaron tres tratamientos que correspondieron a diferentes sistemas de manejo para la producción de plántulas en semillero a campo abierto: agroecológico, transicional y convencional (testigo). Las características de cada sistema de manejo se describen en el Cuadro 1.

El experimento se realizó en dos años consecutivos, en dos fechas de siembra diferentes. Las siembras se efectuaron en época óptima para el cultivo del tomate, clima fresco y seco (30 de noviembre del primer año y 20 de noviembre del segundo año) y no óptimo clima caliente y húmedo (3 de abril del primer año y 13 de marzo del segundo año). En cada uno de los tratamientos se incluyeron tres cultivares: 'Campbell 28', originaria de EEUU, productiva y de rendimiento estable, pero poco adaptada al calor y susceptible al TYLCV; 'Lignon', proveniente del programa de mejoramiento genético del IIHLD, adaptada al calor y a la humedad, posee resistencia parcial al TYLCV y 'Lí-

nea-4', proveniente del programa de mejoramiento genético del IIHLD, resistente al TYLCV. Las dos primeras constituyen el 45% de la estructura nacional de siembra (Cuba-MINAG 1996).

Cada tratamiento estaba conformado por nueve subparcelas de 1,40 m de ancho por 1,95 m de largo, en las cuales se sembraron los tres cultivares evaluados distribuidos al azar con tres repeticiones. El área de cada tratamiento fue de 31,29 m<sup>2</sup>. La separación entre tratamientos fue de 10 m. En todos los casos se sembró a una densidad de 60 semillas por metro lineal, en hileras transversales separadas a 0,15 m entre sí sobre la superficie del cantero (Cuba-MINAG 1984). Se empleó semilla certificada con un 92 % de germinación.

El sistema agroecológico se rodeó con barreras de maíz, *Zea mays* Lin, de la variedad precoz 'SR 26'. Este se sembró 30 días antes que el tomate, a doble hilera separadas 0,60 m entre sí y a una distancia de 0,15 m entre plantas, en canteros de 1 m de plato; este aislamiento fue sólo parcial en el sistema transicional. Por los lados este y oeste de ambos tratamientos se sembró *Tagetes erecta*, Lin (flor de muerto), como repelente de *B. tabaci*.

Los experimentos se efectuaron sobre un suelo Ferralítico Rojo compactado (Cuba-MINAG 1995).

Las variables productivas evaluadas fueron: altura de la plántula (cm), grosor de la base del tallo (mm), número de hojas, longitud de la raíz principal (cm) y peso seco del follaje (g). (Casanova, *Com. personal*, 1996), todas las cuales se efectuaron a los 25 días después de la siembra, al momento de arrancar las plántulas.

Con respecto a las plagas se evaluó la cantidad de adultos de *B. tabaci* (MB) mediante el muestreo semanal desde el desarrollo de las hojas cotiledonales, por conteo directo de los adultos presentes, promedio de 10 plántulas por subparcela. La severidad de la enfermedad causada por geminivirus (GEM), promedio de la intensidad de la virosis por subparcela, según escala visual propuesta por Scott y Schuster (1992). Además, se midió la incidencia de geminivirus como el porcentaje de plantas con síntomas por subparcela (Bolaños 1996). La identificación se realizó mediante un muestreo aleatorio de 3 g de follaje por subparcela y aplicación de la técnica de PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa) (Morales 1993).

Además se realizó el análisis del contenido de materia orgánica (MO), siguiendo la técnica de Walkley-Black. Para el cálculo de la biomasa bacteriana

**Cuadro 1.** Descripción de los sistemas de manejo para la producción de plántulas en semillero de tomate.

Característica	Sistema de manejo		
	Agroecológico	Transicional	Convencional
Sistema de riego	Microjet	Microjet	Microjet
Siembra a germ.	Diario, 80m <sup>3</sup> /ha	Diario, 80m <sup>3</sup> /ha	Diario, 80m <sup>3</sup> /ha
Germ. a 12 ddg*	Diario, 100m <sup>3</sup> /ha	Diario, 100m <sup>3</sup> /ha	Diario, 100m <sup>3</sup> /ha
+12 días ddg, cada 2 días	120m <sup>3</sup> ha	120m <sup>3</sup> /ha	120m <sup>3</sup> /ha
Nutrición:			
Química(t/ha) fórmula 9-10-12	-	0,3	0,6
Orgánica** (t/ha)	24,0	12,0	6,0
Aporte de N(kg/ha)	528,0	291,0	186,0
Control de <i>B. tabaci</i>	<i>Verticillium lecanii</i> 1 kg/ha	<i>V. lecanii</i> 1 kg/ha	endosulfán (2 kg/ha) + cipermetrina (0,5 L/ha)
Barreras de maíz ( <i>Zea mays</i> )	Total	Parcial	Ausencia
Plantas repelentes flor de muerto ( <i>Tagetes erecta</i> )	Presencia	Presencia	Ausencia

\*ddg= días después de la germinación

\*\* Estiércol vacuno descompuesto con: 31% de materia seca; N: 2,20%; P: 1,00% y K: 1,65%

(Bac), se utilizó el método propuesto por Zvyagintsev (1964). En el análisis químico, se emplearon los métodos y técnicas establecidos por la Dirección de Suelos y Fertilizantes (Cuba-MINAG 1980).

El análisis estadístico inicial consistió en la inferencia estadística para cada variable por sistema de manejo, para ello se utilizó el promedio de las dos épocas. El análisis de varianza multifactorial se realizó a través del programa computacional MSTAT-C (versión 1.42) para experimentos en serie o en espacio y tiempo (Steel y Torrie 1990) para todos los caracteres en estudio. En la separación de las medias se usó la prueba de rangos múltiples (Duncan 1955).

A partir de la matriz de correlaciones fenotípicas entre los caracteres, se efectuó un análisis de componentes principales (Anderson 1984).

## Resultados y discusión

Las prácticas de manejo agronómico aplicadas incidieron en el contenido de materia orgánica y biomasa bacteriana del suelo. Los valores de ambos caracteres fueron significativamente superiores en el sistema agroecológico (2,08% y 4,50 x 10<sup>6</sup> células/g de suelo respectivamente), con respecto al sistema convencional, donde los valores fueron de 1,90 % y 1,42 x 10<sup>6</sup> células/g de suelo, respectivamente.

En trabajos realizados, Abb-Elnain (1982) demostraron que no es el incremento de la materia orgánica

de los suelos lo que determina el valor del estiércol en el mejoramiento de las propiedades agroquímicas de los mismos, sino los efectos, que en su descomposición, produce en los demás indicadores del suelo. Wander *et al.* (1994), encontraron una mayor actividad microbológica o biomasa bacteriana en gran variedad de sistemas productivos bajo manejo agroecológico, lo que refleja el papel relevante de la descomposición de residuos en la determinación del N disponible. En estudios se ha demostrado que puede liberarse suficiente N a través de la mineralización, en ausencia de fertilizante mineral, para lograr rendimientos comprobables en los sistemas agroecológico y convencional (Temple *et al.* 1994).

Los sistemas de manejo evaluados produjeron plántulas con características productivas (altura, longitud de la raíz principal y peso seco del follaje) similares (Cuadro 2). Lo que indica que los mecanismos determinantes en ello fueron diferentes e influenciados por las prácticas de manejo de la nutrición.

En cuanto al grosor del tallo y al número de hojas, los mayores valores se registraron en los sistemas agroecológico y transicional, siendo diferentes significativamente a los valores del sistema convencional. Este comportamiento puede atribuirse al hecho de que no existió una reducción de la disponibilidad de nutrimentos por ausencia o disminución del fertilizante sintético, ya que se suplió orgánicamente.

**Cuadro 2.** Características productivas de las plántulas de tomate producidas en tres sistemas de manejo.

Características	Sistema				
	Agroecológico	Transicional	Convencional	ES	CV
Altura (cm)	12,86	12,38	9,45	0,70	10,54%
Grosor del tallo (mm)	3,33 a	3,24 a	2,59 b	0,03***	2,02%
Número de hojas	3,34 a	3,50 a	2,91 b	0,04***	2,34%
Longitud de la raíz principal (cm)	5,51	6,28	5,18	0,26	7,96%
Peso seco del follaje (g)	0,17	0,18	0,16	0,00	6,09%

Medias con diferente letra difieren entre sí  $P \leq 0,05$

Según Maestrey, (1986), hasta los 30 días el consumo de nutrimentos es muy bajo. En esta fase el mayor consumo lo realizan las hojas: 86% del N, 70% del P y 56 % del K total en la planta y seguidos por el tallo y la raíz. Este mismo autor demostró que durante este período la extracción diaria de nutrimentos por planta, equivale al 13-15% del total del NPK consumido en el ciclo de cultivo del tomate. Resultados similares fueron informados por Geus (1967).

Temple *et al.* (1994) informaron que los resultados no mostraron diferencias, al comparar sistemas orgánicos con convencionales, tanto a nivel de semillero como de plantación. El logro de resultados comparables en éstos es particularmente significativo, considerando que se ha hecho poca investigación formal sobre la optimización de prácticas culturales y selección de variedades para sistemas manejados con prácticas agroecológicas (Francis 1991).

La cantidad de adultos de *B. tabaci* en el follaje de las plántulas de tomate estuvo influenciada significativamente por la época y el sistema de manejo empleado, siendo mayores los valores en la época no óptima y en el sistema convencional. Gerling *et al.* (1986) señalaron que *B. tabaci* tiene un desarrollo óptimo entre 20-30° C. Dentro de este ámbito, el tiempo generacional se acorta y la fecundidad aumenta, incrementándose su eficiencia como vector. Se hallaron, además correlaciones significativas negativas entre los contenidos de materia orgánica y biomasa bacteriana del suelo y la incidencia del insecto ( $r^2 = - 0,678$ ;  $r^2 = - 0,754$ ,

respectivamente). La menor cantidad de adultos de *B. tabaci* se registró en el sistema agroecológico y fue significativamente diferente al encontrado en el sistema convencional (Cuadro 3).

Este resultado puede estar vinculado, entre otros factores, con la forma de nutrición de las plántulas y con la disposición de las barreras de maíz en el sistema agroecológico. En cuanto al primer aspecto, se considera que las defensas orgánicas de los vegetales están determinadas por una nutrición equilibrada en cantidad y diversidad de oligoelementos, lo cual impide la acumulación de sustancias nutritivas en la savia, durante este proceso, los parásitos no pueden explotar poblacionalmente (Chaboussou 1972).

El mantenimiento de altos niveles de materia orgánica en el suelo está asociado con una disminución de la incidencia de enfermedades en las raíces de las plantas y de plagas de insectos. Esto permite establecer sistemas de manejo de enfermedades donde el uso de la materia orgánica, como medida para estimular los factores de regulación natural (Perez 1996).

Por otra parte, con respecto al uso de barreras vivas, Salas *et al.* (1997) en un trabajo de caracterización del vuelo de adultos de *B. tabaci* en condiciones de campo, informaron que la mayor captura de adultos se registra entre 0-25 cm sobre el suelo, seguido de 26-50 cm.

Avila y Pozo (1991), corroboran que el uso de barreras vivas de maíz o sorgo, impide que los adultos de *B. tabaci* lleguen al cultivo que se está protegiendo. Esta información puede ser de gran utilidad para dise-

**Cuadro 3.** Cantidad de adultos de *B. tabaci* e incidencia y severidad de la virosis en tres sistemas de producción de plántulas de tomate, promedio de las dos épocas de siembra.

Sistema	Cantidad de adultos <i>B. tabaci</i>	Incidencia de geminivirus (%)	Severidad de geminivirus	ES	CV
Agroecológico	0,005 c	0,70 c	0,4939 c	0,068*	54,87%
Transicional	0,010 b	1,15 b	0,7494 b	0,074*	23,18%
Convencional	0,041 a	1,60 a	1,0340 a	0,1337*	18,79%

Medias con diferente letra difieren entre sí  $P \leq 0,05$

ñar estrategias de control de *B. tabaci* dentro de programas de manejo integrado de plagas.

En este trabajo, la menor incidencia y severidad de la virosis ocurrieron también en el sistema agroecológico y fueron significativamente inferiores a los encontrados en el sistema convencional (Cuadro 3). Únicamente en plántulas producidas mediante este sistema se confirmó la presencia del TYLCV por la técnica de PCR.

Dardón *et al.* (1997) observaron que la asociación tomate- maíz contribuyó a disminuir la virosis en el tomate en un 21%, así mismo se informó que ésta tuvo resultados positivos para el arraigo de las plántulas y su vigor. En este trabajo, la severidad de geminivirus fue menor (0,44) en la época óptima de siembra del tomate con respecto a la época no óptima (1,07).

Además se debe considerar la respuesta de la variedad del cultivo al virus. En el presente trabajo la variedad Campbell 28 resultó ser la más susceptible, al alcanzar los valores promedios más altos de incidencia y severidad 2,11 y 2,69, respectivamente. Estos resultados son significativamente superiores a los de Lignon que fueron de 1,08 y 2,54, respectivamente y L-4 con valores de 0,38 y 1,00, respectivamente. Hernández *et al.* (1997) informaron el buen comportamiento productivo de la variedad Lignon, ampliamente distribuida en Cuba. Gómez y Laterrot (1997) señalaron el nivel de resistencia al TYLCV presente en líneas provenientes del cruzamiento interespecífico *L. esculentum* x *L. chilense*, en este caso regido por una herencia del tipo dominante.

También se observó una presencia importante de enemigos naturales (depredadores) en las barreras de maíz y de *Tagetes* de los sistemas agroecológico y transicional. Ello se hizo evidente a partir de la floración. Abud y Alvarez (1995) afirman que el polen de ciertos cultivos, tales como el maíz y el sorgo, utilizados como barreras en el tomate, favorece a los enemigos naturales, a la vez que estos cultivos les proporcionan refugio.

Entre los enemigos naturales presentes se destacaron: *Chrysopa* spp., *Cycloneda sanguinea* Csy. y *Coleomegilla cubensis* Csy. En *Tagetes* se observó la presencia de *Chrysopa* spp. Vázquez (*Com. personal*), obtuvo resultados positivos al intercalar esta especie en plantaciones de tomate, pues como repelente afecta la influencia de las moscas blancas, debido a que su follaje emana olores que repelen al insecto.

Brown (1993) y Letourneau y Altieri (1995) afirman que la presencia y diversidad de enemigos natu-

rales en el sistema agroecológico no constituyen una sorpresa, dado el nivel actual de conocimientos sobre cómo las prácticas de manejo, entre ellas la asociación de cultivos, pueden determinar la disponibilidad de recursos para estos pobladores del ecosistema.

El desarrollo de la biodiversidad en las barreras puede preservarse mediante la utilización de un producto biológico a base de *Verticillium lecanii* para el control de *B. tabaci* y no de insecticidas sintéticos. Esta práctica se utiliza actualmente con éxito en Cuba (Vázquez *et al.* 1995).

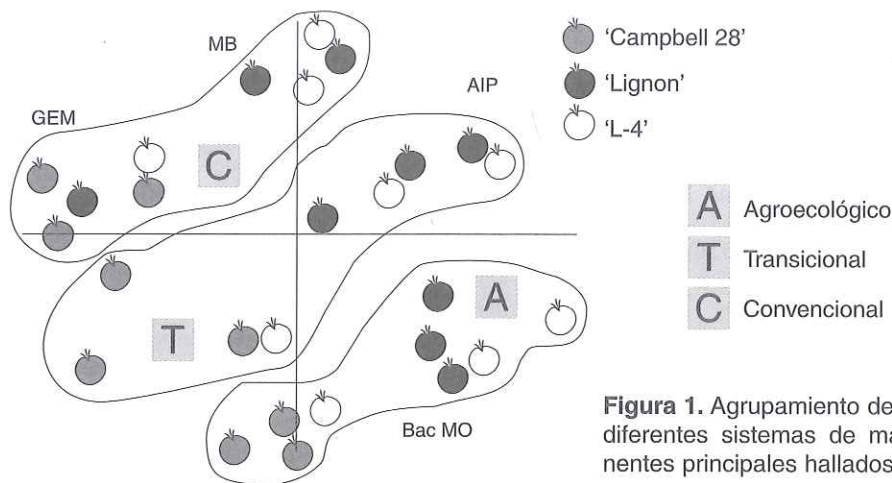
### Interacción de las prácticas

El análisis de los principales componentes evaluados permitió la identificación de dos fuentes de variabilidad. El primer componente está compuesto por características productivas de las plántulas tales como: altura, grosor del tallo y peso seco del follaje, con signos positivos y el segundo componente por características del suelo e incidencia de plagas: contenido de materia orgánica y biomasa bacteriana, con signos negativos y cantidad de adultos de *B. tabaci* con signo positivo.

En función de los mismos, los cultivares utilizados en los diferentes sistemas de manejo se pueden incluir en tres grupos (Fig. 1). Grupo A, donde aparecen los tres cultivares estudiados bajo el sistema agroecológico, con los mayores valores de altura de la plántula, grosor del tallo, peso seco del follaje, contenido de materia orgánica, biomasa bacteriana y menor cantidad de adultos de *B. tabaci*. Grupo T, en el que están los cultivares estudiados en el sistema transicional, con valores intermedios de altura de la plántula, grosor del tallo, peso seco del follaje, contenido de materia orgánica y biomasa bacteriana, así como cantidad de adultos de *B. tabaci*. Grupo C, en el que se representan los tres cultivares estudiados en el sistema convencional, con los valores menores de altura de la plántula, grosor del tallo, peso seco del follaje, contenido de materia orgánica y biomasa bacteriana y mayor cantidad de adultos de *B. tabaci*.

Los resultados obtenidos demuestran la influencia del manejo sobre la incidencia de plagas y enfermedades, pues aún los cultivares susceptibles a geminivirus (TYLCV), como Campbell 28, pueden mejorar su comportamiento y lograr resultados aceptables cuando son manejados adecuadamente. Por otra parte, la resistencia a geminivirus lograda en los cultivares Lignon y L-4, se preserva en las condiciones de bajo nivel de inóculo que propician los sistemas más razonables de producción, ya que entre los mecanis-





**Figura 1.** Agrupamiento de las variedades estudiadas en los diferentes sistemas de manejo en función de los componentes principales hallados.

mos de resistencia a los virus más frecuentemente encontrados en el tomate están la resistencia a la migración de célula a célula y la resistencia a la migración sistémica (Moury 1997), los cuales se hacen evidentes a partir de un buen manejo de plántulas.

### Conclusiones

Las prácticas de manejo incidieron en el contenido de biomasa bacteriana del suelo, lo que produjo diferencias entre los sistemas agroecológico, transicional y convencional. Los sistemas estudiados no se distinguieron por las características productivas de las plántulas producidas con cada uno de ellos (altura, longitud de la raíz principal y peso seco del follaje), que

fueron similares, lo que sugiere que los procesos que determinaron las variables estudiadas en los mismos son diferentes.

En cuanto a la cantidad de adultos de *B. tabaci* y la incidencia y severidad de geminivirus en los sistemas estudiados se presentaron diferencias, siendo el mejor el sistema agroecológico. En cuanto a los cultivares de tomate, aún los susceptibles a geminivirus (TYLCV), como Campbell 28, pueden mejorar su comportamiento y tener un comportamiento aceptables cuando son manejados adecuadamente. La optimización de los cultivares de tomate mejorados genéticamente se logró en condiciones de bajo nivel de inóculo que propician sistemas razonables de producción.

### Literatura citada

- Abb-Elnain, EM. 1982. Effect of different organic materials in certain properties of the calcareous sandy and alluvial soils of Egypt and on crop yield. *In Organic materials and soil productivity in the Near East*. FAO Soils Bull. 45: 211- 220.
- Abud, AJ; Alvarez, PA. 1995. Medidas de control de la mosca blanca en la República Dominicana. *In Workshop on Survey Techniques for TYLCV* (1995, Santo Domingo, Rep. Dominicana).
- Acuña, W. 1993. Efecto de la infección de un Geminivirus sobre el rendimiento del tomate en diferentes estados del desarrollo de la planta. Tesis Ing. Agr. Turrialba, Costa Rica, Universidad de Costa Rica.
- Anderson, TW. 1984. An introduction to multivariate analysis. New York, John Wiley & Sons. p 65.
- Avila, J; Pozo, O. 1991. Manejo del vector: Una estrategia para el control de virosis en el cultivo del chile. Tampico, México, SARH. Folleto Técnico No 6. 20 p.
- Bolaños, A. 1996. Germoplasma. *In Metodologías para el estudio y manejo de moscas blancas y Geminivirus*. Hilje, L. Ed. Costa Rica. p. 42-50.
- Brown, JK. 1993a. Evaluación crítica sobre los biotipos de mosca blanca en América, de 1989 a 1992. *In Las moscas blancas en ACC*. Hilje, L; Arboleda, O. Ed. Turrialba, Costa Rica, CATIE. Serie Técnica. Informe Técnico No 205. p 1-9.
- Casanova, A. 1997. Medidas de combate cultural frente a Geminivirus transmitidos por moscas blancas. Informe IIHLD. La Habana, Cuba.
- Chaboussou, F. 1972. La trophobiose et la protection de la plante. *Reveu des Questions Scientifiques*, Bruselas. 143(1):27-47; (2):175-208.
- Cuba- MINAG. 1980. Suelos. Análisis químico. Norma Ramal General 279. Dirección Normalización, Metrología y Control de la Calidad. La Habana, Cuba.
- Cuba- MINAG. 1984. Instructivo técnico del cultivo del tomate. Dirección Nacional de Cultivos Varios. La Habana, Cuba. 101 p.
- Cuba- MINAG. 1995. Nueva versión de la clasificación de los suelos de Cuba. Instituto de Suelos, La Habana, Cuba. 16 p.
- Cuba- MINAG. 1996. Informe final de la campaña de frío de hortalizas 1995/96. Cultivos Varios. 20 set/96. Cienfuegos, Cuba. 13 p.
- Dardón, D; Salazar, J; Salguero, V. 1997. Efecto del asocio tomate- maíz sobre poblaciones de mosca blanca y el acolchamiento en tomate, El Progreso, Guatemala, 1996-97. *In Taller Latinoamericano y del Caribe sobre Moscas Blancas y Geminivirus* (VI, 1997, Santo Domingo, Rep. Dominicana). Memorias. p 22.

- Duncan, DB. 1955. Multiple range and multiple F- test. *Biometrics* 11:1-9.
- Francis, C. 1991. Breeding hybrids and varieties for sustainable systems. *In* sustainable agriculture in temperate zones. New York, John Wiley & Sons. p 24-49.
- Gerling, D; Horowitz, AR; Baumgaertner, J. 1986. Autecology of *Bemisia tabaci*. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 17:5-19.
- Geus, LG De. 1967. Fertilizer guide for tropical and subtropical farming. Centre d'Etude de l'Azote. Conzett and Llubber. Zurich. p 164.
- Gómez, O; Laterrot, H. 1997. Esperanza genética frente a Geminivirus en el tomate. *In* Taller Latinoamericano y del Caribe sobre Moscas Blancas y Geminivirus (VI, 1997, Santo Domingo, Rep. Dominicana).
- Hernández, A; Gómez, O; Depestre, T; Paredes, E; Peralta, EL; Martínez, Y. 1997. Resultados productivos obtenidos en la aplicación del Manejo Integrado de Plagas en el tomate, frente a Geminivirus transmitidos por moscas blancas. *In* Taller Internacional Geminivirus en el Caribe (1997, La Habana, Cuba). Proceedings. p 70.
- Latourneau, DK; Altieri, M. 1995. Environmental management to enhance biological control in agroecosystems. *In* Principles and applications of biological control. Fisher, TW. Ed. Berkeley, California, USA., Univ. of California Press.
- Maestrey, A. 1986. Fertilización del tomate cultivado en primavera. Tesis Doctorado La Habana, Cuba, Instituto de Ciencias Agrícolas. 129 p.
- Morales, F. 1993. Los Geminivirus transmitidos por mosca blanca. *In* Taller Latinoamericano y del Caribe sobre moscas blancas y Geminivirus (2, 1993, Managua, Nicaragua). p 9-16.
- Moury, B. 1997. Evaluación de sources de resistance au TSWV chez le piment. Creacion d'outils d'aide a la selection. Tesis Ecole Nationale Superieure Agronomique de Rennes, France.
- Peréz, N. 1996. Manejo agroecologico de plagas. *In* Agroecología y Agricultura Sostenible. Modulo 2. CLADES-CEAS-ISCAH Ed. La Habana, Cuba. p 20-35.
- Salas, A; Heredia, \_\_; Mendoza, O. 1997. Caracterización del vuelo de adultos de la mosca blanca en campo sin siembra y dentro de siembra de tomate. *In* Taller Latinoamericano y del Caribe sobre Moscas Blancas y Geminivirus (VI, 1997, Santo Domingo, Rep. Dominicana). Memoria. p 22.
- Scott, JW; Schuster, DJ. 1992. Screening of accessions for resistance to the Florida tomato Geminivirus. TGC Report (41):48-50.
- Steel, R; Torrie, YJ. 1990. Bioestadística: principios y procedimientos. México, McGraw. p 328-333.
- Temple, SR; Friedman, DB; Somasco, O; Ferris, H; Scow, K; Klonsky, K. 1994. An interdisciplinary, experiment station based, participatory comparison of alternative crop management systems for California's Sacramento Valley. *Am. Journal of Alternative Agric.* 9:64-71.
- Vázquez, L; Gómez, O; Mateo, A. 1995. Informe sobre la problemática moscas blancas- Geminivirus en Cuba. *In* Taller Latinoamericano sobre Moscas Blancas y Geminivirus (IV, 1995, El Zamorano, Honduras).
- Wander, MM; Triana, SJ; Stinner, BR; Peters, SE. 1994. Organic and conventional management effects on biologically active soil organic matter pools. *Soil Science Society of America Journal* 58: 1130-1139.
- Zvyagintsev, DG. 1964. *Soviet Soil Scinc.* p. 307-310.

# Hoja TECNICA

No. 40

CATIE



## ¿Cómo reactivar la virulencia de *Beauveria bassiana* para el control de la broca del café?

Alex E. Bustillo P.<sup>1</sup>  
Patricia Marin M<sup>1</sup>

Para desarrollar programas de control de insectos plagas mediante hongos entomopatógenos es necesario obtener formulaciones que conserven sus características biológicas al ser utilizadas en el campo (Alves y Pereira 1998). La producción industrial de estos hongos se debe iniciar con un organismo cuya viabilidad y eficacia asegure la calidad del producto final, para ello se requiere que estos se pasen o reactiven sobre el insecto al cual van dirigidos y así conservar sus propiedades patogénicas y su virulencia (Aizawa 1971, Wasti y Hartmann 1975, Fargues y Robert 1983, Moore y Prior 1993). Este es el caso de la broca del café (*Hypothenemus hampei*, Ferrari) para el cual se ha demostrado que el cultivo sucesivo de *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin, en un sustrato sintético o sobre un cereal como arroz, reduce la virulencia del hongo (Cenicafé 1993a).

Existen muchos procesos de laboratorio documentados en la literatura (Alves *et al.* 1998) para trabajar con insectos, pero muy poca información sobre los detalles para la reactivación o incremento de la virulencia de hongos a partir de insectos sanos. El proceso de reactivación de la virulencia del hongo no es difícil pero hay que tener acceso a colonias sanas del insecto en estudio y un equipo básico de materiales y elementos en un área aséptica para evitar la contami-

nación. Un programa de investigación con entomopatógenos implica la necesidad inicial de obtener los aislamientos más eficientes y el desarrollo de un bioensayo confiable que permita la selección del mejor entomopatógeno sobre el hospedante a controlar (González *et al.* 1993, Prior *et al.* 1995).

Es posible seleccionar un aislamiento de un entomopatógeno por especificidad y mayor virulencia a partir de cultivos multiespóricos, realizando pases sucesivos sobre el insecto de interés. La reactivación se puede hacer aún en sitios distintos a laboratorios, como cocinas de fincas cafeteras pero guardando la mayor asepsia posible, como es el caso de hongos producidos en fincas o por cooperativas cafeteras, en los cuales se reemplazan algunos de los elementos necesarios por otros menos costosos o más asequibles al productor (Antía *et al.* 1992, Cenicafé 1993b). En Colombia, recientemente se han desarrollado técnicas para el control de calidad de formulaciones de entomopatógenos que permiten dar seguimiento a los laboratorios (Vélez *et al.* 1997). Los procesos sobre almacenamiento y preservación de la virulencia de los hongos entomopatógenos en diferentes sustratos han sido recientemente estudiados por Alves *et al.* (1996) y Bahamon *et al.* (2001).

<sup>1</sup> Centro Nacional de Investigaciones de Café, Cenicafé, Caldas, Colombia. alex.bustillo@cafedecolombia.com, patricia.marin@cafedecolombia.com

## Necesidades

Para la reactivación de la virulencia de *B. bassiana* sobre adultos de *H. hampei*, se necesita lo siguiente: una área aséptica de trabajo, hipoclorito de sodio comercial al 5,25%, (Hipoclor<sup>®</sup>, Clorox<sup>®</sup>, etc.), alcohol de 70° y 90°, adultos de *H. hampei* activos, cajas plásticas tipo galletera (17cm x 11cm x 7cm), papel toalla o papel filtro, agua destilada estéril (ADE), "beaker" de 250 ml, botellas de licor planas de boca angosta y 375 cc de capacidad, cajas Petri, mecheros de gas o alcohol, olla autoclave ó autoclave horizontal, pinceles #1, pipetas de 1 y 10 ml y tubos de ensayo de 20 ml con tapa rosca, medio de cultivo Sabouraud Dextrosa Agar (SDA), arroz de buena calidad, cultivo puro de *B. bassiana*.

## Procedimiento

Para reactivar la virulencia de *B. bassiana* sobre la broca del café se procede como se describe a continuación:

- 1) Se limpia el área donde se va a trabajar con hipoclorito de sodio o alcohol antiséptico (70°). Inmediatamente después se prenden los mecheros que se van a utilizar.
- 2) Para la inoculación con el hongo se deben seleccionar brocas adultas recién emergidas de una colonia de laboratorio, que muestren gran actividad, las cuales se transportan en cajas plásticas a las que se les adiciona papel picado para evitar su mutilación. Este material biológico se debe utilizar lo más rápido posible. Los cultivos de los hongos entomopatógenos que se van a utilizar deben estar libres de contaminantes (Fig. 1).
- 3) Los beakers, cajas Petri, el ADE, papel filtro y demás material necesario se esterilizan en un autoclave a 121 °C a 15 libras de presión durante 15 min. El medio SDA se prepara usando 65 g en 1 L de agua y disolviéndolo al calor. Se vierte en tubos de ensayo, 8 ml en cada tubo; si se usan botellas planas se adicionan 50 ml del medio. Para preparar las botellas con sustrato de arroz se agregan 50 g de arroz y 50 ml de agua. Luego estos medios se esterilizan en autoclave de la forma antes descrita. Para su solidificación, los tubos se colocan en forma inclinada y las botellas horizontalmente. También se puede preparar el SDA en cajas Petri esterilizadas, adicionando 15 ml del medio previamente esterilizado cuando alcance una temperatura de  $\pm 40$  °C.

4) Las brocas se desinfectan con hipoclorito de sodio al 0,5%, que se prepara tomando 10 ml del producto comercial de una concentración del 5,25% y se diluye con ADE hasta alcanzar un volumen de 100 ml.

5) Las brocas se sumergen durante 10 min en la solución de hipoclorito de sodio, se pasan a través de una tela fina (tul), se lavan tres veces con abundante ADE (Fig. 2).

Luego se colocan en papel toalla esterilizada, para eliminar el exceso de agua, con la ayuda de un pincel, se escogen 50 brocas activas y se pasan a una caja Petri esterilizada (Fig. 3).

6) Posteriormente, las brocas se inoculan por inmersión durante 2 min en 10 ml de la suspensión del hongo a una concentración de  $1 \times 10^8$  conidios/ml. Luego las brocas se pasan a una caja Petri o recipiente adecuado, que tenga en su interior una toalla de papel esterilizada la cual debe permanecer húmeda para facilitar el desarrollo del hongo sobre el insecto. Las cajas se deben sellar con un plástico adhesivo Vinilpel<sup>®</sup> ó cinta adhesiva Tesa<sup>®</sup> (Fig. 4).

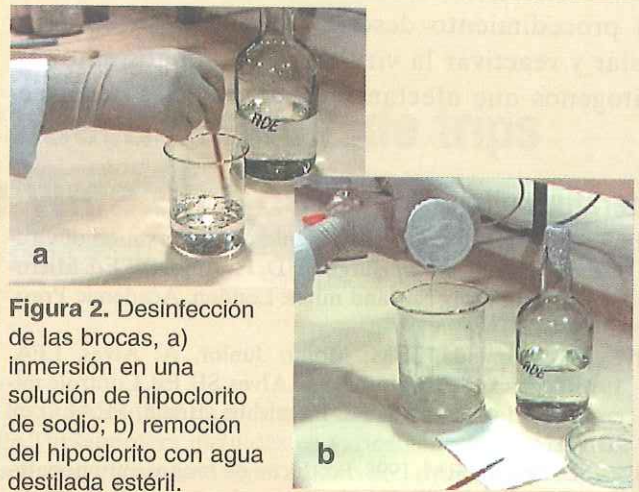
7) Después de 6 a 10 días, es decir, cuando el hongo se ha desarrollado completamente sobre el cuerpo de la broca (Fig. 5), estas se toman individualmente con un pincel esterilizado o desinfectado con alcohol antiséptico, se someten a una nueva desinfección superficial con hipoclorito de sodio comercial al 5,25% por 1 min y sin lavar se colocan inmediatamente sobre papel filtro o toalla previamente esterilizado para retirar el exceso de hipoclorito de sodio.

8) Luego las brocas se introducen individualmente en el centro de tubos de ensayo con el medio de cultivo SDA inclinado, ó en cajas Petri. En las botellas con sustrato de arroz esterilizado, se colocan tres brocas por botella (Fig. 6).

Cuando el hongo invade totalmente el medio (Fig. 7), las esporas se suspenden asépticamente en ADE, a la cual se le adiciona "Tween 80" al 0,1% para lograr su separación. Esto se hace en tubos de ensayo con tapa rosca o en beakers de 250 ml. La suspensión de conidios se utiliza para preparar los "cultivos madre" (los que servirán para reproducir el hongo); adicionando 1 ml con una pipeta o con una jeringa estéril en botellas planas de 375 ml con SDA ó sustrato de arroz, preparados como se describe en punto 3. Estos cultivos madre son los que se utilizan para iniciar cualquier proceso de producción masiva, tanto artesanal como industrial (Fig. 8).



**Figura 1.** Cultivo puro del hongo *B. bassiana*.



**Figura 2.** Desinfección de las brocas, a) inmersión en una solución de hipoclorito de sodio; b) remoción del hipoclorito con agua destilada estéril.



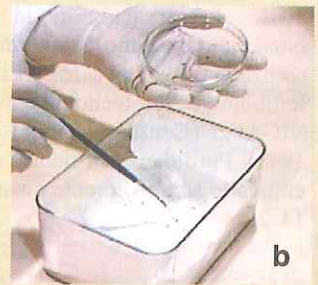
**Figura 3.** Secado de las brocas sobre papel toalla estéril.



**Figura 4.** Infección de adultos de broca con el hongo; a) adición de la suspensión del hongo sobre adultos de brocas; b) traspaso de las brocas de la tela de tul a una caja de Petri, con papel toalla humedecido para favorecer la infección del hongo.



**Figura 5.** Adulto de broca del café infectado con el hongo *B. bassiana*.



**Figura 6.** Inoculación del hongo usando insectos infectados, a) siembra en una caja de Petri con medio SDA; b) siembra en una botella con sustrato de arroz.



**Figura 7.** Apariencia del hongo *B. bassiana* reactivado en broca, (a), cultivado en sustrato de arroz, (b) en un tubo de ensayo con SDA.



**Figura 8.** Producción de la cepa madre. a) Inoculación en SDA con suspensión del hongo reactivado en broca, b) desarrollo del hongo *B. bassiana* en SDA después de ocho días de inoculación.

## Consideraciones finales

El procedimiento descrito se puede seguir para aislar y reactivar la virulencia de hongos entomopatógenos que afectan muchas especies de insectos,

con fines de investigación y/o producción masiva para ser utilizados comercialmente, haciendo las variaciones pertinentes de acuerdo al insecto en estudio.

## Literatura citada

- Aizawa, K. 1971. Strain improvement and preservation of virulence of pathogens. In Burges, HD; Hussey, NW Ed. Microbial control of insects and mites. London, Academic Press. p. 655-672.
- Alves, SB; Almeida, JEM; Moino Junior, A; Alves, LFA. 1998. Técnicas de laboratorio. In Alves, SB. Ed. Controle microbiano de insetos. 2. ed. Piracicaba, Brasil, FEALQ. p. 637-711.
- Alves, SB; Pereira, RM. 1998. Producao de fungos entomopatógenicos. In Alves, SB. Ed. Controle microbiano de insetos 2. ed. Piracicaba, Brasil, FEALQ. p. 845-869.
- Alves, SB; Pereira, RM; Stimac, JL; Viera, SA. 1996. Delayed germination of *Beauveria bassiana* conidia after prolonged storage at low, above freezing temperatures. Biocontrol Science and Technology 6 (4): 575-585.
- Antía, OP; Posada, FJ; Bustillo, AE; González, MT. 1992. Producción en finca del hongo *Beauveria bassiana* para el control de la broca del café. Avances Técnicos Cenicafé No. 182: 1-12.
- Bahamón, T; Aycardi, E; Orozco, J; Marin, P; Bustillo, AE. 2001. Preservación de la patogenicidad de *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin (Moniliales: Moniliaceae) contra la broca del café en diferentes sistemas. Revista Colombiana de Biotecnología 3 (1): 80-90.
- CENICAFE (Centro Nacional de Investigaciones de Café). 1993a. Pérdida de virulencia del hongo *Beauveria bassiana* cultivado sucesivamente en sustrato de arroz. Brocarta No. 14. 2 p.
- CENICAFE (Centro Nacional de Investigaciones de Café). 1993b. ¿Cómo aislar el hongo *Beauveria bassiana* directamente de la broca?. Brocarta No. 8. 2 p.
- Fargues, JF; Robert, PH. 1983. Effects of passaging through scarabid hosts on virulence and host specificity of two strains of the entomopathogenic hyphomycete *Metarhizium anisopliae*. Canadian Journal of Microbiology 29 (5): 576-583.
- 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.
- Moore, D; Prior, C. 1993. The potential of mycoinsecticides. Biocontrol News and Information, 14: 31N - 40N.
- Prior, C; Carey, M; Abraham, YJ; Moore, D; Bateman, RP. 1995. Development of a bioassay method for the selection of entomopathogenic fungi virulent to the desert locust, *Schistocerca gregaria* (Forsk.). Journal of Applied Entomology 119: 567-573.
- Wasti, SS; Hartmann, GC. 1975. Experimental parasitization of larvae of the gypsy moth, *Porthetria dispar* L., with the entomogenous fungus, *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuill. Parasitology 70: 341-346.
- Vélez, PE; Posada, FJ; Marín, P; Bustillo, AE, González, MT; Osorio, E; 1997. Técnicas para el control de calidad de formulaciones de hongos entomopatógenos. Chinchiná, Cenicafé. 37 p. (Boletín Técnico N° 17).

# *Trichinothrips strasseni*: nueva especie de trips asociada al cultivo de yuca en Costa Rica

Axel P. Retana-Salazar<sup>1</sup>  
Gerardo A. Soto-Rodríguez<sup>2</sup>

**RESUMEN.** De la colección de especímenes de Costa Rica depositada en el Museo Senckenberg de Frankfurt, Alemania, se identificaron un total de 25 especies de Thysanoptera incluidas en varios géneros. En este trabajo se describe una nueva especie del género *Trichinothrips*, encontrada en el cultivo de la yuca.

**Palabras clave:** *Trichinothrips*, Thysanoptera, Phlaeothripidae, Yuca, Costa Rica.

**ABSTRACT.** *Trichinothrips strasseni*: new species of thrips associated with the cassava crop in Costa Rica. A total of 25 species of Thysanoptera included in several genera, were identified from a collection of specimens from Costa Rica deposited in the Senckenberg Museum of Frankfurt, Germany. This study describes a new species of the genus *Trichinothrips*, found in the cassava crop.

**Key word:** *Trichinothrips*, Thysanoptera, Phlaeothripidae, Cassava, Costa Rica.

## Introducción

El género *Trichinothrips* Bagnall 1929 (Thysanoptera: Phlaeothripidae), tiene pocas especies y hay muy poca información sobre su biología (Mound 1968). El estudio taxonómico se dificulta por la limitada cantidad de individuos de las especies, por lo cual no se conoce con claridad las variaciones intraespecíficas (Mound y Marullo 1996).

Las nueve especies del género se hallan distribuidas en los trópicos de América y Asia. Hay tres especies descritas para Asia: una de Sri Lanka, otra de Malaya y otra de Java. Una de las variaciones dentro del género que hace pensar acerca de su homogeneidad es la fusión parcial o total de los segmentos VII-VIII de la antena en las especies americanas (Mound y Marullo 1996). Carácter que divide al género en dos grandes grupos.

Si se considera que las homoplasias son comunes dentro de Thysanoptera (Gauld y Mound 1982, Mound 1994) se podría pensar que estos dos grupos de especies posiblemente constituyen dos linajes separados y con alto grado de homoplasias; sin embargo, esto queda para futuras investigaciones en la filogenia del grupo.

En este trabajo se describe una nueva especie de este género.

## Materiales y métodos

Se estudió especímenes provenientes de la provincia de Alajuela, Costa Rica. Las observaciones y dibujos se realizaron utilizando un microscopio de luz polarizada a 100 y 400%.

## Resultados y discusión

*Trichinothrips strasseni* sp. nov. Retana y Soto (Fig. 1). **Descripción.** Hembra macróptera. Cuerpo y antenas pardo oscuro. Tibias I pardo claro, tibias II y III del mismo color que el cuerpo con trocánteres pardo claro. Alas hialinas sin trazas de color. Antena con siete antenómeros con sutura ventral en el segmento VII. Segmento III de la antena con un par de setas medio-dorsales (ml) de igual tamaño que los conos sensoriales. Sensoria nunca llega más allá de la mitad del segmento siguiente. Pronoto con cinco pares de setas mayores con los ápices expandidos. Seta anteroangulares (aa) del pronoto de 52,5 µm de longitud, setas

<sup>1</sup> Escuela de Biología, Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica. apretana@cariari.ucr.ac.cr.

<sup>2</sup> Museo de Insectos, Escuela de Fitotecnia, Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica. gerardosot@hotmail.com

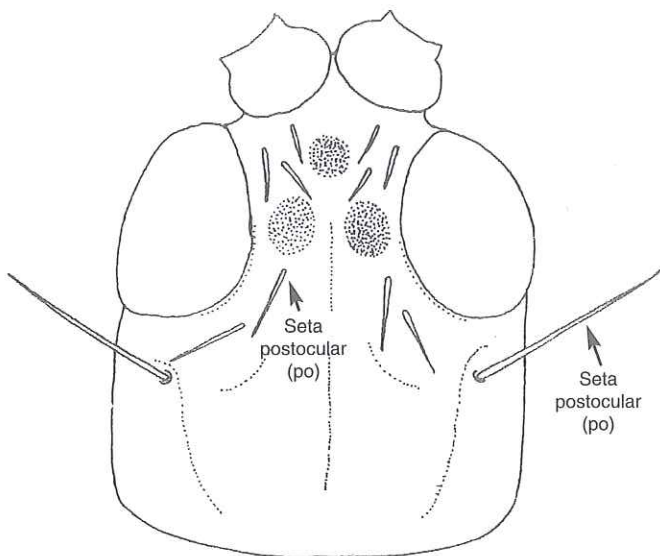


Figura 1. *Trichinothrips strasseni* sp. nov. Cabeza.

posteromarginales Mayores (pmM) y anteromarginales Mayores (amM) pequeñas. Setas postocelares (po) de 20  $\mu\text{m}$  de longitud. Presenta los estiletos muy separados entre sí.

### Literatura citada

- Gauld, ID; Mound, LA. 1982. Homoplasy and the definition of holophyletic genera in some insects groups. *Systematic Entomology* 7:73-86.
- Mound, LA. 1968. A review of R.S. Bagnall's Thysanoptera Collections. London. *Bulletin of the British Museum (Natural History)* II. 181 p.

**Ejemplar tipo.** Holotipo. Costa Rica, Alajuela: una hembra macróptera, Florencia de San Carlos, en hojas muertas de yuca (*Manihot esculenta*), 09.VIII-1975, lámina #6969. Material depositado en la colección de Thysanoptera del Museo de Senckenberg Frankfurt, Alemania.

**Diagnosis.** Sensoria de los segmentos antenales no sobrepasa el segmento siguiente; seta mediodorsal en el segmento antenal III nace al mismo nivel que los conos sensoriales; segmento III más largo que el IV; seta postocelular entre 17-20  $\mu\text{m}$  de longitud.

**Etimología.** Esta especie está dedicada al Dr. Richard zur Strassen.

**Comentario.** Esta especie es muy similar a *T. panamensis* pero las setas postocelares tienen mayor longitud, lo cual la ubica como especie nueva porque no coincide con ninguna de las descritas.

### Agradecimiento

A Richard zur Strassen del Senckenberg Museum, Frankfurt Alemania por su colaboración al facilitar el material de estudio.

- Mound, LA. 1994. Homoplasy and the systematics of Phlaeothripinae: Thysanoptera, with a new short-tubed Australian Urothripinae. *Sonderdruck aus CFS Courier* 178:21-25.

- Mound, LA; Marullo, R. 1996. *The Thrips of Central and South America*. *Memoirs of Entomology*. Associated Publishers. USA. 487 p.



# Rehabilitación de plantaciones tradicionales de cacao en Ecuador

James Quiroz V.<sup>1</sup>

Freddy Amores<sup>2</sup>

**RESUMEN.** En Ecuador hay aproximadamente 327 000 ha sembradas de cacao, con una producción de 200-300 kg/ha/año. Miles de familias de pequeños productores viven de la producción de cacao. Las principales causas que afectan el rendimiento de este cultivo son plantaciones de edad avanzada, presencia de enfermedades como escoba de bruja (*Crinipellis pernicioso*) y monilia (*Monilia roleri*), manejo agronómico deficiente, lo cual unido a los precios del grano han ocasionado serios problemas a estos productores. Con el propósito de mejorar la producción, en Ecuador se ha realizado una programa de rehabilitación de plantaciones tradicionales de cacao. La rehabilitación consiste en la aplicación de una serie de prácticas de manejo como el deshije, las podas fitosanitarias y la regulación de la sombra y eliminación de árboles no productivos, que permiten renovar el tejido productivo y reducir la altura de las plantas de cacao, aumentar el período productivo de las plantaciones tradicionales y disminuir la incidencia de enfermedades endémicas.

La experiencia en Ecuador demuestra que el agricultor no se ve afectado durante el proceso de rehabilitación porque este incluye la siembra de cultivos intercalados que le permiten obtener beneficios económicos durante el tiempo que la plantación de cacao deja de producir, permitiéndole así renovar éstas y mejorar la producción.

**Palabras clave:** Cacao, Rehabilitación de plantaciones, Prácticas agrícolas, Manejo de plantaciones, Ecuador.

**ABSTRACT. Rehabilitation of traditional cocoa plantations in Ecuador.** In Ecuador there are more than approximately 327 000 ha planted with cocoa, with a production of 200-300 kg/ha/year. Thousands of families of small producers make a living from the production of cocoa. The main factors that affect the yield of this crop are plantations of advanced age, presence of diseases such as witch's broomstick (*Crinipellis pernicioso*) and monilia (*Monilia roleri*), deficient agricultural management, which together with low grain prices, has caused serious problems for these producers. With the aim of improving production in Ecuador, a program of rehabilitation of traditional cocoa plantations has been performed. The rehabilitation consists of the application of a series of management practices such as pollarding and the regulation of shade, that allows the renovation of productive material and reduces the altitude of the cocoa plants, increasing the productive period of the traditional plantations and decreasing the incidence of endemic diseases. The experience in Ecuador shows that the farmer is not affected during the process of rehabilitation because the planting of intercalated crops that make it possible to obtain economic benefits during the time that the cocoa plantation stops producing, is included. This allows the renovation of the plantations and improvement of production.

**Key words:** Cocoa, Rehabilitation of plantations, Agricultural practices, Cultural practices, Ecuador.

## Introducción

En Ecuador actualmente hay aproximadamente 327 000 ha de cacao cultivados con un rendimiento, a nivel de productor de 200 – 300 kg/ha/año. Entre las principales causas que afectan la producción están la

edad avanzada de las plantaciones, la presencia de enfermedades endémicas tales como escoba de bruja (*Crinipellis pernicioso*), y monilia (*Monilia roleri*) y un manejo agronómico deficiente (Moreira 1993). Este último debido a las condiciones socioeconómicas de

<sup>1</sup> Programa Nacional de Cacao y Café. INIAP. Quevedo, Ecuador. Dirección actual: CATIE. Turrialba, Costa Rica. jquiroz@catie.ac.cr; jamesq2002@yahoo.com

<sup>2</sup> Programa Nacional de Cacao y Café. INIAP. Quevedo, Ecuador. famores\_ec@yahoo.com

los productores, unido a los bajos precios del grano, originado por los sistema de comercialización, desequilibrio entre la oferta y la demanda y el incremento de los costos de producción. Además, la falta de crédito para la implementación y/o adaptación de prácticas de cultivos, que permitiría aumentar los rendimientos actuales, y consecuentemente los ingresos de miles de familias de medianos y pequeños productores para las cuales el cacao constituye la principal fuente de ingresos.

Una gran parte de las plantaciones de cacao en Ecuador tienen buen potencial de respuesta a la aplicación de prácticas de manejo tendientes a su rehabilitación. Sin embargo, no todos tienen la misma capacidad de respuesta al conjunto de prácticas de manejo integrado que comúnmente se recomiendan para las plantaciones establecidas. Por tanto, es necesario hacer un diagnóstico de la finca o parcela antes de iniciar las acciones.

Con el propósito de que el productor obtenga beneficios económicos de la ejecución del plan de rehabilitación es necesario categorizar las prácticas, dando mayor importancia a aquellas que constituyen los puntos débiles. Por ejemplo, muchas plantaciones generan beneficios económicos en respuesta a prácticas como la poda y regulación de la sombra, pero no así a la fertilización debido a los costos del insumo y al precio de cacao (Braudedeau 1970).

Las prácticas tradicionales de manejo comprenden básicamente el control de malezas, poda, regulación de sombra y control de plagas (Hurquhart 1963). Estas prácticas que son aplicadas pueden incrementar los rendimientos entre 200 - 1000 kg/ha/año de cacao seco.

En este artículo se presenta la experiencia en Ecuador de rehabilitación de fincas de cacao manejadas tradicionalmente, mediante la aplicación de prácticas que permiten renovar el tejido productivo y reducir la altura de las plantas de cacao, aumentar el período productivo de las plantaciones tradicionales y disminuir la incidencia de enfermedades endémicas.

### Rehabilitación de plantaciones de cacao

La rehabilitación permite poner en práctica conocimientos agronómicos; fenológicos y genéticos para aumentar la producción sin incrementar el área de cultivo, además se da énfasis a la corrección de los factores que reducen el rendimiento, usando métodos que estén al alcance del pequeño productor cuyos recursos son limitados.

### Factores a considerar antes de la rehabilitación

Selección de plantas de cacao de una plantación a rehabilitarse. La plantación y la planta constituyen dos fuentes de heterogeneidad debido a la gran diversidad de caracteres presentes en la especie cacao. Estas deben ser aprovechadas en la selección de individuos élite. Así mediante el registro sistemático del potencial genético, capacidad de rendimiento por árbol, bajo índice de mazorca, resistencia a enfermedades e insectos plagas, sin descartar la calidad, se seleccionan los mejores árboles.

Según Ampofo (1986) para seleccionar las plantas en poblaciones altamente heterogéneas se debe estudiar la variabilidad, los caracteres presentes; y determinar en forma visual, los árboles élite (productivos y tolerantes a enfermedades) considerando las características del suelo y sitio donde crecen las plantas; espacio ocupado por los mismos; y comparar los árboles vecinos, entre otros.

En el diagnóstico se presta especial atención a factores inherentes al establecimiento del cultivo, como clima y suelo, material genético y densidad de siembra. También se considera el manejo dado a la planta en sus primeros estadios, pues las consecuencias de haber establecido el cultivo en un medio no adecuado, limita la respuesta a las prácticas conjuntas de rehabilitación (Ampofo *et al.* 1987).

Entre los aspectos que se consideran están la **sanidad** de la plantación. La edad avanzada de las plantaciones y/o el mal manejo agronómico de éstas pueden ocasionar que una plantación se encuentre afectada por enfermedades como escoba de bruja, y monilia, las cuales provocan descensos drásticos en la producción y constituyen una fuente de inóculo.

Otro de los aspectos que se consideran en la selección de las plantas es su **altura**. El crecimiento vertical y constante de los árboles de cacao mediante sus brotes ortotrópicos ha ocasionado que en las plantaciones existan árboles con alturas mayores a 18 m. Esto dificulta el manejo de las enfermedades y la cosecha. En este caso como parte del programa de rehabilitación se recomienda disminuir la altura de los árboles disminuyendo su copa.

En las plantaciones también se **reduce la sombra**. El espaciamiento irregular de los árboles de sombra sin ningún manejo constituye también uno de los factores causales del bajo rendimiento. La presencia de árboles no maderables (matapalos), *Ficus* sp., y otros no frutales dentro de la plantación provocan mucha sombra sin ningún beneficio económico (Corben *et al.*

1987). La sombra excesiva debido a la densidad de su follaje se regula en el proceso de rehabilitación, tratando de mantenerse alrededor de 40 árboles de sombra/ha, distribuidos uniformemente en la plantación.

El **arreglo de la densidad** de plantas es otro factor considerado en el proceso de rehabilitación. Mediante el reemplazo de los árboles improductivos por plantas clonadas, provenientes de la selección de árboles productivos presentes en la finca se logra uniformizar la densidad de cacao por unidad de superficie. Con esta práctica se alcanza la densidad óptima para una plantación tradicional con un promedio de 700 a 800 plantas por ha de cacao.

### **Alternativas para la rehabilitación**

Para obtener una mejor respuesta de este proceso es necesario categorizar las prácticas de rehabilitación (deshija, podas fitosanitarias, raleos de sombra, eliminación de árboles no productivos, entre otras), dando mayor énfasis a aquellas que pueden mejorar aspectos limitantes y que su realización no demanda muchos recursos (Cabanilla 1978).

### **Acciones para el descope y la recepa**

Después de realizar la calibración de la plantación se procede con el descope y la recepa.

El **descoppe** consiste en hacer una poda fuerte al árbol de cacao, aproximadamente el 70% de la copa se elimina para permitir la formación de nuevos brotes (Fig. 1). Estos serán seleccionados considerando que el tipo de brotación sea plagiotrópica, con lo cual se obtendrá una copa renovada. También esta práctica permite bajar la altura de los árboles (5-8 m), realizando los cortes arriba del verticilo (primer molinillo), eliminando totalmente la presencia de ramas afectadas por escoba de bruja, así como brotes, ramas bajas y secundarias.

La **recepa** generalmente es una práctica utilizada en árboles viejos (con más de 35-40 años) con el propósito de provocar la emisión de brotes de tipo ortotrópico (Fig. 2). Este es otro método de rehabilitación y consiste en cortar el tallo a diferentes alturas, a partir del nivel del suelo (2 m, 1 m y 30 cm); esto depende de la edad de la plantación e incluso a la heterogeneidad de la misma. (Moreira 1993).

Sin embargo, se debe considerar que cada árbol es un individuo diferente y por lo tanto su manejo también es diferente (Rudgard *et al.* 1998). Así se debe seleccionar dos brotes ortotrópicos los cuales formarán su primer verticilo (molinillo u horqueta), per-

mitiendo obtener producción y rendimiento económico transcurrido el segundo año después de realizar esta práctica.

Los árboles de más de 40 años deben cortarse a 30 cm debido al alto grado de lignificación de sus troncos, lo cual no permite un adecuado anclaje de los nuevos brotes. Los árboles que tienen entre 35 y 25 años, con troncos menos lignificados pueden ser cortados a 1 m. Mientras los árboles con menos de 25 años y en condiciones aceptables pero que debido a su mal manejo no producen suficiente deben ser cortados a 2 m de altura

### **Reemplazo de árboles con poca producción**

Se sabe que en general, todos los árboles de una plantación de cacao no poseen la misma capacidad de producción, debido a variaciones genéticas, de suelo y a la competencia con otros árboles. Por tanto, en promedio, el 20% de los árboles de una plantación producen solo el 5% de la cosecha y el proceso de rehabilitación da la oportunidad de reemplazar éstas plantas con plantas nuevas, vigorosas y de calidad (Enríquez 1978).

Se considera como árboles de baja producción aquellos que en condiciones naturales producen en promedio menos de 0,5 kg de cacao seco/año. Además es prioritario eliminar árboles con mucha escoba de bruja (escobas vegetativas y frutos chirimoyas), que constituyen la fuente primaria de la enfermedad

Dentro del proceso de rehabilitación, las resiembras para llenar los espacios dejados por la eliminación de los árboles de baja producción debe ser planificada (Vaz 1995), para que se realice cuando las condiciones sean adecuadas para las nuevas plantas (inicio de la época lluviosa).

Se debe tener presente que la resiembra debe ser hecha con materiales de tipo clonal, pues de esta manera se asegura el potencial productivo de las nuevas plantas y se conoce además el grado de resistencia a enfermedades. Por el contrario, si se siembra con semilla, dado la gran variabilidad de éstas, es riesgoso no mejorar la productividad de la plantación.

Se debe considerar también el hábito de crecimiento de las plantas obtenidas mediante reproducción asexual, que no sean afectadas por el desarrollo de los árboles rehabilitados. Si se logra formar adecuadamente la copa de los árboles receptados y por tanto, también de los nuevos, permitiéndoles un crecimiento uniforme y según las condiciones de la nueva plantación.

En un proceso de rehabilitación es recomendable resembrar no más del 40% de la población total, porque sino sería una renovación y no una rehabilitación de las plantaciones.

### **Rehabilitación por selección de brotes**

Considerando que las plantas de cacao producen naturalmente brotes, los cuales pueden ser utilizados para formar nuevos árboles, está práctica se realiza al inicio de la época seca, de modo que los brotes seleccionados se desarrollen lo suficiente para resistir el ataque de la escoba de bruja.

La selección se realiza tomando en cuenta el vigor, distribución y competencia, también se seleccionan hasta dos brotes basales ortotrópicos (rectos) por pie de planta (Cabanilla 1978).

Las plantas madres posteriormente serán podadas fuertemente, para facilitar la entrada de luz y serán cortadas cuando los brotes seleccionados inicien su primera floración.

### **Recomendaciones para realizar la rehabilitación**

El descope y la recepa se efectúan en la época seca. En la mayoría de las zonas cacaoteras de Ecuador esto es entre los meses de junio y setiembre, de esta manera los brotes nuevos crecen durante la época seca y se evita el ataque de la escoba de bruja.

Para el descope y la recepa se puede utilizar una motosierra mediana, serrucho de podar, o machete, así como cal, fungicida a base de cobre, un balde plástico y formol.

Con el objeto de evitar la incidencia de enfermedades, especialmente del "Mal de machete" causado por el hongo *Ceratocystis fimbriata* se recomienda realizar la desinfección de las herramientas utilizando una solución de formol comercial en cinco partes de agua, con la cual se humedece el filo de la herramienta a usar.

Las heridas causadas por los cortes deben protegerse con una pasta fúngica cicatrizante constituida de 1 kg de cal agrícola + 160 g de cobre, agregando agua hasta formar una pasta con la cual se cubre totalmente las heridas causadas, también se puede utilizar alquitrán vegetal.

### **Acciones para el descope y la recepa**

#### **Preselección de brotes**

El descope o recepa provocan una reacción inmediata en los árboles. Quince días después de ésta se puede observar una emisión intensa de brotes, los cuales

dependiendo de la altura de corte pueden ser de tipo ortotrópico (brotes) y/o plagiotrópicos (ramas), se ha observado que un árbol rehabilitado puede llegar a producir entre 150 – 300 brotes en su primera emisión.

Es importante considerar que 45 días después de realizados los cortes debe efectuarse una preselección de los brotes, dejando 3 o 4 brotes por tronco recepado y/o rama cortada, porque de lo contrario la gran cantidad de brotes compiten entre sí, provocando su debilitamiento que les impide mantenerse erectos, condición necesaria para la conformación de la nueva planta.

Un aspecto importante a considerar es el lugar donde deben quedar los brotes; así cuando se hacen recepas a 30 cm los mejores brotes deben ser basales, cercanos al suelo, para que emitan nuevas raíces.

Cuando las plantas se cortan a 1 o 2 m o en el descope, los brotes seleccionados deben estar ubicados en los últimos 10 cm cercanos a la herida, con lo cual se obtendrá un mejor anclaje de éste (Fig. 3).

#### **Selección definitiva de brotes**

Dos meses después de la preselección, se debe realizar la selección definitiva de los brotes. Para esto se consideran los más vigorosos y con buen anclaje, dejando uno o dos brotes por corte, los cuales conformara la nueva copa del árbol (Fig. 4).

#### **Manejo del brote seleccionados**

Después de la selección de los brotes se les debe aplicar un fungicida para protegerlos del ataque de escoba de bruja. Se recomienda aplicar 0,5 g o cm<sup>3</sup> de Daconil/L de agua.

Cuando se forma la primera horqueta se decide eliminar uno de los brotes, dejando el que tiene mejor conformación y más vigor. Si se desea mantener los dos brotes se cortan las ramas que se entrecruzan con el árbol nuevo y se conforma la copa con los dos brotes seleccionados.

Los árboles descopados así como los recepados continuarán con las emisión de brotes, por lo cual es necesario eliminar los brotes cada 15 días durante los tres meses posteriores a la rehabilitación de la plantación y posteriormente cada mes para disminuir la competencia y permitir un desarrollo adecuado de los brotes seleccionados.

El control de insectos es otra práctica indispensable en un proceso de rehabilitación porque generalmente se presentan ataques de insectos chupadores y pulgones lo cual provoca el debilitamiento en los brotes. Si este problema es serio se puede aplicar un in-

secticida para su control. En esta etapa de recuperación del cultivo la aplicación del insecticida es menos dañina porque al no haber floración, los insectos benéficos, específicamente los polinizadores no son afectados.

### Resiembra de la plantación

Una adecuada resiembra permite uniformizar la plantación, eliminando los espacios vacíos existentes en la plantación antigua y reemplazando los árboles improductivos.



**Figura 1.** Plantación de cacao descopado como primer paso del proceso de rehabilitación.



**Figura 2.** Recopa de árboles de cacao en una plantación en rehabilitación.



**Figura 3.** Brotes preseleccionados para la conformación del nuevo árbol de cacao.



**Figura 4.** Planta rehabilitada que muestra los brotes seleccionados que reemplazarán al árbol madre.



**Figura 5.** Plantación de cacao en Ecuador completamente rehabilitada.

## Costo inicial de la rehabilitación de plantaciones de cacao

El costo de la rehabilitación de una hectárea de cacao en Ecuador, considerando algunos de los factores y recursos utilizados en la finca se presenta en el Cuadro 1. Sin embargo, los costos podrían variar en función de factores tales como localidad, tecnología utilizada y sistema de producción.

En este sistema se obtienen ingresos estimados por concepto de venta de productos sembrados en forma intercalada durante la etapa de rehabilitación de la plantación de cacao. En el Cuadro 2 se puede apreciar que la venta de carbón y de madera durante el primer año de la rehabilitación constituyen los mayores ingresos, sumado a los ingresos obtenidos por la venta de maíz, plátano y otros cultivos sembrados en

**Cuadro 1.** Detalle de los costos estimados (dólares) para rehabilitar una ha de una plantación tradicional de cacao en la zona de Quevedo, considerando un horizonte temporal de 5 años EET-Pichilingue 2000.

Etapas del proceso de rehabilitación	Objetivo del gasto	Unidad	Precio Unitario US\$	Cantidad por año					Valor por año					
				1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	Total
<b>Precorte</b>														
<i>Calibración de la plantación</i>	Asesoramiento	Día técnico	20	2	0	0	0	0	40	0	0	0	0	40
<i>Raleo de sombra</i>	Mano de obra	Día hombre	2	8	0	0	0	0	16	0	0	0	0	16
	Arriendo motosierra	Día máquina	4	2	0	0	0	0	8	0	0	0	0	8
<i>Control de malezas</i>	Mano de obra	Día hombre	2	6	0	0	0	0	12	0	0	0	0	12
	Arriendo de aspersora	Día máquina	3	1	0	0	0	0	3	0	0	0	0	3
	Glifosato	Litro	9	1,5	0	0	0	0	13,5	0	0	0	0	13,5
<b>Corte</b>														
<i>Recepa y/o descope</i>	Mano de obra	Día hombre	2	22	0	0	0	0	44	0	0	0	0	44
	Arriendo de motosierra	Día maquina	4	8	0	0	0	0	32	0	0	0	0	32
<i>Repique</i>	Mano de obra	Día hombre	2	24	0	0	0	0	48	0	0	0	0	48
	Arriendo de herramientas	Día herramienta	1	4	0	0	0	0	4	0	0	0	0	4
<i>Eliminación árboles improductivos</i>	Mano de obra	Día hombre	2	2	0	0	0	0	4	0	0	0	0	4
	Arriendo herramientas	Día herramienta	4	1	0	0	0	0	4	0	0	0	0	4
<i>Cicatrización heridas</i>	Mano de obra	Día hombre	2	3	0	0	0	0	6	0	0	0	0	6
<b>Poscorte</b>														
<i>Selección de brotes</i>	Mano de obra	Día hombre	2	12	0	0	0	0	24	0	0	0	0	24
<i>Control de la infección por "escoba de bruja"</i>	Mano de obra	Día hombre	2	2	0	0	0	0	4	0	0	0	0	4
	Oxicloruro de cobre/cal	kg.	5	6	0	0	0	0	30	0	0	0	0	30
<i>Control de incidencia de insectos</i>	Clortalonil	Litro	13	2	0	0	0	0	26	0	0	0	0	26
	Mano de obra	Día hombre	2	1	0	0	0	0	2	0	0	0	0	2
	Basudin	Litro	21	0,5	0	0	0	0	10,5	0	0	0	0	10,5
<i>Resiembra de espacios vacíos</i>	Arriendo aspersora	Día maquina	3	2	0	0	0	0	6	0	0	0	0	6
	Mano de obra	Día hombre	2	3	0	0	0	0	6	0	0	0	0	6
	Plantas fertilizantes	planta	0,4	180	0	0	0	0	72	0	0	0	0	72
			0,23	15	0	0	0	0	3,45	0	0	0	0	3,45

## Mantenimiento

<i>Control incidencia de malezas</i>	Mano de obra	Día hombre	2	12	21	12	12	12	24	42	24	24	24	138
	Arriendo aspersora	Día maquina	3	3	3	3	3	3	9	9	9	9	9	45
	Glifosato	Litro	7	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5	31,5	31,5	31,5	31,5	31,5	157,5
<i>Eliminación de brotes</i>	Mano de obra	Día hombre	2	9	6	3	3	3	18	12	6	6	6	48
<i>Poda de formación/ fitosanitaria</i>	Mano de obra	Día hombre	2	5	25	15	15	20	10	50	30	30	40	160
<i>Tijeras de podar</i>	Tijeras		12,5	2	0	2	0	0	25	0	25	0	0	50
<i>Deshije y deshoje de plátano</i>	Mano de obra	Día hombre	2	0	4	4	0	0	0	8	8	0	0	16
<i>Aplicación de fertilizantes</i>	Mano de obra	Día hombre	2	0	3	4	4	4	0	6	8	8	8	30
	Urea	kg	0,15	0	135	135	270	270	0	20,25	20,25	40,5	40,5	121,5
	Fertilizante completo (10-30-10)	kg	0,23	0	70	70	120	120	0	16,1	16,1	27,6	27,6	87,4
<b>Cosecha y beneficio</b>														
<i>Cosecha</i>	Mano de obra	Día hombre	2	0	2	8	28	40	0	4	16	56	80	156
<i>Formulación/ secado</i>	Mano de obra	Día hombre	2	0	0,5	2	7	10	0	1	4	14	20	39
1 día hombre -> De 7 a 12 h				<b>Total</b>					535,95	199,85	197,9	246,6	286,6	<b>1466,9</b>

forma intercalada en la plantación de cacao. Esto permite al agricultor financiar los costos de producción sin necesidad de financiamiento externo y a la vez ir rehabilitando su plantación de cacao.

El flujo de caja y el valor presente neto de este sistema son positivos para de rehabilitación de plantaciones de cacao en Ecuador (Cuadro 3), donde se puede apreciar que el agricultor puede financiar el proce-

**Cuadro 2.** Ingresos estimados en dólares por concepto de la venta de los diversos productos extraídos de una plantación tradicional de cacao en proceso de rehabilitación, considerando un horizonte temporal de 5 años EET-Pichilingue, Ecuador. 2000.

Producto	Unidad	Precio unitario	Cantidad por año					Valor por año					Total
			1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	
Carbón	saco	3	150	0	0	0	0	450	0	0	0	0	450
Madera	árbol	50	3	0	0	0	0	150	0	0	0	0	150
Maíz	qq	8	35	0	0	0	0	280	0	0	0	0	280
Plátano	racimos	1,4	50	200	100	0	0	70	280	140	0	0	490
Papaya	frutos	0,2	150	150	0	0	0	30	30	0	0	0	60
Cacao	kg	0,7	0	50	300	700	1000	0	35	210	490	700	1435
<b>Total</b>								980	345	350	490	700	2865

**Cuadro 3.** Flujo de Caja y Valor Presente Neto (dólares) estimado a partir de la inversión realizada para rehabilitar una plantación tradicional de cacao considerando un horizonte temporal de 5 años EET-Pichilingue 2000

Rubros	Año					Total
	1	2	3	4	5	
<b>Ingresos</b>	980	345	350	490	700	2865
<b>Egresos</b>	536	200	198	247	287	1468
<b>Beneficio neto</b>	<b>444</b>	<b>145</b>	<b>152</b>	<b>243</b>	<b>413</b>	<b>1397</b>

Valor presente neto = \$ 1204 (un costo de oportunidad del 8% como tasa de descuento se utiliza capital propio)

Valor presente neto = \$ 1066 (un costo financiero del 16% como tasa de descuento si se financian todas las necesidades de inversión y operación con crédito).

so al obtener ingresos de US\$980 en el primer año, con un beneficio de US\$444. Esta tendencia se observa en los años posteriores, a pesar de la reducción de los ingresos en los siguientes años. No obstante, los ingresos comienzan a incrementarse a partir del quinto año.

### Conclusiones

La rehabilitación de cacaotales viejos facilita el combate de enfermedades debido a la regulación de la sombra y por tanto, mejora el ingreso de luz que el árbol de cacao requiere para cumplir sus funciones fisiológicas.

El descope y recepa como prácticas de rehabilitación de plantaciones decadentes permite seleccionar árboles productivos de cacao dentro de la plantación, y simultáneamente, durante el proceso de recuperación de éstos permite la siembra de cultivos intercalados que generan ingresos para el productor.

La rehabilitación de la finca puede hacerse por áreas o secciones en forma escalonada por años, empezando por las plantaciones menos productivas.

Los productos obtenidos en la rehabilitación (carbón, madera, etc.) sumado a la producción obtenida de cultivos intercalados permiten en el primer año financiar totalmente la inversión.

### Literatura citada

- Ampafo, ST; Rote Bonsu, K; Ablatey, JN. 1987. Models for rehabilitating small scale cacao farms in Ghana. *In* International Cacao Research Conference (10, 1978, Santo Domingo). Actas, Logos, Nigeria, Cocoa Producers Alliance.
- Ampofo, ST. 1986. Spacing/cultivar/pruning experiment, D1 Afosu, Report for the period 1982--/83 - 1984/85. Cocoa Research Institute, Tafo (Ghana). Tafo (Ghana). p. 26-29.
- Braudedeau. 1970. El cacao: Técnicas agrícolas y producciones tropicales. Barcelona, España, Blune: 297 p.
- Cabanilla, H. 1978. Cacao: Rehabilitación, renovación, diversificación o siembra Nueva mecanografiado. 13 p.
- Corben, J; Kather, M. Comp. 1987. Cocoa guidebook and training course. Cocoa Research Institute, Talo, Ghana. Tafo. p. 37-38.
- Enriquez, GA. 1978. Poda del cacao. *In* Manual de cacao para agricultores. San José, Costa Rica, Universidad Estatal a Distancia. p. 43-48.
- Moreira, MD. 1993. Rehabilitación de plantaciones de cacao mediante el uso de chupones. Estación Experimental Tropical. Boletín Divulgativo #242. Quito, Ecuador. 11 p.
- Rudgard, SA; Anderbrhan, T. 1988. Predicting the cost-benefices of sanitation pruning for the management of witches' broom diseases. Hertford (RU). Stephen Austin & Sons. p. 341-344.
- Urquhart, DH. 1963. Cacao Rehabilitación de la plantación de cacao. Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas de la OEA. Turrialba, Costa Rica. p. 158-163.
- Vaz, A. 1995. Rehabilitación de cacaotales, conceptos básicos. Módulo de capacitación para productores. Proyecto agroforestal CATIE/GTZ. CATIE. Turrialba, Costa Rica. 31 p.



## Sección Informativa

**Tesis de Posgrado**

**Cárdenas Ch, JE. 2001. Selección de vitroplantas provenientes de microsecciones de banano de la variedad Gros Michel (AAA) resistentes a la Raza 1 del Mal de Panamá *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. Tesis Mag. Sc. Turrialba, Costa Rica, CATIE. 107 p.**

El objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto de diferentes concentraciones del extracto crudo de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (FOC) para la selección sobre la brotación de microsecciones de cormo, así como su efecto sobre el crecimiento y desarrollo de las vitroplantas en estado III, en condiciones *in vitro*. La inoculación de microsecciones y vitroplantas con concentraciones de 40% y 60% de extracto crudo de *F. oxysporum* f. sp. *cubense* permitió detectar una selección temprana significativa de vitroplantas resistentes al patógeno. Sin embargo, concentraciones de 80% y 100% causaron baja proliferación de microsecciones de cormo y poco desarrollo de vitroplantas de la variedad Gros Michel (AAA). El efecto tóxico de altas concentraciones del extracto crudo del hongo indican que no son apropiadas para su utilización como sustancias de selección de resistencia al Mal de Panamá. Ninguna concentración del extracto crudo de 20%-100% de aislamiento A y B de *F. oxysporum* f. sp. *cubense* (FOC) redujo la brotación de las microsecciones y crecimiento de vitroplantas en el cultivar resistente Gran Enano (AAA).

En condiciones de invernadero, la incidencia de la enfermedad en el cultivar susceptible Gros Michel (AAA) fue 75% inferior en plantas preseleccionadas a nivel *in vitro* usando concentraciones de 40% y 60%, con respecto a las plantas que no fueron preseleccionadas mediante el extracto crudo del hongo. La severidad de los síntomas externos de la enfermedad, como amarillamiento y marchitez de las plantas, fueron inferiores en plantas preseleccionadas usando concentraciones de 40% y 60% del extracto crudo del hongo con respecto a plantas que no fueron preseleccionadas. En el cultivar susceptible Gros Michel (AAA), la severidad de los síntomas internos, correspondientes a decoloración del cormo fue 70% inferior en plantas preseleccionadas usando concentraciones del extracto crudo del hongo que en las plantas testigo. Estos resultados demuestran que la resistencia inducida por el extracto crudo del hongo en condiciones *in vitro* se

mantiene y expresa en condiciones *in vivo*, lo cual hace a la técnica de microsecciones una herramienta útil para la detección temprana de resistencia en genotipos de *Musa* a *F. oxysporum* f. sp. *cubense* (FOC).

**López A, A. 2001. Caracterización molecular y morfológica de aislamientos del hongo *Mycena citricolor* recolectados en diferentes zonas cafetaleras de Costa Rica. Tesis Mag. Sc. Turrialba, Costa Rica, CATIE. 103 p.**

El cultivo del café representa una de las mayores fuentes de divisas para la región centroamericana. Durante el período 1997-1998 la producción de café en Centro América alcanzó los 11,9 millones de sacos, siendo el tercer productor a nivel mundial. La producción de este cultivo se concentra en manos de pequeños agricultores y es una fuente importante de generación de empleo (IICA 1998, 1999).

*Mycena citricolor* conocida comúnmente como ojo de gallo, es una de las enfermedades de mayor importancia en el cultivo del café en Costa Rica. Se estima que de las 110 000 ha de café sembradas, entre 10% y 15% están afectadas por esta enfermedad. Un cálculo conservador elaborado por el Departamento de Protección de Cultivos del Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG), estimó que en el país las pérdidas anuales por ojo de gallo ascienden a US\$ 10 millones (Vargas 2000). Existe poca investigación disponible sobre la biología del patógeno. Por lo tanto, es muy útil conocer la variabilidad genética del patógeno para establecer un mejor control del mismo. Esta investigación tuvo como objetivos principales: agrupar mediante análisis molecular y morfológico la diversidad genética del hongo *M. citricolor* en zonas cafetaleras de Costa Rica y determinar el nivel de variabilidad genética mediante el estudio molecular y morfofisiológico de 26 aislamientos.

En la caracterización molecular se utilizó medio mineral para producir micelio de calidad y se aplicó el procedimiento MATAB en la extracción de ADN. Además, se utilizó marcadores RAPD y por medio de una matriz de distancias genética, se determinó el nivel de variabilidad de 26 aislamientos de *M. citricolor*. Además, se elaboró un dendograma que agrupó los aislamientos en cuatro grupos de acuerdo a su distancia

genética, con una tendencia de agrupación de acuerdo a su origen geográfico. Se identificaron 81 bandas polimórficas a partir de 17 marcadores, de los cuales 14 bandas aportaron el mayor valor significativo para diferenciar entre los grupos.

La caracterización morfológica estuvo constituida por variables cuantitativas y cualitativas, siendo el diámetro de la colonia, presencia o ausencia de gema y pedicelo, color de las gemas y el patrón de crecimiento *in vitro* las que permitieron establecer diferencias entre los aislamientos. Se utilizó la tabla de colores Munsell para diferenciar el color de las gemas en los 26 aislamientos, identificándose cinco valores cromáticos: 2,5 Y(8/6), 2,5 Y(8/12), 5Y(8/), 5Y(8/10), 5Y(8/12). También se identificaron seis patrones de crecimiento. Finalmente, se compararon los grupos genéticos obtenidos con datos meteorológicos de Costa Rica, siendo la variable brillo solar la que mayor relación presentó con el análisis molecular. Cada una de las herramientas en el presente estudio permitió caracterizar 26 aislamientos de *M. citricolor* y conocer mejor el comportamiento de este patógeno.

**Ortiz V, JL. 2001. Desarrollo de una metodología para la transformación genética de banano (cv Gran Enano) y plátano (cv Curraré) de consumo local para introducir resistencia a la Sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis*). Tesis Mag. Sc. Turrialba, Costa Rica, CATIE. 60 p.**

Los bananos y plátanos (*Musa* spp.), ocupan el cuarto lugar en producción a nivel mundial, siendo uno de los cultivos más importantes para los países en desarrollo. Sin embargo, estos cultivos son seriamente amenazados por muchos problemas fitosanitarios. La Sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet) constituye el principal problema fitosanitario de los cultivos de banano y plátano, causando pérdidas entre 30 y 50%.

A nivel mundial, el mejoramiento genético convencional se ha visto limitado debido a que son especies que presentan esterilidad, poliploidía y se propagan vegetativamente.

La biotecnología ofrece las herramientas necesarias para superar esas barreras biológicas. Una de esas herramientas es la transformación genética de cultivos celulares embriogénicos mediante el bombardeo de partículas cubiertas de ADN.

Para el establecimiento de las suspensiones celulares se utilizaron callos embriogénicos obtenidos del cultivo de flores masculinas de banano (cv Gran enano AAA) y flores femeninas de plátano (cv Curraré

AAB) en el medio de cultivo Ma2 líquido. Además, se logró establecer la calidad de las suspensiones celulares (cv Gran enano y cv Curraré) midiendo la capacidad de crecimiento en un período de 8 días. Observaciones al microscopio de luz y el análisis histológico, evidenció una mejor calidad de la suspensión para el cultivar Curraré comparado con el cultivar Gran enano.

La transferencia de genes se realizó mediante el bombardeo de partículas utilizando el sistema de biobalística PDS-1000/He de Bio-Rad de alta presión. Esta técnica conlleva diferentes pasos, tales como el acondicionamiento osmótico (sorbitol y manitol) antes y después del bombardeo, la evaluación de la expresión transitoria (GUS), y de las fases de regeneración celular, y desarrollo embriogénico con y sin el agente selectivo.

Para establecer las condiciones de bombardeo se evaluaron dos vectores de transformación genética, el pB121 que expresa el gen reportero GUS y el gen marcador nptII con resistencia a kanamicina, el segundo plásmido que se probó fue el pHAGG, que presenta en su construcción el gen reportero GUS, el gen marcador hph, que le confiere resistencia al antibiótico higromicina y además presenta los genes de glucanasas y quitinasas de interés agronómico que degradan las paredes del hongo constituido principalmente por quitinas y glucanos. Ambos vectores de transformación se encuentran bajo el dominio del promotor constitutivo 35S del virus del mosaico de la coliflor (CaMV).

La expresión transitoria se evaluó mediante el conteo de puntos azules 24 horas después del bombardeo; se evidenció mejores resultados para el cultivar Curraré a una distancia de 6 cm y con el microproyectil tungsteno, logrando obtener en promedio 2207 puntos azules para el mejor tratamiento.

El material se sometió a selección con el medio de regeneración M3. Para cultivos celulares bombardeados con el vector pB1121 se utilizó el antibiótico kanamicina a una concentración de 100 mg/L y para el vector pHAGG el antibiótico a una concentración de 75 mg/L, después de 2 meses en selección. Se observó la regeneración de agregados celulares embriogénicos con formación de embriones en diferentes estados de desarrollo. En esta etapa se llevó a cabo un análisis histoquímico que reveló la presencia del gen GUS en los agregados celulares; el análisis histológico mostró la integración uniforme del agente revelador X-Gluc en el interior del tejido.

Los embriones somáticos regenerados se subcultivaron al medio M4, logrando la germinación de 12 embriones. Secciones de tejidos de hoja raíz sometieron al agente revelador X-Gluc, observándose una tinción uniforme del tejido expuesto.

Finalmente, los embriones germinados fueron subcultivados en medio de desarrollo M5 con el agente selectivo a higromicina y después de cinco meses en este medio continúan en crecimiento, expresando la resistencia al antibiótico y revelando la presencia del gen GUS en hojas y raíces.

**Jiménez R, JR. 2001. Establecimiento de una metodología para la crioconservación del hongo *Mycosphaerella fijiensis* Morelet en nitrógeno líquido (-196°C). Tesis Mag. Sc. Turrialba, Costa Rica, CATIE. 60 p.**

La técnica de crioconservación por inmersión directa en nitrógeno líquido (-196°C) se evaluó para la conservación del hongo patógeno *Mycosphaerella fijiensis*, causante de la Sigatoka Negra en banano y plátano, como fuente de material genético de buena calidad para trabajos de investigación fitopatológica. La técnica de crioconservación ha sido utilizada por varios

investigadores para la conservación de patógenos por su capacidad de detener la actividad metabólica celular, lo que protege la estabilidad genética de los organismos por tiempo indefinido, con mínimo mantenimiento y ahorro de espacio. Por tanto, se evaluó la crioconservación de *M. fijiensis*

En esta investigación se incluyeron 10 cepas de *M. fijiensis* procedentes de la zona Atlántica de Costa Rica, las que fueron colocadas en un medio crioprotectante y criocongeladas por un período de dos horas en nitrógeno líquido. Se valoró la recuperación, producción de conidios y patogenicidad de cada una de las cepas por medio de la inoculación artificial en hojas de banano (Gran Enano).

El grado de recuperación de las cepas después de la criocongelación a (-196°C), media en términos de la superficie del medio de cultivo cubierto por las colonias y el micelio del patógeno, mostró variaciones entre el 20 y 100%. La producción de conidios mostró valores arriba de 150 000 conidios por mililitro en el 90% de las cepas y la patogenicidad, medida por medio de cuatro períodos (PI= Período de Incubación, PT= Período de Transición, PL= Período de Latencia y NT= Necrosis Total), se mantuvo para todas las cepas.

## AGRI2000 MEGABASE DE DATOS AGROPECUARIA DE AMÉRICA LATINA Y EL CARIBE

El Sistema de Información y Documentación Agropecuario de las Américas (SIDALC), está integrado por bibliotecas y unidades de información documental, enlazadas mediante redes nacionales. Estas redes generan productos y proveen servicios de información dirigidos a satisfacer las necesidades de información de los diversos actores del sector agropecuario y afines. La Biblioteca Commemorativa Orton es el Coordinador Técnico del SIDALC.

Recientemente el SIDALC produjo la 2 edición de Agri2000 en disco compacto. Esta megabase de datos agropecuaria de América Latina y el Caribe reúne más de 100 bases de datos bibliográficas o catálogos de bibliotecas y centros de documentación de instituciones nacionales e internacionales de investigación y enseñanza que participan en SIDALC.

Esta megabase de datos también permite identificar colecciones de publicaciones periódicas que están disponibles en los acervos de las bibliotecas participantes. Las búsquedas pueden hacerse por título de la Revista, país o por tema. Además posee otros servicios como el Directorio de Bibliotecas participantes con los contactos, servicios y formas de pago para cada uno de ellos.

**Agri200 también está disponible en internet en la siguiente dirección: [www.sidalc.net](http://www.sidalc.net)**



# Futuros Eventos

2-8 Junio 2002

## II Taller Internacional de Polilla Guatemalteca (*Tecia solanivora*): Avances en investigación y manejo Integrado de la plaga

**Información:** Leticia Torres  
Departamento de Ciencias Biológicas, PUCE – IRD  
Quito, Ecuador  
polilla@puceui.puce.edu.ec

3-5 Junio 2002

## Simposio Subregional RED-BIO-FAO/CATIE "Biodiversidad, Biotecnología y Bioseguridad: Un enfoque hacia Mesoamérica y El Caribe"

**Información:** Oficina de Capacitación. CATIE  
Turrialba, Costa Rica  
Capacita@catie.ac.cr  
[http://www.catie.ac.cr/posgrado/cursos/Biodiversidad\\_2002.htm](http://www.catie.ac.cr/posgrado/cursos/Biodiversidad_2002.htm)

16-21 Junio 2002

## 19 Congreso Brasileiro de Entomología

**Información:** Orcal Eventos  
Brasil  
orcal@osite.com.br  
[www.fua.br/19cbe](http://www.fua.br/19cbe)

24-28 Junio 2002

## Curso-taller Manejo Integrado de Plagas en la Agricultura Sostenible

**Información:**  
Luis L. Vázquez Moreno  
Ciudad de La Habana, Cuba  
Fax: (537) 2029366, 2040535  
lvasquez@inisav.cu

24-28 Junio 2002

## Curso Latinoamericano sobre Control Biológico de Malezas

**Información:** Julio Medal  
Universidad Nacional Agraria de Nicaragua/Universidad de Florida  
medal@gnv.ifas.ufl.edu

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  
Tel. (506) 558 2440, 558 2710  
Fax: (506) 556 0606, 556 2431  
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  
Fax: 52-5-622-4828  
JBMM@hp.fcencias.unam.mx

19 - 21 Setiembre 2002

## IV Jornada Científica del Instituto de Investigaciones Agropecuarias "Jorge Dimitrov"

**Información:**  
María Fonseca Flores  
I.I.A. "Jorge Dimitrov"  
Bayamo, CP 85100, Granma, Cuba.  
Tel. (53) 023 92140, 92122, 92123  
dimitrov@granma.inf.cu

18- 30 Noviembre 2002

## 13º Curso Detección e Identificación de Virus, Viroides y Fitoplasmas

**Información:**  
Dr. Javier Romero Cano  
Laboratorio de Virología Vegetal del Departamento de Protección Vegetal, Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA).  
Madrid, España.  
Romero@inia.es

27 Octubre-2 Noviembre 2002

## XVº Reunión de ACORBAT

**Información:**  
Sabina Alvarez E. AUGURA  
Colombia  
Tel. (574)321 1333  
Fax (574) 321 4190  
salvarez99@augura.com.co

2 -5 Diciembre 2002

## IX Congreso Venezolano de Hortalizas

**Información:**  
Universidad Nacional Experimental del Táchira  
Vicerrectorado Académico  
Decanato de Extensión  
Venezuela  
refarrera@hotmail.com

17 - 20 Marzo 2003

## 3rd International Bemisia Workshop

**Información:** Dr. Rosa Gabarra  
Departamento de Protección Vegetal, IRTA  
Centre de Cabrils, España  
mailto:bemisia2003@otac.com

# Suscriba la Revista **Manejo Integrado de Plagas**

*Si desea recibir información actualizada sobre plagas agrícolas y forestales, MIP, agroecología, agricultura orgánica y otras alternativas de producción agrícola sostenible generada en América Latina*

## ESTA PUBLICACIÓN LE OFRECE



Los trabajos más significativos en el tema en América Latina como apoyo a investigación, enseñanza, cooperación técnica y toma de decisiones.

Trimestralmente más de 100 páginas de información sobre MIP, Agricultura orgánica, agroecología y otras alternativas de agricultura sostenible, así como agromedicina, transferencia de tecnología, aspectos socioeconómicos, de género, entre otras.



Resultados de investigación, foros, revisiones de literatura, experiencias de los países, hojas técnicas, boletines especializados, reseñas de publicaciones, avances de investigación, entre otros



Más de 15 años de trayectoria y 63 números publicados



Artículos indizados en las bases de datos agrícolas y ambientales más importantes a nivel mundial

Unase a una amplia red de instituciones, técnicos y especialistas de América Latina que comparten información sobre el tema publicando en la Revista MIP

### PROMOCION POR TIEMPO LIMITADO

Suscriba 2 años y obtenga un 20% de descuento, así como en números anteriores

Suscripción	1 año	2 años	Números sueltos
América Central	US \$20	US \$35	US \$4
Resto de América Latina y el Caribe	US \$25	US\$ 45	US \$5
Norte América, Europa, Africa y Asia	US\$ 35	US\$ 63	US \$7
Suscripción electrónica	US \$10	US\$ 18	



# MOSCA BLANCA AL DÍA

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

No. 38

Marzo, 2002



## Nota editorial

Con este número, en el que se incluye el logo de nuestra Red, iniciamos la conmemoración formal del X Aniversario de nuestras actividades. Viendo en retrospectiva aquellos días de desesperanza, ocasionada por el complejo mosca blanca-geminivirus, hoy podemos respirar con alivio. Aunque aún falta mucho por hacer, y algunos hechos recientes indican que no debemos bajar la guardia en esta lucha, no cabe duda de que este decenio ha sido fructífero.

Fue en agosto de 1992 cuando realizamos en el CATIE el taller del cual emergió el *Plan de Acción Regional para el Manejo de las Moscas Blancas*, cuyo eje estratégico fue la validación y transferencia de tecnologías de manejo integrado (MIP) del complejo mosca blanca-geminivirus. Hoy, en contraste con lo sucedido hace un decenio -cuando el conocimiento sobre dicho complejo era casi nulo en América Central y el Caribe-, disponemos de abundante y valiosa información, contenida en las memorias de 10 talleres anuales; en 38 números de este boletín trimestral; y en un pórtico en internet. Pero, sobre todo, con satisfacción percibimos la cobertura ampliada (de 7 a 21 países, incluyendo a España y Portugal) de una Red ya consolidada, la cual ha hecho posible el intercambio de información técnica y de experiencias prácticas, para beneficio de nuestros agricultores. Y es en sus campos, justamente, donde están los logros de este decenio, resultado del esfuerzo de tanta gente generosa, a la cual rendiremos homenaje en los números siguientes.



## XI Taller

Continúan los preparativos para la realización del **XI Taller Iberoamericano y del Caribe sobre Moscas Blancas y Geminivirus**, el cual se efectuará en Barquisimeto (Lara), Venezuela, en noviembre de este año. Se aportará información detallada en los próximos números de MBDía. **Contacto:** Dr. Jorge Salas (salasjl@hotmail.com).



## Pórtico en CATIE

Aunque desde hace varios meses se instaló un sitio sobre mosca blanca en el pórtico del CATIE (<http://www.catie.ac.cr/moscablanca>) recientemente hemos tenido algunas dificultades operativas para incluir nueva información. Esperamos subsanarlas pronto aunque, en todo caso, ahí ya se dispone de valiosa información y de una amplia lista de vínculos con sitios pertinentes al tema.



## Reunión EE.UU

Del 10 al 12 de febrero se efectuó en San Diego, California, la reunión anual sobre mosca blanca (1997-2001: *Third Annual Review of the Second 5-Year Silverleaf Whitefly Research, Action and Technology Transfer Plan*). Oportunamente se publicará la memoria del evento, sobre lo cual informaremos en los próximos números de MBDía. **Contactos:** Dr. Walker Jones (wjones@weslaco.ars.usda.gov) y Dr. Thomas Perring (thomas.perring@ucr.edu), <http://www.slwf.ucr.edu/>



## Congreso Brasil

Del 16 al 21 de junio se realizará en Manaus, Brasil, el **XIX Congreso Brasileño de Entomología**, dentro del cual habrá una mesa redonda sobre la situación actual de *Bemisia tabaci* (biotipo B) en Brasil. Hemos sido invitados a hacer la presentación *Manejo de Bemisia tabaci en América Central y el Caribe: la experiencia de un decenio*, para relatar los logros en nuestra región de los últimos años. Contacto: Dr. André Luiz Lourenço (andre@cec.iac.br).



## Congreso mundial

En años previos, los investigadores que trabajan con moscas blancas han organizado dos talleres o congresos mundiales, en Israel (1994) y Puerto Rico (1998). Tal y como fue sugerido en el simposio de la EWSN realizado en Sicilia, el *Third International Bemisia Workshop* se efectuará en Barcelona (España), en marzo de 2003. Su principal objetivo será discutir los hallazgos más recientes en cuanto a la bioecología y manejo de las moscas blancas.

Los temas previstos son: biología de *B. tabaci* (incluyendo aspectos de taxonomía, morfología, historia natural y biotipos) y su dinámica poblacional; relaciones virus-vector y su epidemiología; combate químico y manejo de la resistencia a insecticidas; control biológico (biología de enemigos naturales, efectos colaterales de insecticidas sobre insectos entomófagos, etc.); prácticas agrícolas (plásticos y mallas reflectoras, coberturas al suelo, etc.); resistencia varietal al insecto y a sus virus asociados; y métodos y prácticas de manejo integrado de plagas. Contactos: Dr. Rosa Gabarra ([Rosa.Gabarra@irta.es](mailto:Rosa.Gabarra@irta.es)) y Dra. Cristina Castañé ([Cristina.Castane@IRTA.es](mailto:Cristina.Castane@IRTA.es)).



## Red europea

Como se ha informado en varios MBDía, en 1999 se creó la *Red Europea para el Estudio de las Moscas Blancas* (EWSN), con la cual nos unen propósitos comunes. Nuestros vínculos se fortalecieron con la participación de L. Hilje en la mesa redonda *Towards a global networking*, dentro del *European Whitefly Symposium*, organizado hace un año en Sicilia. Aunque dicha red contaba con fondos de la Comunidad Europea para operar por apenas dos años, ha continuado sus actividades, al menos en forma parcial.

Ello incluye la publicación del boletín *EWSN Newsletter*, del cual han aparecido 12 números. Además, su nuevo pórtico ([www.whitefly.org](http://www.whitefly.org)) se ha enriquecido notoriamente.

Uno de los recursos más útiles generados por la EWSN es un conjunto de hojas técnicas (*Data sheets for European Whitefly Studies Network*) profusamente ilustradas, a todo color, emplastadas y perforadas para su colección en un portafolios. Están divididas en tres secciones: **A)** Protocolos y metodologías para las áreas de virología, epidemiología, faunística y sistemática, enemigos naturales y protección vegetal; **B)** Guías de identificación; y **C)** Información sobre productos utilizados en la protección vegetal. Hasta ahora se han publicado 12 hojas técnicas. Contactos: Dr. Ian D. Bedford y Sr. David J. Oliver ([network.ewsn@bbsrc.ac.uk](mailto:network.ewsn@bbsrc.ac.uk), John Innes Centre, United Kingdom).



## Artículos mosca blanca

- En MBDía anterior informamos que hace varios meses se publicó un número especial de la revista *Crop Protection* (Vol. 20, No. 9), el cual recoge las presentaciones realizadas en el simposio *Challenges and opportunities for pest management of Bemisia in the new century* (Iguazú, Brasil). Puesto que dicha revista generosamente ha abierto el acceso a sus artículos completos, contamos con una versión (en PDF) de todo ese número, y con gusto podríamos enviarlo por internet a quienes nos lo soliciten.

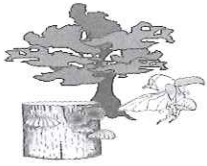
- En la edición No. 63 (marzo, 2002) de la revista *Manejo Integrado de Plagas*, de la cual es parte MBDía, aparece el artículo *Una reinterpretación de las moscas blancas*, que es una traducción del artículo *Whiteflies revisited*, presentado por el Dr. Dan Gerling (Universidad de Jerusalén, Israel) en el simposio antes citado. Los invitamos a leer este fascinante y provocador artículo, que abre perspectivas muy interesantes.

- En la edición No. 90 (2000) del *Bulletin of Entomological Research*, apareció el artículo *The whiteflies (Hemiptera: Aleyrodidae) of Europe and the Mediterranean basin*, escrito por Martin *et al.* Se puede conseguir una copia gratuita de este valioso trabajo taxonómico, escribiendo a los contactos en EWSN previamente indicados.

ESTE BOLETIN ESTA DISPONIBLE POR CORREO ELECTRONICO,  
YA SEA DENTRO DE LA REVISTA MANEJO INTEGRADO DE PLAGAS,  
O EN LAS SIGUIENTE DIRECCION:

<http://www.catie.ac.cr.moscablanca>

# PLAGAS FORESTALES NEOTROPICALES



Jorge Macías (jmacias@tap-ecosur.edu.mx)  
Marcela Arguedas (marguedas@itcr.ac.cr)  
Luko Hilje (lhilje@catie.ac.cr)  
**EDITORES**

No. 5

Marzo, 2002

## NOTA EDITORIAL

Con esta nueva edición del Boletín, saludamos con beneplácito la incorporación, como coeditora, de Marcela Arguedas, colega costarricense con muy vasta experiencia en el campo de la protección forestal. Con sus conocimientos amplios, no hay duda de que nos ayudará a enmendar el sesgo entomológico de los primeros cuatro números del Boletín, pues ella tiene reconocidas fortalezas teóricas y prácticas en patología forestal. Por tanto, a partir de ahora lograremos un mayor balance entre disciplinas, para beneficio de nuestro grupo meta: los productores y técnicos forestales de nuestro continente. ¡Bienvenida, Marcela!

## SÍNTOMAS PRODUCIDOS POR *Nectria*

En Costa Rica, actualmente algunas especies del hongo *Nectria* producen canchales en el fuste y ramillas en varias especies arbóreas importantes en programas de reforestación, tales como *Bombacopsis quinatum*, *Gmelina arborea*, *Stryphnodendron microstachyum*, *Tectona grandis*, *Terminalia amazonia*, *T. ivorensis* y *Virola koschnyii*. Puesto que para su identificación es fundamental reconocer los síntomas específicos en cada una de las especies arbóreas, a continuación se describen los más importantes:

*G. arborea* (melina): En plántulas de vivero, el hongo forma un canchale en forma de pequeñas áreas de la corteza "deprimidas" en el tallo. En plantaciones, el daño en el fuste no es evidente; el árbol sufre una muerte descendente, produce rebrotes en la base del fuste y en algunas ocasiones presenta exudaciones en los puntos de poda. Un análisis detallado del fuste

permite observar zonas extensas de la corteza "deprimidas", las cuales se muestran necrosadas y pueden abarcar todo el perímetro.

*T. grandis* (teca): El hongo puede atacar árboles de hasta 40 cm de diámetro. En la base del fuste, en la corteza se observa un área ovalada y oscura, podrida. Esta área se puede desprender manualmente y observar los tejidos del xilema expuestos.

*T. ivorensis* (roble marfil): En árboles de 1-3 años se observa inicialmente una necrosis o muerte de las áreas afectadas por el hongo. Luego se producen hundimientos y abultamientos en las áreas en crecimiento, que originan deformaciones en el tallo. Al secarse el área necrosada se fisura y se forma el canchale, por el que salen grandes cantidades de exudaciones gomosas pardo-rojizas. En algunos casos se forman varios canchales por árbol, que pueden causar su anillamiento, quiebra, deformación y muerte. En árboles adultos el canchale es alargado (hasta 10 cm de ancho y 70 cm de alto) y se recubre con gran cantidad de savia en forma de "gomosis" pardo-oscura. Pueden aparecer varios canchales por fuste.

## PIPROF

Este acrónimo describe al *Programa Interinstitucional de Protección Forestal*, creado en 1984 en Costa Rica por funcionarios de la Universidad Nacional (UNA), el Instituto Tecnológico de Costa Rica (ITCR) y la Dirección General Forestal (DGF). Desde entonces, ha consolidado una rica trayectoria, reconocida tanto nacional como internacionalmente, en aspectos de asistencia técnica a los productores forestales (diagnóstico y recomendaciones de manejo); capacitación de



técnicos y productores; producción de textos, catálogos y materiales divulgativos; investigación básica y aplicada; y enseñanza universitaria.

En el *Taller de Manejo de Plagas y Enfermedades Forestales*, realizado el 27-XI-01, y convocado por el Ministerio de Ambiente y Energía (MINAE) y el Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG), se reconoció que, debido a su papel pionero en el país, y a sus esfuerzos sostenidos en el campo de la protección forestal durante 16 años, es crítico revitalizar, fortalecer y ampliar el PIPROF. Oficialmente, sus actuales miembros son Marcela Arguedas (ITCR), Carlos Araya (UNA), Luis Quirós y Félix Scorza (MINAE) y Luko Hilje (antes UNA y ahora CATIE). A ellos se sumarán Vera Sánchez (CATIE) y Fabio Chaverri (UNA), así como miembros de la Dirección de Sanidad Agropecuaria del MAG. **Contacto:** Marcela Arguedas.

### MATERIALES DIVULGATIVOS

El Laboratorio de Protección Forestal, del ITCR, que es miembro del PIPROF, en años recientes ha desarrollado una amplia labor divulgativa sobre el manejo de plagas forestales, entre técnicos y productores. Para ello ha editado los siguientes 21 boletines divulgativos, que constituyen la *Serie Plagas y Enfermedades Forestales* (apoyado por el Centro de Información Tecnológica). **Contacto:** Marcela Arguedas.

- El abejón descortezador del jaúl *Scolytodes alni*
- Manejo de plagas y enfermedades en viveros forestales
- El barrenador de los brotes del pino *Rhyacionia frustrana*
- Enfermedades del follaje del ciprés
- Clasificación de síntomas de enfermedades forestales
- Clasificación de plagas y daños en plantaciones forestales
- La chinche de encaje del laurel *Dictyla monotropidia*
- El cancro de los eucaliptos *Cryphonectria cubensis*
- Nemátodos en viveros forestales
- La corona de agallas *Agrobacterium tumefaciens*
- Problemas fitosanitarios en semillas forestales
- Enfermedades no infecciosas
- Enfermedades virales en especies forestales
- El defoliador de la melina *Eacles imperialis decoris*
- Enfermedades radicales

- Recolección y envío de muestras al laboratorio
- Control biológico
- Cancro *Nectria* en especies forestales
- Manejo integrado de plagas y enfermedades forestales
- Abejones barrenadores (Cerambycidae)
- Desinfección de suelos forestales por solarización

### NUEVO LIBRO

No hay duda de que una de las principales limitaciones que enfrentamos quienes trabajamos en protección forestal en los trópicos es la carencia de información sistematizada al respecto. Por ello, saludamos la aparición del libro *Insect pests in tropical forestry* (Martin Speight y F. Ross Wylie), publicado por CABI Publishing. Su costo es de US\$ 44, más el importe aéreo. **Contacto:** <http://www.cabi.org>

### MELIACEAE EN INTERNET

Dos importantes recursos electrónicos de información y contactos para aquellas personas e instituciones que estén relacionadas con las Meliaceae están en desarrollo en internet. Ambos serán de gran ayuda para quienes trabajan con *Hypsipyla* spp., barrenadores de cedros y caobas en todo el mundo.

El pórtico *Project Meliaceae Homepage* (<http://www.fs.fed.us/global/iitf/melia.html>) es un esfuerzo del International Institute of Tropical Forestry, el Servicio Forestal de los EE.UU. y la Universidad de Puerto Rico. Actualmente está en construcción y solicita la participación, para autoría, de las distintas secciones (ecología, recursos genéticos, manejo de bosques naturales, manejo de plantaciones, proyectos en desarrollo, comercio, producción y mercado, organizaciones y bibliografía).

Paralelamente, el proyecto *Sustainable Management and Genetic Resources of Meliaceae* del CATIE y la *International Union of Forestry Research Organizations* (IUFRO) han establecido la lista electrónica [iufromeliaceae@catie.ac.cr](mailto:iufromeliaceae@catie.ac.cr), donde se intercambia información sobre asuntos relativos a las Meliaceae, incluyendo proyectos para el manejo del barrenador, como los que se realizan en Australia (<http://www.ento.ciro.au/research/natres/hypsipyla/>).

**POR FAVOR, DISTRIBUYA ESTE BOLETÍN A TODOS LOS INTERESADOS QUE CONOZCA**

**CATIE** Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza



## Situación epidemiológica de las intoxicaciones agudas por plaguicidas en el Istmo Centroamericano 1992-2000

Samuel Henao<sup>1</sup>  
María Patricia Arbelaez<sup>2</sup>

### Introducción

Una de las principales problemáticas que enfrenta la humanidad en el siglo XXI, es la degradación del ambiente. Los rápidos avances científicos y tecnológicos han generado grandes desarrollos para la humanidad, pero también han abierto la posibilidad de alterar el equilibrio ecológico del planeta de manera global.

De las más de 70 000 sustancias químicas que se encuentran en el mercado, los plaguicidas sintéticos han ocupado desde 1940 un destacado lugar, convirtiéndose durante los últimos 60 años en la principal estrategia para el control de las plagas. En la actualidad, mantienen un marcado aumento en los promedios mundiales de producción y utilización.

Como efectos en la salud por la exposición a estas sustancias, se estima que un 3% de los trabajadores agrícolas sufren cada año una intoxicación aguda por plaguicidas. En los países en desarrollo, aunque la cantidad de plaguicidas utilizada es menor, se presentan más del 50% de las intoxicaciones agudas por estas sustancias, lo cual demuestra las deficientes condiciones de higiene y seguridad bajo las cuales son usados estos productos. Lo anterior, sin tener en cuenta los efectos crónicos producidos por la exposición a bajos niveles de plaguicidas durante períodos prolongados tales como: daños en el sistema nervioso central, malformaciones con-

génitas; efectos mutagénicos y cáncer; daños en piel, pulmones, ojos y sistema inmunológico y esterilidad masculina, entre otros.

En los países del Istmo Centroamericano (Belice, Costa Rica, El Salvador, Guatemala, Honduras, Nicaragua y Panamá) se ha producido un incremento constante en el empleo de plaguicidas, alcanzando en los últimos años aproximadamente 45 millones de kilos anuales de ingrediente activo, importados y formulados en 42 plantas ubicadas en estos países.

Respecto a las intoxicaciones agudas por plaguicidas (IAP) notificadas, su número ha alcanzado los 7 000 casos anuales, cifra que aún tiene un gran subregistro, ocasionado por las dificultades de acceso de los trabajadores del campo a los servicios de salud, diagnósticos erróneos y problemas en los registros y notificación.

A esta problemática se añade el uso inadecuado de los productos, las deficientes condiciones de almacenamiento y producción, el desconocimiento de los efectos reales en la salud debido a que no generan sintomatología específica, falta de investigación sobre los efectos a largo plazo derivados del uso de estos productos, tanto en la salud de la población como el deterioro ambiental.

Ante los problemas originados por el uso intensivo de plaguicidas en los países del Istmo Centroamericano, la Organización Panamericana-

<sup>1</sup> Proyecto Plagsalud. Representación OPS/OMS, Costa Rica. San José, Costa Rica. henaosam@cor.ops-oms.org

<sup>2</sup> Facultad Nacional de Salud Pública de la Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

na de la Salud (OPS), a través de la División de Salud y Ambiente ha venido ejecutando el Proyecto: "Aspectos Ocupacionales y Ambientales de la Exposición a Plaguicidas en el Istmo Centroamericano (PLAGSALUD) financiado por la Agencia Danesa para el Desarrollo Internacional (DANIDA).

Los propósitos de este proyecto, que inició en 1994, son los de reducir significativamente los problemas de salud relacionados con los plaguicidas en los diez años siguientes al inicio del proyecto y apoyar la implementación de alternativas de agricultura sostenible. Con el fin de alcanzar estos propósitos, PLAGSALUD ha venido trabajando con los ministerios de Salud, Agricultura, Educación, Ambiente y Trabajo, así como universidades y sociedad civil en cada uno de los países del Istmo Centroamericano, brindando cooperación técnica en las siguientes áreas: vigilancia epidemiológica, investigación, educación, coordinación interinstitucional y fortalecimiento de las legislaciones.

En el marco de la vigilancia epidemiológica se ha logrado obtener valiosa información, la cual es objeto de análisis en este informe.

## Resultados

El Istmo Centroamericano, cuenta en la actualidad con cerca de 35 millones de habitantes, conservando aun la mitad de población en la zona rural, principalmente en Guatemala y Honduras. Guatemala cuenta con una gran población indígena. La proporción de población menor de 15 años es cercana al 40%.

La mortalidad infantil aun es alta en Guatemala, Nicaragua, Honduras y El Salvador. La esperanza de vida es de aproximadamente 70 años.

Por su extensión en kilómetros cuadrados, Nicaragua es el país más grande de la región seguido por Honduras y Guatemala, aunque el mayor número de

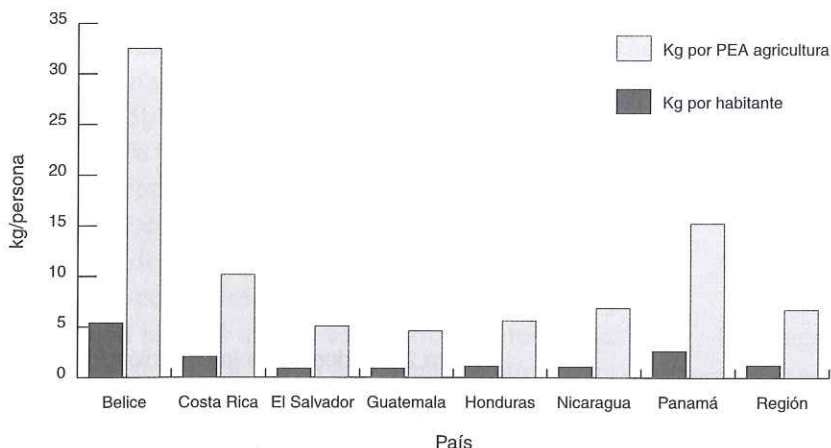
habitantes lo registra Guatemala con casi 11000000 de habitantes. La mayor proporción del territorio dedicado a la agricultura se encuentra en El Salvador, Costa Rica y Nicaragua, donde los principales cultivos son el café, la caña de azúcar, granos como arroz, frijol y maíz, hortalizas, banano, tabaco y flores.

En los países del Istmo Centroamericano, al igual que en muchos otros de América Latina, una proporción importante de la población económicamente activa (PEA) pertenece al sector agrario. En este sector se utilizan anualmente entre 85% y 90% de los plaguicidas importados, generando un alto grado de exposición per cápita, en comunidades que tienen poco acceso a la seguridad social o viven en zonas con escasa cobertura sanitaria.

La importación de plaguicidas en el Istmo Centroamericano se viene incrementando progresivamente, pasando de 34 000000 kg en 1994, cuando se contó con información para todos los países de la región, a 45 000000 kg en el 2000, lo que representa un incremento cercano al 32% en solo 6 años

Cerca de 1,5 kg de plaguicidas por persona por año, es el preocupante récord de consumo de plaguicidas en el Istmo Centroamericano, lo que hace que sea la región con la tasa per - cápita de consumo de estas sustancias más alta del mundo. La tendencia ha sido estable durante el período y duplica los límites estimados por la OMS en promedio de 0,6 kg/ha, límite que es superado por todos los países, pero especialmente por Belice, Panamá y Costa Rica.

Si se analiza la carga de plaguicidas por persona de la población económicamente activa dedicada a la agricultura en la región en el año 2000, la cual corresponde a 1,26 kg/habitante, ésta se cuadruplica en relación con la población general que corresponde a 6,7 kg/habitante (Fig. 1). De 1992 al 2000, la carga de la Subregión pasó de 4,5 kg a 6,7 kg por trabajador de la agricultura.



**Figura 1.** Plaguicidas importados (en kg) por habitante y por persona de la población económicamente activa en la agricultura en cada país y en la región. Istmo Centroamericano, 2000.

En la región de América Central, el análisis por los tres principales grupos de plaguicidas, según el organismo que se desea controlar, y para el periodo entre 1992 y 2000 mostró un descenso para los insecticidas y fungicidas, pero un incremento muy significativo para los herbicidas, pasando su importación de 6,3 a 14,6 millones de kg, lo que representa un incremento de casi 129%.

### Intoxicaciones agudas por plaguicidas (IAP)

La tasa de incidencia para las intoxicaciones agudas por plaguicidas en la región es cercana a 20 casos por cien mil habitantes, con un aumento progresivo para el periodo de estudio, pasando de una tasa de 6,32 por cien mil habitantes en 1992 a 19,5 en el año 2000, triplicando el riesgo durante el periodo (Fig. 2).

En el año 2000 se presentaron 6 934 casos de intoxicación aguda por plaguicidas. Para este año, el mayor número de casos lo registró El Salvador (2 349), seguido por Nicaragua (1 651) y por Guatemala (1 060). Si se analiza el riesgo por país de acuerdo con las tasas de incidencia en el último trienio, 1998-2000, periodo en el cual la implementación del sistema de vigilancia epidemiológica ya se había regulado, se observa que de acuerdo con la tasa de incidencia promedio, los países de alto riesgo (tasa superiores a 35 por cada 100 000 habitantes) son Nicaragua y El Salvador y los de bajo riesgo (tasa inferiores a 10 por 100 000) Honduras, Belice y Guatemala.

De acuerdo con los datos obtenidos a través del Sistema de Vigilancia, los doce plaguicidas responsables del mayor número de intoxicaciones agudas son: paraquat, fosfato de aluminio, metil paratión, metamidofos, monocrotofós, clorpirofós, terbufós, etoprofós, endosulfán, carbofurán, metomil y aldicarb.

### Mortalidad por intoxicaciones agudas por plaguicidas

Las tasas de mortalidad también registran una tendencia al ascenso en el periodo, pasando de un riesgo de muerte de 0,3 por 100 000 ha en 1992 a 2,10 en el año 2000 (Fig.2). En el año 2000 se registró un ligero descenso, presentándose 748 fallecimientos en la región, en comparación con los 867 del año anterior. De acuerdo con las tasa promedio de mortalidad del periodo 1998-2000, El Salvador y Nicaragua se encuentran en alto riesgo con tasas superiores a 4 por cada 100 000 habitantes y Belice, Costa Rica y Honduras en bajo riesgo con tasas de mortalidad inferiores a 1.

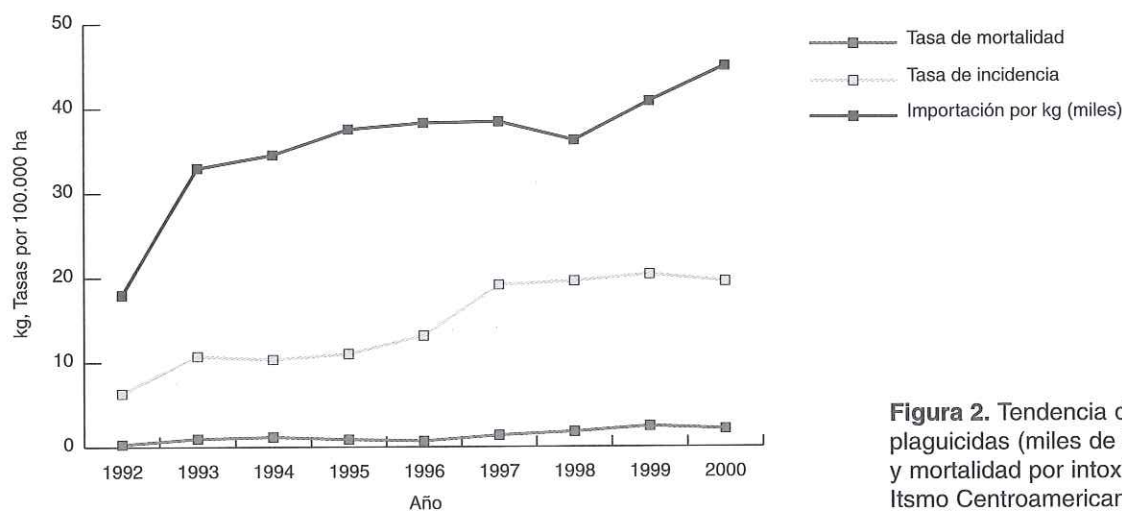
### Letalidad de las intoxicaciones agudas por plaguicidas

Al relacionar los casos fatales con las intoxicaciones agudas presentadas, obtenemos las proporciones de letalidad. El 11% de los casos de intoxicación aguda por plaguicidas que se presentan terminan en fallecimiento en la región, según datos del 2000. La proporción de letalidad es superior en El Salvador, Nicaragua y Guatemala. Esto también demuestra la severidad de este daño en comparación con otros problemas de salud pública de la región.

### Relación entre la carga de plaguicidas y el comportamiento de las intoxicaciones producidas por estos productos

La comparación entre los plaguicidas importados (en kg) en la región y las tasas de incidencia de intoxicaciones agudas por plaguicidas por 100 000 habitantes, entre 1992-2000, dió un coeficiente de correlación de Spearman de  $r=0,83$ , siendo estadísticamente significativo ( $P=0,005$ ).

Esto representa una correlación positiva durante el período en estudio, evidenciando para la región un



**Figura 2.** Tendencia de importación de plaguicidas (miles de kg), tasas de incidencia y mortalidad por intoxicaciones en países del Istmo Centroamericano, 1992-2000.

aumento progresivo en la importación de plaguicidas y a su vez un incremento en la incidencia de las intoxicaciones por esta causa.

### Intoxicaciones agudas por plaguicidas según variables de interés

En menores de quince años, se presentaron 816 casos de intoxicación aguda y 27 muertes en la región en el año 2000, lo que representa una tasa de incidencia de 5,66 y 0,19 por 100 000 menores de esa edad, respectivamente, siendo un riesgo menor al registrado para la totalidad de la población. El subregistro que afecta todo el análisis de la situación merece especial atención en este grupo, especialmente porque es grupo altamente vulnerable a la exposición a este tipo de sustancias de manera inadecuada.

La distribución por sexo de las intoxicaciones agudas por plaguicidas se presentan en mayor proporción en los hombres, aproximadamente en 70% de los casos, con un comportamiento muy similar en todos los países.

Al considerar las causas de las intoxicaciones agudas presentadas, se parte de la siguiente clasificación del caso, según la circunstancia de la exposición:

- **Ocupacional:** Exposición a plaguicidas que se presenta durante el trabajo o de procesos derivados de este, tales como la fabricación, formulación, almacenamiento, transporte, aplicación y disposición final.
- **Accidental:** Exposición a plaguicidas que se presenta de manera no intencional e inesperada.
- **Intencional:** Exposición a plaguicidas que se produce con el propósito de causar daño. Incluye los intentos de suicidio, los suicidios y los homicidios.

En el presente análisis para el año de 1999, el 42,2% de los casos de intoxicación fueron de origen ocupacional seguidos por las de origen intencional (29%) y accidental (23,1%). Para el año 2000, los ocupacionales fueron (36,0%), seguidos por los intencionales y los accidentales. En intoxicaciones ocupacionales por países, Guatemala llega al 60%, Belice a 50%, Panamá 41%, Costa Rica 37%, Nicaragua 33% y El Salvador 27%. Para ambos años, la mayor proporción de intoxicaciones agudas fue de origen laboral (39,1%) seguida por las intencionales y accidentales.

Si se consideran los casos de intoxicación aguda de origen laboral que se registraron en los países en relación con la población económicamente activa dedicada a la agricultura, asumiendo esta población como la que está más expuesta, se determina para 1999

una incidencia de 48 por 100 000 trabajadores agrícolas en el 2000 de 37 por cada 100 000 trabajadores agrícolas. Esto representa casi el doble del riesgo registrado para la población general. Nicaragua, Panamá y Guatemala, muestran un riesgo alto.

### Subregistro

Si bien es cierto que durante los últimos dos años la notificación de intoxicaciones agudas por plaguicidas ha mejorado, el número de casos reportados aún sigue siendo bajo. Existen diferentes razones por las cuales una intoxicación no es registrada. Entre las más importantes son:

- El intoxicado no busca atención en puestos de salud (por desconocimiento de signo y sintomatología, temor a perder el empleo, dificultad de acceso a los servicios de salud, patrones culturales que no favorecen la búsqueda de atención, casos leves que no consideran necesaria la atención).
- El intoxicado busca atención médica pero no se hace el diagnóstico o la notificación correctamente.
- El intoxicado busca atención médica, es diagnosticado y notificado, pero por motivos de índole administrativa, la notificación no queda registrada en el sistema de vigilancia epidemiológica.

Ante esta situación, el proyecto PLAGSALUD, realizó durante el año 2001, en cada uno de los siete países, un estudio de subregistro. Seis países lo hicieron mediante encuestas comunitarias y uno a través de una investigación de subregistro administrativa (análisis del sistema de información que apoya la vigilancia epidemiológica del sistema de salud)

Los resultados generales de los subregistros fueron los siguientes:

Belice	99%
Costa Rica:	Cantón #1: 97,8%
	Cantón #2: 96,7%
	Cantón #3: 91,2%
	Cantón #4: 82,2%
El Salvador	97% (nivel municipal)
	77% (nivel departamental)
	80% (nivel nacional)
Guatemala	97,5%
	(nivel municipal y departamental)
Nicaragua	98,0%
Honduras	El subregistro administrativo fue menor del 20%
Panamá	93,6%

Lo anterior implica que en general, por cada caso de intoxicación aguda por plaguicidas registrado, existen aproximadamente entre 80 y 99 casos sin reportar. Se exceptúa el nivel de subregistro encontrado en Honduras, el cual solo incluyó el subregistro administrativo.

### Comparación con otros países y regiones

Si se compara el comportamiento epidemiológico de la incidencia de las intoxicaciones agudas por plaguicidas en el Estado de California con el comportamiento durante 1998 del Istmo Centroamericano y Chile, se puede observar como el riesgo de intoxicaciones por esta causa es el doble en Chile que en el Estado de California. Pero esta probabilidad es casi siete veces superior en el Istmo Centroamericano, lo que ubica a esta región en un altísimo riesgo en esta problemática, la cual incluso es de una magnitud mayor dado el subregistro existente. Es muy importante

destacar que en esta situación epidemiológica, los riesgos en el uso de plaguicidas se incrementan en Centroamérica en comparación a California por: 1. La falta de protección de los trabajadores, quienes no utilizan la ropa y el equipo adecuado recomendado para su protección. 2. El no cumplimiento de normas de reingreso a las plantaciones, después de aplicado un producto, lo cual aumenta los problemas de intoxicaciones y 3. Las deficiencias alimenticias de los trabajadores, factor que agrava los problemas de intoxicación. El número de muertes es significativamente más alta en el Istmo Centroamericano (478) con respecto a Chile (37) y mucho más con el Estado de California (2) (Cuadro 1). En el caso de algunos plaguicidas como metomil, deben tomarse todas las normas de higiene y seguridad por parte de empleadores y trabajadores agrícolas con el fin de reducir los efectos nocivos del plaguicida.

**Cuadro 1.** Plaguicidas importados, intoxicaciones ocurridas, frecuencia de las intoxicaciones y letalidad en Chile, países del Istmo Centroamericano y el estado de California, EEUU, 1998.

	California	Chile	Istmo Centroamericano
Habitantes (millones)	33,8	14,8	34,6
Kilogramos de plaguicidas (millones)	96,3	17,9	36,2
Intoxicaciones (número)	998	844	5592
Muertes (número)	2	37	478
<b>Riesgo de intoxicaciones</b>	2,9	5,7	16,16
Tasa de incidencia (x 100 000)	0,2	4,4	8,54
Letalidad (porcentaje)	33,8	14,8	34,6

### Literatura consultada

- Aguirre, E. 2001. Informe de intoxicaciones por plaguicidas, 1999-2000: Costa Rica. San José, Costa Rica. p. 1-16.
- ASDI/OPS, Reunión del Sector Salud de Centroamérica y República Dominicana (XVI, 2000). (RESSCAD). Informe Final de Honduras.
- CEPAL. Población económicamente activa 1980-2000. Santiago de Chile, Boletín No. 64. Consultado en Octubre de 2001. <http://www.cepal.cl/publicaciones/poblacion/9/LCG2059/BD64.html>
- Corriols, M. 2001. Indicadores agro sanitarios de la exposición laboral agrícola a plaguicidas en Nicaragua. Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica). 60:88-92.
- Ministerio de Salud de Chile. 2000. Situación epidemiológica de las intoxicaciones agudas por plaguicidas, Chile: 1998. Departamento de Epidemiología, Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica de Plaguicidas. Santiago de Chile. p. 7-20.
- Henao, S. 2000. Utilización de plaguicidas sintéticos, un problema por resolver en el nuevo milenio. Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica) 55:70-72.
- Kegley, S. 2001. California Pesticide Use Update. Global Pesticide Campaigner. San Francisco CA. 11(2): 4.
- OPS/OMS. PLAGSALUD. 2001. Special Section MASICA Review. Pesticide free. Central America attempts to revert indiscriminate use. San José, Costa Rica. p. 1-48.
- OPS/OMS. PLAGSALUD. 2002. Plaguicidas y salud en el Istmo Centroamericano. Washington, (En prensa).
- OPS/SHA. 2001. Indicadores Básicos 2000. Washington.
- PNUD/ Unión Europea. 2001. Estado de la Nación, Séptimo informe, San José, Costa Rica,
- PNUD/ Unión Europea. 2000. Estado de la Región en Desarrollo Humano y Sostenible, San José, Costa Rica.
- Universidad de Costa Rica. 2001. Datos demográficos. Centro Centroamericano de Población. San José, Costa Rica.

## Producción, uso y control de calidad de hongos entomopatógenos en Nicaragua

Arnulfo Monzón<sup>1</sup>

### Introducción

El uso excesivo de plaguicidas provoca efectos negativos en el suelo, el agua y el ambiente. Además ha contribuido a aumentar los problemas de plagas debido al desarrollo de resistencia y a la destrucción de los enemigos naturales. Muchos plaguicidas también afectan la salud de las personas.

Para reducir estos efectos se procura la implementación de sistemas agrícolas sostenibles, basados en el conocimiento de las relaciones entre los cultivos, el ambiente y los organismos presentes en el campo. Una de las alternativas es el uso de organismos entomopatógenos, los cuales tienen la capacidad de reducir las poblaciones de plagas. Existen varios tipos de organismos entomopatógenos, tales como virus, hongos, bacterias y nematodos. Actualmente, se han identificado y estudiado diversas especies de hongos que afectan plagas de cultivos de importancia económica; muchos de ellos son utilizados exitosamente en programas de control biológico. Algunos de éstos entomopatógenos son reproducidos masivamente y se venden comercialmente.

En Nicaragua, productores de café, repollo, plátano y chile dulce han logrado reducir el daño causado por las plagas mediante el uso de estos agentes microbianos sin afectar la salud humana ni el ambiente. Además sus cosechas están libres de plaguicidas sintéticos.

En Nicaragua se ha desarrollado una metodología para la producción semi-industrial de *B. bassiana* y *M. anisopliae*. También se formulan productos con base en estos hongos para el control de plagas en diversos cultivos como café, repollo, plátano y algodón. Además se ha desarrollado una tecnología de multiplicación artesanal de hongos entomopatógenos.

En muchos casos, el uso de estos hongos se combina con otras medidas de control. Por ejemplo, en el cultivo de café, la aplicación de entomopatógenos para el control de la broca del café (*Hypothenemus hampei*) se complementa con prácticas culturales. En el caso de repollo, además del hongo entomopatógeno usados para el control de la palomilla del repollo (*Plutella xylostella*) se aplican productos botánicos como nim y microbianos como Dipel.

### Hongos entomopatógenos

Estos hongos se encuentran en la naturaleza, en rastros de cultivos, estiércol, en el suelo, las plantas, etc. Logran un buen desarrollo en lugares frescos, húmedos y con poco sol.

Los hongos entomopatógenos constituyen el grupo de mayor importancia en el control biológico de insectos plagas. Prácticamente, todos los insectos son susceptibles a algunas de las enfermedades causadas por estos hongos. Se conocen aproximadamente 100 géneros y 700 especies de hongos entomopatógenos. Entre los más importantes están: *Metarhizium*, *Beauveria*, *Aschersonia*, *Entomophthora*, *Zoopthora*, *Erynia*, *Eryniopsis*, *Akanthomyces*, *Fusarium*, *Hirsutella*, *Hymenostilbe*, *Paecilomyces* y *Verticillium*.

### Acción de los hongos entomopatógenos sobre la plaga

En general, las fases que desarrollan los hongos sobre sus hospedantes son: germinación, formación de apresorios, formación de estructuras de penetración, colonización y reproducción. El inóculo o unidad infectiva está constituido por las estructuras de reproducción sexual y asexual, es decir las esporas y conidias.

<sup>1</sup> Universidad nacional Agraria de Nicaragua. Managua, Nicaragua. esave@ibw.com.ni

El proceso se inicia cuando la espora o conidia se adhiere a la cutícula del insecto; luego se produce un tubo germinativo y un apresorio, con éste se fija en la cutícula y con el tubo germinativo o haustorio (hifa de penetración) se da la penetración al interior del cuerpo del insecto. En la penetración participa un mecanismo físico y uno químico, el primero consiste en la presión ejercida por la estructura de penetración, la cual rompe las áreas esclerosadas y membranosas de la cutícula. El mecanismo químico consiste en la acción enzimática, principalmente proteasas, lipasas y quitinasas, las cuales causan descomposición del tejido en la zona de penetración, lo que facilita la penetración física.

Después de la penetración, la hifa se ensancha y ramifica dentro del tejido del insecto, colonizando completamente la cavidad del cuerpo del insecto. A partir de la colonización se forman pequeñas colonias y estructuras del hongo, lo que corresponde a la fase final de la enfermedad del insecto.

Otra forma mediante la cual el hongo puede causar la muerte del insecto, es mediante la producción de toxinas. Los hongos entomopatógenos tienen la capacidad de sintetizar toxinas que son utilizadas en el ciclo de las relaciones patógeno- hospedante. Entre estas toxinas se han encontrado dextruxinas, demetildextruxina y protodextruxina, las cuales son sustancias de baja toxicidad, pero de mucha actividad tóxica sobre insectos, ácaros y nematodos.

### Hongos entomopatógenos más utilizados

***Beauveria bassiana*.** Este hongo pertenece a la clase Deuteromycetes, orden Moniliales, Familia Moniliaceae (Barnet & Hunter 1972). Se ha informado atacando a más de 200 especies de insectos de diferentes órdenes, incluyendo plagas de gran importancia agrícola. Entre las plagas más importantes controladas por este hongo están la broca del café, la palomilla del repollo y el picudo del plátano (*Cosmopolites sordidus*).

Los insectos muertos por este hongo presentan una cubierta blanca algodonosa sobre el cuerpo, la cual está formada por el micelio y esporas del hongo. ***Metarhizium anisopliae*.** Al igual que *B. bassiana*, este hongo pertenece a la clase Deuteromycetes, orden Moniliales, Familia Moniliaceae (Barnet & Hunter 1972).

Este patógeno ataca naturalmente más de 300 especies de insectos de diversos órdenes. Algunas plagas que son afectadas por este hongo son la salivita de la caña de azúcar (*Aeneolamia varia*), y chinches plagas de diversos cultivos. Los insectos muertos por este

hongo son cubiertos completamente por micelio, el cual inicialmente es de color blanco pero se torna verde cuando el hongo esporula.

***Verticillium lecanii*.** Este hongo pertenece al mismo grupo que los anteriores, se encuentra frecuentemente atacando áfidos y escamas en zonas tropicales y subtropicales. Además ha sido encontrado sobre insectos del orden Coleoptera, Diptera, Hymenoptera y sobre ácaros. Los insectos infectados por este hongo tienen una apariencia blanquecina.

***Nomureae rileyi*.** Este hongo ataca más de 32 especies de insectos de los órdenes Coleoptera, Lepidoptera y Orthoptera. Con mayor frecuencia se encuentra atacando lepidópteros, por ejemplo *Spodoptera* en maíz. El cuerpo de los insectos muertos por este hongo presentan un micelio blanco, que puede tornarse verde con la esporulación.

### Plagas más importantes controladas mediante hongos entomopatógenos

Debido a las características de la especie y/o de la cepa, ámbito de hospedantes, patogenicidad, virulencia y condiciones ambientales, existen cepas específicas utilizadas para el control de diferentes plagas. Algunas de las plagas más importantes en Nicaragua controladas con hongos entomopatógenos se presentan en el Cuadro 1.

Aunque muchos organismos pueden ser eficaces para el control de plagas, no todos pueden ser utilizados como agentes de control microbiano. Para que un microorganismo patógeno de insectos pueda ser utili-

**Cuadro 1.** Plagas de importancia económica controladas mediante hongos entomopatógenos en Nicaragua.

Cultivo	Plaga	Hongo entomopatógeno
Café	Broca	<i>B. bassiana</i>
	Minador	<i>M. anisopliae</i>
Repollo	Plutella	<i>B. bassiana</i>
Plátano, algodón	Picudos	<i>B. bassiana</i> *
Chile, tomate		<i>M. anisopliae</i>
Tempate	Chinches	<i>B. bassiana</i>
Arroz		<i>M. anisopliae</i>
Ajonjolí		
Caña de azúcar, pastos	Salivazo	<i>M. anisopliae</i>
Papa	Gallina ciega	<i>B. bassiana</i>
Granos Básicos		<i>M. anisopliae</i>
Caña de Azúcar		
Diversos	Áfidos y escamas	<i>V. lecanii</i>



zado como agente de control biológico debe tener algunas características como: seguro para los seres humanos, no patogénico a los cultivos, genéticamente estable, eficaz a bajas concentraciones, eficaz para el control de un amplio ámbito de plagas, compatible con prácticas de cultivo, incluyendo el uso de otros productos, fácil de usar y almacenar, capaz de sobrevivir en condiciones adversas y la relación beneficio-costo de su uso positiva.

El proceso de desarrollo de un agente de control microbiano conlleva varias etapas desde el aislamiento hasta su uso, las cuales deben tener una secuencia determinada. De acuerdo a Campbell (1989), la secuencia general para el aislamiento y estudio de agentes de control biológico es la siguiente: aislamiento e identificación del organismo, pruebas de eficacia y estabilidad, pruebas de seguridad ambiental, preservación de cepas, posibilidades de formulación, pruebas sobre estabilidad de almacenamiento, evaluación del costo del producto, investigación de mercado, comercialización y distribución del agente de control biológico.

Debido a que los hongos entomopatógenos son organismos vivos, para lograr un mejor uso como agentes de control de plagas, es muy importante entender aspectos como: a. los factores que propician el desarrollo de una epizootia para predecir y manejarla en funciones del manejo de las plagas, b. la dinámica de la interacción de las plagas, los patógenos y el ambiente. También se debe conocer la patogenicidad de la cepa contra la plaga a controlar, así como la cantidad de esporas necesarias para provocar una epizootia en el campo después de la aplicación del hongo. Por esta razón, al realizar las aplicaciones del hongo se debe estar seguro que se está utilizando la cantidad necesaria de conidias. La eficacia del control de plagas mediante entomopatógenos depende del contacto entre la plaga y el hongo, ya que es una medida de supresión directa, por lo cual la calidad del producto aplicado es clave.

### **Producción de hongos entomopatógenos**

La producción de hongos entomopatógenos se basa en la multiplicación masiva del hongo y sus estructuras reproductivas en un sustrato natural. Hasta la fecha se han evaluado diferentes tipos de sustratos naturales, principalmente arroz, trigo, maíz, frijol y soya, pero lo más utilizados son arroz y trigo.

Existen tres métodos de producción de hongos entomopatógenos: artesanal, semi-industrial e industrial. En Nicaragua se realiza la producción semi-in-

dustrial y multiplicación artesanal. A continuación se describen el proceso seguido en este país para cada uno de estos tipos de producción.

**Multiplicación artesanal.** Se inicia con un cultivo puro al que se le denomina "hongo patrón" o "semilla". Este material es suministrado por el laboratorio a los talleres artesanales. Posteriormente, en los talleres se deposita arroz en bolsas de polipropileno y se pone a hervir por una hora durante tres días consecutivos. El arroz en bolsas es inoculado con el hongo patrón y se deja en condiciones ambientales hasta que el hongo logra colonizar el arroz. Cuando la bolsa de arroz es colonizada completamente, se lava con agua. El caldo o mezcla obtenido del lavado del arroz, se aplica para el control de las plagas.

**Producción semi-industrial.** Este tipo de proceso se realiza en varias fases, que van desde la obtención del cultivo puro hasta la formulación del producto. En general el proceso está organizado en dos etapas: la etapa de cepario y la de producción. El tiempo empleado en desarrollar el proceso de producción es de aproximadamente un mes. La etapa de cepario comprende el aislamiento de la cepa y la obtención del cultivo puro. Además se considera el mantenimiento, reactivación y preservación de las cepas. La etapa de producción comprende la preparación de los sustratos, inoculación e incubación de matrices y bolsas, el proceso de secado (bandeja), la cosecha del hongo y la preparación de las formulaciones. A continuación se describen algunas de estas etapas.

El **aislamiento** consiste en la obtención del hongo a partir de la fuente de inóculo, la cual puede ser insectos, plantas; o medios artificiales como PDA (cajas de Petri, tubos de ensayo, entre otros.) o de preservación en seco como la sílica gel. A partir del aislamiento del hongo se procede a la inoculación de un medio de cultivo, para la obtención de un cultivo puro. Debido a que se trata del paso inicial del proceso de producción un error afecta todo el proceso. Por tal razón debemos estar seguros que el hongo aislado corresponde al hongo que nos interesa, además debe estar libre de contaminantes y tener buen vigor para su crecimiento.

El aislamiento de hongos entomopatógenos puede hacerse de dos maneras: por **dilución seriada** y **directo**. El aislamiento por dilución seriada es el método más utilizado, consiste en colocar un insecto esporulado en un recipiente que contiene 10 ml de agua destilada estéril con 0,1 % de Tween 80. La suspensión resultante se debe agitar bien por 1 min, pa-

ra que las conidias se desprendan del cuerpo del insecto. Como resultado se obtiene una suspensión concentrada del inóculo más otras partículas; esta suspensión es la solución madre. A partir de esta solución, se preparan diluciones en serie ( $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$ ). La primera dilución ( $10^{-1}$ ) se obtiene transfiriendo con una pipeta estéril 1 ml de la solución madre a un tubo que contiene 9 ml de agua destilada estéril con 0,01 % de Tween 80, éste se agita fuertemente durante 1 min. Luego se coloca 1 ml de esta suspensión en otro tubo de ensayo con 9 ml de agua destilada estéril más 0,01 % de Tween 80, obteniendo así la segunda dilución. Este operación se repite varias veces hasta lograr obtener una serie de diluciones ( $10^{-1}$  hasta  $10^{-6}$ ). Para realizar la siembra y obtener los cultivos del hongo se deben usar las últimas diluciones ( $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$ ).

El aislamiento directo consiste en la obtención directa del hongo a partir del cuerpo del insecto, pasándolo luego a un medio nutritivo. Esta técnica es desventajosa debido a que las muestras que se toman del insecto pueden estar sucias y contaminar el aislamiento. Por esta razón se recomienda hacer una desinfección externa del insecto con hipoclorito de sodio (3-5%), enjuagándose con agua destilada estéril. Este tipo de aislamiento puede ser de dos formas: a. raspando partículas del hongo en un insecto desinfectado, utilizando un asa bacteriológica y pasándola en un medio nutritivo o b. con una pinza seca y estéril se toma el insecto esporulado desinfectado y se agita con movimientos verticales y horizontales, sobre la superficie del medio de cultivo.

Para obtener los **cultivos puros** se hace un reaislamiento del hongo a partir del cultivo o fuente de inóculo original. El inóculo se siembra o deposita en cajas de Petri que contienen el medio de cultivo PDA. Este cultivo se conoce como puro porque únicamente está el hongo que se desea producir, sin contaminantes. El cultivo puro es la fuente de inóculo para iniciar el proceso de producción, ya que es utilizado para la inoculación de matrices.

La **incubación del cultivo** se realiza después de la inoculación, para lo cual las cajas de Petri se colocan en los lugares de crecimiento, a una temperatura entre 24 y 28 °C, durante 4 - 6 días. En ese período se observa el crecimiento del micelio. Se deben realizar observaciones cada 48 horas para eliminar los contaminantes.

Después de obtener el cultivo puro se inicia el proceso de producción propiamente dicho, para lo cual se utiliza el arroz como sustrato de producción.

Para la **incubación de matrices y bolsas** se utiliza arroz entero precocido como sustrato natural, el cual es humedecido y esterilizado previamente para lograr un buen crecimiento del hongo. Para la preparación del arroz, se coloca un recipiente con agua en la estufa. Cuando el agua comienza a hervir se vierte el arroz y se mantiene durante 5 min (el arroz deberá tener una consistencia suave). Posteriormente, el arroz se pone a escurrir en una zaranda hasta que esté totalmente frío y seco, con el objetivo de procurar que las matrices no adquieran humedad. Para la preparación de la matriz se usan recipientes de vidrio de 500 ml. Se utilizan 100 g de arroz en cada recipiente. Las matrices son esterilizadas en el autoclave, durante 4-5 min, a 121 °C y 1,2 bares de presión. Después éstas se agitan para evitar aglomeraciones de los gránulos de arroz, para lograr un crecimiento homogéneo del hongo sobre las matrices una vez inoculadas.

El objetivo de la matriz es reproducir el inóculo para la inoculación de las bolsas. Para realizar la **inoculación de las matrices** se prepara una suspensión de inóculo a partir del cultivo puro (PDA), este inóculo debe ser de buena calidad, o sea mostrar un buen crecimiento y estar libre de contaminantes. El inóculo de las cajas es raspado con cuidado hasta obtener un polvo de conidias del hongo. Estas se colocan en 60 ml de agua destilada estéril, para formar una suspensión de conidias, que deberá presentar aproximadamente una concentración de  $1 \times 10^8$  conidias.

La inoculación de las matrices se realiza con una jeringa usada para uso veterinario, la cual debe ser esterilizada a 121 °C y 1,2 bar de presión. Se inoculan 15 cc de la suspensión del hongo por cada matriz que contiene 100 g de arroz precocido. La cantidad de inóculo obtenido a partir de una caja de Petri, es suficiente para inocular cuatro matrices.

Una vez preparadas y debidamente inoculadas, se **incuban las matrices** en un cuarto oscuro a 24 - 28 °C, por aproximadamente 8 días. Durante este período el hongo se desarrolla y producen estructuras reproductivas.

Las bolsas constituyen el medio de producción definitivo, ya que el hongo que se obtiene al final del proceso es el que crece durante esta etapa. La cantidad de arroz utilizada en la bolsa depende del tamaño de la bolsa, generalmente se usan 200 g por bolsa. Las **bolsas son inoculadas** con una suspensión de esporas obtenidas a partir de la matriz, para lo cual se deben preparar tanto las bolsas como el inóculo.

Para la preparación de las bolsas se depositan 200 g de arroz entero en bolsas plásticas de polipropileno

y se les agregan 100 ml agua (destilada o potable), éstas se sellan debidamente para ser esterilizadas en el autoclave a 1,2 bar de presión y 121°C, durante 4 a 5 min. Después de esterilizar las bolsas, se debe agitar con el objetivo de evitar aglomeraciones, para que el inóculo se distribuya uniformemente en el arroz y se obtenga un crecimiento homogéneo. Para la preparación del inóculo, a cada una de las matrices (colonizadas por el hongo) se les agregan 750 ml de agua destilada estéril al 0,1% de extravón y se agita el contenido, hasta obtener una suspensión de conidias, aproximadamente de 600 ml de suspensión. Cada una de las bolsas de 200 g de arroz es inoculada mediante 20 cc de la suspensión, para lo cual se utiliza una jeringa veterinaria previamente esterilizada. Con la suspensión de inóculo obtenida de cada matriz se inoculan aproximadamente 30 bolsas de 200 g.

Las bolsas inoculadas se colocan en los cuartos de crecimiento donde permanecen entre 4 y 6 días, durante este período se revisan las bolsas diariamente, eliminando aquellas que presentan crecimiento lento y no uniforme, débil y las que están contaminadas.

El objetivo del **proceso de secado** es la eliminación de la humedad del hongo y su reproducción. El arroz contenido en las bolsas es depositado en bandejas plásticas que presentan orificios en el fondo. Las bandejas se dejan a temperatura ambiente para que se sequen. Al inicio las bandejas se mantienen selladas y posteriormente se abren. El hongo está listo para la cosecha cuando el arroz tiene una humedad de 4 y 6%.

**La incubación del hongo presente en las bandeja** se inicia con la limpieza de estos recipientes, para lo cual se humedecen con alcohol y se flamean con un mechero. Se seleccionan las bolsas que muestran un contenido de buena calidad, el cual se deposita en las bandejas, colocando el contenido de 10 bolsas por bandeja.

El período de incubación es de aproximadamente 15 días y se desarrolla en 2 fases: a. **tapado de bandeja**, después de depositado el arroz en las bandejas éstas se sellan con cinta de papel pegante Maskin-Tape® con el objetivo de formar una cámara de oscuridad con alta humedad relativa para que el hongo continúe su proceso de crecimiento y esporulación. Esta fase dura aproximadamente 6 días. b. **Destapado de bandejas**: una vez que el hongo cubre completamente los espacios del sustrato, se abren las bandejas para lograr eliminar rápidamente la humedad y acelerar el proceso de secado, el cual se realiza al aire libre y tarda de 12 a 15 días aproximadamente. El hongo está listo para la cosecha cuando el arroz se frota entre los

dedos y las conidias se desprenden de en forma de polvo.

La **cosecha del hongo** como parte del proceso de producción semi-industrial, consiste en separar del sustrato (arroz) de las estructuras del hongo (conidias y/o esporas) para su posterior formulación. El polvo que se obtiene contiene esporas y/o conidias y micelio más las partículas del sustrato de arroz. Aunque existen equipos mecánicos para la cosecha de estos hongos, en Nicaragua aún no han sido evaluados, por lo que actualmente este proceso se realiza de forma manual, utilizando tamices y frotación. Este método de cosecha solo es práctico para la producción a pequeña escala. El contenido de las bandejas (arroz colonizado), se deposita en un tamiz de 1 mm, luego por agitación y frotación, se separa el polvo de los granos de arroz. El material retenido por el tamiz se descarta y el polvo recolectado se deposita en recipientes para evaluar el rendimiento.

En condiciones ambientales, las conidias cosechadas pueden ser afectadas por la luz, humedad y altas temperaturas; por lo que una vez cosechado el hongo se debe mantener en refrigeración preservar su viabilidad por más tiempo. Durante todo el proceso de producción, el control de calidad constituye un factor clave porque permite garantizar el proceso de producción (rendimiento), además que el producto obtenido es de calidad y se evita la pérdida de materiales y reactivos.

### Evaluación de rendimiento

Al finalizar el proceso de producción se procede a evaluar el rendimiento, el cual se refiere a la cantidad de gramos de polvo cosechado y al número de conidias/g de polvo cosechado. A partir de este rendimiento se procede a estimar el rendimiento neto, para lo cual es necesario conocer la viabilidad del hongo cosechado.

El proceso de evaluación del rendimiento se desarrolla tiene los siguientes pasos: a. **determinación del peso del polvo cosechado** para lo cual se pesa la cantidad de polvo cosechado por bandeja o por kilo de arroz. Este rendimiento depende de la especie de hongo, de la cepa y del método de producción. En el proceso de semi-industrial este rendimiento puede variar entre 200 y 300 g de polvo/kg de arroz, aproximadamente. Por ejemplo, *B. bassiana* cepa Bb-64 produce 270 - 280 g de polvo/kg arroz; la cepa Bb-114 aproximadamente 220 g/kg arroz y la cepa NB aproximadamente 310 g/kg arroz. b. **conteo de conidias/g**

**de polvo cosechado**, para lo cual se utiliza una cámara de conteo (Neubauer). Este rendimiento está determinado por la cepa y por el estado de la misma y varía desde  $5 \times 10^3$  hasta  $2,5 \times 10^{11}$  conidias/g de polvo. Generalmente, las cepas de *B. bassiana* tiene mejor rendimiento que las de *M. anisopliae* y entre las cepas de una misma especie también existen diferencias de rendimiento. Para el conteo de conidias se preparan diluciones en serie ( $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$ ) del hongo hasta obtener una que permita realizar el conteo.

La primera dilución se obtiene colocando 1 g de polvo cosechado en un tubo de ensayo que contiene 9 ml de agua destilada estéril con Tween 80 al 0,1%, la siguiente dilución se obtiene transfiriendo con una pipeta estéril 1 ml de la primera dilución a un tubo que contiene 9 ml de agua destilada estéril con 0,01 % de Tween 80, este se agita fuertemente durante 1 min hasta lograr obtener una tercera suspensión de  $10^{-3}$ . De esta manera se va procediendo hasta encontrar la dilución adecuada. Cuando se obtiene la dilución para realizar el conteo, usando una pipeta Pasteur se toma una alícuota de la suspensión y se llena la cámara de conteo. Posteriormente, usando un microscopio se hace el conteo de conidias, este paso se repite varias veces hasta obtener un rendimiento promedio.

La cámara de conteo consiste en una lámina de cristal un poco más gruesa que la de un portaobjeto, la cual presenta una ranura en forma de H y contiene dos cámaras entre éstas. Para facilitar el conteo, el fondo de la cámara tiene un rayado "Neubauer" y presenta nueve cuadros principales (C.P) de 1 mm por lado, de los cuales se puede contar el contenido de las cinco, los cuatro de las esquinas y el central. Para propágulos grandes se puede utilizar los cuadrados principales, pero para los más pequeños como los de *B. bassiana* y *M. anisopliae* se usan los cuadrados secundarios del cuadro principal (C.P) central.

**Evaluación de la viabilidad del hongo** (porcentaje de germinación): Su objetivo es obtener la concentración del hongo, a partir de la cual se preparan las dosis a utilizar en el campo. Para conocer la viabilidad del hongo se esterilizan las cajas de Petri, con papel filtro y portaobjetos todos en conjunto, en el autoclave a 1,2 bar de presión y  $121^\circ\text{C}$ . Posteriormente se prepara un medio de cultivo y se esteriliza entre 15-17 min, posteriormente con una pipeta Pasteur se depositan dos alícuotas del medio de cultivo en un portaobjeto y con otra pipeta, se depositan sobre éstas, alícuotas de la suspensión del hongo. Después este mon-

taje es colocado en una cámara húmeda, la cual consiste en una caja de Petri con papel filtro humedecido y se mantiene a temperatura  $24 - 26^\circ\text{C}$ .

Las mediciones se realizan entre las 20 y 24 horas después de realizado el montaje. Se realizan las observaciones al microscopio utilizando el objetivo de 25 o 40X. Las variables que se evalúan son: número de conidias germinadas, número de conidias no germinadas y el total de conidias. Como mínimo deben haber 200 conidias en cada montaje.

Una vez que se tiene toda la información de rendimiento (número de conidias/g y viabilidad), se determina la cantidad de hongo cosechado (polvo) necesarios para alcanzar la dosis de campo que es equivalente a  $10^{12}$  conidias/ha. Toda esta información sobre el rendimiento es fundamental para la formulación del hongo.

### **Elaboración de formulaciones**

La formulación del hongo es el proceso mediante el cual el ingrediente activo, es decir las conidias del hongo, se mezclan con materiales inertes, tales como vehículos, solventes, emulsificantes y otros aditivos. Estos materiales inertes ayudan a que el hongo trabaje mejor. Todo esto se hace con el fin de lograr una buena homogeneidad y distribución de las partículas del hongo, para poder ser manipuladas y aplicadas adecuadamente.

Para ser formulado, la viabilidad del hongo no debe ser menor de 95% y el contenido de humedad debe estar entre 4 y 6 %. A temperatura ambiente las conidias mantienen su viabilidad por más tiempo cuando el hongo ha sido formulado que cuando se almacena el polvo sin formular.

Hay dos tipos de formulaciones: a. **seca o polvo mo- jable** en la cual se utiliza un vehículo, el cual puede ser de origen mineral o vegetal, que ayuda a absorber la humedad de las conidias y mantiene la viabilidad por un tiempo considerable. b. **líquida o emulsificable** que utiliza un líquido solvente y un emulsificante. El líquido utilizado tiene la función de mantener suspendidas las conidias en el medio para lograr una mezcla homogénea que garantice una buena aplicación. Además este líquido debe evitar la absorción de agua por las conidias y mantener su viabilidad. Ambas formulaciones son de fácil manejo y su uso depende de la disponibilidad.

Los materiales utilizados en la formulación deben presentar algunas características tales como: a. No deben tener actividad biológica (efecto sobre animales o plantas). b. Debe ser inocuo al ambiente. c. Debe pre-

sentar características físicas adecuadas para mezclarse con las conidias. d. Debe facilitar la aplicación del producto. e. No debe afectar la actividad del hongo y f. Debe ser económicamente rentable.

La viabilidad de los conidias se mantiene mayor tiempo en la formulación líquida que en la sólida. Sin embargo, cuando en la formulación líquida se utilizan aceites minerales o derivados de petróleo, ésta no es aceptada en producción orgánica debido al tipo de aceite que contiene.

Estudios realizados indican que las conidias pierden su viabilidad a partir de los 10 – 15 días cuando se mantienen a temperatura ambiente, en cambio la viabilidad se mantiene por más de 60 días en las mismas condiciones, cuando las conidias son formuladas.

El producto formulado debe ser empacado o envasado en recipientes que no permitan la entrada de luz porque la radiación ultravioleta afecta la germinación de las conidias y la actividad del hongo. Además el recipiente debe estar cerrado herméticamente para evitar la absorción y penetración de agua.

Por tratarse de productos a base de organismos vivos la calidad (viabilidad) se pierde cuando se mantienen en condiciones desfavorables durante mucho tiempo. Uno de los factores que más afecta a los hongos son las altas temperaturas, por esta razón si se van a almacenar por mucho tiempo se recomienda mantenerlos en refrigeración. Si se almacenan por períodos cortos se pueden mantener en condiciones ambientales pero en lugares frescos, evitando la radiación directa del sol.

La aplicación de los hongos entomopatógenos, formulados en polvo o en aceite, es semejante a la de cualquier otro producto. Por ejemplo, la formulación en polvo es vertida en un el recipiente con agua y se agita bien por varios minutos para obtener una mezcla uniforme. Finalmente, la mezcla se deposita en la bomba y se asperja sobre el cultivo. El hongo aplicado se establece en el campo, ya sea en el suelo, las plantas o sobre la plaga.

### Control de calidad

En el proceso de producción de hongos entomopatógenos el control de calidad constituye un factor clave. Este consiste en la evaluación rigurosa de la calidad en cada uno de los pasos del proceso de producción. Su objetivo evitar los problemas de contaminación y garantizar la calidad del hongo producido.

Existen una variedad de microorganismos contaminantes que pueden afectar el proceso, algunos de los cuales son patógenos al hombre. Entre los conta-

minantes más comunes están los hongos y las bacterias; por las características de crecimiento algunos de ellos son más difíciles de eliminar que otros.

La diversidad de contaminantes es mayor en la etapa de cepario que en la etapa de producción (matrices, bolsas y bandejas). Se pueden presentar problemas de contaminación en matrices y bolsas. Sin embargo, en bandejas no hay posibilidad de presencia de contaminantes porque el hongo coloniza completamente el sustrato de arroz y utiliza todos sus nutrimentos.

**Control de calidad de la cepa.** El objetivo del control de calidad en esta etapa del proceso de producción es detectar la presencia de contaminantes en los medios de cultivo, para su eliminación y obtención de cultivos puros, con buenas características de crecimiento y de eficacia para el control de la plaga. Debido a que en la etapa de cepario se trabaja con medios de cultivo de alto valor nutritivo, existen mayores posibilidades de crecimiento de microorganismos no deseados, principalmente hongos y bacterias presentes en el ambiente o en otras fuentes de contaminación.

El control de calidad en la etapa de cepario debe realizarse con mucho rigor, debido a que es el inicio del proceso de producción, y la selección incorrecta de la cepa y del cultivo puro así como la presencia de contaminantes afectará los siguientes pasos del proceso, y por consiguiente la calidad y el rendimiento del producto obtenido.

**Contaminantes más comunes.** Se considera contaminante a todo microorganismo no deseado que se desarrolla en el medio en el cual se cultiva el hongo entomopatógeno. Los contaminantes pueden estar presentes en el ambiente y en los materiales empleados en el laboratorio cuando no se cumplen las normas de trabajo para evitarlo. Estos afectan al hongo porque compiten con los nutrimentos del medio y por el espacio, además los contaminantes pueden comportarse como hiperparásitos, es decir alimentarse del hongo, además pueden producir sustancias que inhiben el crecimiento y la formación de estructuras reproductivas.

Entre los hongos contaminante más comunes están los géneros: *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Pestalotia*.

***Fusarium*:** Las colonias de este hongo pueden tener diferentes coloraciones o presentar pigmentaciones en el medio en que se encuentran. Estas coloraciones pueden ser naranjas, rosadas, amarillas, crema, violáceas y producen, macro y micro conidias.

***Penicillium*:** Conidióforos largos, septados, lisos o rugosos, individuales o en sinemas, ramificado cerca del

ápice en uno, dos o más verticilos, que le dan aspecto de una escoba, ramas terminadas en fiálides o células fértiles productoras de conidias, las cuales son producidas basipetalamente y unidas en cadenas. Las conidias son globosas a elípticos, lisos o equinulados.

***Aspergillus flavus***: Es un hongo cancerígeno, tiene conidióforos hialinos rugosos o reticulados y con vesículas globosas, cabezuelas conidiales globosas verde o verde amarillentas, esterigma en una o dos series a veces hasta en una misma vesícula. Conidias globosas a ovales.

***Pestalotia***: Las colonias son blancas y están salpicadas por unas gotas de exudado negro brillante en las que se encuentra millares de conidias del hongo, pueden tener de tres a cuatro septos y son de forma clavada a obclavada o fusoides a veces tienen coloración pálida uniforme. Lo más característico es la presencia de varias setas a un extremo y un pedicelo más o menos corto al otro extremo.

Los géneros de bacterias contaminantes más comunes son: *Serratia*, *Erwinia*, *Pseudomonas* y *Bacillus*.

***Serratia***: Es una bacteria muy dañina para el proceso de producción de hongos entomopatógenos, porque no forma colonias sino que cubre por completo el cultivo puro donde se encuentra, tomando una coloración roja y por lo tanto es difícil de erradicar.

Todos estos contaminantes se presentan de manera general a excepción de *Pestalotia* que se presenta principalmente en cultivos de *Verticillium*.

Para evitar el crecimiento de bacterias al medio se le debe de agregar un antibiótico como penicilina, cloranfenicol y regular el pH adicionando ácido láctico. Cuando el daño por bacterias es elevado se recomienda asperjar el lugar de trabajo con formalina para erradicarla y esterilizar todo el material que presente forma de colonias rojas.

El reconocimiento de algunos hongos y bacterias contaminantes se realiza el crecimiento característico, por ejemplo, la presencia de puntos con diferentes formas de coloración. Si el crecimiento del entomopatógeno es lento y seco y se forman colonias cuya coloración es rojo, amarillento, verde pálido, cremas, entonces se trata de hongos.

Cuando la contaminación es por bacterias, el entomopatógeno no logra crecer completamente en el sustrato y se forma una masa suave, y pueden aparecer en el sustrato manchas de color rojo, cremas y/o amarillentos. Además las bacterias presentan un olor fuerte y desagradable. Los hongos contaminantes presentan un olor característico a fermentación fuerte, el

que se diferencia del olor característico de los entomopatógenos.

**Control de calidad de los cultivos puros.** Los cultivos puros utilizados como fuente de inóculo para la matriz, deben ser sometidos a un riguroso control de calidad. Estos se organizan por lote para dar seguimiento a las características de crecimiento que presenten contaminantes. La prueba para bacterias contaminantes se realiza inoculando el hongo con asa bacteriológica mediante rayado en la caja de Petri que contiene agar nutriente. Para ello se introduce el asa debidamente esterilizada, sobre diferentes puntos de la caja con cultivo puro del hongo entomopatógeno, luego se inocula por medio de un rayado con el asa sobre la superficie de las cajas de Petri que contienen el agar nutriente.

A las cajas inoculadas se les da un control constante y se etiquetan con la información apropiada (fecha del control, cepa, numeración de cada una, número de pase, tipo de crecimiento, etc.). Las observaciones sobre el crecimiento de bacterias, se hacen entre las 24-48 horas después de montada la prueba, descartando las cajas de Petri que muestran presencia de bacterias. En el caso de hongos contaminantes se realiza una limpieza del cultivo, eliminando las colonias por completo.

**Control de calidad en la etapa de producción.** En la etapa de producción, principalmente en matrices y bolsas la diversidad de contaminantes es menor que en el cepario. Los principales problemas de contaminación son ocasionados por bacterias y generalmente ocurren debido a mal manejo del sustrato, por ejemplo aglomeraciones de arroz o exceso de humedad. El tipo de control que se realiza puede ser descriptivo o visual. El descriptivo consiste en llevar en forma detallada, información referente a la cepa, registro de la caja de Petri con su respectivo control de calidad, fecha de inoculación, lote, etc.. El control visual consiste en la observación del crecimiento del entomopatógeno en las bolsas.

**Control de calidad de matriz.** Las matrices se preparan de inóculos de hongos provenientes de cultivos puros. Por esta razón se debe hacer una adecuada selección del cultivo a utilizar. Además cada caja se le debe hacer el control de calidad apropiado. Este se inicia seleccionando adecuadamente los materiales, principalmente cajas con cultivos puros que presentan buen crecimiento de conidias, libres de contaminantes de hongos y bacterias.

Durante el proceso de incubación, la matriz se revisa diariamente a partir del tercer día después de la

inoculación, para detectar la presencia de contaminantes, principalmente bacterias. Si el crecimiento del hongo es lento y no uniforme o el sustrato adquiere una consistencia blanda, ocurre una coloración amarillenta, ya sea focalizada o generalizada, entonces se debe descartar la matriz y esterilizarla para destruir el inóculo contaminante.

**Control de calidad de la bolsa.** Los problemas de contaminación en bolsa son similares a los que ocurren en matriz, pero se pueden presentar con mayor frecuencia, debido a problemas de humedad o problemas en la inoculación. Durante la fase de bolsa se debe realizar un control sistemático para evitar problemas de contaminación y seleccionar adecuadamente el material. Este control se realiza mediante la observación del crecimiento, el cual puede ser de varios tipos: **Disparejo:** crecimiento focalizado sobre diferentes puntos del sustrato, el material debe ser descartado por completo del lote en producción. Este tipo de crecimiento puede deberse a la presencia de contaminantes y/o a una mala manipulación durante la inoculación. **Lento:** este tipo de crecimiento puede ser focalizado o parejo. Puede estar asociado a una mala agitación del sustrato después de efectuada la inoculación, factores ambientales, estado de la cepa, presencia de contaminantes o calidad del inóculo. **Homogéneo.** Este es el criterio apropiado para la selección de la bolsa que entrará en producción. Este crecimiento presenta las características de ser uniforme sobre todo el sustrato de arroz y además es rápido.

**Control de calidad del producto cosechado.** El control de calidad del producto cosechado se realiza mediante la evaluación de rendimiento en número de conidias por gramo de polvo cosechado y la **viabilidad** de las conidias (porcentaje de germinación). Se considera de calidad aquel rendimiento que no sea inferior al rendimiento promedio de la cepa y que la viabilidad no sea menor al 95%. Si una cepa presenta un rendimiento muy bajo no debe utilizarse porque su rentabilidad sería muy baja. Cuando el rendimiento es muy bajo se debe a que la cepa es muy vieja y ha ido perdiendo sus características, por lo que se recomienda reactivarla en el insecto hospedante. Las evaluaciones de rendimiento (conidias por gramo de polvo) se deben realizar al momento de la cosecha y antes de la preparación de la formulación.

**Control de calidad de la preservación en sílica gel.** El control de calidad del material preservado se inicia con la selección adecuada del cultivo puro, el cual debe ser reciente y debe presentar características de

buen crecimiento, buena esporulación y buen vigor. El proceso del control de calidad se efectúa entre 5 y 6 días después de la preservación, con el objetivo de determinar el estado del cultivo. Si éste se encuentra en mal estado, es necesario descartar todo el material preservado. Se siembran cristales de sílica gel en un medio de cultivo con el propósito de observar el tipo de crecimiento del entomopatógeno y detectar la presencia de contaminantes (bacterias y hongos).

#### **Procedimiento para el control de calidad**

1. Anotar en un registro algunas características de coloración de los cristales de sílica gel, si contiene humedad, tubo muestreado, la fecha de preservación anterior, etc.
2. De los tubos preservados se toman de 10 a 15 cristales de sílica gel y se siembran en 2 a 3 cajas de Petri con PDA.
3. A las cajas de Petri se les coloca una etiqueta que lleva la información: la fecha del día del control de calidad, el código de la cepa, la fecha de preservación y número de la caja.
4. Posteriormente las cajas son colocadas en una incubadora o se dejan a temperatura ambiente.
5. Las cajas deben ser revisados tres días después de la inoculación para observar el tipo de crecimiento. El crecimiento del hongo debe ser característico del aislamiento preservado.

#### **Literatura consultada**

- Alves, SB. 1986. Controle microbiano de insectos. Sao Pablo, Brasil, Editora Manole. 407 p.
- Badilla, F. Potencial del control biológico en el manejo de plagas agrícolas y forestales. Sin publicar.
- Campbell, R. 1989. Biological control of microbial plant pathogen. Cambridge University Press. 199 p.
- Lacey, L. 1997. Manual of techniques in Insect Pathology. Biological Techniques Series. Academic Press. California, USA. 408 p.
- Leucona, RE. 1995. Microorganismos Patógenos Empleados en el Control Microbiano de insectos Plaga. Argentina 338 p.
- Roberts DW. 1989. World Picture of biological control of insects by fungi. Inst. Oswaldo Cruz, Río de Janeiro p.89-100.
- Rogg, HW. 1998. Guía Práctica de Producción Masiva del Entomopatógeno *Beauveria bassiana* para el Control Biológico de Insectos Plaga y Vectores en Bolivia. Universidad Autónoma "Gabriel René Moreno" Instituto de Investigaciones Agrícolas "El Vallecito" Bolivia. 36 p.
- Samson, RA; Evans, CH; Latgé, Jean-Paul 1988. Atlas of Entomopathogenic Fungi. Springer-Verlag. 186 p.
- Universidad Nacional Agraria. 2000. Producción y Uso de Hongos Entomopatógenos para el control de plagas agrícolas. Managua, Nicaragua. En prensa. 49 p.

# SECCION AGRICULTURA ORGANICA



## Caficultura orgánica como alternativa a la crisis

Gerardo Marín<sup>1</sup>  
Gabriela Soto<sup>2</sup>

### Introducción

En los últimos 20 años, la producción cafetalera costarricense se ha caracterizado por ser un sistema intensivo, dependiente de un paquete tecnológico basado en el monocultivo de variedades mejoradas y el uso de agroquímicos.

Desde sus orígenes hasta hace varios años, la caficultura había sido una alternativa rentable para el productor y su familia. Sin embargo, la carrera tecnológica que tenía como objetivo el aumento de la productividad, en sacrificio de la calidad y el ambiente ha estado afectado la sostenibilidad del sistema (Rice y McLean 1999, Karlsson 2000).

La contaminación de fuentes de agua, la pérdida y compactación del suelo y la pérdida de biodiversidad son algunos ejemplos de los daños que puede ocasionar este sistema de producción (Karlsson 2000). Además en muchos casos, este sistema ha presentado implicaciones sociales y económicas negativas que no han sido adecuadamente cuantificadas, tales como una dependencia de insumos externos a la finca, ocasionando endeudamientos con almacenes locales de insumos o con entidades bancarias, daños a la salud del productor y su familia por el uso excesivo de agroquímicos (Karlsson 2000), pérdida de la fertilidad de los suelos y una destrucción de la estructura productiva tradicional campesina que proveía de diversidad y seguridad alimentaria a la familia, y una pérdida de la creatividad y protagonismo del productor.

Estas tendencias se empezaban a observar en nuestros campos, aunado a un proceso de desvalorización de la agricultura de las últimas décadas, la crisis económica generada por la glo-

balización y la falta de políticas de respuestas adecuadas, han llevado a la situación de crisis en que se encuentra actualmente nuestra caficultura y nuestros productores.

### ¿A quiénes afecta la crisis del café?

El café es el segundo producto de exportación en el mundo después del petróleo (Rice y McLean 1999), y se ha estimado que 100 millones de personas en 80 países trabajan actualmente en la producción del café (Baker *et al.* 2001). En el año 2001 las exportaciones peruanas cayeron un 27% con relación al año anterior, México sufrió una reducción de 40,5% en la venta de café de agosto 2001 con respecto a agosto del 2000. La Federación de Cafeteros de Colombia, reconoce que la crisis es estructural; que el tamaño de su caficultura tiene que reducirse. Se estima que la reducción colombiana puede ser de cinco a ocho millones de sacos (Oxfam 2001).

Los más afectados por esta crisis son los pequeños caficultores en toda esta región. En América Central, el 90% de los caficultores son pequeños, en México el 75% y en Colombia el 74%. En El Salvador, de 21 713 fincas de café, 20 000 están en peligro de desaparecer. En Guatemala, el 20% de las fincas están abandonadas, y el 75% casi abandonadas (Oxfam 2001).

Otros afectados directamente son los trabajadores agrícolas. En el rubro café, la tasa de desempleo ha aumentado hasta el 70% con respecto a los dos años anteriores. La migración temporal de trabajadores agrícolas a las zonas cafetaleras se ha duplicado y hasta triplicado en

<sup>1</sup> Asociación de Productores Orgánicos de Turrialba (APOT). Turrialba, Costa Rica. apot\_gerardo@hotmail.com

<sup>2</sup> Depto de Agricultura Ecológica. CATIE. Turrialba, Costa Rica. gabisoto@racsa.co.cr



el último año, ocasionando deterioro de las familias y la comunidades (Oxfam 2001). En su mayoría, los trabajadores agrícolas migran a las ciudades. Solamente en Guatemala, se estima que 200 familias llegan diariamente a la capital, aumentando los anillos de pobreza en la ciudades.

También se ha dado un incremento en la migración de trabajadores agrícolas y pequeños caficultores a otros países como Estados Unidos, así como la migración de nicaragüenses a Costa Rica, y de guatemaltecos a México.

### Alternativas ante la crisis

Ante esta crisis, el pequeño productor busca desesperadamente alternativas. Los productores que no dependen directamente del café han optado por eliminarlo y esperar una mejor alternativa de manejo. Algunos han realizado podas profundas para sembrar hortalizas en la entrecalles, pero en su gran mayoría, el productor, gracias al sistema paternalista de asistencia técnica establecida, están esperando que los técnicos lleguen y les den la respuesta a su problema. Esta respuesta, lamentablemente, no está llegando tan clara y directa como ellos esperarían.

Es posible que la respuesta al problema no sea una sola alternativa sino un conjunto de opciones, tales como la diversificación del cafetal y de la finca, búsqueda de nichos de mercado para cafés especiales de buena calidad, valor agregado y mejores sistemas de comercialización, entre otras. Pero es muy importante que en este momento, no se busquen soluciones a corto plazo, tratando de "apagar el incendio", sino que se aproveche la coyuntura para hacer un análisis profundo de la situación de nuestra agricultura y de nuestros productores y sus familias. Los precios bajos del café no deben ser considerados como la causa fundamental del problema, sino como la chispa que encendió la llama, mostrando la poca resiliencia<sup>3</sup> de nuestros sistemas productivos.

Este documento presenta un proyecto de la Asociación de Productores Orgánicos de Turrialba (APOT) y del Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE), Turrialba, Costa Rica como alternativa al sistema convencional de producción de café y la problemática de los pequeños productores.

### Descripción del proyecto

El proyecto iniciado por APOT y CATIE en el 2001 tiene el objetivo de buscar alternativas a la crisis del café. APOT es una asociación de productores formada en 1995 con el apoyo de la Pastoral Social de Siquirres, Costa Rica que impulsa un proceso de integración de los pequeños productores orgánicos de Turrialba. El Proyecto Agroforestal CATIE/GTZ interesado en desarrollar alternativas a la crisis del café implementó una alianza estratégica con APOT, para analizar la situación y buscar alternativas entre productores y técnicos en forma conjunta. El proyecto hace énfasis en la formación de los recursos humanos, la visión de las fincas integrales como rescate a la agricultura tradicional, la búsqueda de nichos de mercado para el café producido, la obtención de la certificación orgánica y de comercio justo y el procesamiento orgánico y valor agregado del café (Fig. 1).



**Figura 1.** Café orgánico producido por agricultores asociados a APOT. El café es procesado por APOT y vendido directamente como parte de los esfuerzos realizados por el Proyecto para obtener un precio justo para los productores.

**Más que capacitación, formación.** En la primera etapa del proyecto se desarrolló un proceso de capacitación para los productores con el propósito de rescatar y aprovechar la capacidad creativa de ellos mediante la generación de procesos que generar fortaleza y protagonismo.

<sup>3</sup> Capacidad del sistema de retornar al estado de equilibrio o mantener el potencial productivo después de sufrir perturbaciones graves (Masera *et al.* 1999).

Como parte de este proceso se ofrecieron capacitaciones en temas como manejo integrado de la finca, reutilización de recursos locales, agroecología, administración y comercialización, globalización y políticas agropecuarias internacionales, entre otras. El énfasis de este proceso no es la transmisión de un "recetario de actividades", sino el desarrollo de principios conceptuales que permitan a los productores analizar su propia situación, y tomar las decisiones correctas.

**Fincas integrales: un rescate de la agricultura tradicional.** Uno de los primeros pasos ha sido cambiar la visión de monocultivo por una visión más integrada, tanto del cafetal como de la finca. Los productores participantes del proyecto han adoptado como regulación interna de la Asociación el uso obligado de la sombra en el café, la cual debe suplir tres necesidades básicas: alimento para los humanos, alimento para el café (leguminosas) y alimento para la biodiversidad del sistema (pájaros, insectos) (APOT 2001). A pesar de que muchos productores tienen aún arraigados conceptos sobre la siembra exclusiva de café en su finca, ante la crisis, han visto la necesidad de fortalecer su seguridad alimentaria.

Los productores participantes del proyecto han tratado de eliminar la dependencia de insumos externos mediante la reutilización y reciclaje de fuentes locales de nutrientes. Es claro que estos cambios requieren tiempo. Sin embargo, en muchos casos en que los recursos locales eran desaprovechados por desconocimiento, los productores basados en los nuevos conceptos de manejo de la finca, han creado sistemas con una fuerte tendencia hacia la sostenibilidad.

Otro aspecto que los productores han incorporado en los criterios para la toma de decisiones es su responsabilidad en el cuidado de recursos como el agua y el suelo. El productor no solo produce alimentos, también es responsable junto con su familia y su comunidad de mantener el agua limpia y los suelos sanos. Es claro también para ellos que la sostenibilidad no se construye en un día, sino que es un proceso constante de desarrollo.

**Búsqueda de nichos de mercado: agricultura orgánica y comercio justo.** Por la limitada extensión de área productiva y sus condiciones laborales, Costa Rica no puede continuar compitiendo en el mercado internacional de café con volúmenes y costos comparativos. Los logros obtenidos por nuestros antepasados en garantías sociales no pueden ni deben ser sacrificados en la búsqueda de la eficiencia competitiva generada por la globalización. Actualmente, es común escuchar que

los costos de mano de obra constituyen un problema para el desarrollo, sin embargo, la solución no está en reducir el salario a nuestros trabajadores sino en colocar mejor nuestros productos.

La búsqueda de nuevos nichos de mercado es una actividad que los caficultores vienen realizando desde hace varios años. Colombia fue el pionero en hacer un esfuerzo por diferenciar su café del de otros orígenes, pero desde finales de los años 80, en Estados Unidos se formó la Asociación de Cafés Especiales de América (SCAA), comercializando en 1999, 7 millones de sacos, equivalentes al 10% del consumo de los países importadores. El desarrollo de este sector está justificado por la tendencia del consumidor a buscar alimentos de mejor calidad, de procedencia conocida, naturales y compatibles con el ambiente (Fischersworing y Robkamp 2001).

Dentro de las alternativas de mercado de cultivos de café ambientalmente amigables, los más importantes son el café orgánico, el café del comercio justo, la certificación Eco-OK y el café amigable con los pájaros desarrollado por el Instituto Smithsonian, para proteger las aves migratorias de Estados Unidos (Rice y McLean 1999).

De estas alternativas, el proyecto escogió inicialmente trabajar con la producción orgánica y el comercio justo, e ir explorando otras posibilidades posteriormente.

La caficultura orgánica es una alternativa a la que muchos países de Latinoamérica están recurriendo para enfrentar la crisis (Cuadro 1) y estos números van en constante aumento. En Costa Rica, según los datos reportados por la agencia certificadora nacional Eco-LOGICA, del año 2001 al año 2002, la producción orgánica de café certificada por ellos se duplicó pasando de 5000 fanegas a 10000 fanegas/año (Eco-LOGICA 2002, Com personal). Este proyecto no es el único trabajando en el tema, existen en varios países de Centro América proyectos que vienen trabajando en esta misma temática desde hace algunos años, por ejemplo AFAORCA, en Acosta, Costa Rica.

En años anteriores a la caída de los precios, los sobrepresos por café orgánico iban de un 10 a un 30% dependiendo de la calidad del producto y del mercado (Fischersworing y Robkamp 2001). Actualmente, los sobrepresos del café orgánico son entre 50% y 100%. Estos normalmente dependen del precio de la bolsa de Nueva York (entre más bajo el precio, mayor es el sobrepresio), y de la calidad del café.

**Cuadro 1.** Producción de café orgánico en Latinoamérica.

País	Area en producción orgánica certificada (ha)
México	26000
Guatemala	7000
Perú	5000
El Salvador	4900
Nicaragua	1400
Costa Rica	550

Fuente: Fischersworing y Robkamp (2001).

En la crisis actual de precios, el sobreprecio por café orgánico corresponde al precio justo requerido por el productor para tener una buena calidad de vida, por lo que se debe buscar que estos precios prevalezcan. Sin embargo, es importante que los productores en condiciones iguales de precios entre convencional y orgánico, prefieran el sistema orgánico por el bajo impacto ambiental, el bienestar de la familia y la reducción en los costos de producción.

Según el reporte financiero de Pan para el Mundo para el año 2002, la mayoría de los productores orgánicos con los que ellos han trabajado en la región Centroamericana, han logrado disminuir sus costos de producción pasando del sistema convencional al sistema orgánico. Los productores de APOT con 8 años de producir orgánicamente, encuentran reducciones de hasta el 50% de sus costos de producción (Guillermo Campos, 2001, *Com personal*).

**La certificación orgánica y de comercio justo.** Para acceder el mercado internacional orgánico, el proyecto ha trabajado con los productores en el desarrollo de las estrategias necesarias para el cumplimiento de los requisitos de certificación. Como grupo comunitario organizado, APOT ha desarrollado un Sistema Interno de Control que le permite obtener la certificación orgánica (Soto 2001, van Elzakker 2001). La Asociación tiene información detallada de cada uno de los productores y de sus fincas, así como del manejo de las mismas. Diez productores de la asociación fueron capacitados como inspectores internos para visitar las fincas de todos los miembros y garantizar el cumplimiento de las normas orgánicas. También se trabaja en el desarrollo del cumplimiento de las normas de Comercio Justo.

**Procesamiento orgánico y valor agregado.** Un análisis de la comercialización del café demuestra que mientras a los productores de café se les paga aproximadamente US\$ 35 el quintal, del cual se obtienen 1451 ta-

zas de café, están se venden en cafés especiales a un precio de US\$2 cada taza, lo que equivale a US\$ 2902. Aún cuando el proceso del café y su comercialización tiene un costo alto, esto no justifica que el productor reciba solamente \$35 por quintal. La pregunta es: ¿Cuánto ha bajado el precio del café del importador al tostador, del tostador al distribuidor, del distribuidor al restaurante o familia, del restaurante al consumidor final?.

Por tanto, como parte de la estrategia del proyecto se ha buscado aumentar el valor agregado del café producido por APOT. El hecho de que en 200 años de producción de café todavía nuestros países vendan este en grano verde, para que los tostadores en los países importadores obtengan la mayor ganancia con el menor riesgo, es una muestra de la falta de negociaciones comerciales adecuadas por parte de los países proveedores de materias primas.

Por esta razón el proyecto construyó un beneficio de café con el apoyo económico de la Embajada de Inglaterra y la *Rerum Novarum* del Vaticano. El beneficio procesará el café orgánico y en transición de los productores de APOT.

Para la comercialización se han buscado alternativas de comercio directo para café tostado, mediante alianzas estratégicas con universidades e iglesias para que la Asociación tenga control sobre todo el proceso, desde la producción hasta el consumidor final. Esto le permitirá tener un mayor control sobre el precio de sus productos.

El proyecto APOT-CATIE-GTZ es un proceso reciente, en el que tanto técnicos como productores están incursionando en áreas que no se conocían, pero que se han convertido en relevantes porque buscan mejorar la calidad de vida de los productores. Los técnicos agropecuarios debemos ampliar nuestro rango de actividades, en sistemas donde se ha hecho evidente que los problemas productivos ya no son el cuello de botella para el desarrollo.

### **Recomendaciones de los productores de APOT ante las crisis de precios del café**

En los talleres "Búsqueda de Alternativas a la crisis de café", celebrados en CATIE en el 2001, los productores de APOT presentaron algunas recomendaciones y consideraciones que ellos consideran podrían ayudar a enfrentar la crisis actual del café. Estas recomendaciones están dadas para diferentes sectores de la sociedad:

### **Pequeños productores**

- Continuar con la transición de una producción convencional hacia una producción orgánica.
- Mejorar la gestión empresarial basada en resultados y captura de mercados más directos.
- Trabajar en función de la diversificación de la producción y la productividad, donde la seguridad alimentaria de la familia, la comunidad y el país tenga especial importancia.
- Desarrollar alianzas estratégicas entre organizaciones y empresas de pequeños productores, y de éstos con empresas en los países consumidores.
- Construir un foro permanente para la discusión de la temática cafetalera entre sí, entes rectores de la caficultura nacional, gobiernos y centros de investigación, entre otros.

### **Gobiernos de países productores**

- Estimular la producción orgánica
- Diseñar y ejecutar programas de pago por servicios ambientales
- Abrir líneas de créditos adaptados a las necesidades de los caficultores
- Diseñar y ejecutar una campaña permanente para aumentar el consumo nacional de café de buena calidad.
- Fomentar la diversificación de la producción y productividad
- Reinvertir los impuestos provenientes del café, en el desarrollo y sostenibilidad de la caficultura.
- Desarrollar un sistema nacional de comercialización equitativa

### **Importadores y empresas transnacionales**

- Pagar por el precio total y real del café recibido.
- Practicar internamente y exigir a sus proveedores la práctica ética del comercio internacional y nacional.

### **Consumidores**

- Exigir a los importadores y grandes empresas la práctica ética del comercio
- Apoyar más el comercio equitativo.
- Acompañar a los productores como sus socios plenos
- Incrementar sus esfuerzos en la facilitación de procesos y acompañamiento a los productores con acciones en los países productores y consumidores.
- Preferir en el mercado productos ambientales y de comercio justo

### **Países importadores**

- Reorientar la política de cooperación de manera que tenga un impacto significativo en la seguridad alimentaria de los países productores
- Motivar a los países importadores para que inviertan los recursos provenientes de impuestos al café en el financiamiento de la diversificación de la producción
- Fijar impuestos a los intermediarios comerciales de café.
- Eliminar los impuestos al café industrializado en origen
- Uniformar las normas para la certificación de productos orgánicos

### **Literatura citada**

- APOT, 2001. Normas Internas de Producción Orgánica de la Asociación de Productores Orgánicos de Turrialba. Material mimeografiado. 9 p.
- Baker, P; Bentley, J; Charveriat, C; Duque, H; Lefroy, J; Munyua, H. 2001. The coffee smallholder. *In*: Baker, P. Ed. Coffee Futures. A source book of some critical issues confronting the coffee industry. CABI.
- Bingham, J. 2001. Can coffee drinkers save the rainforest? Sustainable Harvest. [www.sustainableharvest.com](http://www.sustainableharvest.com)
- Eco-LOGICA. 2002. Listados de productores orgánicos certificados. Boletín ANAO.
- Fischersworing Hömberg, B; RoBkam Ripken, R. 2001. Guía para la Caficultura Ecológica. 3 ed. Alemania, GTZ/BMZ. 153 p.
- Karlsson, S. 2000. Multilayered Governance. Pesticides in the South - environmental concerns in a globalised world. Department of Water and Environmental Studies. Linköping University, Suecia. 397 p.
- Masera, O; Astier, M; López-Ridaura, S. 1999. Sustentabilidad y manejo de recursos naturales: el marco de evaluación MESMIS. México, Mundi Prensa. 109 p.
- Oxfam. 2001. Bitter coffee: How the poor are paying for the slump in coffee prices. Oxfam Policy Department. Oxford. Inglaterra.
- Rice, P; McLean, J. 1999. Sustainable coffee at the crossroads. A white paper prepared for the consumers Choice Council/ [www.consumerscouncil.org](http://www.consumerscouncil.org) 193 p.
- Soto, G. 2001. Certificación de productos orgánicos: la garantía necesaria para incorporarse al mercado internacional. ComunIICA. Año 5. N°. 17. 26-36 p.
- Van Elzakker, B. 2001. Organic Coffee. *In* Baker, P. Ed. Coffee Futures. A source book of some critical issues confronting the coffee industry. CABI.

# REVISTA MANEJO INTEGRADO DE PLAGAS

## Índice temático

(No. 1- 63, Junio 1986-Marzo 2002)

### ACAROLOGIA Y ARACNOLOGIA

- Aguilar, H.** 1989. Presencia del ácaro rojo de los cítricos *Panonychus citri* (McGregor) (Acari: Tetranychidae), sobre *Carica papaya* L. en la zona sur de Costa Rica. **no. 14:**61-67.
- Aguilar, H; Vargas, C; Calvo, G; Ochoa, R.** 1993. Combate de *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) en *Rosa* sp. con mezclas de acaricidas. **no. 27:**11-17.
- Araya González, J.** 2001. Acciones de prevención contra la leprosis de los cítricos en Costa Rica. **no. 62:**81-84.
- Bastidas, H; Murillo, A; Pantoja, A; Zutuaga, JI; Gutiérrez, Y.** 1994. Reconocimiento de arañas en algodónero en el Valle del Cauca. **no. 32:**33-35.
- Bastidas, H; Pantoja, A; Hernández, M. del P.** 1994. Consumo de presas por *Argiope argentata* (F.) (Araneae: Araneidae) y *Plesiometa argyra* (Walkenaer) (Araneae: Tetragnathidae) en arroz irrigado en Colombia. **no. 32:**30-32.
- Childers, CC; Kitajima, EW; Calvin Welbourn, W; Rivera, C; Ochoa, R.** 2001. *Brevipalpus* como vectores de la leprosis de los cítricos. **no. 60:**66-70. (Disponible también en inglés).
- Childers, CC; Rodrigues, JC; Kitajima, EW; Derrick, KS; Rivera; Calvin Welbourn, W.** 2001. Estrategia de manejo para romper el ciclo del vector *Brevipalpus* spp. - Rhadovirus, causante de la leprosis de los cítricos. **no. 60:**71-75. (Disponible también en inglés).
- Chiri, A.** 1989. Las arañas: biología, hábitos alimenticios e importancia como depredadores generalizados. **no. 12:**67-81.
- Curkovic, TM; González, RH; Barría P, G.** 1999. Efecto de fenazaquin sobre *Panonychus ulmi* y su depredador *Neoseiulus chilensis* en manzanos y perales en Chile. **no. 52:**80-88.
- Jiménez, GB; Ochoa, R; Calvo, G.** 1991. Combate químico de *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) en *Salvia splendens* Sellow en Cartago, Costa Rica. **no. 19:**5-11.
- Mairena, H; Ochoa, R.** 1989. Revisión del género *Tenuipalpus* (Acari: Tenuipalpidae) en Costa Rica: *Tenuipalpus bakeri* McGregor nuevo representante. **no. 11:**75-80.
- Masis, CE; Aguilar, H.** 1990. Combate del ácaro *Tetranychus urticae* (Koch) en fresa (*Fragaria* sp.) en Costa Rica. **no. 17:**5-7.
- Ochoa, R; Aguilar, H.** 1989. Combate químico de la araña roja (*Tetranychus urticae* Koch) en fresa (*Fragaria* sp.). **no. 11:**51-60.
- Ochoa, R; Aguilar, H; Merino, F.** 1989. Combate químico de arañas rojas (Acari: Tetranychidae) en chayote (*Sechium edule* (Jacq) Sw). **no. 14:**31-45.
- Ochoa, R; Aguilar, H; Sanabria, C.** 1990. Acaros fitoparásitos asociados al cultivo de mango (*Mangifera indica* L) en Costa Rica. **no. 16:**32-37.
- Ochoa, R; Vargas, C.** 1997. Acaros asociados a *Epipremnum pinnatum* cv. *Aureum* en Costa Rica (Mites associated with *Epipremnum pinnatum* cv. *Aureum* in Costa Rica). **no. 46:**34-43.
- Ochoa, R; Vargas, C; Naskreckl, P; Husband, RW.** 1995. *Rhynchopolipus rhynchophori* (Ewing) nuevo representante de la acarofauna costarricense (Acari: Podapolipidae). **no. 35:**25-28.
- Ochoa, R; Von Lindeman, G.** 1988. Importancia de los ácaros en los cultivos de tomate (*Lycopersicon esculentum*) y chile dulce (*Capsicum annuum*) en Panamá. **no. 7:**25-36.
- Pérez Alvarez, RP; Almaguel Rojas, L; De la Torre López, E; Domínguez Barrios, M.** 1997. Umbral mínimo de desarrollo de *Tetranychus tumidus* en el cultivo del plátano. **no. 44:**26-28.
- Ramos Lima, M.** 2000. Control de *Tetranychus tumidus* mediante *Phytoseiulus macropilis* en viveros de plátano. **no. 58:**54-60.
- Ramos Lima, M; Rodríguez, H.** 2001. Aspectos biológicos y ecológicos de *Steneotarsonemus spinki* en arroz, en Cuba. **no. 61:**48-52.
- Reyes, R; Larios, JF; Rivas Platero, GG.** 1989. Incidencia del ácaro blanco *Polyphagotarsonemus latus* (Banks) (Tarsonemidae: Acarina) en el cultivo de chile dulce *Capsicum annuum* en el Valle de Zapotitán, El Salvador. **no. 13:**11-22.
- Rosas Acevedo, JL; Sampedro Rosas, L.** 2000. Control biológico de *Brevipalpus* spp. en *Citrus aurantifolia* en Guerrero, México. **no. 55:**56-59.
- Vargas, C; Aguilar, H; Evans, G; Ochoa, R.** 1989. Potencial de los ácaros fitoseidos (Parasitiformes: Phytoseiidae) para el control biológico de plagas. **no. 14:**87-108.
- Vargas, C; Merayo, A; Aguilar, H.** 1996. Diagnóstico de ácaros en coberturas vivas y malezas en Costa Rica. **no. 40:**40-43.
- Vargas, C; Ochoa, R.** 1990. Medios de cultivo en laboratorio contaminados por *Tarsonemus bilobatus Suski*. (Acari: Tarsonemidae) y redescipción de la especie. **no. 18:**19-23.
- Vargas, C; Ochoa, R; Sanabria, C.** 1996. Nuevos representantes de la familia Tetranychidae (Acari) en Costa Rica. **no. 41:**45-48.
- Zoebisch, TG; Ochoa, R; Vargas, C; Gamboa, A.** 1992. Identificación y potencial del hongo *Hirsutella thompsonii* Fisher para el control de ácaros de importancia económica en América Central. **no. 23:**9-12.

### AGRICULTURA ORGANICA

- Marín G; Soto, G.** 2002. Caficultura orgánica como alternativa a la crisis. **no. 63:**104-108.
- Muschler, RG.** 2001. Aportes del CATIE hacia la producción orgánica en el trópico. **no. 62:**97-98.
- Soto, G; Muschler, RG.** 2001. Génesis, fundamentos y situación actual de la agricultura orgánica. **no. 62:**101-105.

### AGROMEDICINA

- Corriols, M.** 2001. Indicadores agro sanitarios de la exposición laboral agrícola a plaguicidas en Nicaragua. **no. 60:**88-92.
- Henao, S.** 2000. Utilización de plaguicidas sintéticos, un problema a resolver en el nuevo milenio. **no. 55:**70-72.
- Henao, S.** 2000. Efecto a largo plazo de los plaguicidas sintéticos. **no. 56:**84-86.
- Henao, S.** 2001. Tratado fundamental para el control y eliminación de contaminantes orgánicos persistentes (COPs). **no. 62:**92-95.
- Henao, S; Arbelaez, MP.** 2002. Situación epidemiológica de las intoxicaciones agudas por plaguicidas en el Istmo Centroamericano 1992-2000. **no. 63:**89-93.
- Penagos G, H.** 2001. Enfermedades de la piel y plaguicidas sintéticos. **no. 61:**87-89.

**Proyecto Plagsalud.** 2000. Respuesta del Sector Salud al problema de las plaguicidas. **no. 58:78-80.**

**Proyecto Plagsalud.** 2000. Seminario sobre legislación de plaguicidas en el Istmo Centroamericano. **no. 58:78-80.**

#### FITOPROTECCION Y MIP

**Andrews, KL.** 1989. Modelos de investigación y transferencia de tecnología en manejo integrado de plagas. **no. 13:65-82.**

**Andrews, KL.** 2000. Si yo trabajara en manejo integrado de plagas hoy: qué haría?. **no. 57:4-9.**

**Arauz, LF.** 1996. La protección de cultivos en la agricultura sostenible: perspectivas para Costa Rica. **no. 41:29-36.**

**Ardón Mejía, M.** 1993. Aproximación a la fitoprotección en Mesoamérica durante el siglo 16. **no. 30:35-44.**

**Badilla, F.** 1995. Manejo integrado de jobotos *Phyllophaga* spp. (Scarabaeidae) en el cultivo de la caña de azúcar en Costa Rica. **no. 37:26-33.**

**Bustamante Rojas, E; Patiño H; LF.** 2001. En búsqueda de un sistema de resistencia estable en plantas cultivadas. **no. 60:3-14.**

**Camacho, H.** 1991. Proyecto manejo integrado de las moscas de las frutas en Costa Rica. **no. 20-21:65.**

**De Langhe, E.** 1987. Necesidades de una estrategia internacional para el mejoramiento genético del banano y del plátano. **no. 4:17-31.**

**Fassaert, C.** 1998. La relevancia del enfoque de género en el Manejo Integrado de Plagas. **no. 47:1-9.**

**Galván, F; Marín, A; Bustos, DE; Terrones, R; Mejía, C; Bujanos, R; Pérez, F; Byorly, KE.** 1995. Manejo Integrado de la chinche café del sorgo (*Oebalus mexicana*) en el Bajío, México. **no. 35:33-39.**

**Hilje, L.** 1998. Un modelo de colaboración agrícola internacional para el manejo de moscas blancas y geminivirus en América Latina y el Caribe. **no. 49:1-9.**

**Hilje, L; Cartín L, V; March L, E.** 1989. El combate de plagas agrícolas dentro del contexto histórico costarricense. **no. 14:68-86.**

**Hilje, L; Hanson, P.** 1998. La biodiversidad tropical y el manejo integrado de plagas. **no. 48:1-10.**

**Hilje, L; Ramírez, O.** 1992. Una propuesta comprensiva para el desarrollo de programas de Manejo Integrado de Plagas (MIP) en América Central. **no. 24-25:63-71.**

**Howell, HN; Andrews, KL.** 1987. Utilización de prácticas culturales en manejo integrado de plagas. **no. 4:1-16.**

**Jirón, LF.** 1991. Elementos para el manejo integrado de *Anastrepha obliqua* (Diptera: Tephritidae) asociada con el cultivo del mango en Costa Rica. **no. 20-21:66.**

**Monge, JE; García JE.** 1993. Los conocimientos tradicionales y el combate de plagas en América Central: revisión de los archivos del ICECU. **no. 28:57-63.**

**Pareja, M.** 1993. El manejo integrado de plagas: componente esencial de los sistemas agrícolas sostenibles. **no. 24-25:44-50.**

**Quezada, JR; Rodríguez, A.** 1989. Brote de larvas de *Rothschildia orizaba* (Lepidoptera: Saturniidae) en café, una experiencia en Manejo Integrado de Plagas. **no. 12:21-32.**

**Ramírez, O; Mumford, JD.** 1996. Formulación de políticas fitosanitarias en América Central. **no. 40:24-34.**

**Riveros Angarita, AS.** 2001. Moléculas activadoras de la inducción de resistencia, incorporadas en programas de agricultura sostenible. **no. 61:4-11.**

**Rosset, P.** 1988. El manejo de insectos en tomate: algunas consideraciones sobre la experiencia en Centroamérica. **no. 7:1-12.**

**Rosset, P.** 1999. Agricultura alternativa durante la crisis cubana. **no. 52:16-24.**

**Ruiz V, J; Medina, Z.** 2000. Avances en el manejo integrado de *Bemisia tabaci* en tomate y chile en Oaxaca, México. **no. 59:34-40.**

**Proyecto Plagsalud.** 2000. Seminario sobre Legislación de Plaguicidas en el Istmo Centroamericano. **no. 57:78-80.**

**Sequeira, L.** 1995. Influencia de la biotecnología en el manejo integrado de plagas de los cultivos tropicales. **no. 35:40-45.**

**Vandermeer, J.** 1996. El conocimiento ecológico y la complejidad para el manejo integrado de plagas, en el mundo postmoderno. **no. 41:37-44.**

#### ASPECTOS SOCIOECONOMICOS

**Barea, O; Ramírez, O; Cubillo, D; Hilje, L.** 1995. Importancia económica de *Liriomyza huidobrensis* (Blanchard) en la papa en Cartago, Costa Rica. **no. 38:1-7.**

**Calvo, G; French, J.B.; Simán, J.; Kooper, N.** 1990. Caracterización agroeconómica de la fitoprotección en el cultivo del tomate, Valle Central de Costa Rica. **no. 15:67-82.**

**Calvo, G; Jiménez, JM; Gamboa, A.** 1987. Caracterización del cultivo del plátano en San Carlos, Costa Rica. **no. 6:20-26.**

**Calvo, G; Meneses, R.** 1991. Diagnóstico de problemas fitosanitarios en el cultivo de melón de exportación en Costa Rica. **no. 22:27-35.**

**Calvo, G; Pacheco, AB; French, JB; Alvarado, E.** 1989. Análisis económico del manejo del picudo de Chile (*Anthonomus eugenii* Cano). **no. 11:31-50.**

**French, JB; Calvo, G.** 1988. Caracterización de la tecnología de producción de plátano por pequeños productores de San Carlos, Costa Rica y de Progreso, Panamá. **no. 10:28-38.**

**Ramírez, O.** 1994. Consideraciones sobre la función de producción aplicada a problemas de manejo integrado de plagas. **no. 31:36-42.**

**Ramírez, OA; Saunders, JL.** 1998. Una metodología para determinar criterios económicos de decisión en el control de plagas. **no. 50:1-18.**

**Rosset, P.** 1987. Precios, subvenciones y los niveles de daño económico. **no. 6:27-35.**

**Rosset, P.** 1991. Umbrales económicos, problemas y perspectivas. **no. 19:26-29.**

**Salazar Gutiérrez, L; King Cárdenas, WH; Sánchez Gutiérrez, G.** 1995. Estudio bioeconómico de la utilización de *Metarhizium anisopliae* junto con inhibidores de síntesis de quitina en el control de gusano cogollero en sorgo. **no. 36:1-6.**

**Shaxson, L; Bentley, JW.** 1993. Factores económicos que influyen sobre la selección de tecnología para el control de plagas.; un ejemplo de Honduras. **no. 24-25:58-62.**

#### CIENCIA DE LAS MALEZAS

**Altieri, MA.** 1986. Significado de las interacciones entre malezas e insectos en los agroecosistemas tradicionales de los trópicos. **no. 2:1-15.**

**Andino, JS; Garro A, JE; De la Cruz, R.** 1989. Efecto del glifosato en pretrasplantes y siembra directa sobre el crecimiento del cultivo de tomate. **no. 12:1-11.**

**Calvo, G; Merayo, A; Rojas, E.** 1996. Diagnóstico de la problemática de la caminadora (*Rottboellia cochinchinensis*) en dos zonas productoras de maíz de la provincia de Guanacaste, Costa Rica. **no. 41:49-51.**

**Cayón, G; Lozada Z, JE.** 1992. Efecto de la competencia de las malezas sobre el crecimiento, desarrollo y producción de dos clones de plátano (*Musa AAB Simmonds*). **no. 24-25:18-21.**

**Chaves, L; Valverde, B; Garita, I.** 1997. Resistencia del pasto honduras (*Ixophorus unisetus*) a herbicidas inhibidores de la síntesis del acetolactato. **no. 44:20-25.**

**Chaves, L; Valverde, E; Garita, I.** 1997. Efecto del tiempo y la profundidad en el suelo sobre la persistencia de la semilla de *Echinochloa colona*. **no. 45:18-24.**

**Coto A, TD.** 1999. Algunas relaciones tróficas entre insectos y malezas en cultivos de América Central. **no. 53:77-83.**

- De la Cruz, R.** 1987. La alelopatía en el manejo de malezas. **no. 6:**36-43.
- De la Cruz, R.** 1987. Notas sobre prueba de herbicidas en el campo. **no. 5:**21-29.
- De la Cruz, R; Merayo, A.** 1989. Manejo de malezas en el cultivo de frijol en Centroamérica. **no. 13:**49-64.
- De la Cruz, R; Merayo, A.** 1990. Manejo de *Cyperus rotundus* L. en algunas áreas agrícolas tropicales. **no. 16:**41-48.
- De la Cruz, R; Merayo, A; Zuñiga, H.** 1991. Estudio biológico del talquezal *Chloris chloridea* (Presl) Hitch. **no. 19:**15-25.
- De la Cruz, R; Merino, CI; Calvo, G.** 1991. Evaluación agroecológica de prácticas de manejo de la maleza talquezal *Chloris chloridea* en el cultivo de arroz en El Salvador. **no. 22:**21-26.
- De la Cruz, R; Rojas, CE; Lobón, HL; Burgos, C.** 2001. El papel de las malezas en la reducción de la lixiviación de nutrientes en cultivos de banano en el trópico húmedo. **no. 62:**29-37.
- De la Cruz, R; Rojas, E; Merayo, A.** 1994. Manejo de la caminadora (*Rottboellia cochinchinensis* (Lour) W.D. Clayton) en el cultivo del maíz y el período de barbecho con leguminosas de cobertura. **no. 31:**29-35.
- Domínguez, JA; De la Cruz, R.** 1990. Competencia nutricional de *Arachis pintoi* como cultivo de cobertura durante el establecimiento de pejiyabe *Bactris gasipaes* H.B.K. **no. 18:**1-7.
- Echegoyén, PE; Valverde, B; Garita, I.** 1996. Acción conjunta del Paraquat y el 2,4-D en malezas asociadas al café en Costa Rica. **no. 41:**8-15.
- Eiszner, H; Blandón, V; Pohlen, J.** 1997. La rotación de cultivos como alternativa ecológica y económica para el monocultivo del algodón. **no. 44:**1-6.
- Esquivel R, EA.** 1991. Posibilidades de control biológico de la pimientilla *Cyperus rotundus* L. con el uso de hongos patógenos. **no. 19:**32-33.
- Franco, JB; De la Cruz, R.** 1993. Malezas de mayor importancia y algunas prácticas de manejo en zonas cafetaleras de Matagalpa, Nicaragua. **no. 27:**63-68.
- Gamboa, W; Vandermeer, J.** 1988. Comportamiento biológico del *Cyperus rotundus* L. fases fenológicas, dinámica de crecimiento y capacidad reproductiva. **no. 10:**13-27.
- Gamboa, W; Vandermeer, J.** 1989. Observaciones preliminares en tres agroecosistemas y la presencia de *Cercospora* sp. en el coyolillo *Cyperus rotundus* L. **no. 12:**33-36.
- Garita C, I; Herrera, F.** 1993. Evaluación del metasulfuronmetilo para el combate de *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn. en pastos. **no. 28:**33-35.
- Garro A, JE; De la Cruz, R; Merayo, A.** 1992. Estudio del crecimiento de materiales de *Echinochloa colona* (L.) Link. susceptibles y tolerantes al propanil. **no. 26:**39-43.
- Helmut, E; Salazar, D; Pohlen, J.** 1996. La dinámica del banco de semillas de malezas en sistemas de producción de granos básicos. **no.43:**1-8.
- Hernández Blandón, D; De la Cruz, R.** 1993. Determinación de las principales malezas en el cultivo de arroz (*Oryza sativa* L.) en cinco zonas de Nicaragua. **no. 27:**63-68.
- Jiménez, JM; Bustamante, E; Gómez, R; Pareja, M.** 1990. La pudrición de la espiga de la caminadora, *Rottboellia cochinchinensis*, su etiología y posible uso como agente de combate biológico. **no. 15:**13-23.
- Merayo M, A; Rojas C; CE; Valverde, B; Umaña, E.** 1998. Leguminosas de cobertura para el manejo de *Rottboellia cochinchinensis* en el asocio yuca/maíz. **no. 48:**49-53.
- Merino, CI; De la Cruz, R; Piaggio, G; Pareja, M.** 1992. Comportamiento ecológico del banco de semillas de malezas bajo condiciones del trópico húmedo. **no. 24-25:**8-17.
- Muñoz Hernández, R; Pitty, A.** 1992. Efectividad de los aditivos para incrementar el control de malezas con atrazina en maíz (*Zea mays*) L. **no. 23:**1-4.
- Muñoz Hernández, R; Santamaría, E; Pitty, A.** 1993. Efecto de tres manejos de malezas sobre las plagas, enemigos naturales, rendimiento y rentabilidad del frijol. **no. 27:**46-53.
- Pareja, M.** 1986. Biología y ecología de malezas como base para el desarrollo de programas de Manejo Integrado de Malezas (MIM). **no. 1:**5-10.
- Pareja, M.** 1988. Dinámica de las semillas de malezas en el suelo. **no. 8:**30-49.
- Pitty, A.** 1990. La resistencia de las malezas a los herbicidas. **no. 16:**61-67.
- Rojas, E; Merayo, A; Calvo, G.** 1994. La profundidad y duración en el suelo de la semilla de caminadora (*Rottboellia cochinchinensis* (Lour) W.D. Clayton) y su efecto sobre la viabilidad y persistencia en el trópico seco. **no. 32:**25-29.
- Rojas, E; De la Cruz, R; Merayo, A.** 1993. Efecto competitivo de la caminadora (*Rottboellia cochinchinensis* (Lour) W.D. Clayton) en el cultivo del maíz (*Zea mays* L.). **no. 27:**42-45.
- Rojas, E; Merayo, A; De la Cruz, R.** 1992. Determinación de posibles ecotipos de *Rottboellia cochinchinensis* (Lour.) W.D. Clayton en varias zonas ecológicas de Costa Rica. **no. 24-25:**22-25.
- Rojas, E; Merayo, A; De la Cruz, R.** 1993. Comportamiento de posibles ecotipos de *Rottboellia cochinchinensis* (Lour.) W.D. Clayton bajo condiciones de campo. **no. 28:**30-32.
- Rojas B, M; De La Cruz, R.** 1998. Control de malezas en banano (*Musa* spp.) mediante hojarasca del cultivo. **no. 49:**58-67.
- Salazar, LC.** 1987. Reconocimiento de malezas en arrozales de secano en Panamá. **no. 6:**16-19.
- Salazar, LC; Guerra, FA.** 1988. Los herbicidas empleados en arroz de secano y su efectividad ante el incremento de *Rottboellia cochinchinensis* Lour. **no. 9:**27-34.
- Salazar, LC; Guerra, FA.** 1996. Selectividad y eficacia del nicosulfuron para el control de malezas en maíz. **no. 42:**31-38.
- Salazar, LC; Ortiz, C.A.** 1999. Desarrollo y rendimiento de maíz a bajas densidades de *Cyperus rotundus* en Panamá. **no. 54:**63-66.
- Shenk, M; Fisher, HH.** 1990. Biología y ecología de *Rottboellia cochinchinensis* (Lour) W.D. Clayton. **no. 16:**49-60.
- Solís Mejicano, E; De la Cruz, R.** 1992. Especies de malezas más importantes en áreas aldoneras de Nicaragua. **no. 26:**36-38.
- Ulloa Figueroa, M; De la Cruz, R.** 1990. Competencia de caminadora *Rottboellia cochinchinensis* en cultivos de frijol rojo *Phaseolus vulgaris* L. **no. 15:**1-12.
- Vega, J; Muñoz Hernández, R; Pitty, A.** 1992. Evaluación de plagas, factores agronómicos y económicos del maíz y frijol en relevo bajo dos sistemas de labranza. **no. 26:**13-20.
- Von Lindeman, G.** 1986. Origen, establecimiento y problemas potenciales de la maleza *Saccharum spontaneum* en Panamá. **no. 1:**1-4.
- Zúñiga, C; Sánchez Garita, V; Bustamante, E.** 2000. Predisposición de *Rottboellia cochinchinensis* al ataque de patógenos nativos en respuesta a factores de estrés. **no. 59:**27-33.

#### DIAGNOSTICO FITOSANITARIO Y PREVENCIÓN DE INGRESO DE PLAGAS

- Agne, S; Waibel, H; Ramírez, O.** 1999. Diagnóstico y recomendaciones sobre criterios económicos y legislación para el uso de plaguicidas en Costa Rica. **no. 54:**44-52.
- Araya González, J.** 2001. Acciones de prevención contra la leprosis de los cítricos en Costa Rica. **no. 62:**81-84.
- Araya R, L; Monge, LA; Carazo R, E; Cartín L, VM.** 1999. Diagnóstico del uso de insecticidas para el combate de *Plutella xylostella* en Costa Rica. **no. 52:**49-61.

Barea, O; Ramírez, O; Cubillo, D; Hilje, L. 1995. Importancia económica de *Liriomyza huidobrensis* (Blanchard) en la papa en Cartago, Costa Rica. no. 38:1-7.

Bustamante, E; Rivas P, G. 1999. Elementos e importancia del diagnóstico de problemas fitosanitarios. no. 52:1-15.

Bustamante, E; Rivas-Platero, G; Gamboa, GA. 2000. La biodiversidad como fundamento en la exclusión y manejo de plagas. no. 56:6-21.

Calvo, G; Meneses, R. 1991. Diagnóstico de problemas fitosanitarios en el cultivo de melón de exportación en Costa Rica. no. 22:27-35.

Hilje, L; Cubillo, D; Segura, L. 1993. Observaciones ecológicas sobre la mosca blanca *Bemisia tabaci* (Gennadius) en Costa Rica. no. 30:24-30.

Hilje, L; Quirós, L; Scorza, F. 1991. El «status» actual de las plagas forestales en Costa Rica. no. 20-21:18-22.

Hilje, L; Shannon, PJ; Coto, D. 1993. Insectos asociados con *Erythrina* spp. en Costa Rica. no. 28:36-42.

Monge, JE. 1991. Diagnóstico sobre el combate de *Plutella xylostella* L (Lepidoptera: Plutellidae) en el cultivo de repollo en Heredia, Costa Rica. no. 22:41-45.

Monge, JE. 1993. Diagnóstico sobre la problemática de *Bemisia tabaci* (Gennadius) en el Valle Central de Costa Rica. no. 30:31-34.

Rodríguez, CL. 1997. La investigación en *Liriomyza huidobrensis* en el cultivo de papa en Cartago, Costa Rica. no. 46:1-8.

Rodríguez, CL; León, R; Céspedes, R; Lépiz, CS. 1993. La situación entomológica de la papa en Costa Rica. no. 29:6-13.

Rodríguez, CL; Lépiz, CS; Arce, A; Pérez, D; Bienes, F; Viquez, C; Fonseca, A. 1989. Distribución altitudinal y geográfica de las capturas de las polillas de la papa *Scrobipalopsis solanivora* Povolny y *Phthorimaea operculella* (Zeller) (Lepidoptera: Gelechiidae) en Costa Rica. no. 13:39-48.

Zúñiga, C; Sánchez Garita, V; Bustamante, E. 2000. Selección de patógenos nativos de Costa Rica para el control biológico de *Rottboellia cochinchinensis*. no. 57:49-53.

## ENTOMOLOGIA

### Biología y Taxonomía

Arciniegas, CI; Pantoja, A. 1992. Hospedantes alternos de *Draeculacephala soluta* Gibson y *Hortensia similis* Walker (Homoptera: Cicadellidae) en el arroz del Valle del Cauca, Colombia. no. 26:34-35.

Arias, R; Hilje, L. 1993. Actividad diaria de los adultos de *Bemisia tabaci* (Gennadius) en el tomate y hospedantes alternos del insecto. no. 28:20-25.

Blanco, H; Watt, A; Cosens, D. 1993. Ciclo de vida y comportamiento de oviposición de *Ecdytolopha torticornis* (Lep: Tortricidae) barrenador de la nuez de macadamia. no. 29:36-39.

Berta, CD; Virla, E; Colomo, MV; Valverde, L. 2000. Efecto en el parasitoide *Campoletis grioti* de un insecticida usado para el control de *Spodoptera frugiperda* y aportes a la biología del parasitoide. no. 57:65-70.

Burgos, B. 1991. Dosis letal de radiación gamma en huevos y larvas de la mosca del Mediterráneo (*Ceratitis capitata* Wied). no. 20-21:65.

Carballo, M; Coto A, TD. 1999. Tolerancia de germoplasma de sapotáceas a *Conotrachelus* sp. y otros insectos. no. 52:62-67.

Castro Gallego, L; Benavides Machado, P; Bustillo Pardey, AE. 1998. Dispersión y mortalidad de *Hypothenemus hampei*, durante la recolección y beneficio del café. no. 50:19-28.

Cermeli, M; Montagne, A. 1993. Situación actual de *Thrips palmi* Karny (Thysanoptera, Thripidae) en Venezuela. no. 29:22-23.

Coto, D; Saunders, JL. 2001. Insectos plaga de la guanábana (*Annona muricata*) en Costa Rica. no. 61:60-68.

Coto, D. 1988. Descripción taxonómica de las plagas de importancia agrícola del Orden Lepidoptera: Familia Noctuidae. no. 8:61-91.

Coto, D. 1988. Descripción taxonómica de plagas de importancia agrícola del orden Lepidoptera. no. 10:72-110.

Coto, D. 1988. El transporte, procesamiento y envío de especímenes de insectos para su diagnóstico en fitoprotección. no. 8:50-60.

Coto, D. 1992. Morfología de la cápsula genital masculina de especies del género *Phyllophaga* (Col: Scarabaeidae). no. 26:28-30.

Coto, D. 1994. Parasitoides y depredadores de la colección de referencia del CATIE sobre plagas y organismos benéficos. no. 33:29-32.

Coto, D. 1999. Insectos plaga de macadamia en la zona Atlántica de Costa Rica. no. 52:74-79.

Coto, D. 1999. Algunas relaciones tróficas entre insectos y malezas en cultivos de América Central. no. 53:77-83.

Coto, D; Saunders, JL. 1993. Ciclo de vida de *Milghitea melanoleuca* Hampson (Lepidoptera: Pyralidae) barrenador de la cápsula del achote (*Bixa orellana* L.). no. 27:54-57.

Chávez T, HA; Diaz B, FA; Briceño G, RA. 1993. Introducción a Venezuela y biología de *Cotesia plutellae* (Kurdj.) (Hym.: Braconidae),

parasitoide de *Plutella xylostella* (L.) (Lep.: Plutellidae). no. 29:24-27.

Díaz B, FA. 1993. Lista actualizada de los *Ichneumonidae* (Hymenoptera: Parasitica) de Venezuela. no. 29:40-42.

Dunkelbäum, E; Rodríguez, CL; Oechsle, C; Vargas, M. 1995. Desarrollo de la feromona sexual de *Spodoptera* (Lepidoptera: Noctuidae) en melón. no. 37:34-38.

Evo FP; Hilje, L. 1993. Importancia del género *Heliothis* (Lepidoptera: Noctuidae) dentro del complejo de gusanos del fruto del tomate en Grecia, Costa Rica. no. 27:35-41.

Gerling, D. 2002. Una reinterpretación sobre las moscas blancas. no. 63:13-21.

González H, L; Rodríguez G, C. 1990. *Scinthrips cardamomi* (Ramk.) (Thysanoptera: THRIPIDAE) nueva plaga del cardamomo (*Elettaria cardamomum* Maton) en Costa Rica. no. 16:38-40.

Hernández, J; Meneses, R. 1988. Nota descriptiva del pulgón lanífero (*Eriosoma lanigerum*) de la manzana en Costa Rica. no. 9:22-26.

Hidalgo, E; Smith, SM; Shannon, P; Arroyo, C. 2000. Metodología para la cría masiva de *Phyllophaga* spp. no. 56:70-74

Hilje, L. 1995. Aspectos bioecológicos de *Bemisia tabaci* en Mesoamérica. no. 35:46-54.

Jovel, J; Hilje, L; Kleinn, C; Cartín, V; Valverde, B. 2000. Movimientos diarios de *Bemisia tabaci* en parcelas de tomate, en Turrialba, Costa Rica. no. 55:49-55.

Juvera Bracamontes, JJ; Martínez Heredia, D. 1994. Estudios de detección de picudo del algodón *Anthonomus grandis* Boheman en el Valle de Juárez, Chihuahua, México. no. 34:8-12.

Leite, GLD; Picanco, M; Azevedo, AA; Zurita, Y; Marquini, F. 1998. Oviposición y mortalidad de *Tuta absoluta* en *Lycopersicon hirsutum*. no. 49:26-34.

Maes, JM. 1993. Estudio del género *Serrogathus*, subgenero *Lasiodorcus* (Coleoptera: Lucanidae): Taxonomía, distribución y morfología. no. 29:43-47.

Martínez, MA; Suris, M. 2000. Bases bioecológicas para el manejo de chinches harinosas en el cultivo del café en Cuba. no. 57:58-64.

Ochoa, R; Carballo, M; Quezada, JR. 1989. Algunos aspectos de la biología y comportamiento de *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) y de su parasitoide *Diadegma insularis* (Hymenoptera: Ichneumonidae). no. 11:21-30.

Pantoja, A; Daza, E; Duque, MC. 1992. Efecto de *Oebalus ornatus* (Sailer) y *Oebalus insularis* Stal (Hemiptera: Pentatomidae) sobre el arroz: una comparación entre especies. no. 26:31-33.



- Pereira de Arruda, G; Pereira de Arruda Filho, G.** 1998. Técnicas de preparação de mosca branca para identificação. **no. 47:44-46.**
- Retana Salazar, AP; Soto-Rodríguez, GA.** 2002. *Trichinothrips strasseni*: nueva especie de trips asociada al cultivo de yuca en Costa Rica. **no. 63:71-72.**
- Romero, H; Zoebisch, TG; Carballo, M.** 1991. Ciclo de vida y preferencia alimentaria de *Liriomyza huidobrensis* Blanchard (Diptera: Agromyzidae) en papa, apio, y cinco malezas importantes en Cartago, Costa Rica. **no. 22:1-4.**
- Romero, H; Zoebisch, T; Carballo, M.** 1991. Descripción e identificación de la genitalia femenina de la especie *Liriomyza huidobrensis* Blanchard en Cartago, Costa Rica. **no. 22:5-8.**
- Salazar, AH.** 1991. Anotaciones de historia natural de algunos sfilidos (Homoptera: Psyllidae) formadores de agallas en los chapernos. **no. 20-21:66.**
- Schuster, J.** 1989. Claves para identificar insectos inmaduros holometabolos. **no. 11:61-74.**
- Shannon, PJ; Arboleda-Sepúlveda, O.** 1988. Las langostas del género *Schistocerca*, nomenclatura, biología y distribución geográfica de las especies migratorias de Centro y Sur América: notas breves y literatura selecta. **no. 10:53-71.**
- Vásquez, J; O'Brien, W; Couturier, Guy.** 2000. *Dynamis nitidulus* (Coleoptera: Curculionidae), nueva plaga del pejíbaye. **no. 58:70-72.**
- Villanueva, JA; Ventura Godínez, J; Vega Nevárez, R.** 1994. Grados día de desarrollo de *Aphis nerii* (Boyer) (Homoptera: Aphididae) bajo condiciones térmicas controladas y variables. **no. 32:19-24.**
- Control Biológico**
- Acuña, A; Carballo, M.** 2000. Comparación de una cepa de *Beauveria bassiana* con insecticidas utilizados para el control de *Plutella xylostella*. **no. 56:52-57.**
- Altieri, MA; Trujillo, J; Campos, LF; Klein Koch, C; Gold, CS; Quezada, J.R.** 1989. El control biológico clásico en América Latina en su contexto histórico. **no. 12:82-107.**
- Alves, LFA.; Batista Filho, A; Augusto, BNT.** 2001. Fotoprotección de preparaciones del virus de la poliedrosis nuclear (VPNAg) en condiciones de campo y laboratorio. **no. 62:60-64.**
- Alves, SB; Almeida, JEM; De Salvo, S.** 1998. Associação de produtos fitossanitários com *Beauveria bassiana* no controle da broca e ferrugem do cafeeiro. **no. 48:19-24.**
- Alves, SB; Silveira, CA.; Lopes, RB; Tamai, MA.; Ramos, EQ.; Salvo, S de.** 2001. Eficácia de *Beauveria bassiana*, imidacloprid e thiacloprid no controle de *Bemisia tabaci* e na incidência do BGMV. **no. 61:31-36.**
- Badilla, F; Alves, SB.** 1991. Control del picudo de la caña de azúcar *Sphenophorus levis* Vaurie (Col.: Curculionidae) con *Beauveria bassiana* y *Beauveria brongniartii* en condiciones de laboratorio y campo. **no. 20-21:34-38.**
- Badilla, F; Solís, AL; Alfaro, D.** 1991. Control biológico del taladrador de la caña de azúcar *Diatraea* spp. (Lepidoptera: Pyralidae) en Costa Rica. **no. 20-21:39-44.**
- Badilla, F; Toledo, JC; Barreno, C.** 1996. Patogenicidad de *Metarhizium anisopliae* en adultos de la "chinche salivosa" *Aenolamia albofasciata* y *Prosapia* ssp. (Homoptera: Cercopidae) en caña de azúcar en Escuintla, Guatemala. **no. 42:39-44.**
- Berlanga Padilla, AM; Hernández Velásquez, VM.** 2002. Efecto de temperatura sobre el crecimiento y la virulencia de *Metarhizium anisopliae*, *M. a.* var. *acridum* y *Beauveria bassiana* en *Schistocerca piceifrons piceifrons*. **no. 63:51-55.**
- Berta, CD; Virla, E; Colomo, MV; Valverde, L.** 2000. Efecto en el parasitoide *Campolepis grioti* de un insecticida usado para el control de *Spodoptera frugiperda* y aportes a la biología del parasitoide. **no. 57:65-70.**
- Blanco-Metzler, H; Laprade, S.** 2000. Variación estacional de la mosca blanca *Aleurodicus dispersus* y sus parasitoides en plantaciones de banano, en Matina, Costa Rica. **no. 55:43-48.**
- Borges Maracajá, P; Vargas Osuna, E; Alvarez, CS.** 1998. Producción del baculovirus VPNAH en *Heliothis armigera* y *Spodoptera exigua*. **no. 47:10-17.**
- Borges Maracajá, P; Vargas Osuna, E; Alvarez, CS.** 1999. Cambios morfológicos de los biopreparados del Virus de la Poliedrosis Nuclear en sus hospedantes primarios y alternos. **no. 51:21-28.**
- Borges Maracajá, P; Vargas Osuna, E; Alvarez, C.S.** 2000. Actividad biológica de un Virus de la Poliedrosis Nuclear en *Heliothis armigera* y *Spodoptera exigua*. **no. 55:30-35.**
- Borrero Fonseca, F; Zenner de Polonia, I.** 1998. Resistencia potencial de *Spodoptera frugiperda* a *Bacillus thuringiensis kurstaki*. **no. 47:18-23.**
- Brenes, S; Carballo, M.** 1994. Evaluación de *Beauveria bassiana* (Bals.) para el control biológico del picudo del plátano *Cosmopolites sordidus* (Germar). **no. 31:17-21.**
- Bustillo P, AE; Posada F, FJ.** 1996. El uso de entomopatógenos en el control de la broca del café en Colombia. **no. 42:1-13.**
- Bustillo P, AE.** 1987. Uso de entomopatógenos. **no. 3:32-50.**
- Carballo, M.** 1998. Mortalidad de *Cosmopolites sordidus* con diferentes formulaciones de *Beauveria bassiana*. **no. 48:45-48.**
- Carballo, M; Arias de López, M.** 1994. Evaluación de *Beauveria bassiana* para el control de *Cosmopolites sordidus* y *Metamasius hemipterus* (Coleoptera: Curculionidae) en condiciones de campo. **no. 31:22-24.**
- Carballo, M; León G, R; Ramírez, A.** 1990. Combate biológico de *Liriomyza* sp. (Diptera: Agromyzidae) en cultivos hortícolas de Costa Rica. **no. 16:4-11.**
- Carballo, M; Quezada, JR.** 1987. Uso de parásitos en el control biológico de áfidos. **no. 6:1-10:28-35.**
- Carballo, M; Rodríguez, L; Durán, J.** 2001. Evaluación de *Beauveria bassiana* para el control del picudo del chile en laboratorio. **no. 62:54-59.**
- Castañeda Samayoa, OR.** 1994. Evaluación de métodos para medir la selección de hospedantes de parasitoides de huevos del género *Trichogramma*. **no. 33:11-18.**
- Cave, RD.** 1994. Es viable el control biológico de un vector de geminivirus, como *Bemisia tabaci*. **no. 34:18-22.**
- Cerda, MG; Hanson, P; Borbón, O; Hilje, L.** 1996. Respuesta de la entomofauna benéfica del café (*Coffea arabica*) a varias frecuencias de aplicación de endosulfán, en Costa Rica. **no. 39:1-9.**
- Chiri, A.** 1987. Enemigos naturales de los áfidos: depredadores. **no. 4:32-38.**
- Contreras, T; Carballo, M; Hidalgo, E; Bustamante, E.** 1997. Evaluación de trampas de pseudotallo y formulaciones de *Beauveria bassiana* (Bals.) en el combate del picudo del plátano *Cosmopolites sordidus* en Costa Rica. **no. 46:44-49.**
- Cordero, R; Cave, R.** 1990. Parasitismo de *Plutella xylostella* L (Lepidoptera: Plutellidae) por *Diadegma insularis* (Cresson) (Hymenoptera: Ichneumonidae) en cultivo de repollo *Brassica oleracea* var *capitata* en Honduras. **no. 16:19-22.**
- Coto, D; Saunders, JL.** 1992. Parasitoides de huevos y pupas de *MilgHITEA melanoleuca* Hampson (Lepidoptera: Pyralidae) barrenador de cápsulas del achote (*Bixa orellana* L.). **no. 26:21-22.**
- De Gusmao, LG; Castiglioni, EA; Alves, SB.** 1999. Diseminación de *Beauveria bassiana* entre operarios de *Heterotermes tenuis*. **no. 52:89-92.**
- Delgado Blandón, F; López Forero, Y; Giraldo Cardozo, EM.** 2001. Actividad enzimática de hongos y su patogenicidad sobre *Hypothenemus hampei*. **no. 60:43-49.**

- Esquivel R, EA. 1991. Posibilidades de control biológico de la pimientilla *Cyperus rotundus* L. con el uso de hongos patógenos. **no. 19**:32-33.
- Fuentes, G. 1991. Uso de *Bacillus thuringiensis* en el control de plagas agrícolas. **no. 20-21**:26-33.
- Fuentes, G; Carballo, M. 1995. Evaluación de aislados de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. para el control de *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Iponomeutidae). **no. 35**:14-18.
- García, G; Carballo, M. 1995. Evaluación de aislados de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* en el control de *Hyalymenus tarsatus* (Hemiptera: Alydidae) en macadamia. **no. 36**:7-11.
- Gladstone, S. 1988. Efecto de la aplicación del hongo entomógeno *Nomuraea rileyi* sobre la dinámica de la micosis en el cogollero *Spodoptera frugiperda* en el cultivo del maíz. **no. 9**:1-11.
- Gladstone, S. 1990. Perspectivas del uso del control microbiológico para plagas del maíz en Nicaragua. **no. 17**:8-15.
- González García, MT; Valencia Jiménez, A; Bustillo Pardey, AE. 2001. Incremento de la patogenicidad de *Beauveria bassiana* sobre *Hypothenemus hampei*, utilizando integumento del insecto en el medio de cultivo. **no. 60**:31-35.
- González, HO; Carballo, M; Blanco Metzler, H. 1996. Efecto de cepas de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill sobre la mortalidad de *Ecdytophthora torticornis* (Meyric) (Lep.: Tortricidae) en macadamia. **no. 40**:17-23.
- Hanson, P. 1990. La sistemática aplicada al estudio de la biología de los parasitoides. **no. 15**:53-66.
- Hanson, P. 1991. Los parásitos asociados al café en Costa Rica. **no. 20-21**:8-10.
- Hanson, P. 1993. La importancia de la taxonomía en el control biológico. **no. 29**:48-50.
- Hernández, J; Chávez, O. 1988. Una prueba de control biológico de baba de culebra en pastos. **no. 9**:35-38.
- Herrera, F; Carballo, M; Shannon, P. 1999. Eficacia de cepas nativas de hongos entomopatógenos sobre *Bemisia tabaci*, en el laboratorio. **no. 54**:37-43.
- Hidalgo, E; Carballo, M. 1991. Influencia de las malezas sobre los insectos controladores naturales de *Liriomyza huidobrensis* (Blanchard). (Diptera: Agromyzidae). **no. 20-21**:49-54.
- Hilje, L; Valverde, B. 1993. Efecto del metamidofós sobre una plaga (*Scrobipalopsis solanivora*) y un parasitoide (*Diaeretiella* sp.) presentes en el cultivo de papa. **no. 30**:19-30.
- Juvera Brocamontes, JJ; Jasso Gutiérrez, H; De la Mora Covarrubias, A. 1995. Capacidad depredadora de la catarinita anaranjada *Hippodamia convergens* G. sobre el pulgón del rosal *Macrosiphum rosae* L.; en vivero. **no. 38**:33-36.
- Lozano-Tovar, MD; Rodríguez-S, MN; Vásquez-A, NC; Sánchez-Gutiérrez, G. 2000. Efecto de *Metarhizium anisopliae* sobre plagas rizófagas de arracacha (*Arracacia xanthorrhiza*) en Colombia. **no. 56**:58-64.
- Luna Rodríguez, J; Cabrera La Rosa, JC; Pinedo, HE; Pinto, D; Zeddám, JL. 2002. Caracterización y utilización de un nucleopolidrovirus patógeno a *Spodoptera eridania* y *S. ochrea*. **no. 63**:39-45.
- Marengo Mendoza, R; Saunders, JL. 1993. Depredación de *Spodoptera frugiperda* por *Doru* sp. en maíz en el trópico húmedo de Costa Rica. **no. 27**:24-26.
- Marengo Mendoza, R; Saunders, JL. 1993. Parasitoides del gusano cogollero, *Spodoptera frugiperda*, en maíz en el trópico húmedo de Costa Rica. **no. 27**:18-23.
- Méndez Sánchez, SE; Alvarez, CS. 1998. Reconocimiento, caracterización morfológica e incidencia de *Neozygites fresenii* en la regulación natural de áfidos en Andalucía, en España. **no. 48**:40-44.
- Mexzon, RG; Chinchilla, CM. 1991. Entomofauna perjudicial, enemigos naturales y malezas útiles en palma aceitera (*Elaeis guineensis*) J. en América Central. **no. 20-21**:1-7.
- Moino Junior, A; Batista Alves, S. 1998. Efeito de *Beauveria bassiana* sobre o desenvolvimento de *Sitophilus zeamais*. **no. 50**:51-54.
- Monzón, A. 2002. Producción, uso y control de calidad de hongos entomopatógenos en Nicaragua. **no. 63**:95-103
- Orozco-Santos, M; Farias-Larios, J; López-Pérez, J; Ramírez Vázquez, NR. 2000. Uso de *Beauveria bassiana* para el control de *Bemisia argentifolii* en melón. **no. 56**:45-51
- Ovruski, SM; Cancino, JL; Fidalgo, P. 1999. Perspectivas para la aplicación del control biológico de moscas de la fruta en Argentina. **no. 54**:1-12.
- Posada F; FJ; Vélez A; PE. 1997. Registro de hospedantes y aislamientos de en la colección de hongos entomopatógenos de CENICAFE, Colombia. **no. 46**:50-64.
- Quezada, JR. 1986. Utilización del control biológico clásico. **no. 2**:16-31.
- Quezada, JR. 1987. Principales aspectos a cubrir en el estudio biosistemático de enemigos naturales. **no. 3**:51-61.
- Quezada, JR. 1990. El control biológico de plagas, esfuerzos y logros en El Salvador. **no. 15**:83-105.
- Quezada, JR; Rodríguez, A. 1989. Brote de larvas de *Rothschildia orizaba* (Lepidoptera: Saturniidae) en café: una experiencia en Manejo Integrado de Plagas. **no. 12**:21-32.
- Ramírez, S. 1991. Determinación de algunas especies de hongos entomopatógenos de Costa Rica. **no. 20-21**:11-17.
- Ramos, EQ; Alves, SB; Tanzini, MR; Lopes, RB. 2000. Susceptibilidad de *Bemisia tabaci* a *Beauveria bassiana* en condiciones de laboratorio. **no. 56**:65-69.
- Rodríguez, CL; Hernández Ramírez, JM; Morales M; E. 1993. La evolución del control biológico de insectos en los cultivos de Costa Rica. **no. 28**:43-56.
- Rodríguez Mendoza, JV; Lagunes Tejeda, A; Riestra Díaz, D; Rodríguez Maciel, C; Velázquez Mendoza, J; Becerril Román, E; Rodríguez Colorado, S; Pacheco Velasco, E. 1997. Compatibilidad de *Beauveria bassiana* y extractos acuosos de nim (*Azadirachta indica*) para el control de broca del café (*Hypothenemus hampei*). **no. 44**:14-19.
- Salas Araiza, MD; Salazar Solís, E. 1998. Parasitismo natural de lepidópteros plagas de brócoli en el Bajío, México. **no. 50**:34-41.
- Salazar Blanco, JD; Badilla Fernández, F. 1997. Evaluación de dos cepas del hongo entomopatógeno *Metarhizium anisopliae* y seis insecticidas granulados en el control de salivazo (*Aeneolamia postica*) (Hom: Cercopidae) en caña de azúcar en la región de San Carlos, Costa Rica. **no. 43**:9-18.
- Salazar Gutiérrez, L; King Cárdenas, WH; Sánchez Gutiérrez, G. 1995. Estudio bioeconómico de la utilización de *Metarhizium anisopliae* junto con inhibidores de síntesis de quitina en el control de gusano cogollero en sorgo. **no. 36**:1-6.
- Siqueira, KMM de; Farias, AMI de; Haji, FNP. 2001. Reconocimiento y oviposición del parasitoide *Encarsia lutea* en *Bemisia tabaci*. **no. 61**:53-59.
- Torres, M; Monterroso, D; Gutiérrez, Y; Góngora, J. 1994. Caracterización morfológica y cuantitativa de *Colletotrichum* aislado de *Coffea arabica* en Nicaragua. **no. 34**:28-30.
- Umaña, E; Carballo, M. 1995. Biología de *Antiteuchus tripterus* L. (Hemiptera: Pentatomidae) y su parasitoide *Trissolcus radix* (Johnson) (Hymenoptera: Scelionidae) en macadamia. **no. 38**:16-19.
- Umaña, E; Carballo, M; Coto, A, TD. 1995. Fluctuación poblacional de *Antiteuchus tripterus* (F.) (Hemiptera: Pentatomidae) y su parasitoide *Trissolcus radix* (Johnson) (Hymenoptera: Scelionidae) en el cultivo de la macadamia. **no. 37**:1-6.
- Vélez-Arango, PE; Estrada Valencia, MN; González García, MT; Valderrama Fonseca, AM; Bustillo Pardey, AE. 2001. Caracterización de aislamientos de *Beauveria*

*bassiana* para el control de la broca del café. **no. 62:**38-53.

**Zoebisch, TG; Stimac, JL.** 1990. Efectividad de cebos formulados con esporas de *Beauveria bassiana* (Bals.) para el control de *Solenopsis invicta* Buren. **no. 18:**8-12.

**Tanzini, MR; Batista Alves, S; Setten, A; Toshi Augusto, N.** 2000. Compatibilidad de agentes tensoactivos con *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae*. **no.59:**10-14.

### Control Cultural

**Amador, R; Hilje, L.** 1993. Efecto de coberturas vivas e inertes sobre la atracción de la mosca blanca *Bemisia tabaci* (Gennadius), al tomate. **no. 29:**14-21.

**Arias, R; Hilje, L.** 1993. Uso del frijol como cultivo trampa y de un aceite agrícola para disminuir la incidencia de virosis transmitida por *Bemisia tabaci* (Gennadius) en el tomate. **no. 27:**27-34.

**Blanco, J; Hilje, L.** 1995. Efecto de coberturas al suelo sobre la abundancia de *Bemisia tabaci* y la incidencia de virosis en tomate. **no. 35:**1-10.

**Cruz López, J; Castro Ramírez, AE; Ramírez Salinas, C; Gómez, B.** 2000. Supresión manual de adultos de *Phyllophaga* spp. y *Anomala* spp. en maíz en México. **no.58:**41-47.

**Hilje, L.** 2000. Prácticas agrícolas para el manejo de *Bemisia tabaci*. **no. 56:**22-30.

**Peralta, L; Hilje, L.** 1993. Un intento de control de *Bemisia tabaci*, con insecticidas sistémicos incorporados a la vainica como cultivo trampa, más aplicaciones de aceite en el tomate. **no. 30:**21-23.

**Piñón, M; Casanova, A.** 2002. Comparación de sistemas para la producción de plántulas de tomate frente al complejo moscas blancas-geminivirus. **no. 63:**64-70.

**Rosset, P.** 1988. Aprovechamiento de la ecología y el comportamiento de los insectos mediante las técnicas de control cultural en el manejo integrado de plagas. **no. 10:**1-12.

### Control químico y resistencia a insecticidas

**Asiático Rivera, JM; Zoebisch, TG.** 1992. Control de mosca blanca *Bemisia tabaci* (Gennadius) en tomate con insecticidas de origen biológico y químico. **no. 24-25:**1-7.

**Cano V, E; Gladstone, SM.** 1994. Efecto de insecticida botánico, Nim-20 sobre el parasitismo por *Trichogramma pretiosum* en huevos de *Helicoverpa zea* en el cultivo de melón. **no. 33:**23-25.

**Carazo R, E; Cartín L, VM; Monge, LA; Lobo S, JA; Araya R, L.** 1999. Resistencia de *Plutella xylostella* a deltametrina, metamidofós y cartap en Costa Rica. **no. 53:**52-57.

**Carballo, M; Calvo, G; Quezada, JR.** 1989. Evaluación de criterios de aplicación de insecticidas para el manejo de *Plutella xylostella* en repollo. **no. 13:**23-38.

**Carballo, M; Hernández, M; Quezada, JR.** 1989. Efecto de los insecticidas y de las malezas sobre *Plutella xylostella* (L) y su parásito *Diadegma insulari* (Cress) en repollo. **no. 11:**1-20.

**Cartín, VM; Carazo R, E; Lobo S, JA; Monge V, LA; Araya R, L.** 1999. Resistencia de *Plutella xylostella* a *Bacillus thuringiensis* en Costa Rica. **no. 54:**31-36.

**Cubillo, D; Sanabria, G; Hilje, L.** 1999. Evaluación de repelencia y mortalidad causada por insecticidas comerciales y extractos vegetales sobre *Bemisia tabaci*. **no. 53:**65-71.

**Cubillo, D; Larriva, W; Quijije, R; Chacón, A; Hilje, L.** 1994. Evaluación de la repelencia de varias sustancias sobre la mosca blanca, *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae). **no. 33:**26-28.

**Elizondo, JM; Rojas, G.** 1991. Evaluación de dos insecticidas para el combate de *Prostephanus truncatus* Horn (Coleoptera: Bostrichidae) en Costa Rica. **no. 20-21:**66.

**Espinoza G, J.** 1987. Fundamentos toxicológicos de los insecticidas de uso en las zonas altas de Chiriquí. **no. 1:**11-16.

**Hilje, L; Cartín, V.** 1990. Diagnóstico acerca del combate químico de las polillas de la papa (Lepidoptera: Gelechiidae) en Cartago, Costa Rica. **no. 17:**27-33.

**Masís, CE.** 1991. Control químico de *Liriomyza huidobrensis* en el cultivo del crisantemo (*Chrysanthemum morifolium*). **no. 22:**18-20.

**Masís, CE; Aagesen, TL.** 1992. Control químico del trips *Frankliniella occidentalis* (Thysanoptera: Thripidae) en el cultivo del crisantemo (*Chrysanthemum morifolium*). **no. 26:**5-7.

**Ochoa Chavarría, P; Carballo, M.** 1992. Efecto de varios insecticidas sobre *Liriomyza huidobrensis* (Diptera: Agromyzidae) y su parasitoide *Diglyphus isaea* Walker (Hymenoptera: Eulophidae). **no. 26:**8-12.

**Ortega Arenas, LD.** 1998. Resistencia de *Bemisia argentifolii* a insecticidas; implicaciones y estrategias de manejo en México. **no. 49:**10-25.

**Probst, K; Pülschen, L; Sauerborn, J; Zebitz, CPW.** 1999. Influencia de varios regímenes de uso de plaguicidas sobre la entomofauna de tomate en las tierras altas de Ecuador. **no. 54:**53-62.

**Salguero, V; Morales, J.** 1994. Eficiencia de insecticidas para el control de *Bemisia tabaci* (Gennadius) en tomate. **no. 31:**25-28.

**Sánchez, A; Blanco, H; Calvo, G; Shannon, PJ.** 1991. Evaluación de cuatro insecticidas para el control de la mosca del chile *Neosilba* spp. (Diptera: Lonchaeidae), bajo dos sistemas de manejo **no. 20-21:**57-56.

### Estimación de daños

**Arce de Hamity, MG; Quincoces de Guerra, V; Domenech, P; Montero, E.** 1998. Susceptibilidad de seis colecciones de maíz al ataque de *Helicoverpa zea* y *Euxesta eluta* en Jujuy, Argentina. **no. 50:**73-77.

**Barrantes, JA; Rodríguez, CL.** 1996. Abundancia estacional y daño de *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) y el cultivo de repollo, durante la época seca en Alfaro Ruiz, Alajuela, Costa Rica **no. 39:**17-24.

**Bolaño, RE.** 1997. Determinación de niveles de daño económico de *Bemisia tabaci* de tomate en el norte del Cesar, Colombia. **no. 46:**26-33.

**Carballo, M; Hruska, AJ.** 1989. Períodos críticos de protección y efecto de la infestación de *Plutella xylostella* L (Lepidoptera: Plutellidae) sobre el rendimiento del repollo. **no. 14:**46-60.

**Grimm, Ch.** 1996. Cuantificación de daños por insectos en los frutos del tempate, *Jatropha curcas*, (Euphorbiaceae) a través de una tabla de vida. **no. 42:**23-30.

**Hilje, L.** 1994. Caracterización del daño de las polillas de la papa, *Tecla solanivora* y *Phthorimaea operculella* (Lepidoptera: Gelechiidae), en Cartago, Costa Rica. **no. 31:**43-46.

**Hruska, AJ.** 1989. Períodos críticos de protección y el efecto de infestación del gusano cogollero, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) en maíz bajo riego en Nicaragua. **no. 12:**37-47.

**Hruska, AJ; Rosset, P.** 1987. Estimación de los niveles de daño económico para plagas insectiles. **no. 5:**30-44.

**Jiménez Jiménez, SF; Roscándido Alfonso, J; López Alfonso, D; Vásquez Rodríguez, M.** 1998. Caracterización y magnitud de los daños producidos por *Thrips tabaci* en cebolla en Cuba. **no. 48:**35-39.

**Leite, GLD; Picanco, M; Zanuncio, JC; Jham, GN; Moura, M F.** 1999. Efecto de los niveles de fertilización en la intensidad de ataque de *Tuta absoluta* en *Lycopersicon hirsutum* y *L. esculentum*. **no. 53:**72-76.

**Pantoja, A; García, CA; Mejía, OI; Ramírez, LM; Escalona, LE; Duque, MC.** 1998. Disminución del rendimiento y calidad del arroz de secano por *Oebalus ypsilon-griseus*. **no. 47:**37-40.

- Pérez Domínguez, JF; Nájera Rincón, MB. 1991. Distribución estacional y evaluación de daños por plagas de la raíz del maíz en Jalisco, México. **no. 22**:9-13.
- Ramírez, A; Carballo, M; Saunders, JL. 1989. Niveles de daño económico de *Keiferia lycopersicella* en tomate. **no. 14**:1-17.
- Reyes, R; Guerrero, O; López, M; Carranza, N; Ayala, J; Zelaya, R; Soto, JL. 1989. Estimación de pérdidas en rendimiento de grano causadas por gusanos barrenadores del tallo *Diatraea lineolata* Walker y termitas *Heterotermes convexinotatus* Snyder en el sistema de cultivo maíz-sorgo. **no. 14**:18-30.
- Shannon, PJ; Meneses, R; Alvarez, F. 1987. El uso de una tabla de vida para la estimación de pérdidas en el cultivo de maíz.; un ejemplo de Guanacaste, Costa Rica. **no. 5**:1-10.
- Valverde, LA; Badilla, F; Fuentes, G. 1991. Pérdidas de azúcar a nivel de fábrica, causada por *Diatraea tabernella* en tres variedades de caña de azúcar (*Saccharum* spp.) en la zona alta de San Carlos, Costa Rica. **no. 20-21**:61-64.
- Extractos botánicos y productos no convencionales**
- Bautista M, N; Morales G, O; Carrillo S, JL; Bravo M, H. 1998. Mortalidad de *Phyllocnistis citrella* con un aceite mineral y nim. **no. 50**:29-33.
- Cubillo, D; Sanabria, G; Hilje, L. 1997. Mortalidad de adultos de *Bemisia tabaci* con extractos de hombre grande (*Quassia amara*). **no. 45**:25-29.
- Cubillo, D; Sanabria, G; Hilje, L. 1999. Evaluación de repelencia y mortalidad causada por insecticidas comerciales y extractos vegetales sobre *Bemisia tabaci*. **no. 53**:65-71.
- Gómez, P; Cubillo, D; Mora, GA; Hilje, L. 1997. Evaluación de posibles repelentes de *Bemisia tabaci*: I Productos comerciales. **no. 46**:9-16.
- Gómez, P; Cubillo, D; Mora, GA; Hilje, L. 1997. Evaluación de posibles repelentes de *Bemisia tabaci*: II Extractos vegetales. **no. 46**:17-25.
- Lozano Tovar, MD; Rey Bolívar, L; Monge Andrade, B. 2000. Evaluación de insecticidas sintéticos y biológicos para el control *Antigastra catalaunalis* en ajonjolí. **no. 58**:39-44.
- Mancebo, F; Hilje, L; Mora, G; Salazar, R. 2000. Efecto de extractos vegetales sobre larvas de *Hypsipyla grandella*. **no. 55**:12-23.
- Mareggiani, G. 2001. Manejo de insectos plaga mediante sustancias semioquímicas de origen vegetal. **no. 60**:22-30.
- Piñón, M; Hernández, L; Hernández, A; Gómez, O; Casanova, A; Depestre, T; Estrada, J. 1999. Evaluación de productos comerciales para el control de *Thrips palmi* en berenjena. **no. 53**:84-86.
- Picanço, M; Pallini Filho, A; Leite, GLD; Matioli, AL. 1999. Avaliação de produtos nao convencionais para o controle de *Tuta absoluta* em tomate. **no. 54**:27-30.
- Ramírez Moreno, LA; García Barrios, LE; Rodríguez Hernández, C; Morales, HE; Castro Ramírez, AE. 2001. Evaluación del efecto insecticida de extractos de plantas sobre *Leptophobia aripa elodia*. **no. 60**:50-56.
- Rodríguez Hernández, C; López Pérez, E. 2000. Actividad insecticida e insectistática de la chilca (*Senecio salignus*) sobre *Zabrotes subfasciatus*. **no. 59**:15-18.
- Rodríguez Hernández, C; Djair Vendramim, J. 1996. Toxicidad de extractos acuosos de meliáceas en *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **no. 42**:39-44.
- Rodríguez Hernández, C; Djair Vedramim, J. 1998. Uso de índices nutricionales para medir el efecto insectistático de extractos de meliáceas sobre *Spodoptera frugiperda*. **no. 48**:11-18.
- Rodríguez L, DA; Lagunes T, A; Riestra D, D; Rodríguez M, C; Velázquez M, J; Becerril R, E; Pacheco V, E. 1998. Extractos acuosos de nim para el combate de la broca de café. **no. 49**:73-77.
- Rodríguez Mendoza, JV; Lagunes Tejeda, A; Riestra Díaz, D; Rodríguez Maciel, C; Velázquez Mendoza, J; Becerril Román, E; Rodríguez Colorado, S; Pacheco Velasco, E. 1997. Compatibilidad de *Beauveria bassiana* y extractos acuosos de nim (*Azadirachta indica*) para el control de broca del cafeto (*Hypothenemus hampei*). **no. 44**:14-19.
- Sánchez, MC; González, N; González, E. 1997. Efecto larvicida de extractos acuosos vegetales sobre *Aedes aegypti*. **no. 45**:30-33.
- Insectos vectores de patógenos**
- Alamilla Hernández, PT; Ortega Arenas, LD; Mora Aguilera, G; Chávez Bravo, JM. 1999. Cubiertas flotantes como barreras contra insectos vectores de virus en sandía en Veracruz, México. **no. 51**:1-9.
- Alvarado, E; Meneses, R; Perring, TM. 1991. Virosis y vectores del virus del melón en Guatemala. **no. 22**:36-40.
- Badilla, F. 1995. Manejo integrado de jobotos *Phyllophaga* spp. (Scarabaeidae) en el cultivo de la caña de azúcar en Costa Rica. **no. 37**:26-33.
- Bonilla S, F. 1995. Períodos de adquisición, latencia y transmisión de un geminivirus en tomate, por la mosca blanca *Bemisia tabaci* (Gennadius) en Costa Rica. **no. 35**:11-13.
- Cave, RD. 1994. Es viable el control biológico de un vector de geminivirus, como *Bemisia tabaci*. **no. 34**:18-22.
- Cubillo, D; Chacón, A; Hilje, L. 1994. Producción de plántulas de tomate sin geminivirus transmitidos por la mosca blanca (*Bemisia tabaci*). **no. 34**:23-27.
- Cubillo, D; Sanabria, G; Hilje, L. 1999. Eficacia de coberturas vivas para el manejo de *Bemisia tabaci* como vector de geminivirus, en tomate. **no. 51**:10-20.
- Cubillo, D; Sanabria, G; Hilje, L. 1999. Evaluación de recipientes y mallas para el manejo de *Bemisia tabaci* mediante semilleros cubiertos, en tomate. **no. 51**:29-35.
- Galván, F; Marín, A; Bustos, DE; Terrones, R; Mejía, C; Bujanos, R; Pérez, F; Byerly, KF. 1995. Manejo integrado de la chinche café del sorgo (*Oebalus mexicana*) en el Bajío, México. **no. 35**:33-39.
- Gerling, D. 2002. Una reinterpretación sobre las moscas blancas. **no. 63**:13-21.
- Hilje, L. 1993. Un esquema conceptual para el manejo integrado de la mosca blanca (*Bemisia tabaci*) en el cultivo de tomate. **no. 29**:51-57.
- Hilje, L. 2001. Avances hacia el manejo sostenible del complejo mosca blanca-geminivirus en tomate, en Costa Rica. **no. 61**:69-80.
- Jiménez, JM; Bustamante, E; Dimasi, S; Jiménez, F. 1990. Caracterización y patogenicidad de bacterias asociadas con el ataque de *Neosilba* sp. (Diptera: Lonchaeidae) en Chile dulce. **no. 16**:12-18.
- Jovel, J; Kleinn, CH; Hilje, L; Ramírez, P. 2000. Distribución espacio-temporal del virus del moteado amarillo (ToYMoV) en parcelas de tomate, en Turrialba, Costa Rica. **no. 57**:35-44.
- Jovel, J; Hilje, L; Kleinn, C; Cartín, V; Valverde, B. 2000. Movimientos diarios de *Bemisia tabaci* en parcelas de tomate, en Turrialba, Costa Rica. **no. 55**:49-55.
- Jovel, J; Ramírez, P; Valverde BE; Hilje, L. 1999. Determinación de las fuentes de inóculo del moteado amarillo del tomate (ToYMoV), en Guayabo, Costa Rica. **no. 54**:27-30.
- Larios, JF. 1987. Insectos vectores de fitopatógenos y la determinación de umbrales económicos de daño. **no. 3**:1-21.
- Mejía-Avila, C; Bujanos-Muñoz, R; Byerly-Murphy, KF. 1995. Ciclo biológico y morfología del salerillo *Paratrioza cockerelli* (Sulc.) (Homoptera: Psyllidae) vector de la enfermedad «permanente del jitomate» en el Bajío. **no. 38**:25-32.
- Piñón, M; Casanova, A. 2002. Comparación de sistemas para la producción de plántulas de tomate frente al complejo moscas blancas-geminivirus. **no. 63**:64-70.
- Ramírez, P; Maxwell, D. 1995. Geminivirus transmitidos por moscas blancas. **no. 36**:22-27.

- Remes Lenicov, A M de; Laguna, IG; Rodríguez Pardina, P; Mariani, R; Virla, E; Herrera, P; Dagoberto, E.** 1999. Diagnóstico del virus del "Mal de Río Cuarto" y sus vectores en maíz, en Argentina. **no. 51:**36-46.
- Rivas Platero, GG; Larios, JF.** 1994. Epidemiología del virus de la mancha anular del papayo VMAP en Zapotitlán, El Salvador. **no. 32:**5-7.
- Rivas Platero, GG; Lastra, R; Hilje, L.** 1994. Retardo de la virosis por *Bemisia tabaci* (Gennadius) en tomate mediante semilleros cubiertos. **no. 31:**12-16.
- Rivas Platero, GG; Ramírez, P; Cubillo, D; Hilje, L.** 1995. Detección de virus en plantas silvestres asociadas con el tomate y chile dulce en Costa Rica. **no. 38:**37-39.
- Rivas Platero, GG; Ramírez, P; Cubillo, D; Hilje, L.** 1995. Translocación y cuantificación del ADN viral del geminivirus asociados con el mosaico amarillo del tomate. **no. 38:**20-24.
- Rosset, P; Meneses, R; Lastra, R; González, W.** 1990. Estimación de pérdidas e identificación del geminivirus transmitido al tomate por la mosca blanca *Bemisia tabaci* Genn. (Homoptera: Aleyrodidae) en Costa Rica. **no. 15:**24-34.
- Ruiz V, J; Aquino B, T.** 1999. Manejo de *Bemisia tabaci* mediante barreras vivas y Paecilomyces en Oaxaca, México. **no. 52:**68-73.
- Ruiz V, J; Medina, Z.** 2000. Avances en el manejo integrado de *Bemisia tabaci* en tomate y chile en Oaxaca, México. **no. 59:**34-40.
- Saborío Mora, M.** 1994. Control fitogenético del complejo mosca blanca-virus. **no. 34:**36-40.
- Salazar, E; Cubillo, D; Ramírez, P; Rivas Platero, G; Hilje, L.** 1998. Severidad del moteado amarillo del tomate y reducción del rendimiento del cultivo en respuesta a la densidad de adultos virulíferos de *Bemisia tabaci*. **no. 50:**42-50.
- Vázquez, LL; De la Iglesia, M; López, D; Jiménez, R; Mateo, A; Vera, ER.** 1995. Moscas blancas (Homoptera: Aleyrodidae) detectadas en los principales cultivos agrícolas de Cuba. **no. 36:**18-21.
- Poblaciones y muestreo**
- Badilla, F; Chacón, M; Sáenz, C.** 1999. Utilización de trampas de luz para la captura de adultos de *Phyllophaga* spp. en caña de azúcar, en Costa Rica. **no. 51:**59-65.
- Badilla Fernández, F; Arias Varela, M.** 2000. Evaluación de trampas amarillas para el control de *Aeneolamia varia*. **no. 58:**61-65.
- Barfield, CS.** 1986. El muestreo en el manejo integrado de plagas. **no. 2:**46-67.
- Blanco-Metzler, H; Laprade, S.** 2000. Variación estacional de la mosca blanca *Aleurodicus dispersus* y sus parasitoides en plantaciones de banano, en Matina, Costa Rica. **no. 55:**43-48.
- Camacho, H.** 1988. Fluctuación de la población de la mosca del Mediterráneo *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae) en dos huertos frutales en Costa Rica. **no. 8:**1-11.
- Carballo, M.** 1998. Abundancia estacional y daño de *Anastrepha striata* en genotipos de guayaba y cas. **no. 50:**66-72.
- Cerón Hernández, OJ; Salguero, V.** 1995. Fluctuación poblacional de las especies de áfidos (Aphididae: Homoptera) y su distribución en la planta de brócoli (*Brassica oleracea* Var *itálica*). **no. 37:**21-25.
- Chinchilla, CM; Oehischlager, C.** 1993. Trampas para capturar adultos de *Rhynchophorus palmarum* utilizando la feromona de agregación producida por el macho. **no. 29:**28-35.
- Coto A, TD; Saunders, JL.** 1992. Distribución temporal de *Milghitea melanoleuca* Hampson (Lepidoptera: Pyralidae) barrenador de la cápsula del achiotte (*Bixa orellana* L.) durante el período de producción. **no. 26:**23-27.
- Cubillo, D; Hilje, L; Cartín, V.** 1995. Fluctuación poblacional de *Keiferia lycopersicella* (Lepidoptera: Gelechiidae) y eficiencia de trampeo de adultos con feromona sexual. **no. 37:**7-15.
- Cubillo, D; Hilje, L; Cartín, V.** 1996. Distribución espacial y comparación de métodos de muestreo de larvas de *Keiferia lycopersicella* (Lepidoptera: Gelechiidae), en Alajuela, Costa Rica. **no. 39:**10-16.
- Curkovic S, T; González R, R; Barria, G.** 1994. Evaluación del método de confusión sexual en el control de *Cydia molesta* (Busck) (Lepidoptera: Tortricidae) y su efecto sobre poblaciones de insectos y ácaros asociados a duraznos en Chile. **no. 32:**12-18.
- Evo, FP; Hilje, L.** 1993. Distribución de los estados inmaduros y el daño de *Heliothis zea* (Lepidoptera: Noctuidae) en la planta de tomate, en Costa Rica. **no. 28:**17-19.
- Goitía, W; Rosales, CJ.** 2001. Relación entre la incidencia de escoltídeos y la necrosis del cacao en Aragua, Venezuela. **no. 62:**65-71.
- Gómez Bonilla, Y; Rodríguez, CL.** 1994. Captura de adultos de *Liriomyza huidobrensis* (Blanchard) mediante trampas amarillas y su relación con el daño producido en plantas de papa (*Solanum tuberosum*). **no. 33:**19-22.
- González, JM.** 2000. Eficacia de trampas para el control y estudios de dinámica poblacional de *Cosmopolites sordidus*. **no. 57:**45-48.
- Jiménez, SF; Cortiñas, J; López, D.** 2000. Distribución temporal y espacial y consideraciones para el monitoreo de *Thrips palmi* en papa en Cuba. **no. 57:**54-57.
- Jovel, J; Hilje, L; Kleinn, Ch; Cartín, V; Valverde, B.** 2000. Movimientos diarios de *Bemisia tabaci* en parcelas de tomate, en Turrialba, Costa Rica. **no. 55:**49-55.
- Larios, JF; Reyes, R; Rivas Platero, GG; Meneses, R.** 1989. Fluctuación poblacional de áfidos e incidencia de virosis durante el ciclo del cultivo del chile (*Capsicum annuum*) en el Valle de Zapotitlán, El Salvador. **no. 13:**1-10.
- Meneses, R.** 1990. Monitoreo de áfidos y su relación con el programa de semilla de papa en Costa Rica. **no. 15:**45-52.
- Meneses, R; Amador, R.** 1987. Evaluación preliminar de la fluctuación de áfidos en la zona norte de Cartago, Costa Rica. **no. 5:**16-20.
- Meneses, R; Amador P, R.** 1990. Los áfidos alados de la papa y su fluctuación poblacional en Costa Rica. **no. 15:**35-44.
- Meneses, R; Ramírez, A.** 1990. Efecto de tres tipos de trampas de agua en la captura de áfidos. **no. 18:**13-18.
- Mora C, N; Rodríguez Valverde, CL; Lépiz, C.S.** 1990. Evaluación de trampas de feromona sexual en la captura de machos de *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Plutellidae) en repollo (*Brassica oleracea* var *Capitata*) **no. 16:**23-27.
- Mora, N; Rodríguez Valverde, CL; Lépiz, C.S.** 1991. Efecto de la altura de las trampas con feromona, en la captura de *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Plutellidae). **no. 20-21:**45-46.
- Moura, JIL; Vilela, EF; Ferreira, JMS.** 1998. Una trampa con feromona para el control de *Rhynchophorus palmarum* en palma africana. **no. 50:**55-54.
- Rhains, M; Chinchilla, CM; Castrillo, G.** 1993. Desarrollo de un método de muestreo para las larvas de *Opsiphanes cassina* Felder en palma aceitera. **no. 30:**15-18.
- Rivas Platero, GG; Larios, JF; Meneses, R.** 1991. Afluencia de áfidos en papayo en el Valle de Zapotitán, El Salvador. **no. 22:**14-17.
- Rodríguez, CL; Lépiz, C.S.** 1990. Uso de feromonas con diferente tiempo de exposición en el campo y su capacidad de captura de las palomillas de la papa. **no. 16:**28-31.
- Rodríguez, CL; Lépiz, C.S; Pérez, D.** 1991. Efecto de la distancia entre trampas, sobre la captura de las palomillas de la papa (Lepidoptera: Gelechiidae). **no. 20-21:**47-48.
- Rodríguez, CL; Lépiz, C.S; Pérez, D.** 1991. Evaluación de pegamentos en la captura de *Liriomyza huidobrensis* Blanchard (Diptera: Agromyzidae). **no. 20-21:**55-56.
- Rodríguez, CL; Murillo, R; Lépiz, C.S.** 1988. Fluctuación de las capturas de las polillas de la papa *Scrobipalopsis solanivora* Povolny y *Phthorimaea operculella* Zeller (Lepidoptera: Gelechiidae) en Cartago, Costa Rica. **no. 9:**12-21.
- Salas, J.** 1995. Trampas amarillas en la captura de *Bemisia tabaci* y su parasitoides *Encarsia y Eretmocerus*. **no. 37:**39-42.
- Salas, J.** 2000. Captura de *Spodoptera frugiperda* en trampas en feromona. **no. 59:**48-51.

Vásquez, LA. 2000. Comparación de tipos de trampas y atrayentes para la captura de hembras de *Ceratitis capitata* no. 56:31-37.

Vásquez, LA; Díaz, FJ. 1998. Selección de métodos para captura de hembras de *Ceratitis capitata*. no. 49:42-50.

## EPIFITAS

Dantas da Cruz, J; Souza do Nascimento, A; Meira Marques, O. 2000. Remoción de organismos epifíticos de *Citrus sinensis* por el caracol *Oxystyla pulchella*. no. 58:66-69.

## FITOPATOLOGIA

Alas García, J; Bustamante, E. 1993. Efecto de fósforo y del calcio en la severidad del tizón temprano *Alternaria solani* en tomate a nivel de invernadero. no. 29:1-5.

Alvarado, E; Meneses, R; Perring, TM. 1991. Virosis y vectores del virus del melón en Guatemala. no. 22:36-40.

Araya, CM. 1989. La antracnosis del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) en Costa Rica. no. 13:83-91.

Araya, CM. 2000. Estatus de las principales enfermedades del cultivo de frijol, y posibilidades organizativas para su manejo integrado en Costa Rica. no. 55:6-11.

Bentley, JW. 1990. Conocimiento y experimentos espontáneos de campesinos hondureños sobre el maíz muerto. no. 17:16-26.

Bonilla S, F. 1995. Períodos de adquisición, latencia y transmisión de un geminivirus en tomate, por la mosca blanca *Bemisia tabaci* (Gennadius) en Costa Rica. no. 35:11-13.

Bravo Luna, L; Bermúdez Torres, Montes Belmont, R. 2000. Inhibición de *Fusarium moniliforme* mediante polvos vegetales y algunos de sus componentes químicos. no. 57:29-34.

Bustamante, E. 1986. Problemas fitopatológicos de post-cosecha. no. 2:39-45.

Cárdenas López, J; Bustamante, E; Rivas Platero, GG; Rivillas O, CA; Pérez L; CM. 1998. Aislamiento de *Pseudomonas fluorescentes* antagonista potencial de *Rosellinia bunodes* en raíces de café en Colombia. no. 49:35-41.

De León, G. 1987. Proceso para la obtención de resistencia de tomate a *Pseudomonas solanacearum* en Panamá. no. 5:11-15.

Del Río, LE. 1990. «Maíz Muerto» en Honduras provocado por el complejo Diplodia y *Fusarium*. no. 18:42-53.

Fernández-Larrea Vega, O. 2001. Microorganismos antagonistas para el control fitosanitario. no. 62:96-100.

French, JB. 1986. Aspectos económicos de la fitopatología. no. 1:21-26.

García, JM; Benítez de Rivas, R; Lara EW; Hernández, A. 1988. *Choanephora cucurbitarum* agente causal de la muerte regresiva en frijol común (*Phaseolus vulgaris*). no. 7:13-18.

González, R; Bustamante, E; Shannon, P; Okumoto, S; Leandro, G. 1996. Evaluación de microorganismos quitinolíticos antagonistas a *Mycosphaerella fijiensis* en casa de mallas y campo. no. 40:12-16.

González, R; Bustamante, E; Shannon, P; Okumoto, S; Leandro, G. 1996. Selección de microorganismos quitinolíticos en el control de sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis*) en banano. no. 40:6-11.

Guevara, Y; Lukeziec, F. 2000. Sobrevivencia de una cepa de *Pseudomonas putida* antagonista a *Phoma medicaginis* var. *medicaginis* en hojas de alfalfa. no. 55:24-29.

Guevara, Y; Maselli, A; Sánchez, MC. 2000. Efecto de extractos vegetales sobre bacterias fitopatógenas. no. 56:38-44.

Hernández Castro, E; Riestra Díaz, D; García Pérez, E; Ortega Arenas, LD; Mosqueda Vázquez, R. 2000. Respuesta del virus de la mancha anular del papayo (PRSV) en tres sistemas de manejo. no. 58:20-27.

Hernández Garbosa, L; Bustamante Rojas, E. 2001. Control biológico de la marchitez bacterial en tomate con el uso de enmiendas orgánicas. no. 62:18-28.

Hernández Garbosa, L; Ochoa Corona, F. 1994. Diagnóstico de *Xylella fastidiosa* en la vid y malezas asociadas con el cultivo. no. 33:7-10.

Hoitink, HAJ; Boehm, MJ. 2001. Control biológico en comunidades microbianas del suelo: un fenómeno de dependencia de sustrato. no. 62:4-17.

Hoitink, HAJ; Stone, AG; Han, DY. 1997. Supresión de enfermedades mediante el uso de compost. no. 43:31-39.

Igarza Castro, J; Hernández Pérez, R; Cruz Castellanos, B. 2001. La electroterapia como alternativa para la eliminación del virus DMV en malanga. no. 60:57-60.

Jiménez, JM; Bustamante, E; Bermúdez, W; Gamboa, A. 1988. Respuesta a cuatro cultivares de chile dulce a marchitez bacterial en Costa Rica. no. 7:19-28.

Jiménez, JM; Bustamante, E; Dimasi, S; Jiménez, F. 1990. Caracterización y patogenicidad de bacterias asociadas con el ataque de *Neosilba* sp. (Diptera: Lonchaeidae) en chile dulce. no. 16:12-18.

Jovel, J; Kleinn, CH; Hilje, L; Ramírez, P. 2000. Distribución espacio-temporal del virus del moteado amarillo (ToYMoV) en parcelas de tomate, en Turrialba, Costa Rica. no. 57:35-44.

Kooper, N; Meneses, R; Jiménez, JM; Quesada, S. 1991. Evaluación de líneas de tomate de mesa resistentes a *Pseudomonas solanacearum* en época seca en Costa Rica. no. 19:1-4.

Krauss, U; Soberanis Ramírez, W. 2000. Control de pudriciones de poscosecha con extracto de mashua (*Tropaeolum tuberosum*) no. 57:23-28.

Larios, JF; Reyes, R; Rivas Platero, GG; Meneses, R. 1989. Fluctuación poblacional de áfidos, e incidencia de virosis durante el ciclo del cultivo del chile (*Capsicum annuum*) en el Valle de Zapotitán, El Salvador. no. 13:1-10.

Lobos Medina, HF; Bustamante Rojas, E. 2001. Efecto de factores de estrés tecnológico en la predisposición del café al ataque de patógenos fungosos. no. 61:37-47.

Loáisiga, H; Gutiérrez, Y; Monterroso, D. 1996. Epidemiología y producción del patosistema *Coffea-Hemileia*. no. 41:1-7.

Madriz Ordeñana, K. 2002. Mecanismos de defensa en las interacciones planta-patógeno. no. 63:22-32.

Méndez, RM; Bustamante, E; Merino, F. 1994. Efecto de diferentes fuentes y niveles de calcio sobre severidad de tizón temprano *Alternaria solani* en tomate *Lycopersicon esculentum*. no. 33:1-6.

Mendoza, R; Monterroso, D; Gutiérrez, Y. 1995. Estudio de la relación incidencia severidad de las principales enfermedades del café (*Coffea arabica* L.) en Nicaragua. no. 36:12-17.

Mendoza, R; Monterroso, D; Gutiérrez, Y. 1995. Tamaño y arreglo de la muestra para estudios epidemiológicos de las principales enfermedades foliares del café (*Coffea arabica* L.) en Nicaragua. no. 35:19-24.

Mercado, JA; Bustamante, E. 1993. Evaluación de resistencia de cultivares criollos de chile dulce (*Capsicum annuum*) a *Phytophthora capsici*. no. 27:5-10.

Monge, JE; Bolaños, J; Pacheco, H. 1995. Incidencia de *Alternaria* sp. y tallo hueco en dieciséis cultivares de brócoli (*Brassica oleracea*) var. *Itálica* en San Pablo de Oreamuno, Cartago, Costa Rica. no. 35:29-32.

Monterroso, D. 1987. El uso de los productos químicos como una alternativa para el control de enfermedades. no. 3:22-31.

Montes Belmont, R; Flores Moctezuma, HE. 2001. Combate de *Fusarium thapsinum* y *Claviceps africana* mediante semillas de sorgo tratadas con productos naturales. no. 61:23-30.

Monzón, A; Bustamante, E. 1993. Evaluación de dos aislamientos de *Verticillium* sp. como agente de control biológico de la roya (*H. vastatrix*) del cafeto (*Coffea arabica* L.) en condiciones de invernadero. no. 28:11-16.

- Monzón, AA; Bustamante, E.** 1993. Incidencia de *Verticillium* sp. como hiperparásito de *Hemileia vastratrix* en tres zonas cafetaleras de Nicaragua. **no. 30**:1-6.
- Morales, FJ; Araya, CM; Hernández, JC; Arroyave, JA; Cuervo, M; Velasco, AC; Castaño, M.** 1999. Etiología del "amachamiento" del frijol común en Costa Rica. **no. 52**:42-48.
- Muñoz Ruiz, C; Virgen Calleros, G; Herrera Estrella, A; Olalde Portugal, V.** 2000. Introducción de agentes de control biológico de *Rhizoctonia solani* en suelos solarizados o encalados en condiciones de invernadero. **no. 59**:2-9.
- Okumoto, S; Bustamante, E.** 1993. Efecto de enmiendas foliares sobre el desarrollo del tizón temprano causado por *Alternaria solani* y sobre la población bacteriana en tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill). **no. 28**:1-6.
- Okumoto, S; Bustamante, E.** 1993. Selección *in vitro* de bacterias antagonistas a *Alternaria solani*. **no. 28**:7-10.
- Okumoto, S; Bustamante, E; Gamboa, A.** 2000. Actividad de cepas de bacterias quitinolíticas antagonistas a *Alternaria solani* *in vitro*. **no. 59**:58-62.
- Padilla, D; Monterroso, D.** 1999. Diagnóstico preliminar de enfermedades del cultivo de tempate (*Jatropha curcas*) en Nicaragua. **no. 51**:66-69.
- Pérez Mancía, Juana E; Sánchez Garita, V** 2000. Efecto de los sustratos celulosa y glucano sobre antagonistas de *Phytophthora infestans* en tomate. **no. 58**:45-53.
- Phillips, W; Keane, P.J.** 1993. El género *Phytophthora*: Características generales. **no. 27**:69-77.
- Phillips, W; Keane, P.J.** 1996. El género *Phytophthora* II. *P. cinnamomi*, *P. infestans* y *P. palmivora*, tres especies contrastantes. **no. 39**:40-63.
- Polston, J.E; Anderson, P.K.** 1999. Surgimiento y distribución de geminivirus transmitidos por mosca blanca en tomate en el hemisferio Occidental. **no. 53**:24-42.
- Ramírez, P.** 1997. Los Geminivirus. **no. 43**:40-54.
- Remes Lenicov, A M de; Laguna, IG; Rodríguez Pardina, P; Mariani, R; Virla, E; Herrera, P; Dagoberto, E.** 1999. Diagnóstico del virus del "Mal de Río Cuarto" y sus vectores en maíz, en Argentina. **no. 51**:36-46.
- Rivas Platero, G.G.** 1989. El virus 2 del mosaico de la sandía (WMV-2), fluctuación poblacional de vectores y su presencia en El Salvador. **no. 12**:12-20.
- Rivas Platero, G.G.** 1991. Descripción epidemiológica del virus 2 del mosaico de la sandía (WMV-2) en El Salvador. **no. 19**:30-31.
- Rivas Platero, G.G.** 1996. Descripción matemática de epidemias. **no. 40**:35-39.
- Rivas Platero, G.G.; Larios, J.F.** 1994. Epidemiología del virus de la mancha anular del papayo VMAP en Zapotitlán, El Salvador. **no. 32**:5-7.
- Rivas Platero, G.G.; Lastra, R.** 1993. Detección no radiactiva de geminivirus en tomate mediante hibridación de ácidos nucleicos. **no. 30**:7-10.
- Rivas Platero, G.G.; Lastra, R; Hilje, L.** 1994. Retardo de la virosis por *Bemisia tabaci* (Gennadius) en tomate mediante semilleros abiertos. **no. 31**:12-16.
- Rivera M, JA; Bustamante, E; Guharay, F; Monterroso, D.** 1993. Residualidad de diferentes dosis de *Bacillus thuringiensis* en el sistema café- *Hemileia vastratrix* Berk & Br. **no. 27**:1-4.
- Rodríguez, DA; Montilla, J.O.** 2002. Disminución de la marchitez causada por *Fusarium* en tomate con un extracto de *Citrus paradisi*. **no. 63**:1-4.
- Ruiz Silvera, C; Bustamante, E; Jiménez, F; Saunders, J.L; Okumoto, S; González, R.** 1997. Efecto de sustratos sobre crecimiento y supervivencia de bacterias antagonistas a *Mycosphaerella fijiensis*. **no. 45**:1-8.
- Ruiz Silvera, C; Bustamante, E; Jiménez, F; Saunders, J.L; Okumoto, S; González, R.** 1997. Sustratos y bacterias antagonistas para el manejo de *Mycosphaerella fijiensis* en banano. **no. 45**:9-17.
- Saborío, M.** 1994. Control fitogenético del complejo mosca blanca-virus. **no. 34**:46-50.
- Saborío, M; Pacheco López, H.** 1993. Reacción de progenitores e híbridos de *Capsicum* a la inoculación artificial con *Phytophthora capsici* en condiciones de campo. **no. 30**:11-14.
- Samayoa Juárez, J.O; Sánchez Garita, V.** 2001. Comparación de la incidencia de enfermedades del fruto en sistemas de producción de café orgánico y convencional. **no. 60**:36-42.
- Samayoa-Juárez, J.O; Sánchez Garita, V.** 2000. Enfermedades foliares en café orgánico y convencional. **no. 58**:9-19.
- Sancho, H; Alfaro, R; Morales Gómez, A; Mora B, B; Gálvez E, G.E.** 1987. Manejo Integrado de *Mustia hilachosa* causada por *Thanatephorus cucumeris* (Frank) Donk en frijol común. **no. 4**:39-46.
- Sánchez, V; Bustamante, E; Shattock, R.** 1998. Selección de antagonistas para el control biológico de *Phytophthora infestans* en tomate. **no. 48**:25-34.
- Sánchez, V; Bustamante, E; Shattock, R.** 1999. Control microbiológico de *Phytophthora infestans* en tomate. **no. 51**:47-58.
- Sánchez, V; Shattock, R.C; Bustamante, E.** 2000. Caracterización de aislamientos de *Phytophthora infestans* nativos de Costa Rica. **no. 55**:6-42.
- Shattock, R.C.** 1995. Variation and its origins in *Phytophthora infestans* and the consequences for late-blight control in potato and tomato. **no. 37**:43-48.
- Talavera S, ME; Bustamante, E; González, R; Sánchez, V.** 1998. Extracción y cuantificación de beta-Glucano a partir de sustratos comunes en el trópico. **no. 47**:31-36.
- Talavera S, ME; Bustamante, E; González, R; Sánchez, V.** 1998. Selección y evaluación en laboratorio y campo de microorganismos glucanolíticos antagonistas a *Mycosphaerella fijiensis*. **no. 47**:24-30.
- Torres Zúñiga, M; Monterroso, D; Gutiérrez, Y; Góngora, J.** 1994. Síntomas causadas por *Colletotrichum* spp. en café en Nicaragua. **no. 32**:8-11.
- Umaña, G; Masís, CE; Campos, L.F.** 1991. Perspectivas para el manejo cultural y químico de las pudriciones en la nuez de macadamia *Macadamia integrifolia*. **no. 19**:12-14.
- Umaña, G; Masís, CE; Campos, L.F.** 1992. Combate cultural y químico de las pudriciones en la nuez de macadamia (*Macadamia integrifolia* Maiden & Betche) en Costa Rica. **no. 26**:1-4.
- Williams, C.W.** 1995. Esporulación de *Cercospora fijiensis* en diferentes ambientes. **no. 37**:16-20.
- Zúñiga Pereira, C; González Q, R; Bustamante, E; Argel, P.** 1998. Influencia de la humedad del suelo sobre la susceptibilidad de *Brachiaria* a hongos patógenos. **no. 49**:51-57.

#### FORESTALES Y AGROFORESTERIA

- Arguedas, M; Quirós Rodríguez, L.** 1997. Experiencias y perspectivas del manejo de plagas forestales en Costa Rica. **no. 45**:34-42.
- Arguedas, M; Scorza, F.** 1991. Observaciones sobre la biología de *Scolytodes alni* Wood (Coleoptera: Scolytidae) descortezador del jaúl *Alnus acuminata*. **no. 20-21**:23-25.
- Hilje, L.** 1988. Las plagas forestales en Costa Rica: ¿es factible su manejo integrado? **no. 7**:48-59.
- Hilje, L; Quirós, L; Scorza, F.** 1991. El «status» actual de las plagas forestales en Costa Rica. **no. 20-21**:18-22.
- Hilje, L; Viquez, M; Araya, CM; Scorza, F.** 1991. El manejo de enfermedades y plagas forestales en Costa Rica. **no. 19**:34-39.
- Macías Sámano, J.E.** 2001. Interacciones químicas entre *Hypsipyla grandella* y sus plantas hospedantes. **no. 60**:15-21.
- Maes, J.M.** 1992. Plagas insectiles de Nicaragua 1. Coleopteros asociados con *Pinus oocarpa* Schiede. **no. 23**:13-16.

Mancebo, F.; Hilje, L.; Mora, G.A.; Salazar, R. 2000. Efecto de extractos vegetales sobre larvas de *Hypsipyla grandella*. no. 55:12-23.

Vandermeer, J.H.; Perfecto, I. 2000. La biodiversidad y el control de plagas en sistemas agroforestales. no. 55:1-5.

Vásquez, L.L.; Menéndez, J.M.; López, R. 1999. Manejo de insectos de importancia forestal en Cuba. no. 54:13-26.

## INFORMACION Y COMUNICACION

Arboleda-Sepúlveda, O. 1990. Generación de información científica y técnica sobre manejo integrado de plagas en Centromérica. no. 18:24-32.

Arboleda-Sepúlveda, O.; Jiménez, T. 1992. Un servicio de información sobre tolerancias de residuos de plaguicidas en cultivos no tradicionales de exportación. no. 24-25:35-39.

Arboleda-Sepúlveda, O.; Rodríguez A, L. 1992. Evaluación de la distribución y uso de los servicios de información y documentación en el Área de Fitoprotección del CATIE. no. 24-25:26-34.

Barletta, HA; Andrews, KL. 1992. Publicaciones para agricultores son realmente efectivas? no. 26:44-53.

Meyer, S. de; Cave, R. 1992. Programa para estandarizar la computarización de datos en inventarios agroecológicos y centros de diagnóstico en Centroamérica. no. 24-25:40-43.

## INGENIERIA GENETICA

Altieri, MA; Rosset, P. 2000. ¿Por qué la ingeniería genética no garantizará la seguridad alimentaria, ni protegerá el ambiente, ni reducirá la pobreza en el Tercer Mundo?. no. 58:3-8.

## MANEJO DE PLANTACIONES

Quiroz V, J; Amores, F. 2002. Rehabilitación de plantaciones tradicionales de cacao en Ecuador. no. 63:73-80.

## NEMATOLOGIA

Aguilar, JA.; Marbán Mendoza, N; Candanedo, E. 1994. Evaluación de nematocidas, enmiendas orgánicas y resistencia varietal al nematodo agallador (*Meloidogyne salasi* Lopez) en el cultivo de arroz (*Oryza sativa* L) en Panamá. no. 31:1-11.

Candanedo, E; Pinochet, J. 1987. El bioensayo de *Meloidogyne* spp. y su potencial en América Tropical. no. 6:11-15.

Espinoza G, J. 1988. El uso de nematocidas en Panamá. no. 8:22-29.

Fariás Larios, J; Orozco Santos, M; López Aguirre, JG; Silva Montes, F. 1998. Incremento en la producción de banano mediante nematocidas usados en el control de *Radopholus similis*. no. 50:60-65.

Figuroa, A. 1988. Análisis del problema de los nematodos en viveros de café (*Coffea arabica* L). no. 8:12-21.

Lugo Urribarrí, L; Rivas Platero, GG; Rojas Miranda, T; Vásquez, N. 2000. Opciones para el manejo de *Radopholus similis* en banano mediante hongos endomicorrizicos y compost. no. 58:28-38.

Main G; Franco, J; Ortuño, N. 2000. Desinfección de semilla de papa infectada con *Nacobbus aberrans* mediante nematocidas blandos. no. 59:52-57.

Marbán Mendoza, N. 1996. Opciones para el manejo de nematodos en el café. no. 42:45-48.

Marbán Mendoza, N. 1987. Quimioterapia en nematodos. no. 3:62-83.

Marbán Mendoza, N. 1988. Elementos para un sistema de manejo integrado de fitonematodos no. 9:39-52.

Marbán Mendoza, N. 1988. Nematodos parásitos de cultivos hortícolas. no. 7:60-68.

Marbán Mendoza, N; Flores, L. 1994. Prospección fitonematológica en ornamentales de follaje de Costa Rica. no. 32:1-4.

Murrell, M; Zúñiga, C; Esquivel, A; Madriz, J. 2002. Extracción de ADN de individuos de *Radopholus similis*. no. 63:33-38.

Pinochet, J; Cordero, D. 1986. Nematodos asociados a viveros frutales en Panamá. no. 1:27-36.

Rivas Platero, GG; Cuervo Andrade, J. 1998. Interacción de hongos endomicorrizicos con *Meloidogyne exigua* en café. no. 49:68-72.

Rivas Platero, GG; Rojas Miranda, T; Cuervo Andrade, J. 1998. Interacción del hongo vesículo arbuscular *Glomus* spp. con *Meloidogyne arabicida* en tomate. no. 47:41-43.

Rodríguez Ch, R. 1986. El nematodo del quiste de la papa en Panamá. no. 2:32-38.

Rojas Miranda, T; Marbán Mendoza, N; Vásquez, N. 1997. Adherencia y parasitismo de *Pasteruria penetrans* en *Meloidogyne incognita* y *Meloidogyne arabicida*. no. 44:7-13.

## TOXICOLOGIA Y PLAGUICIDAS

Belser, RC. 1996. Naturally occurring biologically active non-nutrients in foods no. 39:30-39.

Espinoza G, J. 1986. Fundamentos toxicológicos de los insecticidas de uso en las zonas altas de Chiriquí. no. 1:11-16.

Fowler, HW; Freed, VH. 1987. Agricultura, salud pública, consideraciones ambientales, aplicación de plaguicidas. no. 6:44-57.

Freed, VH; Davies, JE; Smith, RF; Whittemore, FW. 1988. Aplicación integral de conceptos agromédicos en el manejo de plaguicidas. no. 7:34-47.

García, J E. 1999. El mito del manejo seguro de los plaguicidas en los países en desarrollo. no. 52:25-41.

Whittemore, FW; Fowler, HW; Collier, C. 1987. Consecuencias toxicológicas y ambientales de la resistencia a los plaguicidas, un problema agromédico significativo. no. 5:45-51.

## TRANSFERENCIA DE TECNOLOGIA

Braun, AR; Thiele, G; Fernández, M. 1999. La escuela de campo para MIP y el comité de investigación agrícola local: plataformas complementarias para fomentar decisiones integrales en agricultura sostenible. no. 53:1-23.

Gómez, D; Prins, C; Staver, C. 1999. Racionalidad en la toma de decisiones de MIP por pequeños y medianos caficultores de Nicaragua. no. 53:43-51.

Hruska, AJ. 1994. Nuevos temas en la transferencia de tecnologías de manejo integrado de plagas para productores de bajos recursos. no. 32:36-43.

Nelson, K. 1996. Estudio comparativo de la generación de tecnología MIP en el cultivo de tomate, Nicaragua. no. 41:16-28.

Ortiz, O. 2001. La información y el conocimiento como insumos principales para la adopción del manejo integrado de plagas. no. 61:12-22.

Pareja, M. 1993. Generación, adaptación y validación de programas de manejo integrado de plagas para hortalizas en Centroamérica: la experiencia del CATIE. no. 25:51-57.

Pareja, M. 1994. Hacia una nueva etapa en el MIP: la difusión. no. 33:33-38.

Pérez, O; Ramírez, O; Hilje, L; Karremans, J. 1997. Potencial de adopción de dos opciones tecnológicas de manejo integrado de plagas (MIP), aplicando tres técnicas de extensión con productores de tomate en el Valle Central Occidental, Costa Rica. no. 43:19-30.

PROYECTO MIP/CATIE. Centro de Documentación e Información. 1986. Bibliografía sobre *Phyllophaga*. no. 4:47-53.

Quirós, CA; Ramírez, O; Hilje, L. 1994. Participación de los agricultores en adaptar y evaluar tecnologías de semilleros contra la mosca blanca (*Bemisia tabaci*), en tomate. no. 34:1-7.

Ramírez, O. 1994. Generación de tecnologías de Manejo Integrado de Plagas (MIP) para su implementación en América Central. no. 34:31-35.



Rodríguez, CL; Padilla, C; Matarrita, L. 1990. Transferencia y adopción de tecnología en el control del «Minador de las Hojas» *Liriomyza* prob. *huidobrensis* Blanchard (Diptera: Agromyzidae) en la zona norte de Cartago. *no. 18*:33-41.

Valenzuela, G; Prins, K. 2002. Involucramiento de las mujeres en procesos participativos de manejo integrado de plagas en café en Nicaragua. *no. 63*:56-63.

Weigel, J; Guharay, F. 2001. Influencia de los procesos de investigación participativa sobre la experimentación campesina. *no. 62*:72-80.

#### VERTEBRADOS PLAGA

Bonino, N; Hilje, L. 1992. Comparación de dos métodos de combate de la taltuza *Orthogeomys heterodus* (Rodentia, Geomyidae) en Costa Rica. *no. 23*:39-45.

Bonino, N; Hilje, L. 1992. Estimación de la abundancia de la taltuza *Orthogeomys heterodus* (Rodentia, Geomyidae) y del daño producido en una zona hortícola de Costa Rica. *no. 23*:26-31.

Chiri, A. 1988. Los vertebrados como plagas de los cultivos en América Latina. *no. 7*:69-79.

Hilje, L. 1992. Biología y ecología de los roedores plaga en Costa Rica. *no. 23*:17-25.

Hilje, L. 1992. Daño y combate de los roedores plaga en Costa Rica. *no. 23*:32-38.

Hilje, L; Monge, J.E. 1988. Lista preliminar y consideraciones generales acerca de los animales vertebrados plaga en Costa Rica. *no. 10*:39-52.

#### HOJAS TECNICAS

De la Cruz, R; Merayo, A. 1992. La Caminadora. *In Boletín Informativo MIP. no. 24.*

Valverde, B. 1992. Tolerancia de residuos de plaguicidas: regulaciones de la Agencia para la Protección Ambiental de los Estados Unidos. *In Boletín Informativo MIP. no. 25.*

Bustamante, E. 1992. Tizonas del tomate. *In Boletín Informativo MIP. no. 26.*

Guharay, F. 1993. La mosca blanca. *In Boletín Informativo MIP. no. 27.*

Ramírez, O. 1993. Umbrales económicos. *In Boletín Informativo MIP. no. 28.*

Vargas, C; Ochoa, R; Aguilar, H. 1993. Recolección, montaje y envío de muestras con énfasis en ácaros fitófagos. *In Boletín Informativo MIP. no. 29.*

Marbán Mendoza, N. 1993. *Meloidogyne nematodo* agallador un problema para los cultivos tropicales. *In Boletín Informativo MIP. no. 30.*

De la Cruz, R; Merayo, A. 1994. El coyolillo. *In Boletín Informativo MIP. no. 31.*

Bustamante, E. 1994. La marchitez bacterial del chile y tomate. *In Boletín Informativo MIP. no. 32.*

Rivas Platero, GG. 1994. Geminivirus: virus transmitidos por la mosca blanca. *In Boletín Informativo MIP. no. 33.*

Ramírez, O. 1995. El uso de presupuestos parciales en el manejo integrado de plagas. *In Boletín Informativo MIP. no. 34.*

Hilje, L; Cubillo, D. 1994. ¿Cómo producir plántulas de tomate sin virus?. *In Boletín Informativo MIP. no. 35.*

Carballo, M. 1995. El manejo integrado de *Plutella xylostella* L. en repollo. *In Manejo Integrado de Plagas. no. 36.*

Fages, O; Jiménez, F. 1995. El control de la sigatoka negra en el cultivo de plátano. *In Manejo Integrado de Plagas. no. 37.*

Valverde, B. 1995. Resistencia de *Echinochloa colona* a herbicidas usados en arroz en América Latina. *In Manejo Integrado de Plagas. no. 38.*

Bustamante, E. 1996. Prácticas de cultivo en el manejo integrado de plagas. *In Manejo Integrado de Plagas. no. 39.*

Rivas Platero, GG. 1996. Identificación de virus fitopatogénicos a través de pruebas inmunoenzimáticas y moleculares. *In Manejo Integrado de Plagas. no. 40.*

Garita Cruz, I. 1996. Calibración de la aspersora manual de mochila. *In Manejo Integrado de Plagas. no. 41.*

Coto A, TD. 1996. El picudo del chile (*Anthonomus eugeniei* Cano) su reconocimiento y posible manejo. *In Manejo Integrado de Plagas. no. 42.*

Rivas Platero, GG. 1997. Micorrizas. *In Manejo Integrado de Plagas. no. 43.*

Cuervo, J; Rivas Platero, GG. 1997. Biotá rizósferica: un recurso para promover el crecimiento y la protección de las plantas. *In Manejo Integrado de Plagas. no. 44.*

Guharay, F; Monterrey, J. 1997. Manejo ecológico de la broca del café (*Hypothenemus hampei*) en América Central. *In Manejo Integrado de Plagas. no. 45.*

Hilje, L; Bonino, N. 1997. Captura de taltuzas mediante trampas. *In Manejo Integrado de Plagas. no. 46.*

Monterroso Salvatierra, D. 1998. Posibilidades de manejo integrado de la enfermedad "Ojo de Gallo" del café. *In Manejo Integrado de Plagas. no. 47.*

Carballo V, M. 1998. Formulaciones de hongos entomopatógenos. *In Manejo Integrado de Plagas. no. 48.*

Cibrian Tovar, D. 1998. Biología y manejo del descortezador de pinos. *Dendroctonus frontalis*. *In Manejo Integrado de Plagas. no. 49.*

Morales G, FJ. 1998. La necrosis rayada del arroz; una nueva enfermedad viral en América. *In Manejo Integrado de Plagas. no. 50.*

Guharay, F. 1999. Biología, daño y manejo de *Oebalus insularis*, la chinche de la espiga del arroz. *In Manejo Integrado de Plagas. no. 51.*

Ortuño, N; Franco, J; Oros, R; Main, G. 1999. Producción de tubérculos para semilla de papa libre de nematodos. *In Manejo Integrado de Plagas. no. 52.*

González, M. 1999. Metodología para la manipulación y cultivo *in vitro* de *Mycosphaerella fijiensis*. *In Manejo Integrado de Plagas. no. 53.*

Bustamante, E. 1999. Marchitez fungosa del chile o pimentón. *In Manejo Integrado de Plagas. no. 54.*

Coto, D. 2000. Gallinas ciegas como plagas de cultivos anuales y perennes. *In Manejo Integrado de Plagas. no. 55.*

Hilje, L. 2000. Coberturas vivas para el manejo de mosca blanca en tomate. *In Manejo Integrado de Plagas. no. 56.*

Merayo Miller, A. 2000. La mucuna: cobertura para el manejo de malezas. *In Manejo Integrado de Plagas. no. 57.*

Bustamante, E; Gamboa, A. 2000. Mancha bacteriana de la hoja y fruto de chile y tomate. *In Manejo Integrado de Plagas. no. 58.*

Carballo, M. 2000. Opciones para el manejo del picudo negro del plátano. *In Manejo Integrado de Plagas. no. 59.*

Hidalgo, E. 2001. Uso de microorganismos para el control de *Phyllophaga* spp. *In Manejo Integrado de Plagas. no. 60.*

Hilje, L; Cornelius, J. 2001. ¿Es inmanejable *Hypsipyla grandella* como plaga forestal?. *In Manejo Integrado de Plagas. no. 61.*

Vargas, C; Shannon, PJ; Taveras, R; Soto, F; Hilje, L. 2001. Un nuevo método para la cría masiva de *Hypsipyla grandella* en Costa Rica. *In Manejo Integrado de Plagas. no. 62.*

Bustillo P, AE; Marín M, P. 2002. ¿Cómo reactivar la virulencia de *Beauveria bassiana* para el control de la broca del café?. *In Manejo Integrado de Plagas. no. 63.*

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

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

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

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

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

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

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

### Elementos de identificación y organización

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

### Dirección:

Revista Técnica "Manejo Integrado de Plagas"

CATIE, 7170 Turrialba, Costa Rica

Tel.: (506) 558 2633 ó 556 1632

Fax: (506) 556 6282 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.



**United States  
Department of Agriculture  
FAS/ICD/RSED**



**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



**Fomento de Productos  
Fitosanitarios No-Sintéticos**  
Ministerio de Agricultura y  
Ganadería, San José, Costa Rica  
Tel: (506) 296-5715  
Fax: (506) 232-0735

Programa de Educación para el Desarrollo y la Conservación

## Escuela de Posgraduados

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

### Doctorado conjunto (Ph.D.) en: Agricultura Tropical y Manejo de Recursos Naturales en Cooperación con Universidades Asociadas:

#### Estados Unidos de Norteamérica

- Universidad Estatal de Colorado
- Universidad de Florida (Gainesville)
- Universidad de Idaho
- Universidad de Purdue
- Universidad Estatal de Louisiana
- Universidad Texas A&M

#### Europa

- Universidad de Gales (Reino Unido)
- Universidad de Göttingen (Alemania)
- Universidad de Freiburg (Alemania)
- Universidad de Hohenheim (Alemania)

### Maestría (M.Sc.) en:

#### Agroforestería Tropical con especialización en:

- Agroforestería con Cultivos Anuales
- Agroforestería con Cultivos Perennes
- Sistemas Silvopastoriles

Subespecialización con varias opciones.

#### Manejo y Conservación de Bosques Tropicales y Biodiversidad con especialización en:

- Manejo de Sistemas de Producción Forestal Diversificado
- Conservación de la Biodiversidad

Subespecialización con varias opciones.

#### Agricultura Ecológica con especialización en:

- Recursos Fitogenéticos y Biotecnología
- Manejo Integrado de Plagas

Subespecialización con varias opciones.

#### Manejo de Cuencas Hidrográficas con especialización en:

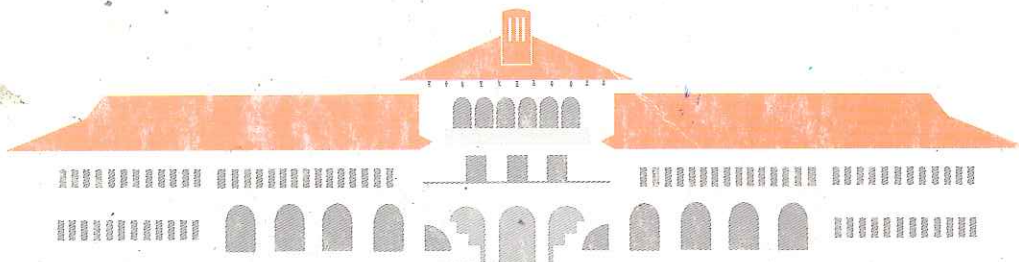
- Manejo de Desastres Naturales
- Manejo de Recursos Hídricos

Subespecialización con varias opciones.

#### Socioeconomía Ambiental con especialización en:

- Administración y Gerencia Ambiental
- Economía Ambiental
- Sociología Ambiental

Subespecialización con varias opciones.



Producir conservando, conservar produciendo®

Solicite información a:

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